

## Frühveränderungen am Epithel der Rattencornea nach $\beta$ -Bestrahlung

R. MACHEMER, P. SÜCHTING, R. SCHUSTER und W. WOLFERS

Universitäts-Augenklinik Göttingen (Direktor: Prof. Dr. W. HALLERMANN) und  
Radiologische Klinik der Universität Göttingen (Direktor: Prof. Dr. H. POPPE)

Eingegangen am 6. Juni 1966

Die Anwendung weicher  $\beta$ -Strahlen hat für die Oberflächentherapie in der Ophthalmologie weiter an Bedeutung gewonnen. Da als Indikationsgebiete für diese Strahlenbehandlung in erster Linie gutartige Veränderungen der Cornea und Conjunctiva in Betracht kommen, ist im Hinblick auf Schädigungsmöglichkeiten die Erweiterung der Kenntnis strahleninduzierter Gewebsveränderungen von besonderem Interesse.

Ziel der vorliegenden experimentellen Untersuchungen am Rattenauge war es, Auskunft über Einwirkungen von  $\beta$ -Strahlen auf Regenerationsvorgänge des Cornealepithels zu erhalten, und zwar nach Einwirkung von Strahlendosen, wie sie besonders bei der Behandlung von Vascularisationen der Cornea zur Anwendung kommen. Im Rahmen dieser Behandlung liegen die Einzelstrahlendosen in Bereichen von 600 rep, wobei Gesamtstrahlendosen von 6000 rep möglichst nicht überschritten werden (LEDERMAN).

Hinsichtlich der Auswirkung ionisierender Strahlen auf Proliferationsvorgänge von Geweben lassen sich als charakteristische Merkmale insbesondere Störungen der Mitoseaktivität (BUSCHKE, FRIEDENWALD u. FLEISCHMANN; SMELSER u. PFEIFFER; FRIEDENWALD u. SIGELMAN; TITARELLI u. VOZZA) und der DNS-Synthese (BOND, FLIEDNER u. CRONKITE; FLIEDNER, CRONKITE u. BOND; LAJTHA, OLIVER, BERRY u. NOYES; LAJTHA, OLIVER, KUMATORI u. ELLIS; QUASTLER u. SHERMAN) experimentell einmal durch die Mitosezählung und zum anderen durch autoradiographische Untersuchungen quantitativ erfassen.

Die Anwendung von tritiummarkiertem Thymidin als selektiver DNS-Vorstufe (BARTON) ermöglicht die Lokalisation und zahlenmäßige Ermittlung in der DNS-Synthese befindlicher Zellen, wobei die geringe Reichweite der  $\beta$ -Strahlung des Tritium von 1—2  $\mu$  in der Photoemulsion eine Zuordnung der in der Emulsion entstandenen Silberkörner zu markierten Zellkernen gestattet (Abb. 1).

Da die DNS-Synthese wesentlich länger dauert als die Mitose, stellen sich autoradiographisch weit mehr markierte, also in der DNS-Synthese befindliche, Zellen dar als Mitosen und ermöglichen so genauere Aussagen

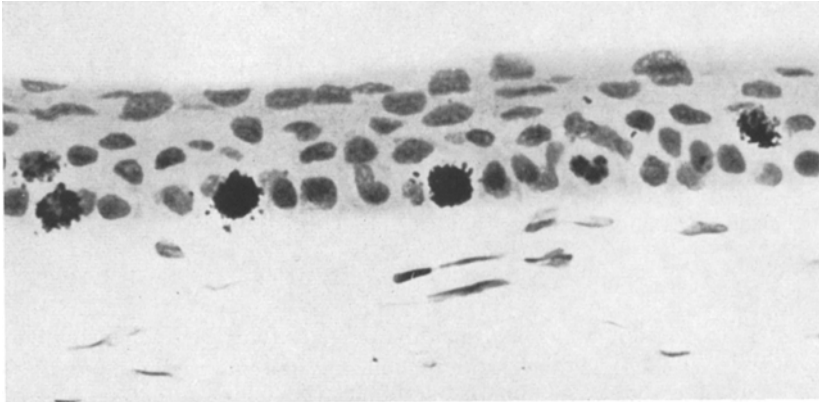


Abb. 1. In der Basalschicht des Hornhautepithels der Ratte liegen drei, in der zweiten Schicht zwei markierte Zellen als Zeichen stattgehabter DNS-Synthese. Außerdem ist in der Basalschicht eine Mitose erkennbar. Vergr. 690mal (zur Reproduktion auf 17/19 verkleinert)

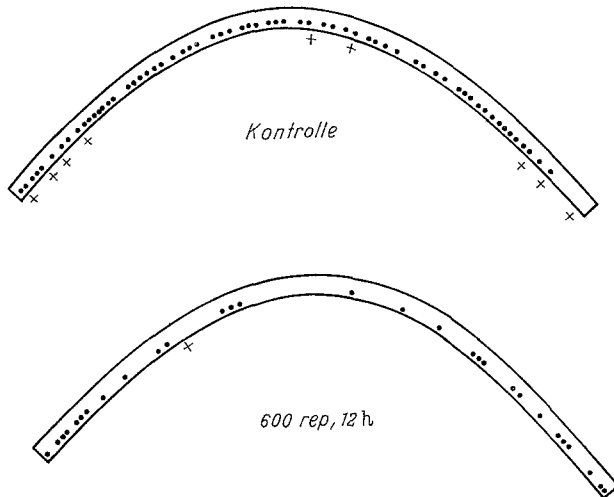


Abb. 2. Die halbschematische Zeichnung gibt alle markierten Zellen der Basalschicht eines histologischen Schnittes durch die Hornhautmitte durch Punkte (·) wieder. Die Mitosen sind durch Kreuze (+) symbolisiert. Es ist ersichtlich, daß 1. weitaus mehr markierte Zellen als Mitosen zu finden sind, 2. nach Bestrahlung mit 600 rep nach 12 Std eine starke Senkung der Zahl markierter Zellen stattgefunden hat. Mitosen sind nur noch ganz selten zu finden

hinsichtlich strahleninduzierter Störungen einzelner Phasen des Zellcyclus als die ausschließliche Beurteilung der Mitosetätigkeit (Abb. 2).

Am Cornealepithel des Rattenauges sollten durch Bestimmung der Mitosetätigkeit und autoradiographisch erfaßbarer Veränderungen der DNS-Synthese Aufschlüsse über Art und zeitlichen Verlauf strahleninduzierter Störungen innerhalb der ersten 18 Std nach Strahleneinwirkung gewonnen werden.

### Versuchsordnung

60 männliche, 3 Monate alte Wistar-Ratten eines Inzuchtstammes mit einem Gewicht um 170 g wurden bei Altromin-R-Fütterung und Wasser ad libitum in einem auf 18° C temperierten, dämmrigen Raum gehalten und in fünf gleiche Gruppen aufgeteilt. Vier zusätzliche Tiere dienten der Kontrolle. Bei je vier Tieren einer Gruppe wurden im Ätherrausch beide Augen in Form einer Kontaktbestrahlung mit 600, 2400 bzw. 6000 rep mit einem Strontiumapplikator bestrahlt (TRACERLAB, RA 1 A, Medical Applicator).  $\frac{1}{2}$ , 2, 6, 12 und 18 Std nach der Bestrahlung wurden die Tiere jeweils einer Gruppe getötet. Zwei Stunden vorher — bei den  $\frac{1}{2}$ - und 2 Std-Gruppen sofort im Anschluß an die Bestrahlung — erhielten die Kontrolltiere und die bestrahlten Tiere im Ätherrausch in die vordere Augenkammer nach Ablassen des Kammerwassers eine Injektion von 4  $\mu$ C 3-H-Thymidin (spez. Aktivität 5 mC/m Mol), das in 0,04 ml einer physiologischen Kochsalzlösung gelöst war. Die Punktion der Vorderkammer wurde bei vorluxiertem Bulbus mit einer 20iger Kanüle hinter dem Hornhautlimbus vorgenommen. Die Augen der durch Nackenschlag getöteten Tiere wurden möglichst schnell enukleiert und sofort für 24 Std in neutralem, gepufferten, 4%igem Formalin fixiert. Nach Aufarbeitung der Präparate über Alkohol, Methylbenzoat, Benzol und Einbettung in Paraffin wurden 5  $\mu$  dicke Schnitte senkrecht zur Hornhautoberfläche durch das Hornhautzentrum gelegt. Zur Anfertigung der Autoradiogramme diente die gelförmige Emulsion G 5 von ILFORD. Die Expositionszeit betrug 5 Tage. Mit Hämatoxylin wurden die Kerne durch die Emulsion schwach angefärbt (autoradiographische Technik angegeben bei OEHLERT, NETTESHEIM u. MACHEMER).

### Auswertung

Von jedem Auge wurden fünf Präparate mit dem größten Hornhautdurchmesser bei 1200facher Vergrößerung ausgewertet.

Gezählt wurde

1. die Anzahl der basal liegenden Zellen;
2. die Zahl der markierten Zellen in der Basalschicht;
3. die Zahl der Mitosen in der Basalschicht.

Für jede Versuchsgruppe wurde der Markierungsindex =

$$\frac{\text{Zahl der markierten Zellen}}{\text{Gesamtzahl der Zellen}} \text{ und der Mitoseindex =}$$

$\frac{\text{Zahl der Mitosen}}{\text{Gesamtzahl der Zellen}}$  in Prozentwerten errechnet. Alle angegebenen Werte sind die nach der Gauß-Verteilung errechneten Mittelwerte:

$$\bar{x} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i$$

Dazu wurde die jeweilige Standardabweichung  $\sigma$  ermittelt:

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$$

Als Signifikanzgrenze wurden 5% angenommen. Wenn die in den Abbildungen dargestellten Streubreiten sich nicht überlappen, besteht bei den vorhandenen Werten ein signifikanter Unterschied.

### Ergebnisse

(Bei allen Zahlenangaben handelt es sich um Mittelwerte; die jeweiligen Standardabweichungen sind den beigefügten Kurven zu entnehmen.)

In der basalen Zelllage des gesamten Hornhautepithels der Kontrolltiere beträgt der Markierungsindex 8,54%. Bis 6 Std nach der Bestrahlung des Hornhautepithels mit 600, 2400 bzw. 6000 rep weichen die Indices der drei bestrahlten Gruppen nicht signifikant von dem des

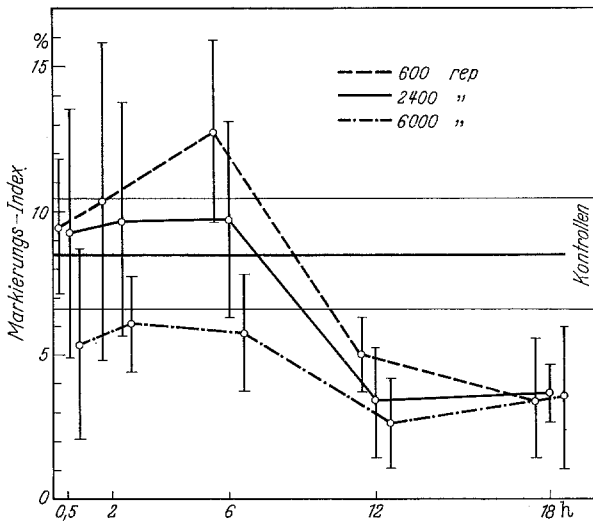


Abb. 3. Graphische Übersicht über die Markierungsindices der basalen Schicht des Hornhautepithels zu verschiedenen Untersuchungszeiten und nach verschiedenen Strahlendosen mit Angabe der Standardabweichung

Kontrollwertes ab. 12 Std nach der Bestrahlung sind alle Indices signifikant auf etwa die Hälfte des Kontrollwertes abgesunken: auf 5,01% nach 600 rep, 3,38% nach 2400 rep und auf 2,70% nach 6000 rep. Diese Werte haben sich 18 Std nach Strahleneinwirkung nur unwesentlich geändert (Abb. 3).

Im Kontrollversuch beträgt der Mitoseindex in der basalen Epithelschicht 1,30%.  $\frac{1}{2}$  Std nach Bestrahlung liegt der Mitoseindex aller Bestrahlungsgruppen bei 0,2%, ist also stark erniedrigt. Nach 2 Std ist er fast auf 0 abgesunken (die beiden in der Kurve eingetragenen Werte sind die einzigen Mitosen von 60 ausgezählten Hornhäuten). Von der 6 bis zur 18. Std werden bei den mit 600 rep bestrahlten Hornhäuten wieder Mitosewerte des unteren Kontrollbereiches erreicht, die bei 0,60% liegen. Verzögert setzt die Erholung ein bei den Hornhäuten, die mit 2400 rep bestrahlt wurden: Nach 12 Std liegen sie im unteren Kontrollbereich,

nach 18 Std sind sie wieder signifikant erniedrigt. Bei der 6000 rep-Gruppe werden nur ganz vereinzelt Mitosen gefunden. Ihre Zahl ist auch noch nach 18 Std signifikant erniedrigt (Abb. 4).

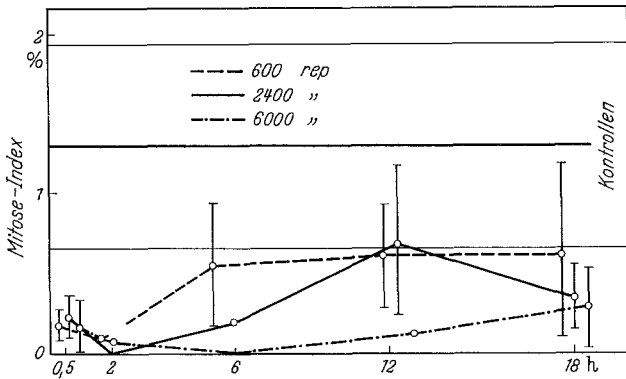


Abb. 4. Graphische Übersicht über die Mitoseindices der basalen Schicht des Hornhautepithels zu verschiedenen Untersuchungszeiten und nach verschiedenen Strahlendosen mit Angabe der Standardabweichung

Das bei den Kontrolltieren bestehende Verhältnis von Markierungsindex zu Mitoseindex beträgt im Mittel 7:1 und ändert sich vorwiegend in den ersten 6 Std bei den bestrahlten Hornhäuten zugunsten der Markierungen. In der Tabelle sind die Werte dieses Verhältnisses aufgeführt.

Tabelle. Darstellung des Verhältnisses von Markierungsindex zu Mitoseindex in den einzelnen Bestrahlungsgruppen und zu verschiedenen Untersuchungszeiten

	Std nach Bestrahlung					Kontrolle
	1/2	2	6	12	18	
	Markierungsindex					
	Mitoseindex					
600 rep	50:1	103:1	23:1	8:1	5:1	7:1
2400 rep	39:1	$\infty$ :1	49:1	5:1	10:1	
6000 rep	29:1	61:1	$\infty$ :1	19:1	12:1	

### Diskussion

#### 1. Unbestrahlte Kontrollen

a) *DNS-Synthese*. In der Kontrollgruppe beträgt der *Markierungsindex* der basalen Zellage des Hornhautepithels ( $8,54 \pm 1,91\%$ ). Dieser Wert entspricht unter Berücksichtigung der Standardabweichung dem von MACHEMER, SÜCHTING und SCHUSTER schon früher beobachteten Markierungsindex von ( $14,84 \pm 6,11\%$ ), während HANNA und O'BRIEN

einen Markierungsindex von 1,2% angeben. Dieser sehr niedrige Wert könnte auf der Verwendung einer weniger empfindlichen Photoemulsion: KODAK AR 10 beruhen. [Einen Hinweis in dieser Richtung gibt die Feststellung, daß unter Verwendung der sehr empfindlichen Emulsion ILLFORD G 5 erste Markierungen schon 15 min nach intracameraler Applikation des 3-H-Thymidin auftreten (SÜCHTING, MACHEMER und WELZ), während erste Markierungen bei HANNA und O'BRIEN sich erst nach 50 min fanden]. SCHULTZE, APPONI und NOVER geben den ebenfalls verhältnismäßig niedrigen Index von 4% an. Die letztgenannten Autoren führten ihre Untersuchungen jedoch nach *intraperitonealer* 90 min vor Tötung erfolgter 3-H-Thymidingabe durch, wobei sich wesentlich andere Verteilungsverhältnisse als nach *intracameraler* Applikation ergeben (SÜCHTING, MACHEMER u. WELZ).

*b) Mitose.* Der *Mitoseindex* der Basalschicht der Kontrollen ( $1,30 \pm 0,64\%$ ) liegt gegenüber früheren Befunden (MACHEMER, SÜCHTING u. SCHUSTER:  $0,58 \pm 0,1\%$ ) etwas höher. SCHULTZE, APPONI und NOVER geben 0,62%, FRIEDENWALD und SIGELMAN 0,5% an. Der von BUSCHKE, FRIEDENWALD und FLEISCHMANN beobachteten Mitoseindex von 0,4% darf nicht unmittelbar mit den oben angeführten Werten verglichen werden, da er sich auf die *zwei* untersten Zellschichten bezieht.

Das Verhältnis von Markierungen zu Mitosen ergibt etwa 7:1. Dieser Wert entspricht den Ergebnissen von SCHULTZE, APPONI und NOVER. Als Folge der sehr einheitlichen Dauer, sowohl der DNS-Synthese von 7 Std (KOBURG und SCHULTZE) und der Mitose von 45–60 min (BUSCHKE, FRIEDENWALD und FLEISCHMANN; KOBURG und SCHULTZE) muß dieses Verhältnis relativ konstant sein. Nach den Untersuchungen von SCHULTZE und OEHLERT schwankt es in den verschiedensten Geweben von Ratte und Maus etwa zwischen 8:1 und 15:1.

## 2. Bestrahlte Versuchstiere

Im folgenden soll auf drei Beobachtungen am Verlauf des *Markierungsindex* der bestrahlten Hornhäute näher eingegangen werden.

A. Die signifikante *Senkung der DNS-Synthese* ist geradezu charakteristisch für die Auswirkungen ionisierender Strahlen auf die DNS-Synthese (GÄRTNER); eine derartige Hemmung der DNS-Synthese ließ sich an den verschiedensten Gewebe nachweisen.

Aus den zahlreichen Untersuchungen über die Ursachen einer strahleninduzierten DNS-Synthesehemmung ergeben sich vielfach einander widersprechende Aussagen. Nur wenige gesicherte Befunde konnten bisher erarbeitet werden.

Hinsichtlich einer strahleninduzierten Verminderung DNS-bildender Zellen ist im wesentlichen die vor der Synthese liegende Phase des Zell-

cyclus, also die späte  $G_1$ -Phase oder die präsynthetische Phase als strahlenempfindlich anzusehen (ORD und STOCKEN; LAJTHA, OLIVER, KUMATORI und ELLIS; HOWARD und PELC). In dieser Phase werden im Zellplasma die zur DNS-Synthese benötigten Enzyme gebildet, vor allem die Polymerase. Deren Aktivität steigt vor Beginn der DNS-Synthese stark an (Abb. 5).

HARBERS hält den Mangel dieser Polymerase für eine der entscheidenden Ursachen der nach Strahleneinwirkung nachweisbaren DNS-

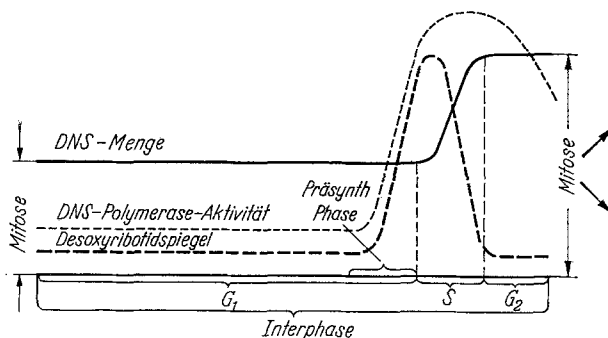


Abb. 5. Schematische Darstellung der einzelnen Phasen des Zellzyclus. In der präsynthetischen Phase steigt die Polymeraseaktivität als Zeichen ihrer verstärkten Synthese an. Die DNS-Synthese (S) beginnt erst, wenn diese in genügender Menge vorhanden ist [aus HARBERS, Dtsch. med. Wschr. **87**, 1395 (1962)]

Synthesehemmung und das Zellplasma für den strahlenempfindlicheren Zellteil. ORD und STOCKEN halten eine Hemmung der Phosphorylierungsvorgänge in dieser Phase für ursächlich.

B. Zur Erklärung der um 6 Std verzögerten, signifikanten Senkung der DNS-Synthese nach Bestrahlung lassen sich Vermutungen anstellen. Dieser Befund deutet darauf hin, daß der Schaden nicht unmittelbar am Ende der präsynthetischen Phase liegt, sondern kurz vorher. Das würde mit den Befunden von HARBERS übereinstimmen, der (wie in Abb. 6 schematisch dargestellt) annimmt, daß die in dieser Zeit ablaufende Synthese der Enzyme verhindert oder verzögert wird. Nicht dagegen beeinträchtigt wird die einmal synthetisierte Polymerase (HARBERS; WALWICK und MAIN). Ebenso läuft eine einmal eingeleitete DNS-Synthese nach Strahlendosen, die schon zu einer Hemmung des Eintrittes von Zellen in die Synthesephase führen, unbeeinträchtigt weiter ab (HOWARD und PELC; PELC und HOWARD; LAJTHA, OLIVER, BERRY und NOYES). Es vergeht also eine gewisse Zeit bis sich eine Übergangphase mit sinkender Syntheserate anschließt, in der durch Ausfall von immer mehr geschädigten Zellen, die sich zur Zeit der Strahleneinwirkung im strahlenempfindlichen Teil der präsynthetischen Phase befanden, die Synthese übernehmen.

Diese Aufeinanderfolge: zunächst noch unveränderte Synthese über 6 Std, dann Abfall und Einspielen auf eine niedrigere Synthese, die im Epithel der Rattenhornhaut je nach Strahlendosis bis zu 3 Tagen anhält (MACHEMER, SÜCHTING, SCHUSTER und BÜTNER), ist in diesem Versuch deutlich bei den mit 600 und 2400 rep bestrahlten Gruppen zu beobachten.

C. Eine hinreichende Deutung der strahleninduzierten, etwa 50%igen *DNS-Synthesehemmung* nach Strahlendosen in Bereichen bis zu 4000 und 9000 rad ist bisher nicht möglich. LAJTHA, OLIVER, KUMATORI und ELLIS erwägen folgende Möglichkeiten: a) Während der präsynthetischen Phase liegen zwei unterschiedliche Zellpopulationen vor, eine strahlenempfindliche, die in die folgende S-Phase nicht übertreten kann und eine strahlenresistente, die nicht gehemmt wird. b) Alle Zellen der präsynthetischen Phase sind gleich strahlensensibel, die Art des Strahlenschadens ist aber so, daß maximal 50% der Zellen zeitweise am normalen Übergang in die anschließende Phase gehindert werden, da sie die präsynthetische Phase verlangsamt durchlaufen. Eine andere Deutung ergibt sich aus der Möglichkeit, daß die strahleninduzierte Reduzierung der DNS-Neubildung um etwa 50% im wesentlichen auf einer Hemmung bzw. Verzögerung der präsynthetischen DNS-Polymerasebildung beruhen kann (HARBERS).

Ein weiterer, zusätzlicher Mechanismus des Strahlenschadens scheint bei den mit 6000 rep bestrahlten Tieren vorzuliegen. Auffällig ist, daß die Markierungsindices schon  $\frac{1}{2}$  Std nach Bestrahlung sich zwar nicht signifikant von den Kontrollen unterscheiden, jedoch in deren unteren Bereich liegen und sich von den mit 600 und 2400 rep bestrahlten Hornhäuten deutlich abheben. Hier ist am ehesten eine primäre strahlenbedingte Schädigung am DNS-System anzunehmen. Es kann daher ein sofortiges Absinken der DNS-Synthese die Folge sein (LAJTHA, OLIVER, BERRY und NOYES).

Ein Beitrag zur Frage strahleninduzierter Änderungen der DNS-Synthese selbst, wie sie sich in einer Verminderung der Menge des Einbaus markierter DNS-Vorstufen in die einzelnen, noch zur DNS-Neubildung befähigten Zellkerne zeigt (SHERMAN und QUASTLER; FEINE; MAASS und SCHULZ), kann in den vorliegenden Versuchen nicht gegeben werden, da mit Hilfe der Bestimmung des Markierungsindex lediglich die Erfassung der Anzahl DNS-bildender Zellen ermöglicht wird.

*Strahleneinwirkung auf die Mitose.*  $\frac{1}{2}$  Std nach der Bestrahlung bereits ist der Mitoseindex bei allen Gruppen einheitlich weit unter die Kontrollwerte gesunken und 2 Std nach Strahleneinwirkung beträgt er faßt Null. Sechs Stunden nach Strahleneinwirkung setzt eine langsame Erholung ein, beginnend bei den mit den niedrigsten Strahlendosen und zuletzt einsetzend bei den mit 6000 rep bestrahlten Augen. Jedoch wird



von allen Gruppen der Kontrollwert innerhalb der Beobachtungszeit nicht mehr erreicht.

Dieser Ablauf, die Verminderung der Mitosetätigkeit bis zu ihrem völligen Schwinden mit anschließender langsamer Erholung ist ein typisches Merkmal der Einwirkung ionisierender Strahlen auf proliferierendes Gewebe (GÄRTNER). Die Schwere der Veränderungen ist in den vorliegenden Versuchen proportional der verabfolgten Strahlendosis. Bis zu Strahlendosen von 8000 r fanden FRIEDENWALD und SIGELMAN eine lineare Dosisabhängigkeit der Mitoseindices.

Auch die Vorgänge, die zur Störung der Mitosetätigkeit nach Strahleneinwirkung führen, können noch nicht hinreichend gedeutet werden. FRIEDENWALD und SIGELMAN nahmen an, daß die der Mitose vorangehende prämitotische Phase (G-2-Phase) die strahlenempfindlichste im Zellcyclus überhaupt ist, und daß ihre Dauer nach Bestrahlung verlängert wird. Der Grund für die Mitosehemmung liegt nach HARBERS wahrscheinlich in einem durch Strahlenwirkung verursachten Mangel an funktionstüchtigen S-H-Gruppen, die für die Bildung der Polspindeln Voraussetzung sind.

Es finden sich also nach Einwirkung ionisierender Strahlen auf die intermitotische Zelle des Corneaepithels unterschiedliche Störungen der Regeneration. In Abhängigkeit von der Strahlendosis kann eine Hemmung der DNS-Synthese verzögert oder sofort einsetzen. Die Verminderung der Mitosetätigkeit setzt bei den angewendeten Strahlendosen sofort ein. Damit zeigt sich auch in den vorliegenden Untersuchungen, daß der Mitosevorgang als der strahlenempfindlichere Mechanismus anzusehen ist (NYGAARD und POTTER; HARBERS).

Da die DNS-Synthese länger als die Mitose dauert, lassen sich nach Markierung der DNS-Synthese durch 3-H-Thymidin im Autoradiogramm mehr markierte Zellen als Mitosen nachweisen. Das Verhältnis von markierten Zellen beträgt in allen Organen ziemlich konstant etwa 10:1 (SCHULTZE und OEHLERT). Das in der unbestrahlten Cornea ermittelte Verhältnis zwischen Markierungen und Mitosen von 7:1 entspricht diesen Befunden. In den ersten Stunden nach Strahleneinwirkung verschiebt es sich zugunsten der Markierungen und normalisiert sich weitgehend nach 12 Std (Tabelle). Dieser Befund kann nicht dahingehend interpretiert werden, daß die Zellen in der prämitotischen Ruhephase an ihrem Eintritt in die Mitose gehindert werden und stattdessen mit der DNS-Synthese fortfahren, so daß eine Polyploidisierung resultiert. Dieses Phänomen tritt erst einige Zeit später auf (QUASTLER), und der Zeitraum von 6 Std ist für eine Aussage hinsichtlich einer Polyploidisierung zu kurz. Vielmehr ist dieses gestörte Verhältnis wiederum Ausdruck dafür, daß die Mitose in den ersten Stunden weitaus schneller auf einen Strahlenschaden reagiert als die DNS-Synthese.

### Zusammenfassung

Durch  $\beta$ -Strahlen bedingte Veränderungen der DNS-Synthese (autoradiographischer Nachweis durch 3-H-Thymidinmarkierung) und der Mitosetätigkeit des Rattencorneaepithels werden  $1/2$ , 2, 6, 12 und 18 Std nach Applikation von 600, 2400 bzw. 6000 rep untersucht.

Bis zu 6 Stunden nach Bestrahlung ist gegenüber den Kontrollen keine signifikante Änderung des Markierungsindex bei allen Gruppen festzustellen. Nach 12 Std hat sich dieser auf etwa 50% der Kontrollwerte gesenkt und ändert sich bis zum Ablauf der Beobachtungszeit nicht mehr. Diese Veränderungen beruhen wahrscheinlich auf einer Schädigung der Synthese der für die DNS-Bildung notwendigen Enzyme.

Bei der Mitosetätigkeit ist in allen Bestrahlungsgruppen ein sofort einsetzendes, fast völliges Erliegen festzustellen. Ihre Erholung erfolgt dosisabhängig bei den niedrigen Strahlendosen; nach 6000 rep bleibt sie jedoch während der ganzen Beobachtungszeit aus. Als Ursache wird eine Schädigung des Spindelmechanismus diskutiert.

### Summary

Changes in the activity of DNA-synthesis (as revealed by radioautography with 3-H-thymidine) and mitosis are investigated  $1/2$ , 2, 6, 12 and 18 hours after  $\beta$ -ray treatment (600, 2400 and 6000 rep) of the epithelium of the rat's cornea.

Not before 6 hours after irradiation a depression of about 50% is found of the labeling-index. These changes seem to derive from a damage of the synthesis of those enzymes which are necessary for DNA-synthesis.

The mitotic-index is depressed at soon. Its recreation shows a definite relation to the dose applicated. A damage of the cleavage spindle mechanism is discussed.

### Literatur

- BARTON, A. D.: Evidence of the biochemical stability of desoxyribosenucleic acid. *Fed. Proc.* **13**, 422 (1954).
- BOND, V. P., T. M. FLIEDNER, and I. P. CRONKITE: DNA-synthesis in irradiated bone marrow and peripheral blood cells studied by in vitro incorporation of 3-H-thymidine. *Radiat. Res.* **9**, 93 (1958).
- BUSCHKE, W., J. S. FRIEDENWALD, and W. FLEISCHMANN: Studies on the mitotic activity of the corneal epithelium. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* **73**, 143 (1943).
- FENE, U.: Die Wirkung ionisierender Strahlung auf den Einbau von tritium-markiertem Thymidin in das Yoshida-Sarkom der Ratte. In: *Radionuklide in der klinischen und experimentellen Onkologie*. 2. Jahrestag der Ges. für Nuklearmedizin, Heidelberg 1964, hrsg. v. G. HOFFMANN, S. 119. Stuttgart: F. K. Schattauer 1965.
- FLIEDNER, T. M., E. P. CRONKITE, and V. P. BOND: Autoradiographic and cytologic studies using 3-H-thymidine on the proliferative capacity of bone marrow in total body irradiated mammals. *Int. Congr. of Radiation Res. Burlington 1958. Radiat. Res.* **9**, 114 (1958).

- FRIEDENWALD, J. S., and S. SIGELMAN: The influence of ionizing radiation on mitotic activity in the rat corneal epithelium. *Exp. Cell Res.* **4**, 1 (1953).
- GÄRTNER, H.: Untersuchungen in der Gewebekultur. In: SCHERER u. STENDER, *Strahlenpathologie der Zelle*. Stuttgart: Georg Thieme 1963.
- HANNA, C., and J. O'BRIEN: Cell production and migration in the epithelial layer or the cornea. *Arch. Ophthal.* **64**, 536 (1960).
- HARBERS, E.: Wirkungen ionisierender Strahlen auf die Zelle. *Dtsch. med. Wschr.* **27**, 1395 (1962).
- Die Nukleinsäure. Stuttgart: Georg Thieme 1964.
- HOWARD, A., and S. R. PELC: Synthesis of desoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. *Heredity (Suppl.)* **6**, 261 (1953).
- KOBURG, E., u. B. SCHULTZE: Autoradiographische Untersuchungen mit 3-H-Thymidin über die Dauer der DNS-Synthese, der Ruhepause und der Mitose bei proliferierenden Systemen wie den Epithelien des Darms, des Oesophagus und der Cornea der Maus. *Verh. dtsh. path. Ges.* **45**, 103 (1961).
- LAJTHA, L. G., R. OLIVER, R. BERRY, and W. NOYES: Mechanism of radiation effect on the process of synthesis of desoxyribonucleic acid. *Nature (Lond.)* **182**, 1789 (1958).
- — I. KUMATORI, and F. ELLIS: On the mechanism of radiation effect on DNA-synthesis. *Radiat. Res.* **8**, 1 (1958).
- LEDERMAN, M.: Radiotherapy of non-malignant diseases of the eye. *Brit. J. Ophthal.* **41**, 1 (1957).
- MAASS, H., u. K.-D. SCHULZ: Die Strahlenwirkung auf die DNS-Synthese in Tumorzellen. In: Radionuklide in der klinischen und experimentellen Onkologie. 2. Jahrestagg der Ges. für Nuklearmedizin, Heidelberg 1964, hrsg. v. G. HOFFMANN, S. 111. Stuttgart: F. K. Schattauer 1965.
- MACHEMER, R., P. SÜCHTING u. R. SCHUSTER: Die Einwirkung von  $\beta$ -Strahlen auf die DNS-Synthese und Mitosetätigkeit am Epithel der Rattencornea. Autoradiographische Untersuchung mit 3-H-Thymidin. *Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal.* **168**, 489 (1965).
- — — u. H. BÜTTNER: Das Verhalten der DNS-Synthese und der Mitosetätigkeit nach  $\beta$ -Bestrahlung der Rattencornea. *Strahlentherapie (in Vorbereitung)*.
- NYGAARD, O. F., and L. R. POTTER: Effect of X-radiation on DNA-metabolism in various tissues of the rat. I. Incorporation of 14-C-thymidine into DNA during the first 24 hours post irradiation. *Radiat. Res.* **10**, 462 (1952).
- — Effect of X-radiation on DNA-metabolism in various tissues of the rat. II. Recovery of the sublethal doses of irradiation. *Radiat. Res.* **12**, 120 (1960).
- OEHLERT, W., P. NETTESHEIM u. R. MACHEMER: Die Anwendung flüssiger Emulsionen bei autoradiographischen Untersuchungen mit 3-H-markierten Substanzen. *Histochemie* **3**, 99 (1962).
- ORD, M. G., and L. A. STOCKEN: The effect of X- and gamma-radiation on nucleic acid metabolism in the rat in vivo and in vitro. *Biochem. J.* **63**, 3 (1956).
- — Radiobiochemical lesion on animal cells. *Nature (Lond.)* **182**, 1787 (1958).
- PELC, S. R., and A. HOWARD: Effect of various doses of X-rays on the numbers of cells synthesising desoxyribonucleic acid. *Radiat. Res.* **3**, 135 (1956).
- QUASTLER, H., and F. G. SHERMAN: Cell population kinetics in the intestinal epithelium of the mouse *Exp. Cell Res.* **17**, 420 (1959).

- SCHULTZE, B., G. APPONI u. A. NOVER: Autoradiographische Untersuchungen mit 3-H-Thymidin über die Desoxyribonucleinsäure-Neubildung in den Geweben des Rattenauges. *Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal.* **163**, 130 (1965).
- , and W. OEHLERT: Autoradiographic investigation of incorporation of 3-H-thymidine into the cells of the rat and mouse. *Science* **131**, 737 (1960).
- SHERMAN, F. G., and H. QUASTLER: DNA-synthesis in irradiated intestinal epithelium. *Exp. Cell Res.* **19**, 343 (1960).
- SMELLIE, R. M.: Studies on the biosynthesis of desoxyribonucleic acid. *J. Chim. phys.* **58**, 965 (1961).
- SMELSER, G. K., and R. L. PFEIFFER: Influence of grenz (infraroentgen) rays on cell division and wound healing in epithelium. *Arch. Ophthal.* **39**, 1 (1948).
- SÜCHTING, P., R. MACHEMER u. S. WELZ: Die Lebenszeit der Epithelzelle der Rattencornea und -conjunctiva. *Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal.* Im Druck.
- TITARELLI, R., e R. VOZZA: Influenza delle irradiazione "beta" sul ciclo riproduttivo dell'epitelo corneale. *Boll. Oculist.* **36**, 803 (1957).
- WALWICK, E. R., and R. K. MAIN: Stability of a desoxyribonucleic acid synthesizing system to x-radiation. *Biochem. biophys. Acta* **55**, 225 (1962).

Dr. R. MACHEMER  
Universitäts-Augenklinik  
34 Göttingen, Göttingerstr. 12