

but remains at a plateau until midway along the length of the organ, at which point the activity drops steadily. These 3 enzymes correlate best with the density of electroplaques and membranes, which have been shown to have similar gradients^{6,7}.

The activity of LDH tends to decrease along the length of the organ, but slopes more gradually than the other enzymes. Subcellular fractionation studies (Table) reveal that the latter enzyme is soluble and not membrane bound. Although the density of cells along the length of the organ decreases rapidly in a caudal direction, the cells become larger in size near the caudal end⁷. In fact, the cells are sufficiently large in the organ of Sachs to allow measurements on single cells^{17,18}. Therefore, along the length of the electric organ, there is a smaller decrease in the intracellular content compared to the decrease in the cellular and membrane density. The distribution of LDH

resembles that of succinic dehydrogenase⁷ and both enzymes probably reflect intracellular content along the electric organ.

The organ of Sachs contains the lowest activities of all 4 enzymes studied. Calculation of the enzyme activities in terms of protein concentration yielded similar qualitative results. This study also demonstrates that the rostral part of the main organ is the preferable region in the preparation of Na⁺-K⁺-ATPase, AChE and ChAc from electric eels.

Résumé. La distribution des activités de la Na⁺-K⁺-ATPase, de l'acétylcholinestérase et de la cholineacétylase correspond à la densité des membranes le long de l'organe électrique. La plus haute concentration des activités enzymatiques ainsi que le plus grand nombre de membranes se trouvent dans la partie rostrale et tous 2 diminuent vers la partie caudale. La diminution de l'activité de la déshydrogénase lactique est plus graduelle dans le sens rostro-caudal et ceci correspond probablement au contenu intracellulaire le long de l'organe électrique. C'est dans l'organe de Sachs que l'activité des 4 enzymes étudiées est la plus basse.

S. FAHN

Department of Neurology, Columbia University, College of Physicians and Surgeons, New York (N.Y. 10032, USA), 15 January 1968.

The specific activities of 3 enzymes from the subcellular fractionation of the main organ of *Electrophorus electricus*

Fraction	Na ⁺ -K ⁺ -ATPase μmoles Pi h-mg prot.	AChE μmoles AcSCh hydrolyzed min-mg prot.	LDH μmoles NAD ⁺ min-mg prot.
NUC	33.0	23.4	0.55
MIT	39.3	25.5	0.53
MIC	59.4	64.0	0.56
SUP	0.56	4.7	5.84

The assay methods were as described in the text with the exception that the various fractions were appropriately diluted to yield uniform results.

¹⁷ E. SCHOFFENIELS, Ann. N.Y. Acad. Sci. 81, 285 (1959).

¹⁸ A. KARLIN and E. BARTELS, Biochim. biophys. Acta 126, 525 (1966).

Stimulation und Depression der Phagozytoseaktivität des retikulo-endothelialen Systems nach Röntgenbestrahlung

Die Phagozytoseaktivität des retikulo-endothelialen Systems (RES) nach Ganzkörper-Röntgenbestrahlung (GKB) ist nicht geklärt. Mit verschiedenen Methoden wurden entweder keine oder nur geringe, insignifikante Veränderungen gefunden (Literatur bei¹). Mit dem Kohle-Test (carbon clearance²) haben wir einen starken Phagozytose-Anstieg bei Mäusen festgestellt³. Zur gleichen Zeit berichteten FRED et al.⁴ über eine Depression; sie haben ebenfalls Mäuse und den Kohle-Test benutzt, aber höhere Kohledosen angewandt. Es erschien deshalb notwendig, die Frage der Phagozytoseänderungen nach GKB nochmals eingehend zu prüfen.

Methodik. Weisse Mäuse, NMRI. 90 R/min; 200 kV, 15 mA. Bestimmung des Phagozytose-Index K und des korrigierten Phagozytose-Index α nach i.v. Injektion einer Kohlesuspension². In einer ersten Versuchsreihe wurden nach Biozzi² 8 oder 16 mg Kohle/100 g Körpergewicht injiziert, in einer zweiten Versuchsreihe (Modifikation nach FRED⁴) 45 mg Kohle/100 g Körpergewicht.

Versuchsergebnisse. (1) Stimulation (8–16 mg Kohle pro 100 g): (1) Bei 30 Tage alten Mäusen stiegen die Werte für K und α am 4. Tag nach 750 R (DL 90/30) stark an und blieben bis zum 10. Tag erhöht (Tabelle). Das Maximum des Anstiegs lag zwischen dem 4. und 7. Tag. (2) Der

Phagozytose-Anstieg war schon nach 250 R nachzuweisen. Er war zwischen 250 und 750 R dosisabhängig. 750 R und 1000 R zeigten keinen Wirkungsunterschied. (3) Die Strahlenwirkung war altersabhängig: der Anstieg trat bei 45 und 60 Tage alten Mäusen 2 bis 3 Tage später auf als bei 30 Tage alten Tieren. (4) Der Phagozytose-Anstieg schien um so grösser zu sein, je stärker die klinischen Symptome der Strahlenkrankheit ausgeprägt waren. (II) Depression (45 mg Kohle/100 g): Nach 750 R war die Phagocytose vom 1. bis 4. Tag herabgesetzt. Am 2. und 3. Tag war die Depression signifikant: unbestrahlte Kontrolltiere K = 0,0082, bestrahlte Tiere K = 0,0056 (je 10 Mäuse, Mittelwerte).

¹ K. FLEMMING und CH. FLEMMING, J. Reticuloendothelial Soc., im Druck (1968).

² G. BIOZZI, B. BENACERRAF und B. N. HALPERN, Br. J. exp. Path. 34, 441 (1953).

³ CH. FLEMMING und K. FLEMMING, 3rd Int. Congr. Radiat. Res., Cortina d'Ampezzo 1966 (Book of Abstracts, Abstr. Nr. 333), p. 85.

⁴ R. K. FRED, L. S. KELLY, E. L. DOBSON und M. L. SHORE, 3rd Int. Congr. Radiat. Res., Cortina d'Ampezzo 1966 (Book of Abstracts, Abstr. Nr. 343), p. 87.

Folgerungen. (1) Es hängt von der Kohledosis ab, ob nach GKB eine Stimulation oder eine Depression der Phagozytoseaktivität im RES gemessen werden kann. Durch die beiden verschieden hohen Kohledosen werden also 2 verschiedene Eigenschaften der Phagozyten erfasst. (2) Mit 8–16 mg Kohle wird die Geschwindigkeit der Aufnahme von Kohle in die Phagozyten gemessen. Die Abhängigkeit der Phagozytosestimulation von der Strahlendosis und dem Alter der Mäuse sowie ihr zeitlicher Ver-

lauf (Beginn, Maximum) weisen auf eine ursächliche Beziehung zur Strahlenkrankheit hin. Vermutlich treten infolge Darmschädigung bakterielle Endotoxine in das Blut über; solche Endotoxine haben eine starke phagozytosesteigernde Wirkung⁵. (3) Mit 45 mg Kohle wird die Kapazität der Phagozyten für Kohle gemessen. Die schon vor Beginn der Strahlenkrankheit als Phagozytoseherabsetzung nachweisbare Leistungsminderung der Phagozyten ist die Folge einer Strahlenschädigung der Zellen⁶.

Summary. The effect of X-irradiation on the phagocytic activity of the RES depends on the carbon dose. Using small doses a stimulation was found; this indicates an increased velocity of carbon uptake by the phagocytes. Using high doses a depression was found indicating a decreased phagocytic capacity of the cells.

K. FLEMMING

*Radiologisches Institut der Universität Freiburg i. Br.,
Abteilung Pharmakologie und Strahlenbiologie
im Heiligenberg-Institut, 7799 Heiligenberg/Baden
(Deutschland), 22. Januar 1968.*

⁵ K. FLEMMING, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 250, 248 (1965).

⁶ Die Untersuchungen wurden durch Mittel des Bundesministeriums für wissenschaftliche Forschung (St. Sch. 186/66, 67) gefördert.

Phagozytose-Anstieg bei röntgenbestrahlten Mäusen

Tage nach Bestrahlung	Phagozytose-Index K	α
2	0,043	6,26
4	0,068 ^a	8,85 ^a
5	0,088 ^b	8,58 ^a
7	0,077	7,96
9	0,057	7,22
Kontrolle unbestrahlt	0,034	5,40

Ganzkörperbestrahlung, 750 R. «carbon clearance», 8 mg Kohle/100 g Körpergewicht Varianzanalyse. Mittelwerte. s_x für K = $\pm 0,007$, für α = $\pm 0,36$. ^a $P < 0,05$; ^b $P < 0,01$.

Biochemical Changes in 9,10-Dimethyl-1,2-Benzanthracene Painted Mouse Skin

Marked changes in the acid mucopolysaccharide pattern have been observed in dermal connective tissue submitted to painting with the carcinogen 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene (DMBA)^{1,2}. Using methylcholantrene topically, others³ found no significant changes in dermal hydroxyproline, tyrosine, hexoses, hexosamine, and uronic acid of mice and rabbits throughout the entire course of their carcinogenesis studies.

The present paper deals with biochemical changes after DMBA painting of the skin of ST/Eh female mice, specifically in the content of water, hydroxyproline, hexosamine and uronic acid.

Materials and methods. Forty young female mice aged 6 weeks and weighing about 20 g each were divided into 3 experimental and 2 control groups. 8 mice served as untreated controls (group I). 8 animals were painted on the abdominal skin with 0.05 ml thiophene-free benzene once a week for 6 weeks (group II). 24 mice (groups III, IV and V) were painted on the abdominal skin with 0.05 ml of 0.5% DMBA in benzene once a week for 4, 8 and 12 weeks. 48 h before sacrifice, each mouse received 0.2 mCi/0.2 ml of ³⁵S in sterile water i.p. After sacrifice the skin was dissected off the underlying tissue. Samples of about 2 × 1 cm were removed from the painted area and weighed immediately. The water content was determined by the difference in weights before and after drying. The samples were defatted by acetone and ether.

20–40 mg of dried, defatted skin was homogenized in 25 ml of 0.5N NaOH in a 'VirTis 45' homogenizer for 14 min in an ice bath. Acid mucopolysaccharides were extracted at 4°C for 24 h and isolated as described by BOLLET et al.⁴. Determinations of uronic acid were carried

out by the carbazole⁵ and orcinol methods⁶ converted to a microscale according to MARCKMANN⁷. The total content of mucopolysaccharides were estimated by determination of the content of hexosamine on the original tissue homogenate, as described by KIRK and DYRBYE⁸ and DYRBYE⁹, using the ELSON and MORGAN procedure modified by BOAS. The content of hydroxyproline, representing the amount of collagen, was determined on the original tissue homogenate by the method of NEUMAN and LOGAN as modified by MARTIN and AXELROD¹⁰. All biochemical analyses were performed in duplicate, and simultaneously on control and experimental skin samples. Reproducibility experiments gave a recovery of 81.9% with the carbazole, 95.4% with the orcinol, and 98.1% with the hydroxyproline method.

Electrophoretic separation and identification of acid mucopolysaccharides in alkaline extracts of powdered

¹ G. PRODI, Br. J. Cancer 17, 504 (1963).

² G. PRODI and R. DAVID, J. Biochem. 13, 157 (1964).

³ R. FLEISCHMAJER and J. V. LARA, Acta derm. vener., Stockh. 46, 338 (1966).

⁴ A. J. BOLLET, D. V. ANDERSON and W. F. SIMPSON, J. clin. Invest. 37, 858 (1958).

⁵ Z. DISCHE, J. biol. Chem. 167, 189 (1947).

⁶ A. H. BROWN, Archs Biochem. 11, 269 (1946).

⁷ A. MARCKMANN, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 119, 794 (1965).

⁸ J. E. KIRK and M. O. DYRBYE, J. Geront. 11, 273 (1956).

⁹ M. O. DYRBYE, J. Geront. 14, 32 (1959).

¹⁰ C. J. MARTIN and A. E. AXELROD, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 83, 461 (1953).