

## Die Wirkung der Ultraviolettbehandlung auf die Überlebensverhältnisse röntgenbestrahlter Mäuse

Die Ultraviolettbehandlung hat bei weissen Mäusen eine beträchtliche Erhöhung der Thrombozytenzahl zur Folge. In der Hervorruft der tagelang anhaltenden UV-Thrombozytose spielt ein humoraler Faktor, der sogenannte UV-thrombopoetische Faktor, eine wesentliche Rolle. Das 24 h nach der Behandlung von UV-behandelten Mäusen gewonnene Serum bewirkt – ähnlich wie die direkte UV-Behandlung – bei den normalen Rezipienten eine Erhöhung der Thrombozytenzahl. Der humorale Ursprung der UV-Thrombozytose konnte auch in Parabioseversuchen<sup>1,2</sup> erwiesen werden. Zum Studium der Entstehung und der Wirkungsweise des UV-Serumfaktors haben wir in weiteren Versuchen kombinierte UV- und Röntgenbestrahlung angewandt. Es zeigte sich, dass die UV-Behandlung – zu einem entsprechenden Zeitpunkt vorgenommen – die durch die Röntgenbestrahlung bedingte Thrombozytopenie verhindert und die Röntgenbestrahlung die Entstehung des vor der Thrombopenie schützenden UV-Faktors hemmt<sup>3</sup>. Zur weiteren Untersuchung des gegensätzlichen Effektes der beiden Strahlungen haben wir die Wirkung vorhergehender UV-Behandlung auf die Sterblichkeit von mit massiven Röntgendifosen bestrahlten Mäusen verfolgt.

*Experimenteller Teil.* Die Versuche wurden an durchschnittlich 20 g schweren, bei gemischter Kost gehaltenen Albinomäusen beiderlei Geschlechts durchgeführt, deren einzelne Gruppen demselben Stamm angehörten. Die Bestrahlung erfolgte mit einer Hanau-Quarzlampe (210 V, 5,2 A) aus 50 cm Entfernung 30 min lang. Daten der Röntgenbestrahlung: Siemenscher «Stabilivolt» Tiefentherapie-Apparat, 180 kV, 10 mA, 0,5 Cu-Filter, Dosisleistung 23,3 r/min (Luftdosis). Ganzkörperbestrahlung aus 150 cm Fokus-Hautdistanz. Die Bestrahlung der in eine Gruppe gehörenden Kontroll- und vorbehandelten Tiere wurde gleichzeitig und unter analogen Verhältnissen vorgenommen. Die Bestimmung der Thrombozytenzahl erfolgte mit der direkten Feissly-Lüdinschen phasenkontrastmikroskopischen Methode in der Modifikation von FISCHER und GERMER<sup>4</sup>. Die Überlebenszeit drückt die Mittelwerte der innerhalb der Dauer von 30 Tagen auf ein Tier entfallenden Überlebenstage aus. Die Ergebnisse wurden mit dem  $\chi^2$ -Verfahren mathematisch ausgewertet.

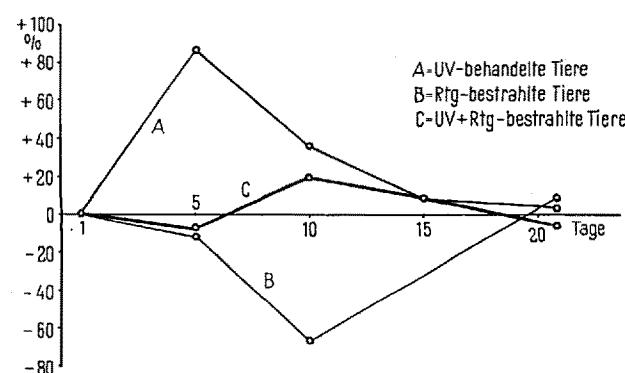
Die Figur veranschaulicht die Wirkung der UV- und Röntgenbestrahlung bzw. der kombinierten Bestrahlung auf die Thrombozytenzahl der Mäuse. Die UV-Behandlung (30 Mäuse) hatte am 5. Tage eine Erhöhung der Thrombozytenzahl um 90% (A) zur Folge. Auf die Wirkung einer Röntgendosis von 300 r (10 Mäuse) kam eine bedeutende Verminderung der Thrombozytenzahl zu stande, die am 10. Tage 61% ausmachte (B). Wurde 24 h vor der Röntgenbestrahlung eine UV-Behandlung angesetzt (10 Mäuse), so ergab sich anstatt des Abfalls am 10. Tage ein Anstieg um 21% (C).

Tabelle I enthält die auf die Sterblichkeit der mit 500, 550 und 600 r bestrahlten Mäuse bezüglichen Daten. Es wurde ein Vergleich zwischen der Mortalität von nur röntgenbestrahlten Mäusen und solchen, die 48 und 24 h zuvor UV-bestrahlt worden waren, angestellt. Der Unterschied ist nur in der mit 550 r bestrahlten Gruppe, in der die Zahl der untersuchten Tiere am kleinsten war, nicht signifikant (Tabelle I). Auch der Durchschnittswert der Überlebenstage ist bei der UV-vorbehandelten Gruppe grösser (Tabelle II).

*Besprechung.* Die 24 h vor der Röntgenirradiation angewandte UV-Behandlung verhindert die durch 300 r ver-

ursachte Thrombopenie. Es lag auf der Hand, auch die Wirkung der UV-Behandlung auf die Sterblichkeit von grossen Röntgendifosen ausgesetzten Mäusen zu untersuchen. Die 48 bzw. 24 h vor der Röntgenbestrahlung vorgenommene UV-Behandlung verbessert die Überlebenserwartung der Tiere wesentlich und erhöht die Durchschnittszahl der Überlebenstage.

Von den zahlreichen Strahlenschutzmitteln sind vor allem die Sulphydryl- (SH-)Gruppen enthaltenden Verbindungen (Cystein, Glutathion und Cysteamin) und die protektive Wirkung der Knochenmarktransplantation bekannt<sup>5</sup>. SZENES und VASVÁRI<sup>6</sup> erzielten mit parenteraler Azulenol-Vorbehandlung eine 31prozentige Herabsetzung der Mortalität ihrer röntgenbestrahlten Mäuse. HOLLÓ und ZLATAROV<sup>7</sup> stellten einen Schutzeffekt von nach der Röntgenbestrahlung gegebenen Selensalzen fest. Neuerdings sind ausgedehnte Untersuchungen mit Serotonin angestellt worden. Besonders LANGENDORFF et al.<sup>8</sup>



Effekt der UV-, Rtg- und kombinierten Bestrahlung auf die Thrombozytenzahl weisser Mäuse.

Tab. I. Die Wirkung vorangegangener UV-Behandlung auf die Sterblichkeit röntgenbestrahlter Mäuse

| Rtg-Dosis (r) | Rtg-Zahl | Rtg tot in 30 Tagen | Rtg + UV Zahl | Rtg + UV tot in 30 Tagen | Faktor |
|---------------|----------|---------------------|---------------|--------------------------|--------|
| 500           | 70       | 51 = 73%            | 69            | 29 = 42%                 | 1,74   |
| 550           | 22       | 20 = 91%            | 22            | 17 = 77%                 | 1,18   |
| 600           | 27       | 27 = 100%           | 27            | 22 = 81,5%               | 1,23   |

Tab. II. Durchschnittliche Lebensdauer in Tagen

| Rtg-Dosis | Rtg | Rtg + UV |
|-----------|-----|----------|
| 500 r     | 16  | 20,2     |
| 550 r     | 8,6 | 14,5     |
| 600 r     | 6,7 | 12,8     |

<sup>1</sup> I. CSERHÁTI und K. RÁK, Z. ges. exp. Med. 133, 138 (1960).

<sup>2</sup> I. CSERHÁTI, F. KRIZSA und K. RÁK, Nature 190, 544 (1961).

<sup>3</sup> I. CSERHÁTI, F. KRIZSA und K. RÁK, in Vorbereitung.

<sup>4</sup> W. FISCHER und W. D. GERMER, Röntgen-Lab. Praxis 10, 49 (1957).

<sup>5</sup> C. C. CONGDON, *Progress in Hematology* (Ed. Tocantins, Grune-Stratton, New York-London 1959), p. 21.

<sup>6</sup> T. SZENES und J. VASVÁRI, Magyar Radiol. 7, 206 (1955).

<sup>7</sup> Z. M. HOLLÓ und Sz. ZLATAROV, Naturwissenschaften 47, 328 (1960).

<sup>8</sup> H. LANGENDORFF, H. J. MELCHING und H. A. LADNER, Strahlentherapie 108, 251 (1959).

haben sich mit der Strahlenschutzwirkung des Oxytryptamins und Reserpins beschäftigt.

Wir wollen nicht behaupten, dass in der protektiven Wirkung der auf die Hämapoese – oder isoliert auf die Thrombozytopoese – entfaltete Effekt der UV-Bestrahlung der entscheidende Faktor ist, höchstwahrscheinlich handelt es sich um eine Komplexwirkung. Da aber im Zustandekommen des Bestrahlungssyndroms bzw. des Strahlentodes der geschädigten Hämapoese eine wesentliche Rolle zukommt, ist anzunehmen, dass an der günstigeren Gestaltung der Überlebensverhältnisse bei den UV-behandelten Tieren möglicherweise auch die thromboopoetische Wirkung der UV-Strahlung mitbeteiligt ist.

Um einen näheren Einblick in den Wirkungsmechanismus der UV-Strahlung zu gewinnen, soll einerseits die Wirkung der zu verschiedenen Zeitpunkten angewandten kombinierten Behandlung und andererseits der Effekt des

vor der Röntgenbestrahlung gegebenen – den UV-thromboopoetischen Serumfaktor enthaltenden – Serums auf die Mortalität röntgenbestrahlter Mäuse untersucht werden.

*Summary.* 300 r whole body X-ray irradiation of mice did not decrease the circulating platelet count, if this dose was preceded by 24 h of ultraviolet-irradiation. More animals survived the X-ray (500, 550, 600 r) injury, if the irradiation occurred after ultraviolet treatment given 24 and 48 h before. The number of days survived is also increased. The ultraviolet light seems to have some protective effect against injury caused by X-ray.

K. RÁK, F. KRIZSA,  
E. SÖVÉNYI und I. CSERHÁTI

*I. Innere Klinik und Röntgenklinik der Medizinischen Universität Szeged (Ungarn), 12. Juni 1961.*

### Changes of Ultrafiltrable Hydroxyproline in Blood Serum during Development of Carrageein Granuloma and during Aging of Rats and Guinea-Pigs

Free hydroxyproline (HYPRO) is a constant component of animal tissues as well as of biological liquids<sup>1-6</sup>. Equally peptides containing HYPRO were proved by us to exist in different tissues<sup>7-9</sup>. In this study we present proofs of their presence and changes in serum of rats and guinea-pigs during aging and the development of carrageein granuloma in the subcutis of guinea-pigs.

KIVIRIKKO and LIESMAA<sup>10</sup> did not find changes of the content of free HYPRO in serum in two age groups of rats, although the growth hormon increased its level in the serum. HOUCK and JACOB<sup>11</sup> proved that, parallel with the decrease of collagen content in the necrotic area of the skin after croton oil, an increase of serum HYPRO takes place. It would seem, therefore, that HYPRO has its origin in the degraded collagen of skin. This is the reason why we were interested in how free and peptide-HYPRO change in the course of formation and also in the following resorption of collagen in carrageein granuloma. That is why the substances mentioned were examined simultaneously with the analysis of the serum also in the granulation tissue.

*Method.* The serum of the animals was deproteinated by high pressure ultrafiltration with Nojax Cellulose Casings Visking Corp. membrane at a temperature of 1–2°C and pressure of 7 atm. for a total time of approximately 17 h. In deproteinated serum, the content of HYPRO was determined before and after the hydrolysis (6 N-HCl, 140°, 3 h). In this way, the content of free and total ultrafiltrable HYPRO<sup>12</sup> was determined. From the difference, we determined the peptidic HYPRO.

The blood serum for the particular determinations mentioned was pooled from blood of 2–3 guinea-pigs or rats.

The granulation tissue of the subcutis of adult guinea-pigs (350–550 g) was analysed on certain days after the subcutaneous injection of carrageein for the concentration of deoxyribonucleic acid, free HYPRO, HYPRO bound in peptides and collagen proteins<sup>7,8</sup>.

*Results.* The content of ultrafiltrable HYPRO in the serum of rats and guinea-pigs decreases during aging (Table). There occurs a decrease of free HYPRO, as well as of peptides with HYPRO which we did not find in the serum of adult animals at all or only in traces. The average concentration of ultrafiltrable HYPRO in adult animals is 4 µg/ml serum, in old animals 1–2 µg/ml serum.

The changes of serum ultrafiltrable HYPRO during development of granuloma in adult guinea-pigs are shown in the Figure where, for the sake of comparison with changes in the same biochemical indices, the changes in the granuloma are indicated at the upper part of the graph. It is evident that the pronounced increase of ultrafiltrable HYPRO is caused mainly by the presence of peptides with HYPRO in the serum. The changes in the serum go chronologically parallel with the changes of the substances studied in the granulation tissue, e.g. the maximal changes occur between the 6th and 10th day after the application of carrageein. The value of the compounds studied in the serum are statistically significantly increased on the 6th to 10th day ( $P < 0.01$ ) compared with the values from the 2nd to 3rd and the 16th to

Changes in serum ultrafiltrable hydroxyproline-free and conjugated—in rats and guinea-pigs of different age

| Age                | Hydroxyproline µg/ml |          |           |
|--------------------|----------------------|----------|-----------|
|                    | free                 | combined | total     |
| <b>Rats</b>        |                      |          |           |
| 1 month            | 10.2                 | 2.4      | 12.6      |
| 2 months           | 7.5                  | 1.5      | 9.0       |
| 12 months          | 4.2                  | 0        | 4.2       |
| 18 months          | 2.0                  | 0        | 2.0       |
| <b>Guinea-pigs</b> |                      |          |           |
| 200–300 g          | 4.6                  | 0.8      | 5.4 ± 0.7 |
| 350–500 g*         | 4.0                  | 0        | 4.0       |
| 700–900 g          | 1.5                  | 0        | 1.5       |

\* Used as controls for carrageein granuloma—see Figure.

<sup>1</sup> M. CHVAPIL, Physiol. Bohemoslov. 8, 186 (1959).

<sup>2</sup> M. CHVAPIL, Physiol. Bohemoslov. 7, 391 (1958).

<sup>3</sup> B. B. WESTFALL, E. V. PEPPERS, K. K. SANFORD, and W. R. EARLE, J. Nat. Cancer Inst. 15, 27 (1954).

<sup>4</sup> G. BISERTE, A. BRETON, and G. FONTAINE, Arch. Franc. Ped. 12, 988 (1955).

<sup>5</sup> M. ZIFF, A. KIBRICK, E. DRESNER, and H. J. GRIBETZ, J. clin. Invest. 35, 579 (1956).

<sup>6</sup> A. SJOERDSMA, J. D. DAVIDSON, S. UDENFRIEND, and CH. MITOMA, Lancet 2, 994 (1958).

<sup>7</sup> M. CHVAPIL and B. ČMUCHALOVÁ, Nature 186, 4727 (1960).

<sup>8</sup> V. KOBRE and M. CHVAPIL, Nature (in print).

<sup>9</sup> M. CHVAPIL and B. ČMUCHALOVÁ, Exp. Med. Surg. (in print).

<sup>10</sup> K. I. KIVIRIKKO and M. LIESMAA, Acta Endocrinol. 27, 441 (1958).

<sup>11</sup> J. C. HOUCK and R. A. JACOB, Amer. Surgeon 25, 344 (1959).

<sup>12</sup> H. STEGEMANN, Hoppe-Seylers Z. 311, 41 (1958).