

Veränderungen des Proteinstoffwechsels nach Bestrahlung

II. Proteaseaktivität, Proteasemuster, Protein und freie Aminosäuren in Zytoplasma und Zellorganellen der Rattenleber nach 600 R Röntgenganzkörperbestrahlung

G. Valet

Abteilung für experimentelle Medizin des Max-Planck-Institutes für Biochemie, Martinsried

Während einer initialen Reaktionsphase am ersten Tag nach 600 R Röntgenganzkörperbestrahlung nimmt die Proteaseaktivität gegen Eigenprotein und extern zugesetztes Hämoglobin im Zytoplasma und den Zellorganellen der Rattenleber über die Ausgangswerte zu. Dies ist wahrscheinlich Folge des Abbaus von Zelltrümmern aus abgestorbenem Gewebe. In der Krankheitsphase des Organismus am dritten und vierten Tag nach Bestrahlung nehmen Protein, Proteaseaktivität und freie Aminosäuren im Zytoplasma und den Zellorganellen gleichermaßen ab, wodurch eine Erklärung der Proteinverluste in der Leber infolge einer erhöhten Proteaseaktivität nicht unterstützt wird. Die Regenerationsphase führt am 15. bis 18. Tag zu deutlich erhöhten Proteaseaktivitäten und freien Aminosäuren in Zytoplasma und Zellorganellen.

Die Leber nimmt im Proteinstoffwechsel des Organismus einen wesentlichen Platz ein. Nach Röntgenganzkörperbestrahlung gehört sie bezüglich des Überlebens ihrer Zellen zu den strahlenresistenten Organen [2]. Eine Ganzkörperbestrahlung mit 600 R führt bei der Ratte in strahlensensiblen Organen wie Milz, Knochenmark, Darm und Lymphknoten zu deutlichen Zell- und Proteinverlusten [9, 2]. Dabei ist nicht geklärt, ob der Abbau der Zelltrümmer vollständig in den betreffenden Organen erfolgt, oder ob lösliche Proteine ins Blut übergehen und etwa von der Leber abgebaut werden. In der Anfangsphase nach Bestrahlung wurde in der Tat eine erhöhte Proteaseaktivität in der Leber gemessen [7, 8].

In dieser Arbeit soll untersucht werden, ob die Erhöhung von längerer Dauer ist, und eine Erklärungsmöglichkeit für die Proteinverluste darstellt, die am Höhepunkt der Strahlenkrankheit am dritten und vierten Tag nach Bestrahlung besonders ausgeprägt sind [15]. Dazu wurden die Proteaseaktivität von Zytoplasma und Zellorganellen gegen Hämoglobin (Kathepsin-D-Aktivität) und gegen Eigenprotein (Autolysegeschwindigkeit) sowie Proteasemuster, Protein und freie Ami-

nosäuren dieser Fraktionen untersucht. Die Veränderungen der verschiedenen Parameter wurden nach einem früher entwickelten Schema [15] auf die Organeinzelle übertragen. Damals gemachte Voraussetzungen wurden jetzt experimentell überprüft. Ein zellulärer Bezug biochemischer Veränderungen nach Bestrahlung ist wünschenswert, weil dadurch ein biologisches Verständnis des Mechanismus der Strahlenschädigung erleichtert wird.

Methodik

Die Methodik ist im wesentlichen in der vorangehenden Arbeit [12] beschrieben. Im Unterschied zur Milz wurden die Lebern im Gewichts- zu Volumenverhältnis 1 + 4 homogenisiert, und die Proteinlösungen zur Proteaseaktivitätsbestimmung auf 1 mg Stickstoff/ml verdünnt. Die Desoxyribonukleinsäure (DNS) wurde nach der Methode von Burton [7] im Leberhomogenat bestimmt.

In den Tabellen 1 bis 4 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen zusammengehöriger Meßwerte angegeben. In den Zeichnungen sind neben den Mittelwerten die Standardabweichungen der Mittelwerte eingetragen. Signifikant nach dem Student-Test vom Ausgangswert vor Bestrahlung abweichende Werte ($2p < 0,05$) sind in den Tabellen fett gedruckt und in den Zeichnungen durch eingekreiste Symbole wiedergegeben.

Ergebnisse

Die Kurven der pH-abhängigen Proteaseaktivität in Zytoplasma und Zellorganellen haben für die externe Kathepsin-D-Aktivität gegen Hämoglobin als Substrat und für die interne Aktivität gegen Eigenprotein einen ähnlichen Verlauf (Abbildung 1) mit der Hauptaktivität bei pH 3. In Tabelle 1 und Abbildungen 2e, f sind deshalb die Aktivitäten bei pH 3 wiedergegeben. Die Aktivitätswerte bei den anderen pH-Werten verändern sich ähnlich und sind nicht zahlenmäßig aufgeführt. Bei der externen Aktivität der Zellorganellen (Abbildung 1b) treten zwischen pH 5 und 7 negative Aktivitätswerte auf, d. h., es werden mehr Aminosäuren verbraucht als durch die Proteaseaktivität neu gebildet werden. Bei pH 7 sind vor allem im Zyto-

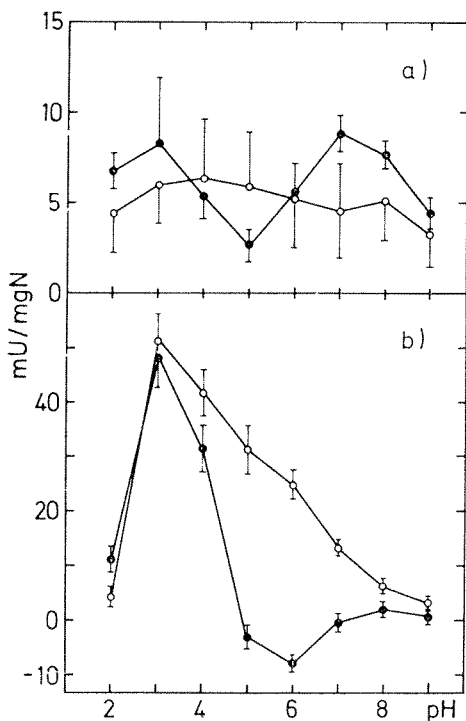


Abbildung 1. Proteaseaktivität von Zytoplasma (a) und Zellorganellen (b) der Rattenleber gegen Eigenprotein (interne Aktivität) (o) und gegen zugesetztes Hämoglobin (externe Aktivität) (●) als Substrat (n = 5).

plasma auch neutrale Proteaseaktivitäten nachweisbar (Abbildung 1a).

Bei den Gesamtleberdaten (Abbildungen 2a, c, e, g) sind vom ersten bis zweiten Tag beim Protein, bei den Proteasen und den freien Aminosäuren vor allem in den Zellorganellen vorübergehende Zunahmen festzustellen, während Lebergewicht und Zellorganellenvolumen vom ersten Tag an (Abbildung 2a) abnehmen. Am vierten Tag sind alle Parameter im Gesamtorgan signifikant vermindert. Die Konzentrationen bleiben dagegen bei den Zellorganellen, beim Protein und bei den freien Aminosäuren (Abbildungen 2b, d, h und Tabelle 1) weitgehend unverändert oder nehmen geringfügig zu. Deutliche Zunahmen treten lediglich bei der Proteaseaktivität am ersten sowie am 15. bis 18. Tag nach Bestrahlung auf, während es vor allem am dritten und vierten Tag zur raschen Abnahme auf nur 30 bis 40 % der Werte vor Bestrahlung kommt.

In Tabelle 2 ist gezeigt, daß in unfixierten Gefrierschnitten der Leber die Zellkerne innerhalb einer definierten Fläche nach Bestrahlung näher zusammenrücken. In Abbildung 3 sind die Veränderungen der reziproken Zellkernzahl den Änderungen des Lebergewichts gegenübergestellt. Beide Kurven haben einen ähnlichen Verlauf. Die Gesamt-DNS der Leber sowie Blut und Bindegewebsanteil und die Dichte der Leber (Tabelle 3) verändern sich nach Bestrahlung nicht wesentlich.

In Abbildung 4 sind die Veränderungen des pH-abhängigen Proteasemusters aufgezeichnet. Obwohl sich die Proteasen bei den verschiedenen pH-Werten weitgehend ähnlich verändern, sind Andeutungen von Gipfeln bei pH 3 und pH 7 vorhanden. Die mittlere Länge der Spaltpeptide (Tabelle 4) ändert sich dabei in den einzelnen Fraktionen nicht meßbar.

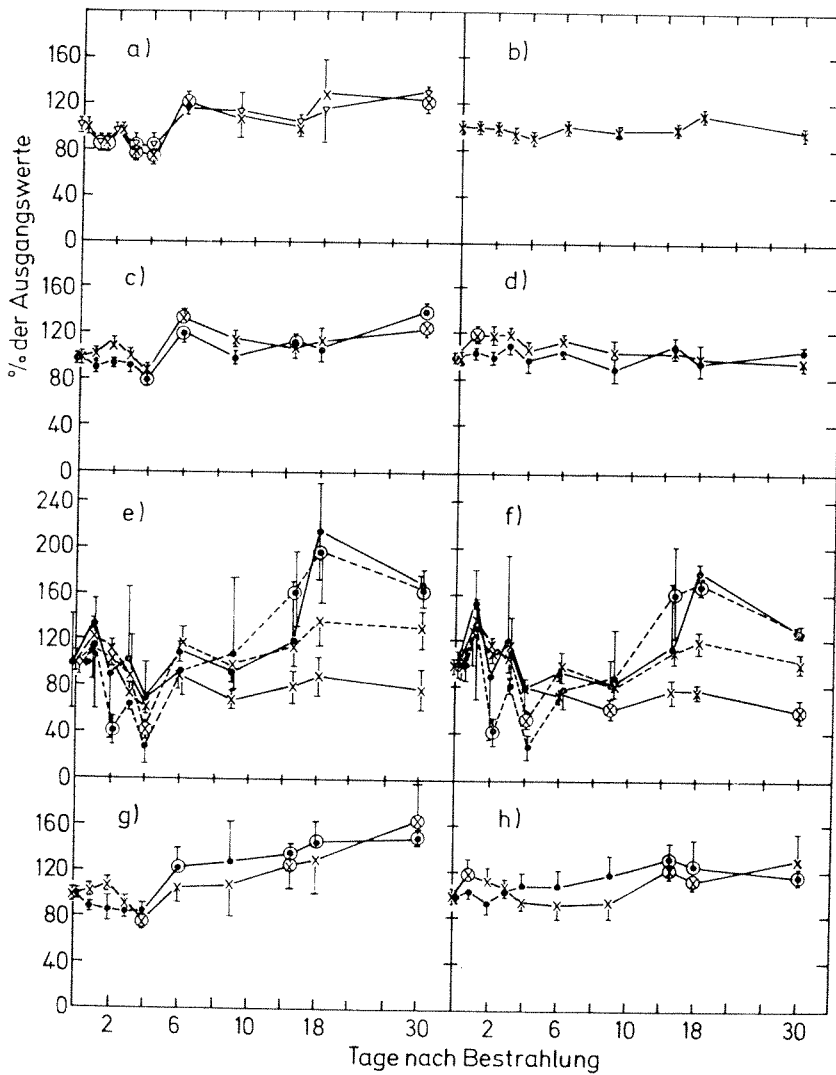


Abbildung 2. Lebergewicht (▽) und Zellorganellenvolumen (×) (a, b), Protein (c, d), externe (—) und interne (---) Proteaseaktivität (e, f) und freie Aminosäuren (g, h) von Zytoplasma (●) und Zellorganellen (×) der Rattenleber nach 600 R Röntgenganzkörperbestrahlung. Die experimentellen Werte sind auf die Gesamtleber (a, c, e, g) und auf 1 g Lebergewebe (b, d, f, h) umgerechnet und stellen Veränderungen der Leberzellgehalte und Leberzellkonzentrationen der verschiedenen Parameter dar. Die Mittelwerte und Standardabweichungen der Mittelwerte sind auf den jeweiligen Ausgangswert vor Bestrahlung als 100 % bezogen. Signifikant vom Ausgangswert abweichende Mittelwerte sind eingekreist.

Besprechung

Die Besprechung der Ergebnisse wird unter dem Gesichtspunkt der Darstellung der zellulären Veränderungen nach Bestrahlung durchgeführt. Bei konstanter Zellart und Zellzahl stellen Veränderungen einer Meßgröße pro Organ bzw. pro Gramm Gewebe Veränderungen ihres Zellgehalts bzw. ihrer Zellkonzentration dar. Die Zellart in der Leber ändert sich infolge der quantitativ bei weitem überwiegenden strahlenresistenten Leberparenchymzellen nach Bestrahlung nicht wesentlich. Die Leberzellzahl bleibt ebenfalls gleich, da die Gesamt-DNS der Leber (Tabelle 3) nicht meßbar verändert ist und die Messung der Volumenverteilungs-

kurven isolierter Leberzellkerne keine nachweisbaren Veränderungen des Verhältnisses diploider zu tetraploiden Leberzellkernen nach Bestrahlung ergab [14]. Der Gewichtsverlust der Leber vom ersten bis vierten Tag nach Bestrahlung (Abbildung 2a) müßte dann Ausdruck einer Verkleinerung der Leberzellen sein, da Veränderungen des Blut- und Bindegewebsanteils und der Dichte der Leber (Tabelle 3) nicht wesentlich zur Abnahme des Lebergewichtes beitragen. Die Zellverkleinerung läßt sich in der Tat histologisch durch das Zusammenrücken der Zellkerne nachweisen (Tabelle 2), wobei die histologisch abgeleiteten Zellvolumenänderungen sehr ähnlich denen sind, die sich aus den Lebergewichtsänderungen ergeben (Abbildung

T	Zyto- plasma (mg Stickstoff/g Leber)	Zellorga- nellen	Homogenat	Rattenaus- gangs- gewicht (g)	An- zahl der Ver- Tiere suche
0	10,2±1,2	18,6±2,5	29,3±2,1	100,2±3,5	38 5
1	10,7±0,4	22,1±0,1	31,8±1,4	100,0±3,9	51 2
2	10,1±0,5	22,1±2,1	29,7±0,3	100,1±3,6	31 2
3	11,7±0,7	22,3±0,2	34,5±0,2	99,0±3,6	25 2
4	10,2±1,2	19,5±0,4	27,7±3,3	100,5±3,8	25 2
6	10,9±0,7	21,3±1,4	31,4±2,0	99,5±4,1	25 2
9	9,3±1,4	19,3±3,2	26,8±3,0	99,0±3,0	25 2
15	11,5±1,1	20,2±1,4	30,8±2,4	101,1±3,6	30 2
18	10,1±1,9	18,6±3,3	30,6±1,9	99,7±3,7	26 2
30	11,2±0,4	18,2±1,5	30,6±1,6	99,5±2,4	20 2
Rattenend- gewicht (g)					
externe Aktivität pH 3 (mU/g Leber)					
0	107±33	896±216	935±274	100,2±3,5	38 5
1	146±102	1250±527	1277±238	95,9±4,1	51 2
2	48±19	986±90	961±67	92,8±4,0	31 2
3	88±2	1038±337	901±203	86,6±4,1	25 2
4	32±17	486±14	526±34	83,0±6,8	25 2
6	86±25	881±165	887±171	94,7±9,0	25 2
9	95±65	759±132	970±90	98,7±9,8	24 2
15	175±60	1014±137	1347±110	97,3±17,9	16 2
18	184±3	1093±118	1496±160	110,0±26,5	20 2
30	139±7	928±107	1224±192	116,3±23,7	10 2
Lebergewicht (g)					
interne Aktivität pH 3 (mU/g Leber)					
0	65±56	1155±212	991±201	4,26±0,20	5
1	99±1	1552±559	1334±468	3,68±0,01	2
2	59±48	1345±81	933±303	4,09±0,09	2
3	81±69	1247±184	920±164	3,56±0,17	2
4	52±28	947±114	680±10	3,51±0,29	2
6	61±2	892±14	731±129	4,97±0,08	2
9	54±20	705±70	602±21	4,85±1,08	2
15	76±77	905±163	826±49	4,35±0,30	2
18	119±4	909±75	637±128	4,94±1,70	2
30	84±2	705±169	703±42	5,49±0,36	2
Zellorganellen- volumen (ml/g Leber)					
Freie Aminosäuren (µMol/g Leber)					
0	25,1±1,8	16,2±1,6	41,1±2,5	0,75±0,05	5
1	26,0±1,3	19,5±1,8	45,4±0,1	0,75±0,01	2
2	23,2±3,4	18,5±1,8	42,5±0,4	0,75±0,01	2
3	26,5±0,1	17,6±0,9	44,1±1,2	0,71±0,01	2
4	27,1±4,3	15,5±1,5	43,5±6,4	0,67±0,06	2
6	27,3±4,5	15,2±2,9	42,4±6,7	0,76±0,01	2
9	28,5±4,2	15,3±2,6	45,6±4,8	0,72±0,03	2
15	34,2±2,5	20,3±3,2	55,1±1,1	0,73±0,01	2
18	33,6±6,4	18,7±0,2	54,3±7,0	0,83±0,01	2
30	29,7±1,6	20,8±5,5	46,2±2,0	0,72±0,03	2

T. = Tage nach Bestrahlung, Fett gedruckte Werte weichen signifikant ($2p < 0,05$) von den Ausgangswerten vor Bestrahlung ab.

Tabelle 1. Stickstoff, Proteaseaktivität, freie Aminosäuren, Gewicht und Zellorganellenvolumen der Rattenleber nach 600 R Röntgenganzkörperbestrahlung.

T.	Leberzellkerne pro $1,8 \times 10^5 \mu\text{m}^2$	n	Lebergewicht (g)	n
0	297 ± 55	22	$4,52 \pm 0,47$	11
1	364 ± 38	12	$4,15 \pm 0,36$	6
3	389 ± 69	8	$3,78 \pm 0,24$	4
6	278 ± 56	8	$4,70 \pm 0,44$	4
9	289 ± 44	8	$5,24 \pm 0,73$	4
15	283 ± 88	10	$4,99 \pm 0,67$	5
18	278 ± 66	14	$5,37 \pm 1,11$	7
30	223 ± 47	14	$7,12 \pm 1,17$	7

T. = Tag nach Bestrahlung
n = Anzahl der Versuche

Tabelle 2. Veränderungen der Zellkernzahl/Fläche und des Lebergewichtes von mit 100 R röntgenganzkörperbestrahlten Ratten.

3). Damit ist gezeigt, daß die Übertragung von Organdaten auf das Niveau der Organ-einzelzelle zu Ergebnissen führt, die die bestrahlungsbedingten Veränderungen richtig wiedergeben.

Bei den Zellgehalten zeigt sich, daß während der initialen Reaktionsphase des Organismus am ersten und zweiten Tag nach Bestrahlung sowohl im Zytoplasma, wie in den Zellorga-

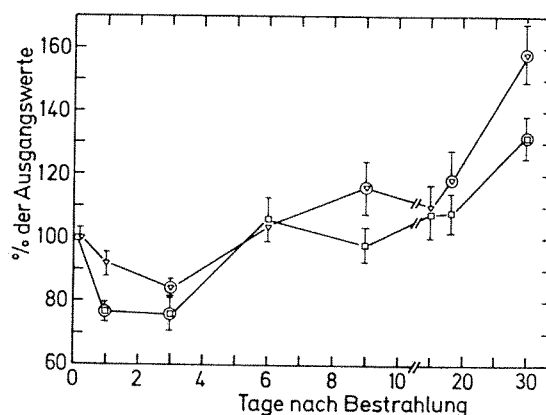


Abbildung 3. Volumenänderungen der Leberzellen nach 600 R Röntgenganzkörperbestrahlung, abgeleitet aus den Lebergewichtsänderungen (∇) und histologischen Daten (\square). Bezug der Daten auf die Ausgangswerte wie in Abbildung 2.

nellen eine erhöhte Proteaseaktivität gemessen wird, die mit Zunahmen des Proteins und der freien Aminosäuren in den Zellorganellen am zweiten Tag nach Bestrahlung einhergeht (Abbildungen 2c, g). Die Erhöhung der Proteaseaktivität am ersten Tag nach Bestrahlung könnte Ausdruck eines gesteigerten Abbaus von Proteinen sein, die aus zerstörten Zellen freigesetzt wurden und, wie am

T.	DNS (mg/Le)	n	Dichte (g/ml Le)	n	Blut-Plasma ($\mu\text{l/ml Le}$)	n	Erythrozyten ($\mu\text{l/ml Le}$)	n	Binde-gewebe ($\mu\text{l/ml Le}$)	n	Binde-gewebe (Vol.%)
0	$13,6 \pm 1,0$	18	$1,066 \pm ,022$	36	$59,6 \pm 18,1$	36	$27,5 \pm 12,7$	18	$13,1 \pm 2,9$	18	10,2
1	$13,9 \pm 1,1$	5	$1,056 \pm ,024$	10	$46,6 \pm 16,9$	10	$22,2 \pm 1,3$	5	$11,0 \pm 1,7$	5	7,9
2	$12,9 \pm 1,3$	5	$1,045 \pm ,017$	10	$74,5 \pm 8,6$	10	$22,5 \pm 2,4$	5	$11,7 \pm 2,9$	5	10,8
3	$13,2 \pm 1,0$	5	$1,043 \pm ,022$	10	$76,6 \pm 13,3$	10	$31,9 \pm 5,7$	5	$13,0 \pm 2,7$	5	12,1
4	$13,9 \pm 1,0$	5	$1,058 \pm ,023$	10	$76,6 \pm 16,8$	10	$28,0 \pm 1,8$	5	$14,0 \pm 3,7$	5	11,8
6	$13,9 \pm 1,5$	5	$1,056 \pm ,020$	10	$45,1 \pm 18,4$	10	$24,2 \pm 6,3$	5	$14,8 \pm 3,1$	5	8,4
9	$14,0 \pm 1,4$	5	$1,063 \pm ,023$	10	$57,9 \pm 7,1$	10	$24,8 \pm 5,9$	5	$15,5 \pm 6,2$	5	9,8
15	$10,9 \pm 4,9$	5	$1,057 \pm ,020$	10	$68,0 \pm 12,2$	10	$7,2 \pm 2,6$	5	$11,9 \pm 2,1$	5	8,7
18	$13,5 \pm 1,6$	5	$1,051 \pm ,023$	10	$32,5 \pm 16,4$	10	$9,1 \pm 5,5$	5	$21,8 \pm 5,1$	5	6,3
30	$11,1 \pm 3,6$	5	$1,041 \pm ,019$	10	$41,5 \pm 12,3$	10	$23,2 \pm 6,0$	5	$16,6 \pm 4,2$	5	8,1

Le = Leber
T. = Tage nach Bestrahlung
n = Anzahl der Versuche

Tabelle 3. DNS, Dichte, sowie Blut- und Bindegewebsanteil der Rattenleber nach 600 R Röntgenganzkörperbestrahlung.

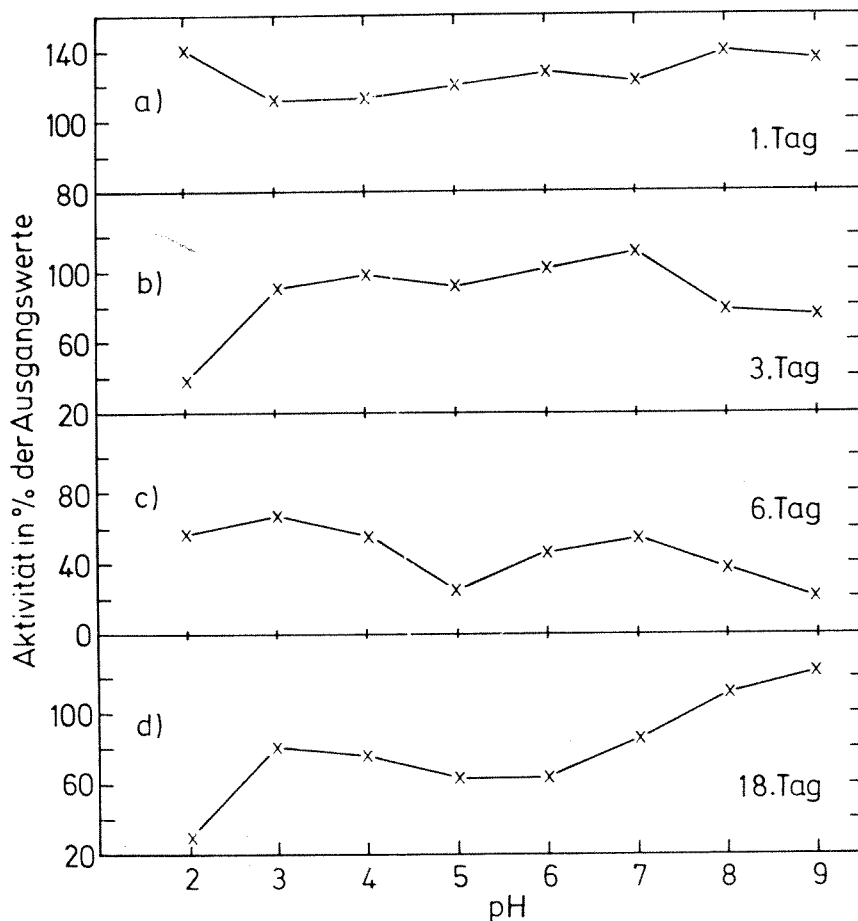


Abbildung 4. Veränderungen des pH-abhängigen Musters der internen Proteaseaktivität der Leberzellorganellen nach 600 R Röntgenganzkörperbestrahlung. Die Kurven sind, wie früher beschrieben [12, 16], aus den Proteaseaktivitäten bei den verschiedenen pH-Werten errechnet.

Beispiel von Albumin und Hämoglobin nachgewiesen ist, von der Leber aufgenommen werden können [4, 7]. Die freien Aminosäuren steigen dabei nicht an, weil sie möglicherweise in der syntheseaktiven Leber sofort weiter verbraucht werden. Am zweiten Tag steigen die freien Aminosäuren und das Protein in den Zellorganellen geringfügig an (Abbil-

dungen 2g, c), während die Proteaseaktivität abfällt (Abbildung 2e). Diese Veränderungen stehen in engem zeitlichen Zusammenhang mit einer deutlich gesteigerten Proteinsynthese in der Leber [15]. Am dritten und vierten Tag nach Bestrahlung, zur Zeit der stärksten Symptome der Strahlenkrankheit, fallen alle Größen in Zytoplasma und Zellorganellen gleichermaßen unter die Ausgangswerte ab (Abbildungen 2a, c, e, g.) Neben dem Zellvolumen sinkt auch das Volumen der Zellorganellen ab. Die Abnahmen von Protein, Proteaseaktivität und freien Aminosäuren sind auf verschiedene Weise denkbar. Sie können durch ein vermindertes Aminosäureangebot, durch einen veränderten Aminosäurestoffwechsel [6] oder durch eine Abnahme der Proteinsynthese bedingt sein. Außerdem können Veränderungen des Proteinaustausches zwischen Leberzellen und Blut bzw. Galle [5,

	Externe Protease- aktivität bei pH 3	Interne Protease- aktivität bei pH 3	Freie Amino- säuren	Anzahl der Ver- suche
Zytoplasma	4,0±0,9	2,1±1,3	1,1±0,1	10
Zellorganellen	2,7±0,4	1,8±0,2	1,2±0,1	10

* in Aminosäureresten

Tabelle 4. Mittlere Länge* der Spaltpeptide und freien Aminosäuren der Rattenleber.

7, 11] oder im intrazellulären Bereich [10] auftreten. Eine Abgrenzung der einzelnen Mechanismen bei der Interpretation der eigenen Befunde ist angesichts ihrer Vielzahl nur schwer möglich. Nicht unterstützt wird jedoch die Möglichkeit, daß der Proteinverlust der Leberzellen (Abbildung 2c) über eine gesteigerte Proteaseaktivität im Sinne der Selbstverdauung des Organes erfolgt, da die Proteaseaktivität gerade zur Zeit der größten Proteinverluste am niedrigsten ist (Abbildungen 2e, f).

Vom 15. bis 30. Tag nach Bestrahlung sind Proteaseaktivität und Aminosäuregehalte der Leberzellen erhöht (Abbildungen 2e, g). Gleiches gilt auch für die entsprechenden Konzentrationen (Abbildungen 2f, h). Ähnliche Veränderungen treten auch in der Milz auf [12]. Sie sind möglicherweise Ausdruck eines verstärkten Proteinumsatzes bei den überlebenden Tieren, die sich im Stadium intensiver Gewebsregeneration befinden.

Addiert man die externe und interne Proteaseaktivität von Zytoplasma und Zellorganellen auf, so ergibt sich bei der externen Proteaseaktivität in guter Näherung der Wert, welcher für das Gesamthomogenat gemessen wurde (Tabelle 1). Bei der internen Aktivität sind die aufaddierten Aktivitäten durchweg höher als die Homogenataktivität. Dies ist möglicherweise ein Anzeichen für kompartimentierte Inhibitoren [3], die in Zytoplasma- und Zellorganellenfraktion von den hemmbaren Proteasen getrennt, im Homogenat aber gemeinsam mit diesen vorliegen und dadurch zu einer Verminderung der Proteaseaktivität führen.

Neben der Grobregulation der zellulären Proteaseaktivität, die zu einer Abnahme in der Leber und in anderen Organen führt [12], existiert eine organspezifische Feinregulierung, die sich an den Veränderungen des pH-abhängigen Proteasemusters zeigt. Dies ist in

Abbildung 4 für die interne Proteaseaktivität der Zellorganellenfraktion dargestellt. Es treten Kurven mit angedeuteten Maxima bei pH 3 und pH 7 mit einem Tal zwischen pH 5 und 6 auf. Für das Gesamthomogenat ergeben sich ähnliche Kurven, während im Zytoplasma die Erstellung der Kurven wegen der geringen Proteaseaktivität oder des engen pH-Bereiches bei der externen Aktivität in den Zellorganellen zu keinen verlässlichen Ergebnissen führt. Im Gegensatz zur Milz kommt es nicht zum deutlichen Hervortreten der sauren Proteasen [12], sondern wie bei den Esterasen [16] zu einem ausgewogeneren Bild, das für eine verhältnismäßig gleichmäßige Änderung der verschiedenen Proteaseaktivitäten spricht. Die mittlere Länge der Spaltpeptide in den verschiedenen Fraktionen bewegt sich zwischen ein bis vier Aminosäureresten. Sie ist ähnlich wie in der Milz [12] und verändert sich nach Bestrahlung nicht nachweisbar.

Vergleicht man Leber und Milz, so ergeben sich bei der zellulären Proteaseaktivität in beiden Organen während der initialen Reaktionsphase des Organismus am ersten Tag nach Bestrahlung vorübergehende Zunahmen der Proteaseaktivität über die Ausgangswerte hinaus. Sie stehen in zeitlichem Zusammenhang mit den in größerem Maße anfallenden Zelltrümmern und sind wahrscheinlich als Antwort des Organismus hierauf zu sehen. Im Gegensatz zur Milz finden sich jedoch bei der Leber keine Anzeichen für einen Austritt von Zellorganellenproteaseaktivität in das Zytoplasma. Am dritten und vierten Tag, wo die Strahlenkrankheit am stärksten ausgeprägt ist und Abnahmen des Organproteins und der freien Aminosäuren auftreten, sinkt die Proteaseaktivität in Milz und Leber deutlich ab. Es ergeben sich damit in beiden Organen keine Anhaltspunkte für eine Erklärung der Proteinverluste zu dieser Zeit durch eine gesteigerte Proteaseaktivität.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. G. Ruhenstroth-Bauer bin ich für die stete Unterstützung dieser Arbeit sehr zu Dank verbunden. Frl. Dr. Hanser hat freundlicherweise

die Anfertigung der histologischen Schnitte übernommen, und Herrn Dr. W. Schiebel verdanke ich wertvolle Hinweise zur Stickstoff- und DNS-Bestimmung. Den Damen G. Franz, I. Garms, S. Mitchell, S. Voll und B. Wolff sei für ausgezeichnete technische Assistenz vielmals gedankt.

Changes in protein metabolism after irradiation

II. Protease activity, protease pattern, protein and free amino acids in cytoplasm and cell organelles of the rat liver after 600 R whole body X-irradiation

The protease activity of cytoplasm and cell organelles of the rat liver against liver protein and hemoglobin as a substrate increases during an initial reaction phase on the first day after 600 R whole body X-irradiation. This is probably a consequence of the degradation of cellular debris. The protein, the protease activity and the free amino acids of the cytoplasm and the cell organelles decrease during the disease phase on day 3 and 4 after irradiation. The protein loss of the liver is therefore not explained by an increased protease activity. The protease activity and the free amino acids are increased in the cytoplasm and the cell organelles during the regeneration phase of the organism between day 15 and 18 after irradiation.

Changements du métabolisme protidique après irradiation

II. Activité protéolytique, répartition des protéases, protéines et acides aminés libres dans le cytoplasme et dans les organites cellulaires du foie du rat après irradiation totale à 600 R par les rayons X

L'activité protéolytique du cytoplasme et des organites cellulaires du foie du rat sur les protéines du foie ou sur l'hémoglobine comme substrat augmente pendant la phase initiale de réaction le premier jour après une irradiation totale à 600 R. Ceci est probablement dû à une dégradation des débris cellulaires. Les protéines, les acides aminés libres et l'activité protéolytique du cytoplasme et des organites cellulaires diminuent aux 3^e et 4^e jours après irradiation. La perte des protéines du foie ne peut donc pas s'expliquer par une augmentation de l'activité protéolytique. L'activité protéolytique et les acides aminés libres sont sensiblement augmentés pendant la phase de régénération de l'organisme entre les 15^e et 18^e jours après irradiation.

Literatur

1. Burton, K.: *Biochem. J.* 62 (1956), 315.
2. Cottier, H.: In: A. Zuppinger: *Handbuch der medizinischen Radiologie*, Bd. II/2, S. 35. J. Springer, Berlin 1966.
3. Davies, Ph., G. A. Rita, K. Krakauer, G. Weißmann: *Biochem J.* 123 (1971), 559.
4. Goldfischer, S., A. B. Novikoff, A. Albalá, L. Biempica: *J. Cell Biol.* 44 (1970), 513.
5. Kerr, J. F. R.: *J. Path.* 100 (1970), 99.
6. Klevecz, R. R.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 43 (1971), 76.
7. Kocmierska-Grodzka, D., G. B. Gerber: *Radiat. Res.* 44 (1970), 338.
8. Lomsadze, B. A.: *Radiat. Res.* 59 (1974), 123.
9. Mitchell, J. S.: In: A. Zuppinger: *Handbuch der medizinischen Radiologie*, Bd. II/1, S. 355. J. Springer, Berlin 1966.
10. René, A. A., J. H. Darden, J. L. Parker: *Lab. Invest.* 25 (1971), 230.
11. Stähler, F., I. Sinn: *Strahlentherapie* 139 (1970), 496.
12. Valet, G.: *Strahlentherapie* (1975).
13. Valet, G.: In Vorbereitung.
14. Valet, G.: Unveröff. Beob.
15. Valet, G., G. Ruhenstroth-Bauer: *Strahlentherapie* 137 (1969), 734.
16. Valet, G., G. Ruhenstroth-Bauer: *Strahlentherapie* 141 (1971), 114.

Verfasser: Dr. G. Valet, Abteilung für experimentelle Medizin des Max-Planck-Institutes für Biochemie, 8033 Martinsried.