

incubation reduced the plasma calcium levels in new-born chicks (mean 7.3 mg%) as compared to controls (mean 9.7 mg%).

The results of our experiments indicate that 6-AzUR affects the metabolism of calcium during embryonal development of the chick. Exact interpretation of the mechanism by which 6-AzUR exerts this action is not possible, so far. However, an interference of 6-AzUR with the function of endocrine organs could be considered. It is known<sup>16-18</sup> that parathormone regulates exchange of the calcium ion between blood and bones and maintains in this way a constant level of calcium in plasma (Ca 10 mg%). After removal of the parathyroid glands a rapid drop of the plasma calcium level occurs (to Ca 7 mg%). According to one theory<sup>18</sup> parathormone controls in the bones the concentration of citric acid, which forms a soluble complex with calcium and enables the transfer of calcium ions from bone to blood. Parathormone also stimulates the formation of osteoblasts which participate in the resorption of calcium from the bones. According to another theory<sup>18</sup> parathormone influences the degree of polymerization of mucopolysaccharides in the ground substance of bones and thus influences the release and uptake of mineral salts. Our finding of the drop of plasma calcium level and of the rise of bone calcium content would be in agreement, therefore, with the hypothesis that 6-AzUR might reduce resorption of bone calcium by interference with the action of parathormone.

Another possible interpretation of the described changes could be a direct effect of 6-AzUR on the bones during chick embryonal development by a stimulation of the formation of osteoblasts which could lead to enhanced utilization of calcium from the shell. It is known<sup>19</sup> that the egg (without the shell) contains 250 mg of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> and 38.6 mg of CaO, the ratio of Ca:P being 0.2:1.0. However, hatched chicks contain on the average 255 mg of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> and 209 mg of CaO, the ratio of Ca:P being 1.34:1.0. It is apparent from these data that chick embryos cover

82% of their calcium requirement from the shell. Although the shell contains also a small amount of phosphorus (14 mg/egg), the embryos utilize only the phosphorus contained inside the egg. 6-AzUR thus could influence the activity of osteoblasts and promote deposition of calcium in bones which would result in an increased ash content and Ca:P ratio, with unaltered content of phosphorus, as observed in our chicks.

So far we do not have definite evidence for any of the possible interpretations. An exact explanation of the interference of 6-AzUR with the metabolism of calcium will be possible, therefore, only after collection of further data.

**Zusammenfassung.** Eine Dosis von 10 mg 6-AzUR, die am 8. Tage der Inkubation in befruchtete Eier von Leghornhennen injiziert wurde, verursachte bei neugeborenen Hühnern die folgenden Änderungen: (a) eine Erniedrigung des Plasma-Kalzium-Spiegels, (b) eine Erhöhung des Trockengewichtes und des Aschegehaltes der Diaphysen der langen Beine, (c) eine Erhöhung des Kalziumgehaltes der Knochen. In Übereinstimmung mit diesen Tatsachen fand man auch eine Erhöhung des Ca:P-Quotienten in den Knochen nach Verabreichung von 6-AzUR.

J. GRAFNETTEROVÁ, V. JEDLIČKA  
and O. ŠMAHEL

*Research Institute of Experimental Therapy, Praha 4  
(Czechoslovakia), 16 January 1968.*

<sup>16</sup> P. FOURMAN (Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1963).

<sup>17</sup> F. MCLEAN, Science 127, 451 (1958).

<sup>18</sup> W. EGER, Internist 3, 267 (1962).

<sup>19</sup> S. GERICKE and B. KURMIES, *Die Phosphorsäure* (Tellus-Verlag, Essen 1955), vol. 15, p. 399.

## Zur Wirkung von Strahlenschutzstoffen an Thymuszellen

In früheren Untersuchungen konnte mehrfach gezeigt werden, dass im Thymus die Lymphozyten der Rinde strahlenempfindlicher sind als die entsprechenden Zellen des Markanteils<sup>1</sup>. Von TROWELL<sup>2</sup> wird angenommen, dass die Lymphozyten des Marks durch die verhältnismässig grosse Anzahl der sie umgebenden Retikulumzellen geschützt werden. Es wird unter anderem ein ATP-Transfer von diesen Zellen zu den Lymphozyten vermutet. Andere Autoren<sup>3</sup> nehmen an, dass 2 unterschiedlich strahlenempfindliche Lymphozytenpopulationen vorliegen.

Untersuchungen zur Wirkung von Strahlenschutzstoffen am Thymus im Hinblick auf Veränderungen des Organgewichtes während der ersten 24 h nach Bestrahlung ergaben keine Unterschiede gegenüber unbehandelten, bestrahlten Kontrollen<sup>4-7</sup>. Es wurde eine schnellere Erholung der Organe beobachtet. Hingegen hat eine Reihe von Experimenten gezeigt, dass Thymuslymphozyten bei Bestrahlung *in vitro* geschützt werden können<sup>8-11</sup>.

In den hier dargestellten Versuchen wurde die Wirksamkeit von 2 strahlenschützenden und einer nicht schützenden SH-Substanz an den Lymphozyten sowie den Retikulumzellen des Thymus untersucht. Rinden- und Markanteile wurden getrennt von jeweils 30 Tieren ausgewer-

tet. Versuchsbedingungen: 5 Wochen alte männliche Mäuse erhielten Ganzkörperbestrahlungen von 200, 600 oder 800 R (150 kV, 20 mA 148 R/min). 5 min vor Bestrahlung wurden entweder 4 mg Cystein, 3 mg Cysteamin oder 6 mg Isocystein, bei den Kontrollen physiologische NaCl-Lösung i.p. injiziert.

Wie aus Tabelle I zu ersehen ist, kann nach einer Ganzkörperbestrahlung von 200 R weder in der Rinde

<sup>1</sup> I. F. A. P. MILLER und P. DUKOR, *Die Biologie des Thymus* (Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt a. M. 1964).

<sup>2</sup> O. A. TROWELL, Int. J. Radiat. Biol. 4, 163 (1961).

<sup>3</sup> R. F. KALLMAN und H. J. KOHN, Radiat. Res. 3, 77 (1955).

<sup>4</sup> DIES, Radiat. Res. 2, 280 (1955).

<sup>5</sup> U. HAGEN, H. ERNST und H. LANGENDORFF, Strahlentherapie 107, 426 (1958).

<sup>6</sup> H. LANGENDORFF und U. HAGEN, Strahlentherapie 117, 321 (1962).

<sup>7</sup> U. P. DACQUISTO, W. E. ROTHE und E. W. BLACKBURN, Int. J. Radiat. Biol. 4, 33 (1961).

<sup>8</sup> E. H. BETZ und G. BOOZ, C. r. Soc. Biol. 151, 396 (1957).

<sup>9</sup> H. M. PATT, M. E. BLACHFORD und R. L. STRAUBE, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 80, 92 (1952).

<sup>10</sup> H. M. PATT, Ann. N.Y. Acad. Sci. 59, 649 (1955).

<sup>11</sup> G. A. GRANT und O. VOS, Int. J. Radiat. Biol. 5, 413 (1962).

Tabelle I. Prozentsatz pyknotischer Lymphozyten in Rinde und Mark 8 h nach Bestrahlung mit und ohne Schutzsubstanz

Rinde Dosis	$\nabla_{\downarrow}$ ohne Schutz	$\nabla_{\downarrow}$ + Cystein	$\nabla_{\downarrow}$ + Cysteamin	Mark $\nabla_{\downarrow}$ ohne Schutz	$\nabla_{\downarrow}$ + Cystein	$\nabla_{\downarrow}$ + Cysteamin
200 R	27,5 ± 1,6	26,3 ± 0,9	24,0 ± 1,0	20,7 ± 1,1	15,8 ± 0,8	16,1 ± 1,3
600 R	50,1 ± 1,2	42,1 ± 1,3	34,1 ± 0,8	36,9 ± 1,7	32,7 ± 1,2	22,3 ± 0,7
800 R	92,0 ± 1,3	61,3 ± 1,2	45,5 ± 1,4	53,0 ± 1,3	41,1 ± 1,1	28,4 ± 1,6

Tabelle II. Anzahl der retikulären Zellen in Prozent aus Rinde und Mark 8 h nach Bestrahlung mit und ohne Schutzsubstanz sowie 8 h nach Injektion von SH-Körper ohne Bestrahlung

Nach Applikation von	Rinde	Mark
physiol. NaCl	0,7 ± 0,2	5,3 ± 0,8
800 R	2,9 ± 0,4	8,0 ± 0,6
800 R + Cystein	8,2 ± 0,4	25,4 ± 1,1
800 R + Cysteamin	5,7 ± 0,3	19,2 ± 0,9
4 mg Cystein	5,4 ± 0,4	26,5 ± 1,4
3 mg Cysteamin	5,8 ± 0,6	20,9 ± 1,1
6 mg Isocystein	6,3 ± 0,5	21,1 ± 1,3

noch im Mark des Thymus eine eindeutige Schutzwirkung an den Lymphozyten erzielt werden. Sie beginnt sich erst nach Applikation von 600 R abzuzeichnen. Nach 800 R wird der Schutzeffekt deutlich, wobei die Pyknosanzahl in der Rinde stärker abnimmt als im Mark. Aus Tabelle I geht ferner hervor, dass die Applikation von Cysteamin einen besseren Schutz bewirkt. Der Prozentsatz pyknotischer Lymphozyten ist noch niedriger und liegt auch unter den Werten, wie sie von TANAKA und RIXON<sup>12</sup> angegeben wurden.

Betrachten wir in diesem Zusammenhang das Verhalten der Retikulumzellen, von denen vermutet wird, dass sie mit der unterschiedlichen Strahlenempfindlichkeit von Rinde und Mark in ursächlichem Zusammenhang stehen, so ergibt sich folgendes: Die in Tabelle II zusammengestellten Werte lassen erkennen, dass die Zahl der Retikulumzellen bei den geschützten Tieren nach Bestrahlung sehr viel stärker zunimmt als bei ungeschützten Tieren. Wie aus Tabelle II weiter hervorgeht, ist die Zahl der Retikulumzellen auch an geschützten, aber unbestrahlten

Tieren in ganz entsprechenden Verhältnissen erhöht, obwohl die Lymphozyten keine vermehrte pyknotische Degeneration zeigen. Da in der Literatur mehrfach die Auffassung vertreten wird<sup>13-17</sup>, dass eine gesteigerte Aktivierung von RES-Zellen mit einer erhöhten Strahlenresistenz verbunden ist, haben wir auch die Wirkung des nicht schützenden Isocysteins am Thymus untersucht (Tabelle II). Auch diese Substanz bewirkte im Thymus eine Stimulierung der Retikulumzellen. Eine einfache Beziehung zwischen Strahlenresistenz und einer Stimulation des retikulären Systems scheint auf Grund dieser Befunde im Thymus nicht zu bestehen.

*Summary.* Lymphocytes of the thymus can be protected against early pycnotic degeneration by several SH-compounds. Protective and non-protective SH-compounds induce the same reaction in the non-irradiated mouse, weight loss caused by cell migration, stimulation of the reticulum. A direct relationship between the activity of the reticulum and the radioresistance of lymphocytes was not found.

HILDEGARD BRAUN

*Radiologisches Institut der Universität,  
78 Freiburg i. Br. (Deutschland), 26. Juli 1968.*

<sup>12</sup> Y. TANAKA und R. H. RIXON, Nature 206, 418 (1965).

<sup>13</sup> E. J. AINSWORTH und M. H. HATCH, Radiat. Res. 13, 632 (1960).

<sup>14</sup> H. BALNER, L. J. OLD und D. A. CLARKE, Radiat. Res. 15, 836 (1961).

<sup>15</sup> G. V. C. TAPLIN, C. FINNEGAN, P. NOYES und G. SPRAGUE, Am. J. Roentg. 71, 294 (1954).

<sup>16</sup> B. W. ZWEIFACH und L. THOMAS, J. exp. Med. 106, 385 (1957).

<sup>17</sup> K. FLEMMING, CH. FLEMMING und B. GRAACK, Strahlentherapie 137, 280 (1967).

## Studies on Antithiamine Factor(s) in Tissue of Tuna and Goatfish

Numerous studies have dealt with the presence of the enzyme 'thiaminase' in various species of fish<sup>1-4</sup>. This enzyme has been considered to be more prevalent in freshwater than in salt-water fish. Our previous work, however, has shown that tissue from 21 of 30 species of fish found in Hawaiian waters has antithiamine activity<sup>5</sup>. More recently, KUNDIG and SOMOGYI<sup>6</sup> reported the isolation of a non-enzyme antithiamine factor from carp viscera which was identified as hemin or a related compound. The present report concerns chemical properties of an antithiamine factor(s) in several families of tuna and goatfish. These studies indicate that the active agent is not an enzyme.

The fish used in this study were purchased in Honolulu markets and kept frozen until used. Antithiamine tests were made within 1 week after purchase according to the

<sup>1</sup> R. G. GREEN, W. E. CARLSON and C. A. EVANS, J. Nutr. 23, 165 (1942).

<sup>2</sup> W. YUDKIN, Physiol. Rev. 29, 389 (1949).

<sup>3</sup> A. FUGITA, Adv. Enzymol. 15, 389 (1954).

<sup>4</sup> H. F. DEUTSCH and A. D. HASLER, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 53, 63 (1943).

<sup>5</sup> D. M. HILKER and O. F. PETER, J. Nutr. 419, 89 (1966).

<sup>6</sup> H. KUNDIG and J. SOMOGYI, Int. Z. VitaminForsch. 37, 476 (1967).