

completely and the fat bodies dissected as fast as possible, they will not contain any carotenoids. On the other hand if the fat bodies are allowed to stay in contact with some residues of the haemolymph for a few minutes, the carotenoids will immediately be adsorbed by the fat bodies. Findings concerning the presence of carotenoids in fat bodies of insects^{3,16} should therefore be treated with a certain amount of criticism.

Zusammenfassung. Die Hämolymphe der Raupe des Mopanifalters *Gonimbrasia belina* enthält karotinoide Farbstoffe, die durch Extraktion mit Methanol-Chloroform isoliert und durch Säulen- sowie Dünnschicht-

chromatographie gereinigt wurden. Zwei Farbstoffe wurden gewonnen, die α -Carotin und Xanthophylester sein können. Diese Farbstoffe sind auch im Hauptpigment sowie im Darmkanal, nicht aber in den Fettkörpern vorhanden.

S. H. W. CMELIK

Department of Biochemistry,
University College of Rhodesia,
Salisbury (Rhodesia), 6 July 1969.

¹⁶ M. FAWZI, H. OSMAN and G. H. SCHMIDT, *Biochem. Z.* 334, 441 (1961).

Chemische Sensibilisierung der Strahlenschädigung bei Rattenembryonen

Es interessierte uns die Frage, ob embryonale Schädigungen, die mit kleinen Strahlenmengen ausgelöst werden, durch Chemikalien beeinflusst und vielleicht sogar verstärkt werden. Als mutmasslichen Strahlensensibilisator wählten wir Jodazetamid (JAA), das für seine strahlensensibilisierende Wirkung bei Mikroorganismen¹⁻⁵, Säugerzellen⁶⁻⁸ und Säugetieren⁹ bekannt ist. Zudem zeigten Experimente an Mitochondrien¹⁰, dass JAA die strahleninduzierte Hemmung des P/O-Quotienten verstärkt und somit auf den Energiestoffwechsel einwirkt, der für die Erholung von Strahlenschädigungen bedeutsam ist.

Material und Methode. (Näheres siehe MICHEL in Publikation.) Bestrahlt wurden in utero 9tägige Rattenembryonen, die sich in bezug auf Missbildungen in einem sehr sensiblen Stadium befinden. Die Festsetzung des Embryonalalters erfolgte durch die Vaginalpfropfmethode. Für die Bestrahlung verwendeten wir Strahledosen von 12 $\frac{1}{2}$, 25, 50 und 100 R (200 keV, 12 mA, 1 mm Al- + 0,5 mm Cu; 36,5 R/min, Fokusabstand 40,7 cm). Eine Stunde vor Bestrahlung wurde Jodazetamid i.p. (0,925 mg/kg Körpergewicht) injiziert. Am 13. Tag der Tragzeit wurden die Muttertiere getötet und die Feten makroskopisch und mikroskopisch untersucht. Gleichzeitig wurden die Zahl und Lage toter Implantationen ermittelt.

Resultate. Bei den Experimenten mit JAA und Bestrahlung (12 $\frac{1}{2}$ –100 R) traten unter 246 Implantationen total 36 (14,5%) postimplantative Todesfälle auf (Tabelle I).

Nach alleiniger Röntgenbestrahlung waren von 235 Implantationen nur 19 (8,1%) abgestorben. Die Injektion von JAA vor der Bestrahlung führte zu einer signifikanten Erhöhung der strahlenbedingten Letalität ($\chi^2=$

4,111 bei $P < 0,05$). In bezug auf die Lage der abgestorbenen Früchte zeigte sich interessanterweise, dass in Ovarnähe mehr Resorptionen auftraten als in der Mitte oder am Vaginalende des Uterus ($\chi^2 = 6,007$ bei $P < 0,05$).

Bei kleinen Strahledosen liessen sich makroskopisch vor allem Augenanomalien feststellen, die daher als Hauptkriterium für Strahlenschädigung bewertet wurden. Sowohl Mikrophthalmie als auch Anophthalmie wurden beobachtet. Bei Mikrophthalmie liess sich jedoch eine eindeutige Klassifizierung erst durch mikroskopische Messung durchführen.

Neben Augenmissbildungen traten auch vereinzelte Kopfabnormitäten (Höckerbildungen, Mikrozephalie und andere) auf. Es zeigte sich, dass die alleinige Applikation von JAA nur in einem von 73 Feten eine Augenschädigung hervorrief (Tabelle II).

¹ C. J. DEAN und P. ALEXANDER, *Nature* 196, 1324 (1962).

² C. J. DEAN und P. ALEXANDER, *Progr. biochem. Pharmac.* 7, 46 (1965).

³ P. ALEXANDER, J. T. LETT und C. J. DEAN, *Progr. biochem. Pharmac.* 7, 22 (1965).

⁴ D. L. DEWEY und B. D. MICHAEL, *Biochem. biophys. Res. Comm.* 27, 392 (1965).

⁵ D. K. MYERS und T. KARAZIN, *Rad. Res.* 35, 612 (1968).

⁶ M. QUINTILIANI, E. STROM, M. BIANCHI und M. BOCCACCI, *International Atomic Energy Agency Vienna*, 295 (1962).

⁷ M. R. BIANCHI, M. BOCCACCI, M. QUINTILIANI und E. STROM, *Progr. biochem. Pharmacol.* 7, 384 (1965).

⁸ D. K. MYERS und DONNA E. SLADE, *Rad. Res.* 30, 186 (1967).

⁹ H. MOROSON und H. A. SPIELMAN, *Int. J. Radiat. Biol.* 17, 87 (1966).

¹⁰ H. FRITZ-NIGGLI, *Experientia* 22, 666 (1966).

Tabelle I. Wirkungen von Jodazetamid und Röntgenstrahlen beim 9tägigen Embryo

Kriterien	Ko	JAA	12 $\frac{1}{2}$ R	JAA + 12 $\frac{1}{2}$ R	25 R	JAA + 25 R	50 R	JAA + 50 R	100 R	JAA + 100 R
Total Implantationen	103	76	54	54	62	51	60	61	59	80
Implantation/Tier	12,8	12,6	10,8	10,8	12,4	10,2	12,0	12,2	11,8	11,4
Anzahl lebender Feten	98	73	50	52	60	41	54	54	52	63
% lebende Feten	95,1	96,0	92,6	96,3	96,7	80,4	90,0	88,5	88,1	78,8
Postimplantative Resorptionen	5	3	4	2	2	10	6	7	7	17
% postimplantative Resorptionen	4,8	3,8	7,1	3,5	3,1	17,8	10,0	11,1	11,5	20,5
Feten ohne sichtbare Missbildungen	98	72	49	47	55	31	42	29	5	2
%-Werte	100	98,6	98,0	90,3	91,6	75,6	77,7	53,7	9,6	3,2
Anzahl geschädigte Feten	—	1	1	5	5	10	12	25	47	61
% geschädigte Feten	—	1,4	2,0	9,6	8,3	24,4	22,2	46,2	90,4	96,8

Injektion von JAA (0,925 mg/kg Körpergewicht) 1 h vor Bestrahlung. Makroskopische Missbildungen und Resorptionen 13tägiger Feten.

Tabelle II. Mikroskopische Untersuchung von 13tägigen Feten, 4 Tage nach Bestrahlung mit oder ohne JAA-Behandlung

Kriterien	Ko	JAA	12 $\frac{1}{2}$ R	JAA + 12 $\frac{1}{2}$ R	25 R	JAA + 25 R	50 R	JAA + 50 R	100 R	JAA + 100 R
Untersuchte Feten	98	73	50	52	60	41	54	54	52	63
Feten mit Augenschädigungen	—	1	1	5	4	8	12	25	47	61
% Augenschäden	—	1,4	2,0	9,6	6,7	19,6	22,2	46,2	90,4	96,8
% Anophthalmie beidseitig	—	—	—	—	—	—	—	1,8	25,0	28,6
% Anophthalmie einseitig	—	—	—	—	—	—	—	1,8	5,7	11,1
% Mikrophthalmie beidseitig	—	—	—	7,7	3,3	9,8	14,8	20,4	55,7	54,0
% Mikrophthalmie einseitig	—	1,4	2,0	1,9	3,3	9,8	7,4	22,2	9,6	14,3

Nach 25 R erhöhte sich der Anteil an Augenanomalien von 6,7 auf 19,6%, wenn vor der Bestrahlung JAA injiziert wurde ($P < 0,05$). Auch beim 50-R-Versuch führte JAA zu einer signifikanten Steigerung der Anzahl Augenschädigungen von 22,2 auf 46,2% ($P < 0,05$). Aus diesen Ergebnissen lässt sich schliessen, dass JAA als Strahlensensibilisator wirkt. Bei den 12 $\frac{1}{2}$ -R- und 100-R-Versuchen ist die Erhöhung der Schädigungsfrequenz durch JAA statistisch nicht gesichert.

Am häufigsten fanden wir Mikrophthalmie als Augenmissbildung. Die Frage, ob bei einseitiger Schädigung die eine Gesichtshälfte bevorzugt betroffen wird, ergab kein eindeutiges Ergebnis. Immerhin betrug die Frequenz von rechtsseitiger Mikrophthalmie 22 Fälle gegenüber 16 auf der linken Seite. MAJIMA¹¹ fand bei Mäuseembryonen nach Bestrahlung mit kleinen Strahlenmengen, dass einseitige Mikrophthalmie auch eher auf der rechten Seite erscheint, konnte diesen Befund aber ebenfalls statistisch nicht sichern.

Neben den aufgeführten grobmorphologischen Abweichungen traten auch feinere Veränderungen auf zellulärer Ebene ein. Der sensibilisierende Einfluss des JAA auf Röntgenstrahlen ist auch bei der Entstehung von chromosomalen Anomalien deutlich erkennbar (Figur 1). Untersuchungen von abnormen Anaphasen mit Chromosomenbrücken in der ventrikulären Zone der Vorderhirnwand ergaben in der 50-R-Versuchsgruppe eine signifikante Zunahme der Aberrationen durch Vorbehandlung mit JAA ($\chi^2 = 11,141$ bei $P < 0,001$). JAA allein verursachte keine Erhöhung der Zahl irregulärer Anaphasenzellen gegenüber der Kontrolle. Die Frequenz von Brückenbildungen bei unbehandelten Feten war mit übrigens 8,42% erstaunlich hoch.

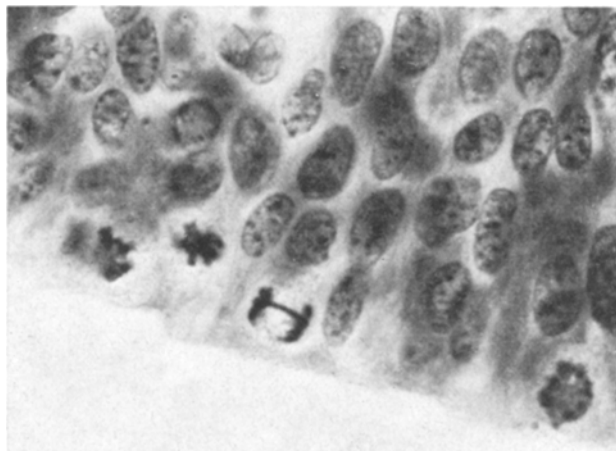


Fig. 1. Chromosomenbrücke in einer Anaphasenzelle der Vorderhirnwand nach Bestrahlung eines 9tägigen Embryos mit 25-R- und JAA-Behandlung vor Bestrahlung. $\times 1500$.

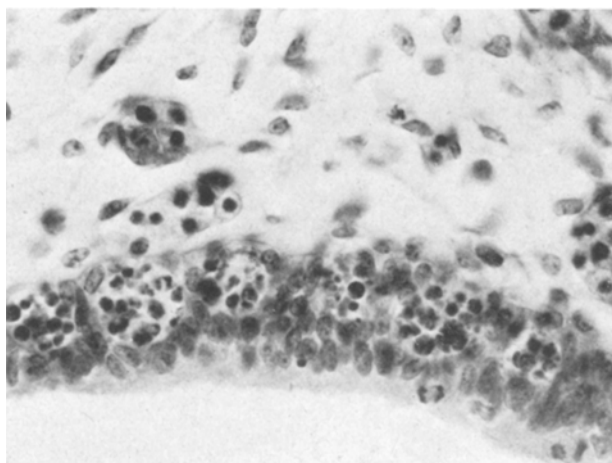


Fig. 2. Zelldegenerationen in der Vorderhirnwand eines 13tägigen Rattenfeten, bestrahlt als 9-d-Embryo mit 25 R.

An einer charakteristischen Stelle im Dach des Vorderhirns (zukünftiger Plexus chorioidei) traten regelmässige Zelldegenerationen auf (Figur 2). Auch in unbehandelten Feten liessen sich solche Zelluntergänge, allerdings in geringerem Ausmasse, nachweisen; was die Beurteilung einer allfälligen Zunahme der Nekroseintensität durch Bestrahlung erschwerte. Im Vergleich mit der Kontrolle stellten wir hingegen in der Retina sowohl auffällig verstärkte wie auch ausgedehntere Degenerationsvorgänge fest. Es konnte weiterhin eine direkte Beziehung zwischen Zerfallsgrad und Augengrösse beobachtet werden. Dies zeigt, dass Zelldegenerationen und Chromosomenanomalien in der Anormogenese eine entscheidende Bedeutung zukommt.

Der Effekt des Jodazetamids als Strahlensensibilisator kann auf verschiedenen Wirkungsmechanismen beruhen. Wir nehmen an, dass vor allem der Energiestoffwechsel in der Zelle betroffen wird¹². Dadurch kann ein unmittelbares Reparaturvermögen gehemmt oder gar verhindert werden.

Summary. A combined treatment involving a radiosensitizing chemical and low doses of X-rays was investigated. Small quantities of iodoacetamide can cause an increase in the radiation damages of rat embryos. The possibility of inhibition of postirradiation repair mechanisms is discussed.

CH. MICHEL und H. FRITZ-NIGGLI

Strahlenbiologisches Institut der Universität Zürich,
Zürich (Schweiz), 28. Juli 1969.

¹¹ A. MAJIMA, Nagaya J. med. Sci. 24, 85 (1961).

¹² H. FRITZ-NIGGLI und CH. MICHEL, im Druck.