

Die Kausalität des Gelege-Abbaus ist wie folgt zu beurteilen. *Wenn ein Gelege reif geworden ist, dann ist damit ein Zustand erreicht, der nur für eine gewisse Zeitspanne aufrechterhalten bleiben kann.* Kommt es in diesem Zeitraum nicht zum Laichakt, dann degenerieren die Eier. Als Ursache für das Ausbleiben des Laichaktes kommt vor allem der Mangel an paarungsbereiten Männchen in Betracht (s. die *tholloni*-Gruppe!). Bei *Tilapia mossambica* kommt hinzu, daß bei laichbereiten Männchen, selbst wenn sie intensiv balzen und die Partnerin offensichtlich bereit ist, eine so starke Aggressivität durchbrechen kann, daß das Weibchen die Laichversuche wieder aufgibt. Andererseits ist bei *Tilapia mossambica* ein Partner zur Auslösung des Laichaktes nicht unbedingt erforderlich, so wenig wie bei *Tilapia macrocephala* nach ARONSON. Experimente lehrten, daß manchmal auch Tiere ablaichen, die völlig isoliert in einem besonderen Aquarium gehalten werden. Bei *Tilapia tholloni* scheint das allerdings so gut wie nie vorzukommen. Hervorgehoben sei noch einmal, daß der Gelege-Abbau nicht etwa die

Ovulation zur Voraussetzung hat. Nach einer Reihe von Sektionsbefunden darf ich annehmen, daß die Ovulation erst einsetzt, wenn ein Laichakt unmittelbar bevorsteht, wie es bei *Tilapia* allgemein zu sein scheint (vgl. *T. macrocephala*, ARONSON).

Die zu Anfang dieses Abschnitts gestellte Frage, *wie lange* ein reifes Gelege erhalten bleibt, muß vorläufig offen bleiben. Sicher handelt es sich um eine sehr kurze Zeitspanne, und diese dürfte in etwa mit der Phase der Paarungsbereitschaft zusammenfallen.

Auf die Gelege-Degeneration bin ich auch deshalb näher eingegangen, weil sie u. U. bei der Beurteilung der Gelegewichte berücksichtigt werden muß. Ich habe den Fall eines *mossambica*-Weibchens notiert, das ausnahmsweise noch zum Abläichen kam (und zwar mit einem Männchen), *nachdem ein großer Teil der Eier bereits im Abbau begriffen war.* Die degenerierenden Eier, im Ovar verblieben, konnten nicht mehr zuverlässig gezählt werden. Es ist klar, daß das Gesamtgewicht der abgeläichten Eier weit unter dem Erwartungswert lag. Nachträglich taucht der Verdacht auf, daß erste Anzeichen von Abbau am Ovar von Nr. 4 mit dem auffallend niedrigen Gelegewicht (s. Tab. 1 und Abb. 1) übersehen worden waren.

Untersuchungen über die Redox-Eigenschaften der Haut nach Bestrahlung mit ultraviolettem Licht

Von W. HANKE

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Frankfurt a. M. (Direktor: Prof. Dr. H. GIERBERG)
(Z. Naturforschg. **14 b**, 592—598 [1959]; eingegangen am 26. Mai 1959)

Eingehendere Untersuchungen über die mit Hilfe der *N a d i*-Reaktion nachweisbaren erhöhten Oxydationswirkungen an uv-bestrahlten Hautstellen führten zur Feststellung, daß eine Erhöhung der Peroxydase-Wirkung in Verbindung mit Vermehrung der peroxydischen Eigenschaften als Ursache anzusprechen ist. Aktivierung der Tyrosinase im bestrahlten Gebiet wurde sowohl an der albinotischen Mäusehaut als auch bei Froschschwimmhäuten nachgewiesen. Wellenlängen-Abhängigkeit und Bedeutung als Primäreffekt der UV-Strahlen werden diskutiert.

In einer früheren Mitteilung (HANKE¹) wurde gezeigt, daß an uv-bestrahlten Schwimnhäuten von Fröschen und Rückenhäuten von Mäusen Oxydations-Potentiale mit Hilfe der *N a d i*-Reaktion nachgewiesen werden konnten. Es war hierbei festgestellt worden, daß es sich in diesen Fällen nicht um eine Erhöhung der Cytochrom-Oxydase handeln kann, da die Reaktion durch Na-azid nicht gehemmt wird. Die Reaktion fiel bei Anwendung von physiologischem p_H 7,0—7,4 völlig anders aus als bei p_H 4,2 bis 4,4. So lag die Vermutung nahe, daß Ferment-Reaktionen hierbei eine Rolle spielen.

¹ W. HANKE, Z. Naturforschg. **12 b**, 299 [1957].

Für die Klärung der Primär-Effekte der UV-Strahlen an lebendem Gewebe liegt die Bedeutung solcher Untersuchungen auf der Hand. Man kennt einerseits Wirkungen, die darauf beruhen, daß die eingestrahelte Energie von der reagierenden Substanz selbst absorbiert wird. Dies bezeichnet man als direkte Wirkungen. Andererseits müssen aber auch Reaktionen angenommen werden, die erst sekundär von den durch die Bestrahlung veränderten Molekülen ausgelöst werden. So kennt man solche indirekten Wirkungen von energiereicheren Strahlen. In wäßriger Lösung und wohl auch in Geweben entstehen nach Röntgen-Einwirkung energiereiche Ra-

dikale (H, OH, HO₂) und H₂O₂ (DALE², PATT³ u. a.). Unter bestimmten Bedingungen können diese Radikale eine Reihe von Enzymen oxydieren und damit inaktivieren (ORD und STOCKEN⁴). Bei Versuchen in vivo gestalten sich allerdings die Ergebnisse viel verwirrender. Die Wirksamkeit der oxydierenden Verbindungen, die durch ionisierende Strahlen gebildet werden, wird im Organismus vor allem dadurch eingeschränkt, daß im Gewebe Peroxydasen vermehrt werden (HORGAN und PHILPOT⁵; SCHERER⁶).

Der Wirkungsmechanismus der ultravioletten Strahlen in der Zelle ist weitgehend dadurch bestimmt, von welchen Substanzen die Strahlen in der Zelle absorbiert werden. Das kurzwellige UV wird meistens durch Eiweißstoffe absorbiert, wobei der Schwerpunkt der Wirkung bei Wellenlängen zwischen 254 und 297 m μ liegt (RAJEWSKY⁷). Es ist ungeklärt, ob in diesem Zusammenhang auch eine Bildung energiereicher Radikale oder von H₂O₂ von Bedeutung ist.

Die Froschschwimmhaut wurde auch weiterhin zur Untersuchung dieses Fragenkreises der Primärwirkung UV-Lichtes an lebenden Zellen verwendet, weil über ihre histologische und histochemische Struktur nähere Einzelheiten bekannt sind (HANKE⁸).

und weil die Eindringtiefe der verschiedenen Wellenlängen und die Absorption in den einzelnen Schichten so genau wie möglich bestimmt war (HANKE und BÜCKER⁹, BÜCKER und HANKE¹⁰).

Methodik

Die Bestrahlungen erfolgten wie in den früheren Untersuchungen (HANKE¹) an kleinen Bezirken der Schwimmhaut mittels eines Quecksilber-Hochdruck-Brenners. Es wurden verschiedene Bestrahlungs-Anordnungen gewählt, deren Wellenlängen-Intensitäten aus Tab. 1 ersichtlich sind. Zur Abfiltrierung der intensiven Wärmestrahlung war eine Quarzküvette zwischengeschaltet, die mit Wasser durchströmt wurde. Wie bei früheren Untersuchungen erwies es sich als unbedingt notwendig, daß bestrahlte und unbestrahlte Felder direkt nebeneinander liegen, so daß im Querschnitt ein Vergleich möglich ist. Die Untersuchung der Häute erfolgte entweder sofort nach Bestrahlung oder nach einer Latenzzeit, die je nach Fragestellung verschieden lang war.

Red-Ox-Effekte in der Haut

Die Bedeutung, die Veränderungen in den Redox-Eigenschaften der Haut zukommt, läßt sich durch die Empfindlichkeit vieler Proteine gegen milde Oxydationsmittel verstehen. SIZER¹¹ gibt eine Anzahl

Anordnung Wellenlänge	1	2	3	4	5	1 + WG 6	2 + WG 6	1 + WG 4	2 + WG 4
254	420	280	75	110	90	—	—	—	—
266	1370	680	265	350	220	14	7	—	—
276	310	210	105	80	70	31	21	—	—
281	630	300	130	160	100	95	45	—	—
290	630	360	170	160	110	202	115	—	—
297	1420	860	430	360	280	710	430	—	—
303	2040	1330	620	530	420	1224	797	—	—
313	6900	4500	1950	1780	1430	4970	3240	550	260
334	820	510	255	210	160	705	438	574	356
366	10600	6580	3400	2730	2110	9500	5920	9000	5600

Tab. 1. Bestrahlungsstärken der verschiedenen Bestrahlungs-Anordnungen in $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ im UV (Genauigkeit etwa 10%).

- Anordnung 1. Brenner Q 400, Küvette 4, ohne Filter, 6,0 cm Abstand,
- 2. Brenner Nr. 4, Küvette 5, ohne Filter, 4,5 cm Abstand,
- 3. Brenner Nr. 4, Küvette 2, ohne Filter, 4,5 cm Abstand, oder
- Brenner Q 400, Küvette 3, ohne Filter, 6,0 cm Abstand,
- 4. Brenner Q 400, Küvette 4, ohne Filter, 12,0 cm Abstand,
- 5. Brenner Nr. 4, Küvette 5, ohne Filter, 9,0 cm Abstand.

² W. M. DALE, Biochem. J. 36, 80 [1942].

³ H. M. PATT, Physiol. Rev. 33, 35 [1953].

⁴ M. G. ORD u. L. A. STOCKEN, Physiol. Rev. 33, 356 [1953].

⁵ V. J. HORGAN u. J. A. L. PHILPOT, Symposium on Radiobiology, 1954.

⁶ E. SCHERER, Strahlentherapie 99, 242 [1956].

⁷ B. RAJEWSKY, „10 Jahre Forschung“, 1931, S. 202.

⁸ W. HANKE, Vortrag, gehalten auf dem 4. Intern. Symp. ü. akt. diagn.-therap. Probl. Dermatol. u. Gesamtmedizin, Bingen 1959.

⁹ W. HANKE u. H. BÜCKER, Atti del 2^o Congr. Intern. Fotobiol., Torino 1957, S. 424.

¹⁰ H. BÜCKER u. W. HANKE, Z. Naturforschg. 12b, 629 [1957].

¹¹ J. W. SIZER, Advances in Enzymol. XIV, 129 [1953].

aktiver Proteine an, die durch Tyrosinase oder Peroxydasen inaktiviert werden.

Für die Beurteilung des Nadi-Effektes ist es von Bedeutung, daß eine starke Nadi-Reaktion durch oxydase-haltige Leukozyten hervorgerufen wird (KELLER¹²). Im Bestrahlungsgebiet häufen sich die Leukozyten in den Gefäßen der Papillen und dem übrigen Corium. Auch bei den eigenen Untersuchungen war es vor allem die Region der Blutgefäße, die als Ausgangspunkt der Nadi-Reaktion anzusprechen ist. Bei einer doppelten Bestrahlung ließ sich allerdings keine Zerstörung der Oxydationskraft erkennen, wie sie von KELLER beobachtet wurde.

Die Leukozyten enthalten eine Peroxydase, die bei Gegenwart von Peroxyden eine Reaktion vom Typ $AH_2 + H_2O_2 \rightarrow A + 2 H_2O$ katalysiert. Das Peroxyd-Peroxydase-System bewirkt eine schnellere und intensivere Oxydation von Substanzen, die von den Peroxyden allein nicht so gut oxydiert werden. AGNER¹³ stellte fest, daß die Gegenwart von H_2O_2 notwendig ist für eine positive Nadi-Reaktion der Leukozyten. Nimmt man an, daß in der bestrahlten Frosch- und Mäusehaut Peroxyde gebildet werden, so lassen sich diese durch Nadi-Reagens in physiologischem p_H bei Anwesenheit von Peroxydase in Leukozyten oder in den Gewebezellen nachweisen.

In stärker saurem p_H 4,0–4,4 verringern die Peroxydasen ihre Wirksamkeit. Es können dann nur die Peroxyde selbst noch eine schwache Oxydationswirkung entfalten. Die absorbierte Energie ist in der Epidermis größer als in den inneren Schichten. Es ist möglich, daß daher die positive Reaktion in der bestrahlten Epidermis bei p_H 4,0–4,4 herührt. Zum Nachweis dafür, daß Peroxyde in den bestrahlten Häuten gebildet werden, wurde Katalase (Boehringer, Mannheim) in Verbindung mit Nadi-Reagens angewandt. Die Bewertung der Reaktionen in Tab. 2 zeigt deutlich, daß die Erhöhung der Oxydationskraft an der bestrahlten Stelle, die in physiologischem p_H nachzuweisen ist, stark absinkt, wenn Katalase vorher oder gleichzeitig einwirkt (Abb. 1* bis 4). Im sauren p_H 4,0–4,4 dagegen wird der Reaktionsausfall nicht verändert. Da die Katalase bei Anwendung in p_H 4,0 nur noch etwa 1/10 so schnell reagiert wie bei p_H 8,0, ist es möglich, daß diese Wirkung zur Zerstörung der Peroxyde nicht ausreicht und die Wirksamkeit gegenüber dem Nadi-Reagens deshalb nicht verringert ist (Abb. 5 u. 6).

Die Anwesenheit von Peroxyden allein genügt nicht, um die starke Nadi-Reaktion zu erklären. Mit Hilfe der Benzidin-Reaktion von DE ROBERTIS und GRASSO¹⁴ konnte nachgewiesen werden, daß die bestrahlte Region sich von der unbestrahlten durch eine Er-

Datum	Nr.	Obj.	Bestr.-Anordn.	Dauer [min]	Latenzzeit [Std.]	p_H	Nadi	Nadi + Katal.	vorher Katal. 45–60 min. dann Nadi
19. 3. 58	Na 23	FSH	1	60	24	8,0	++	+-	+
	Na 23	FSH	1	60	24	4,2	++	++	+
	Na 24	FSH	1	60	24	8,0	++	+-	+
						4,2	++	++	++
	Na 25	FSH	2	60	24	8,0	++	-	+-
						4,2	++	++	++
	Na 26	FSH	2	60	24	8,0	++	+-	+
						4,2	++	++	++
	Na 27	FSH	2	60	24	8,0	++	+-	/
						4,2	++	++	/
	Na 28	FSH	1	60	24	8,0	++	-	/
						4,2	++	++	/
	Na 29	FSH	2	60	24	8,0	++	-	/
						4,2	+	+-	/
	27. 3. 58	Na 33	MRH	2	60	23	7,8	++	-
						4,2	-	-	-
Na 34		MRH	1	60	23	7,8	++	-	+-
					4,2	-	-	-	

Tab. 2. Nachweis von Oxydations-Wirkungen an Froschschwimmhäuten (FSH) und Mäusehäuten (MRH), Bestrahlung am Tier (keine abgeschnittene Haut), Vergleich mit Katalasebehandlung. Wertung: ++ Effekt sehr deutlich, + Effekt schwach aber deutlich, +- undeutlicher Effekt, - kein Effekt.

* Abb. 1–11 s. Tafel S. 596 a u. b.

¹² P. KELLER, *Strahlentherapie* **16**, 537 [1924].

¹³ K. AGNER, *Acta physiol., scand.*, 2. suppl., 8 [1954].

¹⁴ E. DE ROBERTIS u. R. GRASSO, *Endocrinology* **38**, 137 [1946].

a) Froschschwimmhaut, normal								
Datum	Nr.	Bestr.-Anordng.	Dauer [min]	Latenzzeit	Peroxydase-Reaktion	Nadi-Reaktion		Stase
						p _H 7-8 Corium	p _H 4-4,5 Epidermis	
20. 2. 57	Per 3	3	90	0	—	—	++	+
25. 2. 57	Per 6	3	90	0	—	/	/	++
28. 2. 57	Per 8	3	90	0	++	+	/	+++
	Per 9	3	90	0	++	++	/	+++
1. 3. 57	Per 10	3	90	0	++	/	/	+
6. 3. 57	Per 12	3	120	24	—	+	+	+
7. 3. 57	Per 14	3	135	0	+—	—	+	—
11. 3. 57	Per 15	3	180	48	+	++	++	+++
	Per 16	3	120	48	+	++	+—	+++
	Per 17	3	105	0	++	/	/	++
20. 3. 57	Per 18	3	90	0	++	++	++	+++
	Per 19	3	90	0	+	+—	/	+++
	Per 22	2	60	23	++	++	++	+
	Per 23	2	60	23	++	++	++	+
	Per 24	1	60	23	++	++	++	+
	Per 25	1	60	23	++	++	++	+
b) Froschschwimmhaut, abgeschnitten bestrahlt								
7. 3. 57	Per 13	3	135	0	—	—	+	/
12. 3. 57	Per 26	2	60	0	+	+—	—	/
	Per 27	2	60	0	—	+	—	/
	Per 28	1	60	0	+—	+	+—	/
	Per 29	1	60	0	+	+—	—	/
c) Mäuserückenhaut, normal								
12. 3. 57	Per 20	2	60	0	?	++	—	
	Per 21	2	60	23	?	++	—	

Tab. 3. Peroxydase- und N a d i - Nachweis nach UV-Bestrahlung. Wertung wie Tab. 2.

höhung der Peroxydase-Wirkung auszeichnet (Abb. 7). Beim Test wird zu einer Benzidinlösung H₂O₂ hinzugefügt, so daß das an der bestrahlten Stelle vorhandene Peroxyd unwesentlich wird. Dieser Effekt geht einerseits von Leukozyten und Blutgefäßen aus, beruht aber wohl auch auf einer Erhöhung der Peroxydase in den Zellen. Der Vergleich der N a d i - Reaktion mit der Peroxydase-Erhöhung in der Froschschwimmhaut beweist, daß eine deutliche Peroxydase-Reaktion dann eintritt, wenn die N a d i - Reaktion eindeutig positiv ist (Tab. 3). Die Angaben über die Stase beziehen sich auf Reaktionen des Blutstroms in den Kapillaren des bestrahlten Gebietes (GIERSBERG und HANKE¹⁵). Die Peroxydasen sind in diesen Versuchen durch eine zweite Bestrahlung nicht zu zerstören. Leider ließ sich an der Mäusehaut aus ungeklärten Gründen kein Nachweis von Peroxydasen ermöglichen, so daß die Verhältnisse für die Mäusehaut nicht so eindeutig geklärt sind.

Es kann also als sicher betrachtet werden, daß die Erhöhung der Oxydationswirkung, die sich an bestrahlten Hautstellen zeigt, auf Vermehrung von

Peroxyden und Erhöhung der Peroxydase-Aktivität beruht. Es erhebt sich die Frage, ob die Blutzirkulation für diese Reaktionen von Bedeutung ist. Hierzu wurden Bestrahlungen an abgeschnittenen Häuten durchgeführt. Die wenigen Versuche, die in die Tab. 3 aufgenommen worden sind, zeigen, daß die beiden Nachweis-Reaktionen deutlich geringere Unterschiede zwischen bestrahlten und unbestrahlten Zonen ergeben, wenn die Bestrahlung an abgeschnittenen Häuten erfolgt. Eine größere Anzahl von weiteren Versuchen ergab negative Resultate. Es kann daraus geschlossen werden, daß die Vermehrung der Peroxyde und Erhöhung der Peroxydase-Aktivität durch Bestrahlung mit UV wesentlich schwächer auftritt, vielleicht sogar ganz unterbleibt, wenn die Durchblutung des Gewebes aufhört. Die sehr geringe Erhöhung der Peroxydase-Aktivität, die manchmal auch an abgeschnittenen Häuten noch zu beobachten ist, beruht sicherlich auf einer gewissen Erhöhung der Peroxydase-Eigenschaften der Zellhämine an der bestrahlten Stelle.

¹⁵ H. GIERSBERG u. W. HANKE, Z. vergleich. Physiol. 37, 128 [1955].

In der weiteren Verfolgung der Oxydationskraft-Beeinflussung ist es bedeutsam, die Wirkung auf die Tyrosinase in der Haut zu untersuchen. Durch Tyrosinase wird im tierischen Gewebe Tyrosin in Melanin verwandelt. Die Dopa-Oxydase (Dioxyphenylalanin-Oxyd.) der Säugerhaut ist identisch mit Tyrosinase. Das Ferment katalysiert sowohl den Übergang des Tyrosins zu Dopa als auch von Dopa zu Melanin (LERNER und FITZPATRICK¹⁶, LERNER¹⁷). FITZPATRICK und Mitarbb.^{18, 19} stellten fest, daß die Melaninbildung durch Tyrosinase in der mensch-

lichen Haut, durch das Redox-Potential, durch die Temperatur, durch UV und ionisierende Strahlen beeinflußt wird. SH-Gruppen hemmen die Tyrosinase (ROTHMAN und Mitarbb.²⁰, FLESCH²¹).

Die unterschiedliche Bildungsweise des Melanins in der menschlichen Haut nach Bestrahlung mit kurzwelligem UV (indirekte Pigmentierung) und langwelligem UV (direkte Pigmentierung) ist bekannt. In beiden Fällen erhöht sich der Gehalt an dunklem Melanin. Die Ursachen sind wahrscheinlich verschieden. Bei Nicht-Säugetieren ist allerdings keine sichere

Datum	Nr.	Bestr.-Anordnung	Dauer [min]	Latenzzeit [Std.n.]	Reaktion makrosk.	Reaktion mikroskopisch		Bemerkung
						Epid.	Corium	
30. 7. 57	51	2	60	0	/	++	—	
	52	1	60	0	/	++	+	
1. 8. 57	53	2 + WG 6	90	0	—	+-	+-	
	54	1 + WG 4	90	0	—	+-	+-	
8. 8. 57	55	2 + WG 6	120	0	+-	+-	+-	
	56	1	50	0	++	++	—	
20. 8. 57	57	4	60	68	++	++	++	
	58	4	30	68	++	++	+	
23. 8. 57	59	1	60	0	—	—	—	
	60	2	60	0	+	+	—	
	61	1	60	18	++	+	—	
	62	2	60	18	++	+	—	
	63	1	30	18	++	++	—	
	64	2	30	18	++	++	—	
25. 9. 57	65	4	45	12	++	++	+	
	66	5	30	19	++	++	+	
	67	4	25	19	++	/	/	
	68	5	15	19	++	+	+-	
	69	2 + WG 4	60	18	—	—	—	
14. 10. 57	70	2 + WG 4	60	19	—	—	—	
	71	2 + WG 4	60	22	—	—	—	
	72	2	60	23	+-	+-	+-	Dopa p _H 4,6
15. 10. 57	73	2	60	23	+-	+-	+-	„ p _H 4,6
	74	1 + WG 6	60	23	+	—	+	
	75	1 + WG 6	60	22	+	+	+	
4. 2. 58	77	2	30	6	++	++	+	
	79	1	30	6	—	—	—	Dopa p _H 4,6
10. 2. 58	84	2	30	23	+	++	+-	
19. 2. 58	91	2	45	0	+	++	—	abgeschnitt. Haut
	93	2	60	22	++	++	++	
26. 2. 58	97	2	2 × 60	24	/	++	++	Reakt. an Schnitten
	98	2	60	24	/	++	++	„ „ „
	99	2	60	12	/	++	++	„ „ „
	100	2	60	12	/	++	++	„ „ „
5. 3. 58	101	1	2 × 60	16	/	++	++	„ „ „
	102	1	2 × 60	16	/	++	++	„ „ „
	103	2	60	16	/	++	++	„ „ „
	104	2	60	16	/	++	++	„ „ „

Tab. 4. Nachweis der Dopa-Oxydase an der mit UV bestrahlten Froschschwimmhaut. Wertung wie Tab. 2.

¹⁶ A. B. LERNER u. T. B. FITZPATRICK, *Physiol. Rev.* **30**, 91 [1950].

¹⁷ A. B. LERNER, *Advances in Enzymol.* **XIV**, 73 [1953].

¹⁸ T. B. FITZPATRICK, S. W. BECKER, A. B. LERNER u. H. MONTGOMERY, *Science* [New York] **112**, 223 [1950].

¹⁹ T. B. FITZPATRICK, A. B. LERNER, E. CALKINS u. W. H. SUMMERSON, *Arch. Dermatol. Syphilology* **59**, 620 [1949].

²⁰ S. ROTHMAN, H. F. KRYSA u. A. M. SMILJANIC, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **62**, 208 [1946].

²¹ P. FLESCH, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **70**, 136 [1949].



Abb. 1. Froschschwimmhaut, quer, Gefrierschnitt, N a d i - Reaktion bei p_H 7,4 (N a d i 23), Vergr. 85-fach. 1 Epidermis, 2 Corium, 3 unbestrahlte Stelle, 4 bestrahlte Stelle.

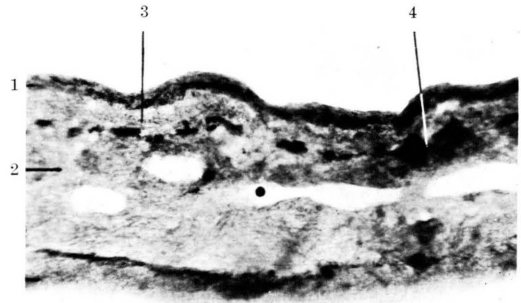


Abb. 2. Froschschwimmhaut, quer, Gefrierschnitt, N a d i - Reaktion bei p_H 7,4 vorher Katalase (N a d i 23), Vergr. 100-fach. Bezeichnung wie Abb. 1.

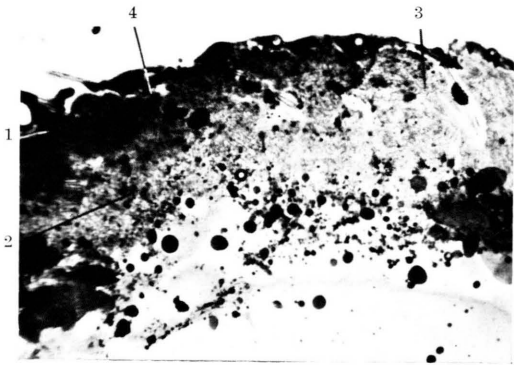


Abb. 3. Mäuserückenhaut, quer, Gefrierschnitt, N a d i - Reaktion bei p_H 7,9 (N a d i 33), Vergr. 50-fach. Bezeichnung wie Abb. 1.

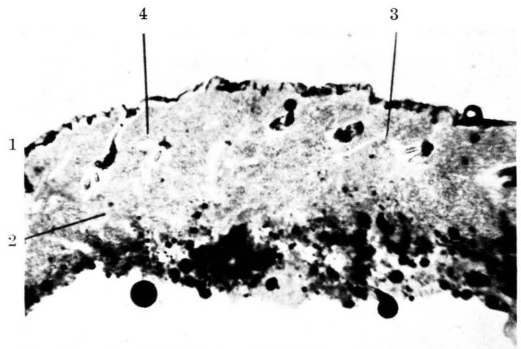


Abb. 4. Mäuserückenhaut, quer, Gefrierschnitt, N a d i - Reaktion bei p_H 7,9 mit Zusatz von Katalase (N a d i 33), Vergr. 50-fach. Bezeichnung wie Abb. 1.

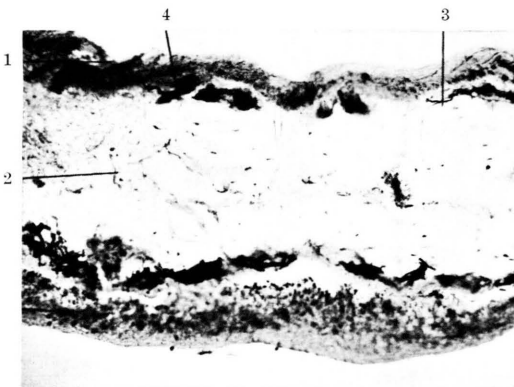


Abb. 5. Froschschwimmhaut, quer, Gefrierschnitt, N a d i - Reaktion bei p_H 4,2 (N a d i 23), Vergr. 250-fach. Bezeichnung wie Abb. 1.

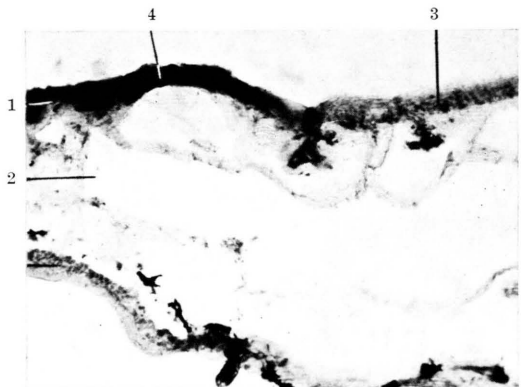


Abb. 6. Froschschwimmhaut, quer, Gefrierschnitt, N a d i - Reaktion bei p_H 4,2 mit Katalase-Zusatz (N a d i 23), Vergr. 100-fach. Bezeichnung wie Abb. 1.

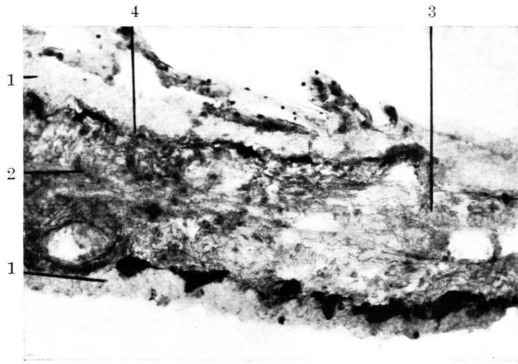


Abb. 7. Froschwimmhaut, quer, Gefrierschnitt, Peroxydase-Reaktion (Per 23), Vergr. 180-fach. Bezeichnung wie Abb. 1.

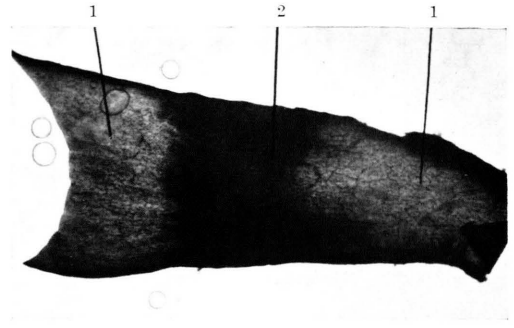


Abb. 8. Froschwimmhaut, Aufsicht, makroskop. D o p a - Reaktion, Vergr. 8-fach. 1 unbestrahlte Stelle, 2 bestrahlte Stelle.



Abb. 9. Mäuserückenhaut, Aufsicht, makroskop. D o p a - Reaktion (Dop 24), bestrahlte Stelle kreisrund, dunkel gefärbt, Vergr. 1,2-fach.

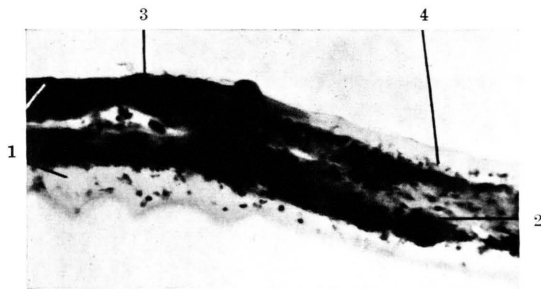


Abb. 10. Froschwimmhaut, quer, Gefrierschnitt, D o p a - Reaktion (Dop 57), Vergr. 75-fach. Bezeichnung wie Abb. 1.

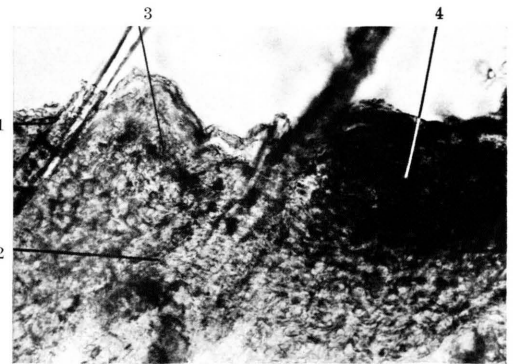


Abb. 11. Mäuserückenhaut, quer, Gefrierschnitt, D o p a - Reaktion (Dop 24), Vergr. 150-fach. Bezeichnung wie Abb. 1.

Melaninbildung nach UV-Bestrahlung nachgewiesen. FITZPATRICK und Mitarbb.^{18, 19} zeigten zunächst in vitro, daß die verstärkte Melaninbildung wohl die Folge einer Photooxydation von Tyrosin zu Dopa sei, das dann die Melaninbildung katalysiert. Das Ferment selbst soll durch Bestrahlung geschwächt werden. In vivo aber stellten sie fest, daß in den Melanoblasten mit Dendriten (Melanodendrozyten) am Übergang von der Epidermis zum Corium nach Einwirkung von Dopa Melaninbildung die Aktivität von Tyrosinase anzeigt, die bei unbestrahlten Kontrollen nicht auftrat.

Es war zu untersuchen, ob auch die albinotische Mäusehaut und die Froschhaut eine Anregung der Dopa-Oxydase nach Bestrahlung erkennen lassen. Vor allen Dingen war festzustellen, ob mit langwelligem UV, das für die direkte Pigmentierung verantwortlich ist, eine Aktivierung dieses Fermentes erzielt werden kann. Der Nachweis erfolgte mit der Dopa-Oxydase-Reaktion nach BECKER, PRAVER und THATCHER²². Die Reaktion ist nicht unbedingt auf Tyrosinase spezifisch, sondern spricht auf verschie-

dene fermentative Oxydationsprozesse in der Zelle an.

Zunächst zeigt eine dunkle Färbung schon äußerlich an der mit Dopa inkubierten Frosch- und Mäusehaut den positiven Reaktionsausfall nach Bestrahlung mit dem UV des ungefilterten Brenners an (Abb. 8 und 9). Diese Erscheinung ist in den Tab. 4 und 5 als makroskopische Reaktion bewertet. Sie tritt an der Rückenhaut weißer Mäuse erst nach einer Latenzzeit von mehreren Std. nach der Bestrahlung deutlich hervor. Bei den Froschschwimmhäuten ist diese Reaktion auch ohne Latenzzeit schon vereinzelt zu bemerken, verstärkt sich dann aber noch. Nach 10 und mehr Std. ist die Reaktion sehr ausgeprägt.

Am Gefrierquerschnitt läßt sich sehr gut die Verteilung der Aktivierung erkennen. Sie erstreckt sich unabhängig vom Zelltyp über Epidermis und Corium hinweg (Abb. 10 und 11). Die Ausdehnung ist bei Mäusehäuten insofern von der des N a d i - positiven Gebietes verschieden, als die aktive Zone sich gleichmäßig um das Übergangsbereich Corium - Epidermis

Datum	Nr.	Bestr.-Anordnung	Dauer [min]	Latenzzeit [Stdn.]	Reaktion			Bemerkung
					makrosk. Wert	mikrosk. Wert	Ausdehnung	
15. 5. 57	29	2	90	17	++	++	Epid. u. Cor.	
	24	1	90	17	++	++	„ „ „	
	25	2	90	0	+	+	„ „ „	
	26	1	90	0	+	+	„ „ „	
18. 6. 57	27	1	50	16	++	++	Epid. u. Cor.	
	28	2	90	16	++	++	„ „ „	
8. 7. 57	29	2	60	18	++	++	„ „ „	
	30	1 + WG 6	60	18	-	+ -	„ schwach	
9. 7. 57	31	2 + WG 4	90	19,5	-	-		
	32	1 + WG 6	90	19,5	-	+ -	Epid. schwach	
11. 7. 57	33	2	75	0	-	+ -	„ „	
	34	1	75	0	-	+ -	„ „	
	35	2 + WG 6	120	18	+ -	-		
	36	1 + WG 4	120	18	-	-		
15. 7. 57	37	2	90	0	-	-		
	38	1	90	0	-	-		
	39	2 + WG 6	120	20	+	+ -	Epid. schwach	
16. 7. 57	40	1 + WG 4	120	20	-	-		
	41	2	30	20	++	++	Epid. u. Cor.	
22. 7. 57	42	1 + WG 6	120	19	-	-		
	43	1	90	0	+ -	-	abgeschnitten	
23. 7. 57	44	2	90	0	+ -	-	„	
	47	2	60	19	-	-		
	48	1	60	19	+	+ -	Epid.	
29. 7. 57	49	2	90	19	-	-	} rotbrauner Mäusestamm	
	50	1	90	19	-	-		
5. 3. 58	105	2	60	16	/	+	Epid. u. Cor.	} Reaktion an Schnitten
	106	2	60	16	/	+	„ „ „	

Tab. 5. Nachweis der Dopa-Oxydase an der mit UV bestrahlten Mäusehaut. Wertung wie Tab. 2.

²² S. W. BECKER, L. L. PRAVER u. H. THATCHER, Arch. Dermatol. Syphilology 31, 190 [1935].

gruppiert, während die Nadi-Reaktion punktförmige Ausgangszentren vor allem im Corium aufweist. Es spricht manches dafür, daß die beiden Oxydationsreaktionen verschiedene Ursachen haben, wenn auch bei der Froschhaut die Verteilung der beiden Reaktionen identisch ist.

Kontrollversuche mit Glutathion, KCN und Azid beweisen, daß die aktivierte Tyrosinase durch diese Substanzen gehemmt wird. Allerdings sind diese Versuche nicht völlig beweiskräftig. KCN und Azid bewirken nämlich mit der Zeit Oxydation der Dopa-Lösung und dadurch erfolgt beim Inkubieren der ganzen Häute an der bestrahlten Stelle ein schwaches Eindringen der gefärbten Lösung durch die geschädigten obersten Zellschichten. Damit kann sowohl bei Mäusehäuten als auch bei der Froschwimmhaut ein Effekt, der aber im wesentlichen nur auf die Hornhaut beschränkt bleibt, vorgetäuscht werden. Einwirken der Lösung auf Querschnitte zeigt, daß diese zwar im ganzen leicht angefärbt werden, ein stärkeres Hervortreten der bestrahlten Stelle jedoch nach Zusatz der Fermenthemmer unterbleibt. Daß trotz p_{H} -Angleichung nach Glutathion-Zusatz kein Effekt in Erscheinung trat, läßt sich vielleicht dadurch erklären, daß die Oxydation von Dopa durch Glutathion wieder rückgängig gemacht wird, so daß diese Versuche auch keine Beweiskraft für die Annahme einer spezifischen Fermentreaktion haben.

Aus den Tab. 4 und 5 geht weiterhin hervor, daß nach Vorschalten eines WG 6-Filters bei verdoppelter Dosis (teils sogar vervierfacher), d. h. gleicher Dosis der Wellenlänge 297 $m\mu$ ohne Abfilterung,

noch kein eindeutiger Effekt erzielt werden kann. Die Wirkung des langwelligen UV auf die Pigmentierung muß also auf anderen Vorgängen beruhen.

Es ist vor allem hervorzuheben, daß die Aktivierung der Tyrosinase noch an formol-fixiertem Material festzustellen ist. Die Nadi-Reaktion tritt dann nicht mehr auf. Wenn es sich um eine einheitliche unspezifische Reaktion handelte, wäre diese unterschiedliche Empfindlichkeit nicht leicht verständlich. Auch die aktivierte Tyrosinase ist durch eine zweite Bestrahlung nicht zu beeinflussen.

Vor allem die kurzwelligen UV-Strahlen ($\lambda < 300 m\mu$) bewirken eine Erhöhung des Oxydations-Potentials im Gewebe. Dies ist bei genügend hoher Dosis schon direkt nach Bestrahlung festzustellen. Der Effekt kann jedoch schon durch wesentlich geringere Dosen (etwa 1/5 der angegebenen) erzielt werden, wenn nach der Bestrahlung eine genügend hohe Latenzzeit bis zur Untersuchung verbleibt. Je höher die Dosis, um so kürzer ist die Latenzzeit, die verstreichen muß, bis diese Oxydations-Potentiale nachweisbar sind. Mit Hilfe dieser Oxydations-Kräfte kann ein Verständnis für manche Strahlungsreaktionen erzielt werden. Von der Haut aus können manche körpereigenen Stoffe durch diese Oxydationen so verändert werden, daß sie in ihrer Wirkung herabgesetzt sind oder intensivere Wirkung entfalten. Es ist hierbei jedoch zu beachten, daß in der Haut bisher mittels histochemischer Methoden keinerlei Veränderung in der Menge der SH-Gruppen nachgewiesen werden konnte. Deshalb muß angenommen werden, daß die Schutzwirkung in der Haut gegen solche Verschiebungen eine sehr starke ist (HANKE⁸).

NOTIZEN

Ein Achtring- π -komplex des Kobalts

VON ERNST OTTO FISCHER und CHRISTOF PALM

Institut für Anorganische Chemie der Universität München
(Z. Naturforschg. **14 b**, 598—599 [1959]; eingegangen am 22. Juli 1959)

In Fortführung unserer Arbeiten über Achtring- π -komplexe der Übergangsmetalle gelang die Darstellung von dimerem 1.3.6-Cyclooctatrien-kobalt-di-carbonyl $[\text{C}_8\text{H}_{10}\text{Co}(\text{CO})_2]_2$. Die gelben, diamagnetischen Kristalle sind luftbeständig, in org. Solvenzien löslich und zersetzen sich bei $\sim 145^\circ$.

Nachdem schon an den Hexacarbonylen des Chroms, Molybdäns und Wolframs die außergewöhnlich hohe Fähigkeit der isomeren 1.3.5- und 1.3.6-Cyclooctatriene

zur π -Komplexbildung gezeigt werden konnte¹, und auch die Eisencarbonyle bereitwillig Reaktionen damit eingehen², gelang es nunmehr auch einen ersten Achtring- π -komplex des Kobalts in Form gelber Kristalle der Bruttoformel $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{Co}(\text{CO})_2$ zu erhalten. Die Verbindung entsteht in sehr guten Ausbeuten (87%) durch einfachen Umsatz von in n-Heptan gelöstem $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ und Cyclooctatrien ($N_D = 1,5196$) unter N_2 bei Badtemperaturen von $\sim 130^\circ$. Die Reinigung erfolgt am

¹ E. O. FISCHER u. CHR. PALM, Z. Naturforschg. **14 b**, 347 [1959].

² E. O. FISCHER, CHR. PALM u. H. P. FRITZ, Chem. Ber., im Erscheinen.