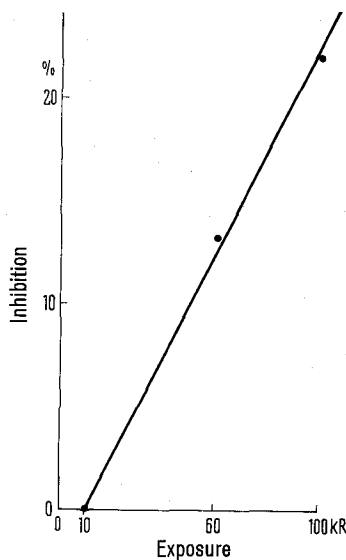


Radiosensitivity of ATP: L-Methionine S-Adenosyltransferase

Irradiation effects on nucleic acid metabolism has often been suggested to be the basis of cellular radiosensitivity. CREASY and STOCKEN¹ found 50 to 80% inhibition of the high energy phosphate synthesis in rat or cat nuclei following the administration of 25 R X-irradiation. HANCOCK and GOLDBERG² found that yeast cytidylate kinase to be 60% inactivated following exposure to 10 KR under their experimental conditions. GORDON³ has shown that only a 10 R difference in X-irradiation of a mung seed homogenate resulted in 20% inhibition of the conversion of indolacetaldehyde to indolacetic acid. This appears to be the one extreme. On the other extreme, MITCHELL et al.⁴ have found that 500 KR are required for a 20% inhibition of arginine decarboxylase activity of *E. coli* extracts, although these latter enzymes are not directly involved in nucleic acid metabolism. Enzyme radiosensitivity may differ vastly from a) organism to organism for the same enzyme; b) enzyme to enzyme in the same organism depending on the class of enzymatic reaction and c) experiment to experiment for any given energy depending on the experimental conditions utilized in preparation, irradiation and assay. Furthermore, extrapolations from in vitro results to the in vivo situation often result in inaccurate conclusions. Nevertheless, keeping these difficulties in mind, it seems that investigation of radiosensitivity of a spectrum of a general class of enzymes may lead to some understanding of pertinent radiological mechanisms.

The S-methyl function of L-methionine is activated by the enzyme ATP:L-methionine S-adenosyl transferase through the following reaction: adenosine triphosphate + L-methionine → S-adenosyl-L-methionine + pyrophosphate + monophosphate.



Inhibition of ammonium sulfate preparation by X-irradiation.

Mouse liver has been shown to possess S-adenosyltransferase activity⁵ with biochemical properties similar to those described by CANTONI^{6,7} for rabbit and pig. Since methylation is involved in RNA metabolism and requires S-adenosyl L-methionine, we found it of interest to study the radiosensitivity of S-adenosyltransferase. The S-adenosyltransferase preparation was made from female C57BL/10J mouse liver and assayed following the procedures of CANTONI^{6,7}. The reaction mixture contained 100 μ moles ATP, 100 μ moles reduced glutathione, 100 μ moles *tris* buffer pH 7.6, 300 μ moles $MgCl_2$ and enzymes, e.g. 3 mg of a 30–50% ammonium sulfate protein fraction obtained from 10,000 $\times g$ supernatant of fresh homogenate of mouse liver. The enzyme preparations were maintained at 4°C during all procedures prior to assay at 40°C. Irradiation was done with a Maxitron GE 250, using 250 Kv, 30 ma and 0.25 mm aluminum filter. The dose rate was 1200 R/min at a target distance of 10 inches.

An exposure to total doses of 10, 60 and 100 KR did not depress the enzyme activity assayed as 10,000 $\times g$ supernatant derived from irradiated a) whole animals, b) whole liver or c) the 10,000 $\times g$ supernatant itself. However, the ammonium sulfate enzyme preparation was affected by 60 and 100 KR. The results in the Figure show that the ammonium sulfate preparation is inhibited by approximately 13 and 22% at 60 and 100 KR exposures, respectively. The dose response appears to be linear beyond 10 KR total doses, but shows a definite threshold level up to 10 KR.

In summary, this study has shown S-adenosyltransferase to be resistant to X-irradiation up to the 10 KR level and therefore it appears to be less radiosensitive than yeast cytidylate kinase prepared in a similar fashion². It is concluded that mouse liver S-adenosyltransferase in vitro is not a radiosensitive enzyme and thus could be categorized as 'very resistant' in comparison with some other enzymes.

Zusammenfassung. In vitro-Nachweis, dass S-Adenosyltransferase der Mäuseleber gegen Röntgenstrahlen bis zu 10 kR Stärke widerstandsfähig ist und weniger empfindlich als Citidylat-Kinase.

R. L. HANCOCK and R. E. GIBLAK⁸

Division of Medical Biochemistry,
Faculty of Medicine, The University of Calgary,
Calgary 44 (Alberta, Canada), 14 October 1971.

¹ W. A. CREASY and L. A. STOCKEN, *Biochem. J.* 72, 519 (1959).

² R. L. HANCOCK and A. GOLDBERG, *Naturwissenschaften* 52, 22 (1965).

³ S. GORDON, *Q. Rev. Biol.* 32, 3 (1957).

⁴ J. S. MITCHELL, B. E. HOLMES and C. L. SMITH, *Progress in Radiobiology* (Eds. H. PAULY and B. RAJEWSKY; C.H.C. Thomas, Publishers, Springfield 1956), p. 32.

⁵ R. L. HANCOCK, *Cancer Res.* 26, 2425 (1966).

⁶ G. CANTONI, *J. biol. Chem.* 189, 745 (1951).

⁷ G. CANTONI and J. DURELL, *J. biol. Chem.* 225, 1033 (1957).

⁸ James Picker Foundation Fellow in Radiological Research.

Die langsamen positiven Potentiale im Säuger-ERG Elektoretinogramm

In einer vergleichenden Studie über einige wichtige Familien der Säugetiere wurde das Elektoretinogramm (ERG) unter besonderer Berücksichtigung der langsamen positiven Wellen untersucht¹. Dabei standen zwei Er-

scheinungen im Vordergrund: 1. die sogenannte c-Welle («sekundäre positive Erhebung» der älteren Nomenklatur)

¹ L. WÜNDSCHE, *Diss. Univ. Wien* (1971).

und 2. das weitgehend reizsynchrone DC- oder Plateau-Potential.

Material und Methode. Als Versuchstiere dienten folgende Arten: Rhesusaffe, Breitflügelfledermaus, Katze, Hund, Fuchs, Wickelbär, Schwein, Kaninchen, Meerschweinchen und Ziesel. Die Tiere wurden mit Urethan (2 g/kg KG) bzw. Nembutal (40 mg/kg KG) narkotisiert. Als Cornealelektrode diente eine spezielle Haftschalenelektrode²; im Fall der Fledermaus eine Wollfadenelektrode. Durch einen vor dem Auge befestigten halbkugelförmigen Diffusor konnte eine Ganzfeldbeleuchtung der Retina erreicht werden. Die abgeleiteten Potentiale wurden gleichspannungsverstärkt.

Die wichtigsten *Ergebnisse* dieser Untersuchung waren: Die klassische c-Welle war bei fast allen Säugern nachweisbar und nur bei den untersuchten Caniden (Hund, Fuchs) und dem Ziesel nicht ausgeprägt. Anscheinend fehlt bei letzterem die Komponente PI, oder sie wird durch eine synchrone negative Komponente PIII – oder Teilkomponente von PIII – verdeckt bzw. bei hohen Reizintensitäten überkompensiert. Gut ausgeprägt war die c-Welle bei der Katze, etwas schwächer bei Kaninchen, Meerschweinchen und Wickelbären. Eine charakteristische c-Welle fand sich auch beim Rhesusaffen (Figur 1), wo sie sich hinsichtlich Reizsummation und Gipfelzeit ähnlich verhielt wie beim Menschen, bei dem sie 1966 erstmalig mit Sicherheit (unter Ausschluss aller Fehlermöglichkeiten) registriert



Fig. 1. Elektretinogramme eines Rhesusaffen nach 30 min Dunkeladaptation; Lichtreiz 5 sec, Intensität 17 nt. Höhe der b-Welle («positive Eintrittsschwankung») ca. 0,4 mV, der c-Welle («sekundäre Erhebung») 0,65 mV. Gleichspannungsverstärkung.

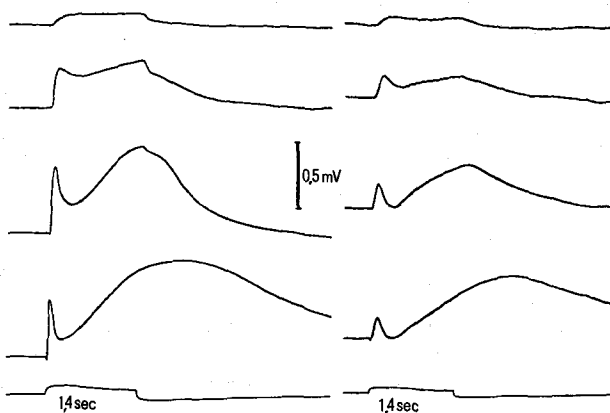


Fig. 2. Elektretinogramme einer Katze (links) und eines Meerschweinchens (rechts) nach 30 min Dunkeladaptation. Lichtreize: 1,4 sec Dauer, Intensitäten (von oben nach unten) im Verhältnis 1:2⁴:2⁸:2¹⁴. Grundintensität 1 ist 0,001 nt bei der Katze, 0,005 nt beim Meerschweinchen. Eichung (0,5 mV) in der 3. Kurve links. Gleichspannungsverstärkung. Übergang vom reinen DC-Potential zu vollständigem ERG (a-, b- und c-Welle) mit steigender Intensität; im Katzen-ERG Trennung durch das abrupte Ende des ersten bei Reizende deutlich erkennbar.

werden konnte³. Eine selektive Auslöschung der c-Welle durch Intoxikation, wie sie bei Jodatschädigung des Pigmentepithels beobachtet wurde⁴, konnte auch mit Chinin erreicht werden⁵. In jüngerer Zeit konnten Veränderungen der c-Welle gleichzeitig mit Änderungen der Impulsaktivität im N. opticus nach Einwirkung von Psychopharmaka festgestellt werden⁶, wie auch nach längerer Intoxikation bei der Katze histologische Abnormalitäten der Retina auftreten⁷. Die besonders hohe Empfindlichkeit der c-Welle gegenüber retinalen Schädigungen erscheint auch vom medizinisch-diagnostischen Standpunkt aus recht interessant, doch ist gerade die Registrierung der langsamen Potentiale des ERG beim Menschen infolge ihrer biologischen Störanfälligkeit noch etwas schwierig.

Das erstmalig bei der Katze⁸ als DC-Potential und später beim Menschen in der isolierten Retina⁹ bzw. in situ³ als Plateaupotential nachgewiesene tonische, im Sinne von BRINDLEY und WESTHEIMER¹⁰ lineare Potential im ERG, das in einer während der Belichtungsdauer anhaltenden Positivität besteht, konnte bei allen untersuchten Säugern beobachtet werden, deren Netzhäute Stäbchen enthalten, wie u.a. Hund, Rhesusaffe, Schwein, Kaninchen, Fledermaus (zapfenfrei). Bei der reinen Zapfennetzhaut (Ziesel) fand sich zwar ebenfalls eine tonische Komponente, die aber dadurch charakterisiert war, dass sie erst bei höheren Reizintensitäten beobachtet werden konnte, während das DC-Potential bei stäbchenhaltigen Netzhäuten lediglich im skotopischen Bereich (vor allem bei Reizintensitäten, die noch nicht zur Auslösung einer b-Welle ausreichten) nachweisbar war. Eine besonders deutliche Trennung von DC-Potential und c-Welle findet sich bei der Katze (was bei anderen Arten, wie z.B. Meerschweinchen, nicht der Fall ist, Figur 2), so dass auch im ERG bei üblicher Ableitung eine Identität der beiden Erscheinungen auszuschließen ist.

Summary. Investigating the slow positive potentials of the electroretinogram (ERG) of different mammals, 'c-wave' and 'd.c.-potential' proved to be strictly discernible. With respect to its amplitude and its peak time, the c-wave differs in various species. There are two types of d.c.-potentials, a scotopic and a photopic one.

L. WÜNSCH und H. BORNSCHNEIN

*Institut für Allgemeine und Vergleichende Physiologie der Universität,
Schwarzspanierstrasse 17, A-1090 Wien (Österreich),
7. Januar 1972.*

² H. BORNSCHNEIN, O. WICHTERLE und L. WÜNSCH, *Vision Res.* 6, 733 (1966).

³ RENATE HANITZSCH, K. HOMMER und H. BORNSCHNEIN, *Vision Res.* 6, 245 (1966).

⁴ W. K. NOELL, *Am. J. Ophthalmol.* 48, 347 (1959).

⁵ K. HOMMER, W.-D. ULRICH und L. WÜNSCH, 6. ISERG-Symposium, Erfurt 1967 (VEB Thieme, Leipzig 1968), p. 369; Albrecht v. Graefes Arch. Ophthalmol. 175, 121 (1968).

⁶ W.-D. HEISS, P. HEILIG und J. HOYER, *Experientia* 23, 728 (1967); *Vision Res.* 9, 493 (1969).

⁷ W. MEIER-RUGE, *Medikamentöse Retinopathie* (Thieme, Stuttgart 1967).

⁸ K. T. BROWN und T. N. WIESEL, *J. Physiol., Lond.* 158, 229 (1961).

⁹ RENATE HANITZSCH und A. L. BYSOW, *Albrecht v. Graefes Arch. Ophthalmol.* 151, 672 (1963).

¹⁰ G. S. BRINDLEY und G. WESTHEIMER, *J. Physiol., Lond.* 196, 78P (1968).