

HANDBUCH DER MEDIZINISCHEN  
RADIOLOGIE

ENCYCLOPEDIA  
OF MEDICAL RADIOLOGY

STRAHLENBIOLOGIE  
TEIL 1

RADIATION BIOLOGY  
PART 1

VON · BY

P. ALEXANDER · W. M. DALE · W. DITTRICH  
O. HUG · A. KELLERER · W. MINDER  
J. S. MITCHELL · H. B. NEWCOMBE · A. ZUPPINGER

REDIGIERT VON · EDITED BY

**A. ZUPPINGER**

BERN

MIT 183 ABBILDUNGEN  
WITH 183 FIGURES



SPRINGER-VERLAG · BERLIN · HEIDELBERG · NEW YORK · 1966

Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung in fremde Sprachen, vorbehalten  
Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es auch nicht gestattet, dieses  
Buch oder Teile daraus auf photomechanischem Wege (Photokopie, Mikrokopie)  
oder auf andere Art zu vervielfältigen

© by Springer-Verlag Berlin · Heidelberg 1966

Library of Congress Catalog Card Number 62-22437

Softcover reprint of the hardcover 1st edition 1966

ISBN-13: 978-3-642-99901-7    e-ISBN-13: 978-3-642-99899-7  
DOI: 10.1007/978-3-642-99899-7

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in  
diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme,  
daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung  
als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften

## Vorwort

Die Strahlenbiologie hat sich von einem Forschungszweig, mit dem sich noch vor wenigen Jahrzehnten nur die Strahlentherapeuten und vereinzelte Biologen beschäftigten, zu einem Arbeitsgebiet entwickelt, das die gesamte Medizin und weiteste Gebiete der Biologie interessieren muß. Auf dem Gebiet der Radiologie wird die Radiobiologie von zwei verschiedenen Richtungen gefördert. Einerseits — hier ist der Ursprung dieser Wissenschaft zu suchen — ergeben sich aus der klinischen Beobachtung Fragestellungen, die man auf experimentellem Weg zu beantworten versucht. Andererseits bearbeitet eine besondere Gruppe von Biologen, die vornehmlich die ionisierende Strahlung als Instrument benützt, ihre Probleme. Beide Gebiete haben enge Verbindung, sollten sich gegenseitig fördern und können auch vereint, sogar durch dieselbe Person, ihre praktische Auswirkung erfahren. Zuerst haben die Radiologen ihre mannigfaltigen Probleme selbst aufzuklären versucht. Mit zunehmender Verbesserung und Verfeinerung der Methode hat sich im Rahmen der Radiologie die besondere Arbeitsrichtung der Radiobiologie ausgesondert, die heute zum Teil eigene Wege geht. Die Radiobiologie gewinnt für die Strahlentherapie immer mehr an Bedeutung, so daß man versucht ist, die Hoffnung auszudrücken, daß die Radiobiologie berufen sein wird, die Radiotherapie aus der empirischen Sphäre in eine exakt fundierte zu führen. In noch stärkerem Maß hat sich auf dem Gebiet der Radiodiagnostik die Situation gewandelt. Ohne gründliche radiobiologische Kenntnisse kann die Anwendung ionisierender Strahlen für Untersuchungszwecke heute nicht mehr verantwortet werden. Die Nuclearmedizin vereinigt auf radiobiologischem Gebiet die Forderungen, die für Radiotherapie und -diagnostik aufgestellt wurden. Sie bildet gleichzeitig die Brücke zur technischen Anwendung ionisierender Strahlen, besonders in Form von Isotopen, die ohne strahlenbiologisches Wissen zu schweren, irreparablen Folgen geführt hätte. Die gesamte Biologie hat aus der Anwendung ionisierender Strahlen schon großen Nutzen gezogen, und weitere Erkenntnisse sind sehr wahrscheinlich, weil wir in der ionisierenden Strahlung ein Werkzeug besitzen, das biologisch sehr aktiv wirksam und dessen Wirkungsmechanismus von der physikalischen Seite schon recht genau aufgeklärt ist.

Das Wissen auf dem Gebiet der Radiobiologie hat trotz der kurzen Zeitspanne, die seit der systematischen Förderung dieses Untersuchungszweiges verstrichen ist, ein derartiges Ausmaß angenommen, daß es selbst dem vornehmlich radiobiologisch Arbeitenden kaum mehr möglich ist, den Überblick zu wahren. Noch viel schwieriger ist die Übersicht für jene, denen Radiobiologie auf anderem Hauptgebiet wichtig oder wissenschaftlich wertvoll ist.

In den vorliegenden handbuchmäßigen Aufzeichnungen wurde versucht, den heutigen Standpunkt unserer Kenntnisse wiederzugeben, wobei wir uns durchaus bewußt sind, daß in der kurzen Form die Themen kaum erschöpfend dargestellt werden können. Wir haben uns bemüht, durch Hinweise auf die Literatur dem sich eingehender Interessierenden einen nützlichen und brauchbaren Weg zu weisen.

Obwohl es unser Anliegen war, die einzelnen Themen möglichst kurz zu fassen, bedingte der Stoffumfang eine Unterteilung in mehrere Teilbände.

A. ZUPPINGER

## Preface

From a branch of research in which but a few decades ago only radiotherapists and biologists were engaged, *Radiobiology* has developed into a field of activity which must nowadays interest the whole medical world and biologists generally. Within the field of radiology, radiobiology is furthered by two different scientific trends. On the one hand — and this is where the origin of this science is located — clinical observation presents a certain set of problems that experts try to solve by way of experiments. On the other hand, a special team of biologists analyse their problems largely using ionising rays as their instrument. Both research fields are closely related and should stimulate each other a good deal. They can both, even if integrated in the same person, produce their practical effect. At first, radiobiology tried to elucidate its manifold problems empirically. With an increasing improvement in methods radiobiology will gain more and more importance for radiotherapy, so that one may feel tempted to express the hope that radiobiology will be called upon to transfer radiotherapeutics from a mainly empirical sphere into an exact discipline. To a still greater extent has the situation changed in the field of radio-diagnostics. Nowadays without a sound radiobiological knowledge the use of ionising radiation for examination purposes is no longer justifiable. It is nuclear medicine that, on its radiobiological sector combines all the requirements of radiotherapy and radio-diagnostics. This branch simultaneously constitutes the link between the experimental and the technical application of ionizing rays, especially in the form of isotopes, that, without radiobiological knowledge, would have caused severe and irreparable damage. The whole of biology has already derived great benefit from the application of ionizing radiation and will very probably obtain more findings, because in ionizing radiation we possess an instrument which is biologically very active and powerful and whose working mechanism has already been quite exactly clarified on its physical side.

Despite the short span of time that has elapsed since the systematic furtherance of this branch of investigation, knowledge in the field of radiobiology has assumed such proportions that even for those chiefly engaged in radiobiology it is almost impossible to survey the whole field. A survey will be much more difficult for those to whom radiobiology is important or worth knowing for a different main branch of research.

In this part of the encyclopedia we have tried to convey the present state of our knowledge while being fully aware of the fact that the subjects can scarcely be dealt with exhaustively in this short presentation. Nevertheless we have tried to indicate an instructive and useful method by giving hints on literature to those more deeply interested in the matter. Though we have tried to cut the individual subjects as short as possible, the size of the subject as a whole required a subdivision into several volumes.

A. ZUPPINGER

## Inhaltsverzeichnis von Bd. II/1

	Seite
<b>A. Direct and indirect effects of ionizing radiations. By W. M. DALE. With 15 figures . . . . .</b>	<b>1</b>
I. History . . . . .	1
Primary physical steps . . . . .	2
II. The direct action theory . . . . .	3
1. Sigmoid-shape survival curves . . . . .	4
2. Genetic effect caused by single hits in genes . . . . .	6
3. Estimate of target sizes . . . . .	6
4. Associated volume-method modified for very large targets and soft Roentgen rays. . . . .	8
a) Further factors involved in the estimation of target-sizes . . . . .	8
b) Extension of experiments with dry substances . . . . .	9
c) Summary . . . . .	11
III. A contrasting point of view . . . . .	11
IV. The indirect action theory . . . . .	12
1. The formation of radicals in water by irradiation . . . . .	13
2. Criterion of the indirect action: the "dilution effect" . . . . .	14
3. The protection effect . . . . .	16
4. Further yield — dose relationships . . . . .	17
5. The yield-concentration dependence for the deamination of amino acids . . . . .	17
6. The protection effect as an analytical tool . . . . .	18
7. Note on radiation "Yield" . . . . .	19
8. Interrelation between direct and indirect mode of action of radiation . . . . .	20
9. The oxygen effect . . . . .	20
10. The effect of inert gases and of nitric oxide (NO) in relation to the oxygen effect . . . . .	22
11. Water content as a modifying factor of radiation sensitivity . . . . .	24
12. Phase effect . . . . .	27
13. Radiation effects in polymers . . . . .	28
14. The significance of microwave spectroscopy (electron spin resonance) . . . . .	29
V. Clinical applications . . . . .	31
VI. Concluding remarks . . . . .	33
References . . . . .	34
<b>B. Strahlenchemie des Wassers, wäßriger Lösungen und einfacher organischer Verbindungen. Von W. MINDER. Mit 34 Abbildungen . . . . .</b>	<b>39</b>
I. Allgemeine Gesichtspunkte der Darstellung strahlenchemischer Ergebnisse . . . . .	40
1. Begriff und Ziel der Strahlenchemie . . . . .	40
2. Strahlenchemische Ausbeute . . . . .	42
3. Dosimetrische Grundlagen . . . . .	43
4. Chemische Nachweisverfahren . . . . .	47
a) Manometrie . . . . .	48
b) Viscositätsmessung . . . . .	48
c) Chromatographie und Elektrophorese . . . . .	49
d) Titration . . . . .	49
e) Colorimetrie und Spektralphotometrie . . . . .	50
f) pH-Messung und Konduktometrie . . . . .	50
g) Radioisotopennachweis . . . . .	51
h) Die paramagnetische Resonanzabsorption . . . . .	51
i) Massenspektrometrie . . . . .	55
II. Strahlenchemie anorganischer wäßriger Systeme . . . . .	57
1. Strahlenchemie des Wassers . . . . .	57
a) Einleitung und Allgemeines . . . . .	57
b) Strahlenchemische Primärreaktionen des Wassers . . . . .	65
$\alpha$ ) Hochionisierende Strahlungen . . . . .	70
$\beta$ ) Strahlungen mit geringer spezifischer Ionisation . . . . .	72

	Seite
γ) Einfluß des Sauerstoffes . . . . .	74
δ) Elektronische Zustände in bestrahltem Eis . . . . .	77
2. Die Strahlenoxydation von Eisensulfat . . . . .	78
a) Allgemeines . . . . .	78
b) Analytische Meßverfahren . . . . .	78
c) Absolutmessung des Umsatzes . . . . .	80
d) Phänomenologie der Eisen(II)-Strahlenoxydation . . . . .	82
e) Natur der aktiven Wasserprodukte . . . . .	84
f) Luft- respektive O <sub>2</sub> -Gehalt . . . . .	85
g) Strahlungen mit verschiedener spezifischer Energieabgabe . . . . .	86
3. Strahlenchemie anderer wäßriger Elektrolytlösungen . . . . .	92
a) Einfache Strahlenoxydationen . . . . .	92
b) Einfache Strahlenreduktionen . . . . .	96
c) Wirkungen in Stoffgemischen . . . . .	100
4. Kritischer Ausblick . . . . .	104
III. Strahlenchemie einfacher organischer Verbindungen . . . . .	109
1. Abgrenzung des Gegenstandes . . . . .	109
2. Die organische Molekülbindung . . . . .	110
a) Allgemeines . . . . .	110
b) Modellmäßige Darstellung der Molekülbindung . . . . .	111
c) Verfeinertes wellenmechanisches Modell . . . . .	115
d) Die Bindungsverhältnisse des Kohlenstoffatoms . . . . .	117
e) Bindungsenergien . . . . .	119
3. Strahlenreaktionen in der Gasphase . . . . .	121
a) Einfachste Kohlenstoffverbindungen . . . . .	121
b) Butane und ungesättigte C <sub>4</sub> -Kohlenwasserstoffe . . . . .	123
α) Butane . . . . .	124
β) Butene . . . . .	126
γ) Butadiene . . . . .	127
c) Octane . . . . .	129
4. Strahlenchemische Reaktionen in konventionellen Systemen . . . . .	132
a) Kohlenwasserstoffe . . . . .	133
α) Methan . . . . .	134
β) Andere gasförmige Paraffine . . . . .	134
γ) Höhere Paraffine . . . . .	135
δ) Ungesättigte Kohlenwasserstoffe . . . . .	138
ε) Cyclische Kohlenwasserstoffe . . . . .	139
ζ) Gemische zwischen Benzol und anderen Stoffen . . . . .	141
b) Organische Halogenverbindungen . . . . .	142
c) Sauerstoffhaltige Verbindungen . . . . .	145
α) Alkohole . . . . .	146
β) Äther . . . . .	147
γ) Aldehyde und Ketone . . . . .	147
δ) Säuren . . . . .	147
d) Stickstoff- und schwefelhaltige Verbindungen . . . . .	149
e) Organische Lösungen . . . . .	150
IV. Strahlenchemie wäßriger Lösungen einfacher organischer Stoffe . . . . .	152
1. Allgemeines . . . . .	152
2. Aliphatische Kohlenwasserstoffe . . . . .	153
3. Benzol . . . . .	154
4. Halogenverbindungen . . . . .	155
5. Sauerstoffhaltige Verbindungen . . . . .	157
a) Alkohole . . . . .	157
b) Aldehyde . . . . .	158
c) Säuren . . . . .	158
6. Stickstoffhaltige Verbindungen . . . . .	161
a) Amine . . . . .	161
b) Aminosäuren . . . . .	162
7. Schwefelhaltige Verbindungen . . . . .	164
8. Farbstoffe . . . . .	165
9. Stoffe verschiedener Zusammensetzung . . . . .	168
10. Einige organische Synthesen . . . . .	170
Literatur . . . . .	171

	Seite
<b>C. Changes in macromolecules produced by ionizing radiations.</b> By P. ALEXANDER. With 32 figures	183
I. Macromolecules as the site for the initial chemical lesion . . . . .	183
II. The different types of effects produced in macromolecules . . . . .	184
1. Influence of external factors on radiation effects in macromolecules . . . . .	185
a) Oxygen . . . . .	186
b) Protection by added substances . . . . .	186
III. Crosslinking and degradation of synthetic polymers . . . . .	189
1. Degradation . . . . .	189
2. Inter-molecular crosslinking . . . . .	191
3. Intra-molecular crosslinking . . . . .	191
4. Relation between structure and radiation response . . . . .	192
a) Direct action . . . . .	192
b) Indirect action . . . . .	194
5. Intra-molecular energy transfer and electron spin resonance of trapped radicals . . . . .	194
IV. Effect of radiation on the structure of proteins . . . . .	196
1. Indirect action . . . . .	196
a) Oxygen effect . . . . .	198
b) Difference between irradiation with $\alpha$ -particles and with Roentgen rays . . . . .	198
2. Direct action . . . . .	199
Oxygen effect, protection and e.s.r. signals. . . . .	202
V. Effect of radiation in nucleic acids and nucleoproteins . . . . .	203
1. Indirect action . . . . .	203
a) Changes in size and shape . . . . .	203
b) Chemical changes . . . . .	205
c) Changes produced in cellular nucleoproteins . . . . .	206
2. Direct action . . . . .	207
a) Effect on nucleoprotein . . . . .	208
b) Action of polonium $\alpha$ -particles . . . . .	208
c) Trapped radical and protection by added substances . . . . .	208
VI. Changes produced in polysaccharides . . . . .	210
VII. Biological implications . . . . .	210
References . . . . .	211
<b>D. Irradiation effects on enzymes (in vitro).</b> By W. M. DALE. With 5 figures . . . . .	214
1. Introduction . . . . .	214
2. Earlier literature . . . . .	214
I. Denaturation of proteins and enzymes . . . . .	215
1. SH enzymes . . . . .	216
2. The "mixed disulphide" hypothesis . . . . .	218
3. Non-SH groups in protein molecules affected by radiation . . . . .	219
II. Inactivation of enzymes in aqueous solutions . . . . .	219
1. Radiation yields . . . . .	219
2. Surface films of enzymes . . . . .	221
3. Which of the primary or secondary radiation products from water are the active agents of radiation effects? . . . . .	223
4. The effect of densely-ionizing radiations on enzymes ( $\alpha$ -radiation) . . . . .	226
5. Conjugated enzymes . . . . .	227
III. Modification of enzymic characteristics . . . . .	228
1. Change of the Michealis constant . . . . .	228
2. Bifunctional enzymes . . . . .	228
3. After-effects . . . . .	229
IV. Irradiation of interrelated enzyme systems . . . . .	229
V. Concluding remarks . . . . .	232
References . . . . .	232
<b>E. Einfluß der Strahlenqualität auf die Strahlenwirkung.</b> Von W. DITTRICH. Mit 4 Abbildungen . . . . .	236
I. Einleitung . . . . .	236
II. Der lineare Energietransfer (LET) . . . . .	238
III. Die Abhängigkeit physikalischer und chemischer Strahlenwirkungen von der Strahlenqualität . . . . .	242

	Seite
IV. Die Abhängigkeit biologischer Strahlenwirkungen von der Strahlenqualität . . . . .	248
1. Biologische Elementareinheiten . . . . .	248
2. Zelle und Zellteilung . . . . .	251
3. Organe und Gewebe . . . . .	253
4. Letaleffekte und Wachstumshemmung bei höheren Organismen . . . . .	255
5. Früh- und Spätreaktionen . . . . .	258
6. Nebenbedingungen . . . . .	259
V. Die biophysikalische Deutung . . . . .	260
VI. Die RBW ionisierender Strahlenarten in Strahlentherapie und Strahlenschutz . . . . .	262
Literatur . . . . .	264
<b>F. Der Zeitfaktor. Von O. HUG, A. KELLERER und A. ZUPPINGER. Mit 35 Abbildungen . . . . .</b>	<b>271</b>
I. Einleitung . . . . .	271
1. Historisches . . . . .	271
2. Erläuterungen einiger Begriffe . . . . .	273
II. Theoretischer Teil . . . . .	273
1. Voraussetzungen für das Zustandekommen eines Zeitfaktors . . . . .	274
2. Allgemeiner mathematischer Ansatz . . . . .	278
a) Die Kinetik der Strahlenwirkung . . . . .	278
b) Berücksichtigung des Zeitfaktors im mathematischen Modell . . . . .	279
c) Die reversible und die irreversible Komponente der Strahlenwirkung . . . . .	281
d) Die verschiedenen Wirkungsstufen, auf denen es zu einem Zeitfaktor kommen kann . . . . .	282
e) Berücksichtigung der spontanen physiologischen Abläufe . . . . .	282
3. Mathematische Modelle für komplexere Strahlenreaktionen . . . . .	284
III. Experimenteller Teil . . . . .	285
1. Celluläre Strahlenwirkungen . . . . .	285
a) Celluläre Sofortreaktionen . . . . .	286
b) Mitosestörungen . . . . .	290
$\alpha$ ) Mitosehemmung . . . . .	290
$\alpha\alpha$ ) Kontinuierliche Bestrahlung . . . . .	290
$\beta\beta$ ) Fraktionierung . . . . .	291
c) Zelltod . . . . .	292
d) Ultrafraktionierung . . . . .	292
e) Neuere Zeitfaktorstudien an Zell- und Gewebekulturen . . . . .	293
f) Zeitfaktor und RBW bei cellulären Strahlenwirkungen . . . . .	295
2. Der Zeitfaktor bei geweblichen Strahlenwirkungen . . . . .	295
a) Mausergewebe . . . . .	296
$\alpha$ ) Blutbildende Organe und peripheres Blut . . . . .	296
$\alpha\alpha$ ) Kontinuierliche Bestrahlung . . . . .	296
$\beta\beta$ ) Fraktionierung . . . . .	298
$\beta$ ) Schleimhäute . . . . .	299
$\gamma$ ) Gonaden . . . . .	299
$\alpha\alpha$ ) Hoden . . . . .	299
$\beta\beta$ ) Ovar . . . . .	301
b) Nervensystem . . . . .	302
$\alpha$ ) Funktionelle Störungen . . . . .	302
$\beta$ ) Morphologisch faßbare Veränderungen . . . . .	303
$\gamma$ ) Das zentralnervöse Syndrom bei sehr hohen Strahlendosen . . . . .	304
3. Die akute Strahlenmortalität . . . . .	304
a) Die Erholung bei Totalbestrahlung (Fraktionierungsversuche) . . . . .	305
b) Protrahierung . . . . .	306
4. Störungen der Embryonalentwicklung . . . . .	309
5. Wachstumsstörungen des Skeletsystems . . . . .	310
6. Strahlenspätchäden unter besonderer Berücksichtigung des Strahlenkrebses . . . . .	311
a) Der Strahlenkrebs . . . . .	312
b) Strahlenkatarakt . . . . .	313
c) Andere degenerative Strahlenspätchäden, Lebensverkürzung und vorzeitige Alterung . . . . .	314
7. Strahlengenetik . . . . .	315
a) Punktmutationen . . . . .	315
b) Chromosomenaberrationen . . . . .	317
8. Zeitfaktorstudien an Tiertumoren . . . . .	319

	Seite
IV. Klinischer Teil . . . . .	322
1. Einleitung . . . . .	322
2. Übliche Methoden der Protrahierung und Fraktionierung . . . . .	322
3. Formales zur graphischen Darstellung äquivalenter Röntgendosen . . . . .	324
4. Der Zeitfaktor bei der Strahleneinwirkung auf Haut und Tumoren und seine Bedeutung für die Strahlentherapie . . . . .	326
a) Haut . . . . .	326
$\alpha$ ) Protrahierung, Fraktionierung mit veränderter aktueller Dosisleistung . . . . .	327
$\beta$ ) Zeitfaktor bei Fraktionierung . . . . .	329
b) Andere Zeitfaktorbeobachtungen . . . . .	332
c) RBW und Zeitfaktor . . . . .	333
d) Klinische Beobachtungen über den Zeitfaktor an Tumoren . . . . .	334
e) Kritik der klinischen Zeitfaktorbetrachtungen . . . . .	335
5. Verschiedene Fraktionierungsverfahren . . . . .	339
Literatur . . . . .	342

**G. Some aspects of the effects of radiations on the metabolism of tissues and tumours.** By J. S.

MITCHELL. With 1 figure . . . . .	355
Basic mechanisms . . . . .	359
1. Effects of radiations on metabolic processes in relation to radiosensitivity . . . . .	359
a) Introductory discussion . . . . .	359
b) Highly radiosensitive biochemical changes: observed after small doses up to about 100—150 rads . . . . .	367
$\alpha$ ) Effects on the metabolism of organic phosphates and related biochemical changes	367
$\alpha\alpha$ ) Increase of organic acid-soluble phosphorus content of leukocytes and erythrocytes . . . . .	367
$\beta\beta$ ) Increase in acid-hydrolysable phosphate in <i>Phycomyces Blakesleeanus</i> . . . . .	368
$\gamma\gamma$ ) Decrease of mitochondrial phosphorylation and related biochemical changes, including loss of NAD (DPN) . . . . .	368
$\delta\delta$ ) Inhibition of nuclear phosphorylation . . . . .	371
$\beta$ ) Loss of sodium and potassium from cell nuclei after irradiation in vivo and in vitro	372
$\gamma$ ) Effects on nucleic acid metabolism and associated changes . . . . .	372
$\alpha\alpha$ ) Inhibition of the incorporation of precursors into the DNA of highly radiosensitive cells . . . . .	372
$\beta\beta$ ) Radiosensitivity of the synthesis of fractions of the nuclear RNA and related observations of fundamental biochemical interest . . . . .	376
$\gamma\gamma$ ) Accumulation of nucleotides and RNA . . . . .	380
$\delta\delta$ ) Changes in nucleoproteins and related compounds demonstrable by fluorescence microscopy . . . . .	380
$\epsilon\epsilon$ ) Decrease of concentration of cytoplasmic solids of lymphocytes after irradiation	381
$\zeta\zeta$ ) Labilization of deoxyribonucleoproteins and effects on the nucleoprotein system of the nucleus after irradiation in vivo . . . . .	381
$\eta\eta$ ) Effects of small doses of radiation on preparations of deoxyribonucleoproteins in vitro . . . . .	384
$\delta$ ) Highly radiosensitive changes in the matrix of connective tissues . . . . .	385
$\epsilon$ ) Temporary oedema after irradiation . . . . .	386
$\zeta$ ) Increase in the activity of certain enzymes and enzyme systems after irradiation	386
$\alpha\alpha$ ) Cathepsin . . . . .	387
$\beta\beta$ ) Acid deoxyribonuclease . . . . .	387
$\gamma\gamma$ ) Ribonucleases . . . . .	387
$\delta\delta$ ) 5-Nucleotidase . . . . .	388
$\epsilon\epsilon$ ) Acid phosphatase and $\beta$ -glucuronidase . . . . .	388
$\zeta\zeta$ ) Delta-aminoaevalic acid dehydrase (ALAD) . . . . .	388
$\eta\eta$ ) Tryptophane-auxin enzyme of animal tissues . . . . .	388
$\theta\theta$ ) Plasma peptidase . . . . .	389
$\iota$ ) Transaminase activities of serum . . . . .	389
$\kappa\kappa$ ) Synthesis of antibodies . . . . .	389
$\lambda\lambda$ ) Level of 17-hydroxycorticosteroids in plasma in man . . . . .	389
$\eta$ ) Decrease in enzyme activity after irradiation with small doses . . . . .	389
$\alpha\alpha$ ) Nuclear catalase and evidence concerning its relationship to radio-sensitivity .	390
$\beta\beta$ ) Cholinesterase activity of blood and serum, and some effects on acetyl-choline metabolism . . . . .	391
$\theta$ ) Increased rate of formation of methaemoglobin in mammalian red blood cells after total body irradiation with very small doses . . . . .	392

	Seite
<i>ι</i> ) Effects on iron metabolism . . . . .	392
<i>αα</i> ) Depression of tracer iron uptake curve in rat erythrocytes after total body irradiation with small doses . . . . .	392
<i>ββ</i> ) Effects on plasma iron concentration after total body irradiation with small doses . . . . .	393
<i>κ</i> ) Various biochemical effects of small doses of radiation . . . . .	394
<i>αα</i> ) Studies of blood cells using methionine- <sup>35</sup> S . . . . .	394
<i>ββ</i> ) Depletion of the ascorbic acid content of the adrenal gland . . . . .	394
<i>γγ</i> ) Biochemical changes in the radiosensitive mould <i>Phycomyces Blakesleeanus</i> . . . . .	395
<i>λ</i> ) Relation between 5-hydroxy-tryptamine (serotonin) and the effects of irradiation at low dose levels . . . . .	395
<i>μ</i> ) Urinary excretion of metabolites after irradiation with particular reference to small doses . . . . .	397
<i>αα</i> ) Increased urinary excretion of taurine and other amino-acids, except BAIBA . . . . .	397
<i>ββ</i> ) Increased urinary excretion of beta-aminoisobutyric acid (BAIBA) . . . . .	398
<i>γγ</i> ) Increased urinary excretion of deoxycytidine . . . . .	399
<i>δδ</i> ) Urinary deoxyribonucleases . . . . .	400
<i>εε</i> ) End products of metabolism of 5-hydroxy-tryptamine . . . . .	400
<i>ζζ</i> ) Decreased urinary excretion of 2-aminoethanol after irradiation . . . . .	401
<i>ηη</i> ) "Corticoid-like substances" . . . . .	401
<i>ν</i> ) Relevant electromicroscopical studies observed after small doses of radiation . . . . .	401
<i>ξ</i> ) Certain physiological and biophysical changes of biochemical interest observed after irradiation with small doses . . . . .	403
<i>αα</i> ) Effects of small doses of radiation on the nervous system . . . . .	403
<i>ββ</i> ) Effects on visual function . . . . .	404
<i>γγ</i> ) Reflex-like responses of lower animals to ionizing radiation . . . . .	405
<i>δδ</i> ) Effects of small doses of radiation on an electrical potential difference in the onion root . . . . .	405
<i>εε</i> ) Inhibition of salivary secretion . . . . .	405
<i>ζζ</i> ) Effects on mast cells . . . . .	406
<i>ο</i> ) Some relevant highly radiosensitive physical and physico-chemical changes . . . . .	406
<i>αα</i> ) Changes in the $\zeta$ -potential of colloids after irradiation at low dose levels . . . . .	406
<i>ββ</i> ) Some other studies of the effects of radiation on colloids . . . . .	407
<i>γγ</i> ) Electron spin resonance studies . . . . .	407
2. The role of DNA in the effects of ionizing radiations on the metabolism of normal tissues and malignant tumours . . . . .	408
a) Effects of radiation on the division cycle of proliferating cells and on the metabolism of DNA . . . . .	408
b) Further evidence concerning the problem of the action of radiation on DNA synthesis . . . . .	415
c) Relative biological efficiency for inhibition of DNA synthesis . . . . .	420
d) Further evidence concerning the biochemical effects of irradiation, in relation to DNA synthesis, especially during the G <sub>1</sub> phase . . . . .	422
e) Relationship between the inhibition of DNA synthesis by ionizing radiation and the content of NAD (DPN) . . . . .	428
f) Some general considerations including effects of irradiation in the G <sub>2</sub> phase . . . . .	431
3. Some aspects of the relationship between DNA and RNA and protein synthesis, with special reference to the effects of irradiation . . . . .	432
4. Evidence concerning the effects of irradiation in vivo on DNA and nucleoproteins . . . . .	441
5. Effects of irradiation in vitro on DNA and nucleoproteins . . . . .	445
6. Tentative conclusions . . . . .	448
Bibliography . . . . .	450
<b>H. Genetic effects of ionizing radiations.</b> By H. B. NEWCOMBE. With 10 plates and 47 figures . . . . .	487
I. Introduction and description of the genetic materials . . . . .	487
1. Scope . . . . .	487
2. The genetic apparatus . . . . .	488
a) The bearers of the genetic information . . . . .	488
b) Cell division . . . . .	489
c) Chromosomal genes . . . . .	490
d) Non-chromosomal genes . . . . .	492
e) Meiosis . . . . .	493
f) Somatic crossing over . . . . .	496
g) Sex determination . . . . .	496
h) Responses to radiation . . . . .	497

	Seite
II. Effects on the genetic materials . . . . .	499
1. Changes in the fine structure . . . . .	499
a) Kinds of gene change . . . . .	499
b) The nature of the mutated gene. Kinds of evidence . . . . .	500
c) Evidence from recombination . . . . .	500
d) Evidence from reversible and irreversible mutations . . . . .	502
e) Evidence from comparisons of induced and spontaneous mutations . . . . .	506
f) Mechanisms of mutation. Target theory and copy error theory . . . . .	508
g) Evidence from the times of completion of mutations . . . . .	509
h) Evidence from irradiated viruses . . . . .	510
i) Evidence from chimaeras and sectorials . . . . .	511
k) The coding of the genetic information . . . . .	513
2. Coarse changes . . . . .	515
a) Kinds of change in the gene string . . . . .	515
b) Breakage and its consequences . . . . .	518
c) The distance over which rejoining may occur . . . . .	518
d) The proportion of breaks which reconstitute . . . . .	520
e) The time over which the breaks remain open . . . . .	521
f) Number of ionizations required to produce a break . . . . .	521
g) Induced crossing over . . . . .	522
3. Genetic consequences of physiological damage . . . . .	522
a) Methods of study . . . . .	522
b) Spindle effects and induced polyploidy . . . . .	523
c) Chromosome stickiness . . . . .	523
d) Division lag . . . . .	523
4. Non-chromosomal structures . . . . .	525
5. Effects during prolonged interphase . . . . .	526
III. Response in relation to dose and its distribution in time and space . . . . .	529
1. Linear responses with dose . . . . .	529
a) Gene mutations . . . . .	529
b) Single hit chromosome and chromatid aberrations . . . . .	534
c) Changes of uncertain origin . . . . .	535
2. Non-linear responses with dose . . . . .	536
a) Two-hit rearrangements . . . . .	536
b) High dose effects . . . . .	537
3. Dose rate and fractionation effects . . . . .	538
4. Ion density effects . . . . .	540
IV. Sensitivity, resistance and the modification of genetic damage . . . . .	543
1. Sensitivity of the nucleus and cytoplasm . . . . .	543
a) Microbeam experiments . . . . .	543
b) Other tests . . . . .	543
2. Natural variations in sensitivity . . . . .	544
a) Chromosome number and size . . . . .	544
b) Polyploidy . . . . .	544
c) Stages in the mitotic cycle . . . . .	547
d) Diffuse centromeres . . . . .	548
3. Mutations to radioresistance . . . . .	550
4. Artificial modification of the effects . . . . .	556
a) Oxygen and other gases . . . . .	556
b) Temperature, infra-red and ultraviolet . . . . .	563
c) Other modifying agents . . . . .	565
5. Extent of the opportunity for post-irradiation repair of genetic damage . . . . .	566
V. Radiomimetic effects . . . . .	567
1. Ultraviolet and photoreversal . . . . .	567
2. Mustard gas and other organic chemicals . . . . .	569
3. Inorganic agents . . . . .	570
4. Mutagenicity and carcinogenicity . . . . .	572
VI. Effects in individuals, populations, mammals and man . . . . .	573
1. Heritable effects in individuals . . . . .	574
a) Dominant lethal changes . . . . .	574
b) Hereditary partial sterility . . . . .	576
c) Dominant sterility . . . . .	577
d) Dominant gene mutations . . . . .	577
e) Recessive lethal and deleterious mutations . . . . .	577

	Seite
f) Sex linked mutations . . . . .	579
g) Rate doubling dose . . . . .	579
h) Continuously variable characters . . . . .	530
i) Detriment versus benefit . . . . .	533
k) Induced as compared with natural mutations . . . . .	583
2. Effects in populations . . . . .	584
3. Effects in somatic cells . . . . .	586
a) Causes of cell destruction . . . . .	586
b) Tumour induction . . . . .	587
c) Cell population dynamics . . . . .	590
d) Aging of exposed individuals . . . . .	590
4. Mammalian studies relating to hazards . . . . .	590
a) Chromosomal effects . . . . .	590
b) Specific locus mutations . . . . .	591
c) Induced mutation rates . . . . .	591
d) Dose-rate effects . . . . .	592
e) Male and female sensitivity . . . . .	592
f) The possibility of recovery . . . . .	593
g) Heritable effects on longevity . . . . .	593
h) Other quantitative characters . . . . .	594
i) Somatic mutations . . . . .	594
k) Applications to man . . . . .	594
5. Human studies . . . . .	594
a) Congenital abnormalities . . . . .	595
b) Effects on the sex ratio . . . . .	596
c) Somatic mutation . . . . .	599
6. Quantitative assessments of hazards . . . . .	599
a) Frequencies of hereditary diseases . . . . .	600
b) Mutation versus selection . . . . .	607
c) Doubling dose for man . . . . .	608
d) Calculations based on the prevalence of hereditary disease . . . . .	611
e) Calculations based on total "genetic deaths" . . . . .	612
f) Calculations based on consanguineous marriage data . . . . .	613
g) Quantitative characters . . . . .	615
h) Incompleteness of present information and methods of study . . . . .	615
7. Problems of permissible exposures . . . . .	616
Bibliography . . . . .	618
Namenverzeichnis — Author-Index . . . . .	633
Sachverzeichnis . . . . .	671
Subject Index . . . . .	699

## **Inhaltsübersicht zu Band II/2**

- A. Phenomenology of radiation effects on microorganisms.** By Professor E. C. POLLARD, University Park (USA)
- B. Phänomenologie der Strahlenwirkungen auf Organe und Organsysteme.**
- I. Histopathologie der Wirkung ionisierender Strahlen auf höhere Organismen (Tier und Mensch).** Von Professor H. COTTIER, Bern (Schweiz)
- II. Morphologische Veränderungen der Blutzellen (Peripheres Blut).** Von Professor A. MORCZEK, Magdeburg
- C. Changes in immunobiological processes caused by radiation.** By Dr. MAKINODAN, Oak Ridge (USA)
- D. Exposure of man to ionizing radiation from natural and artificial sources.** By Professor R. M. SIEVERT, Stockholm; Dr. GUN-ASTRI SWEDJEMARK, Stockholm; Dr. C. WILSON, Stockholm (Schweden)
- E. Biologie der Radionuclide.** Von Professor A. CATSCH, Karlsruhe
- F. Techniques in radiobiology.** By Professor R. RUGH, New York (USA)

## Mitarbeiter von Band II/1 — Contributors to Volume II/1

PETER ALEXANDER, Dr., Head, Radiobiology Department, Chester Beatty Research Institute, Fulham Road, London S.W. 3 (Großbritannien)

WALTER MAX DALE, M.D., D.Sc., 3 Moorfield Road, Manchester 20 (Großbritannien)

WOLFGANG DITTRICH, Dr., Professor, Direktor des Institutes für Strahlenbiologie der Universität Münster, Münster (Westf.), Hittorfstr. 17

OTTO HUG, Dr. med., Professor, 8 München 15, Bavariaring 19

ALBRECHT M. KELLERER, Diplom-Physiker, 8 München 15, Bavariaring 19

WALTER MINDER, Dr. phil., a.o. Professor für medizinische Strahlenphysik an der Universität und Chef der Sektion für Strahlenschutz des Eidg. Gesundheitsamtes, Bern (Schweiz), Falkenplatz 11

JOSEPH S. MITCHELL, C.B.E., M.D., F.R.S., Professor, Regius Professor of Physic, University of Cambridge, Department of Radiotherapeutics, Addenbrooke's Hospital, Cambridge (Großbritannien)

HOWARD B. NEWCOMBE, Head, Biology Branch, Atomic Energy of Canada Limited, Chalk River, Ontario (Kanada)

ADOLF ZUPPINGER, Dr. med., Professor, Zentrales Strahleninstitut der Universität und des Inselspitals, Bern (Schweiz)

# A. Direct and indirect effects of ionizing radiations

By

**W. M. Dale, M.D., D.Sc.**<sup>1</sup>

With 15 figures

## I. History

The discovery of x-rays by Roentgen in 1895 at once provided the medical profession with a powerful tool for the diagnosis of internal disorders of the human body, a tool which was enthusiastically taken up long before anything was known of the properties of the radiation, other than the fact that they could penetrate matter and project a shadow image on a luminescent screen or a light-sensitive emulsion.

Those who had to deal with the application of x-radiation learned by bitter experience that there was danger involved in its use, as witnessed by the mutilating ulceration of their fingers. Once such dangers were recognised extensive study of the biological action of x-radiation gradually developed, and this process has continued to the present day.

Parallel with the search for the physico-chemical, biological and biochemical effects of x-radiation, new radiation sources have been discovered which, in turn, pose new problems of biological effects. Besides Roentgen, beta-, gamma- and alpha-radiation, beams of neutrons, deuterons, protons, etc., have become available in recent times, and the danger of ionizing radiations has naturally increased with the advent of atomic energy and the widespread use of radioactive isotopes in industry, research and medicine. In broad outline the development of research during the last 50 years started with the attempt to correlate what was known and became known of the physical primary step of ionizing radiations with effects on a great variety of matter subjected to irradiation. Attention first centred around the effect of radiation on gases, and gradually extended to liquid systems. This swing from the gaseous phase to the condensed phase posed new problems which are still not fully answered; and still more problems arose when solid matter was considered.

At the root of all action of ionizing radiations lies the primary physical step of energy dissipation, which is of extremely short duration (of the order of  $10^{-16}$  secs.), consisting of ionization and excitation when particles or photons collide with molecules of matter. The result of ionization and excitation then is a state of activation of the molecules which makes them prone to chemical change. The result of this direct-energy transfer from the energy-carrying particle to the atom or molecule with which it collided, was in the foreground when theories of chemical and biological action were developed, and it was postulated that a primary ionizing event (frequently a single ionization), had to take place *within* a particular structure or a single molecule to cause an eventual biological change. This narrow postulate was later extended by adding to "*within*" the words "*or near*", and constitutes what is called the Treffer or target hit theory or, more vaguely, direct action theory, which is still in use. In the 1930's, however, following the establishment of free-radical mechanisms in gaseous systems, it was gradually realised that similar mechanisms operate in the condensed phase, i.e. in liquids, the most important of which, from the biological point of view, is water. The reaction occurring in this solvent, and the reaction products with their effects on dissolved substances, form the basis of the concept of "indirect action".

---

<sup>1</sup> Medical Research Council and Department of Biochemistry, Christie Hospital, Manchester 20.  
Handbuch der med. Radiologie, Bd. II/1

Since the problem of the direct action of radiation comprises the radiation-chemical reaction as one important step in the long and partly unknown sequence of events stretching from the primary act of radiation to the final biological effect observed, it appears appropriate to discuss briefly the primary physical act of the dissipation of radiation energy.

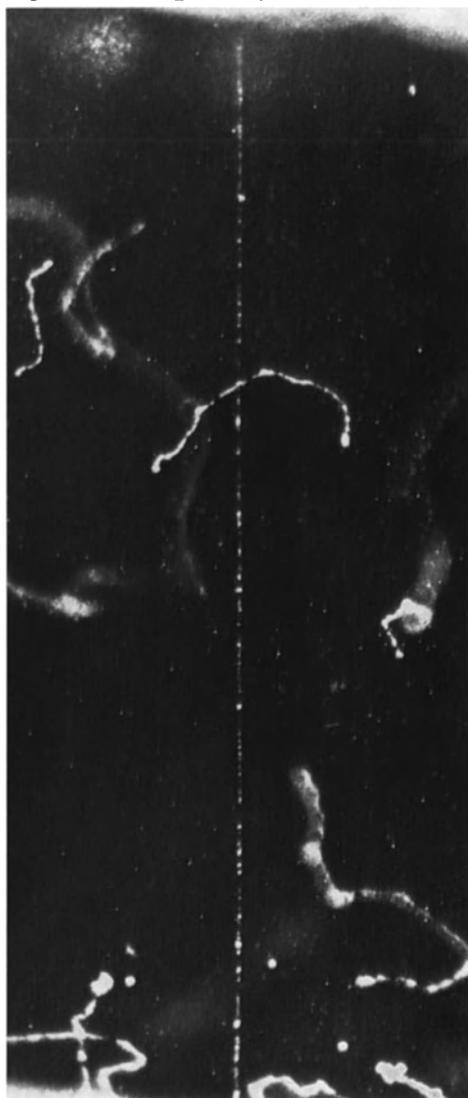


Fig. 1. Wilson-chamber photographs showing the track-bound inhomogeneous distribution of ionizations. The straight dotted line is the track of a fast  $\beta$ -particle and the irregular hooked thicker lines are the tracks of secondary electrons produced by Roentgen-rays. (C. T. R. WILSON, 1923, Plate 16, Fig. 1)

### Primary physical steps

Radiation, in traversing matter, provides the flux of energy necessary to activate the atoms and molecules to a sufficient extent to undergo chemical reactions which otherwise would either not take place at ordinary temperature at all, or at least would do so immeasurably slowly.

Molecules or atoms of matter which have received some energy from radiation are in an activated, excited state, and may then be changed "chemically", i.e. some atoms are regrouped to form different molecular structures.

Depending on the amount of energy absorbed, one or more of the outer electrons of atoms is raised from its ground state to a higher "excited" state and moves further away from the nucleus or, if the energy exceeds the binding energy, escapes from the atom altogether, leaving a positively-charged ion behind. This event is called an ionization. The ejected "secondary" electron is capable of ejecting further electrons as it passes between other molecules or atoms. Eventually the electrons, when sufficiently slowed down, will be captured by a positively-charged atom or molecule (charge neutralisation), or by a neutral atom or molecule, with a liberation of energy which can cause the product of combination to dissociate, i.e. to undergo chemical change.

In the condensed phase, with which we are mainly concerned here, other important steps intervene which are peculiar to these systems of biological interest. Apart from the transfer of energy to molecules of the solvent, and its consequences (which will be treated later in the chapter on "indirect action"), hydration of newly-formed ions and the accompanying orientation of surrounding water molecules will lead to the dissipation of energy as heat, and following a proposed mechanism (FRANCK and PLATZMAN, 1954), the newly created ions may function as a "powerful drying agent".

This mechanism of energy-dissipation by ionizing radiations is quite unspecific and common to the various kinds of corpuscular, as well as Roentgen and gamma-radiations, and is due to the energy being greatly in excess of the binding energy of electrons of atoms or molecules of the matter traversed. The energy transfer, therefore, takes place in numerous steps, and each particle of radiation causes a great variety of ionized and of excited molecules, in contrast to photochemically active radiations, which are absorbed in specific

atomic aggregates of molecules. In further contrast to reactions caused by light the primary products are not formed uniformly throughout matter: they are formed along, and in close proximity to, the particle "tracks". This is of great importance for an understanding of the basis on which the theory of "direct action" of radiation rests. A cloud-chamber photograph illustrates the irregular distribution of ionizations (Fig. 1).

## II. The direct action theory

In the preceding paragraph we have briefly mentioned the concept of direct action in the context of the development of the various theories of radiation effects. Before going into greater detail it may be of advantage to insert here a short introductory note on the modern concepts of the various theories and then go back to a chronological account of the development of the research.

The complexity of biological matter renders the task of a rational explanation of the mode of action of ionizing radiations very difficult. There is really no single theory in existence which will cover all possible aspects of the subject.

The target theory, nowadays, is an attempt to describe the various manifestations of radiation effects in biological systems in terms of statistical probabilities of events caused by the dissipation of energy in matter. Defined in this wide sense it will at the same time cover what is called the indirect-action theory. The target for indirect action is then the whole system, in the case of solutions: solute molecules as well as solvent. In the case of biological structures it is the structures as well as the medium contained within and surrounding them.

If this broad picture is kept in mind by the reader from the outset when the chronological development is being traced, and if a number of over-simplifications are not taken too seriously, some of the sharp edges of controversial points will be blunted, and it is hoped that the reader will finally arrive at an unbiased view of the problems.

The direct-action theory was developed in order to describe the relationship between the dose of radiation and the observed biological effect, correlating the physical events of the dissipation of the energy absorbed with either microscopically-observable changes in small cell structures like chromosomes, or with phenomena which could be detected long after the radiation had been applied, but could be legitimately traced back to changes in sub-microscopic structures such as genes. Such phenomena are mutations found in the progeny of irradiated organisms. The basic idea assumes a particularly vital spot in the molecular make-up of the nucleus which, when involved in one of the microevents of radiation, can account for the inability of cells to divide and for eventual cell death. The cell nucleus apparently contains vital structures which control not only cell metabolism, but also the hereditary behaviour of cells.

One can liken the flux of radiation to a stream of missiles to which the biological objects (population of single cells, organisms, viruses, enzyme molecules, etc.), are exposed as the targets which include the assumed vital spot, in which an ionizing primary event (frequently a single ionization), has to occur in order to constitute a "hit". From this hypothetical mechanism are the names "*target theory*" or "*Treffer theory*" or "target-hit theory" and "single-hit theory" derived. (BLAU and ALTENBURGER, 1922; TIMOFÉEFF-RESSOVSKY and ZIMMER, 1947; DESSAUER, 1923, a and b.)

The mathematical formulation of the probability of a hit is developed on the following lines:

For small doses of radiation the number of hits will be strictly proportional to the dose. If larger doses are used, however, cases will occur in which a target is hit two or more times. Since it is assumed that one ionization suffices to obtain the observed effect — for instance, cell death, or mutation, or inactivation, or chemical change of viruses or of enzymes — those hits in excess of one are wasted and scored as one target hit only. In

other words, the total number of hits increases proportionally with dose, but the number of targets knocked out increases more slowly.

It is difficult to obtain accurate experimental results with very small doses. The doses used in practice are therefore great enough to achieve a considerable number of hits. From the several possible ways of plotting dose-effect curves we choose here the most frequently used, namely, plotting the *surviving* fractions of the test object (Fig. 2) or its logarithm (Fig. 3) as the ordinate against the dose as abscissa. The fact that Fig. 3 is a straight line shows that Figure 2 represents an exponential curve.

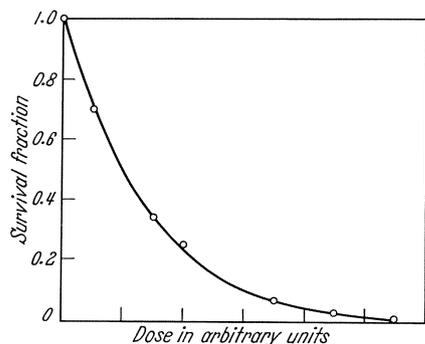


Fig. 2. Dose-effect curve. Ordinate: survival fraction. Abscissa: dose in arbitrary units

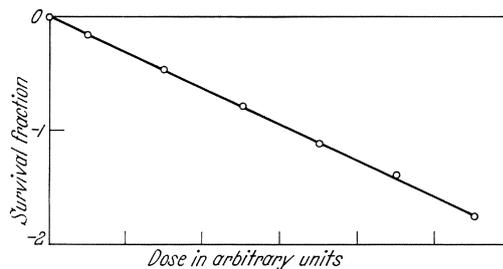


Fig. 3. Dose-effect curve. Ordinate: log of survival fraction. Abscissa: dose

The derivation of the dose-effect formula is based on the principle that equal doses have equal effects, as follows:

When a population of cells is exposed to radiation and a certain dose causes the observable event, e.g. death in 10 per cent of the population, then an additional equal dose would produce the event in another 10 per cent of the remaining 90 per cent of the population which has survived so far. A third additional equal dose would produce the event in the 81 per cent left unaffected after the second dose, etc. The number of survivors thus declines in a geometrical progression, i.e., the survival curve is exponential.

Suppose that from an initial number of cells  $N_0$ , a number  $N$  survive a dose  $D$ . Assume also that a dose  $D_0$  is required to achieve, on the average, one hit on each target. Then the number of targets hit by an increment of dose  $dD$  will be given by

$$-dN = \frac{N}{D_0} \cdot dD.$$

On integration one obtains

$$\log_e (N/N_0) = -D/D_0 \text{ or } N = N_0 e^{-D/D_0}.$$

The point on the dose-effect curve which represents 37 per cent survival is that point at which an average of one hit is obtained per target. At this point  $D = D_0$  and  $N = N_0 e^{-1}$ . Since  $e^{-1} = 0.368$   $N/N_0 = 0.368$ , or rounded off 37 per cent. The choice of dose for a 37% survival is a convenient measure for the sensitivity of cells to radiation. The exponential form of the survival curve is an essential feature of the single-hit type of action.

### 1. Sigmoid-shape survival curves

Exponential survival curves are by no means always obtained. A curve of the kind shown in Figure 4 is a so-called sigmoid-shape curve, and can be interpreted either as being caused by a cumulative type of radiation effect, or possibly as reflecting the statistical variation of the sensitivity of the members of the population. The flat part after the start of irradiation corresponds to a lag period during which sufficient injurious action is accumulated in a proportion of individuals before death occurs. Then follows the steep part of the

curve which represents the death of the majority of individuals. Finally, the curve flattens out again, denoting that the remainder of the population shows a higher degree of resistance.

Supporters of the direct-action theory argue that, although variations of the individual resistance to injury exist, they will have to be very wide, i.e., having a very skew shaped distribution, to change a sigmoid curve into an exponential one. Accordingly, the exponential form may not rule out an accumulative type of action, but it appears less probable than the single-hit type of action.

If curves are not exponential, the simple target theory has to give way to modification based on the assumption that it is necessary to produce a large number of ionizations within the target. The number of ionizations per unit length of track depends on the energy of the radiations and on the type (protons,  $\alpha$ -particles, neutrons, etc.), and the number of particles required will therefore vary with the density of ionizations per unit length of track. For the inhibition of division in tissue cells (SPEAR, GRAY and READ, 1938), it was found that the ionizations caused by the passage of a single proton could achieve the same effect as the same number of ionizations, due to a large number of electrons. Other instances are, the killing of bean seeds, yeasts and protozoa.

Here we have then a combination of the idea of an accumulative action of radiation and of the application of the target theory.

Since an exponential survival curve is a necessary, but not a sufficient, condition for the applicability of the single-hit mechanism, two additional requirements have to be satisfied.

The first is that the observed effect should be independent of the time-intensity factor of the radiation. Equal doses of radiation can be delivered at high intensity over a short time, or at low intensity over a long period, or can be fractionated by alternating periods of radiations with periods during which radiation is stopped. Studies of the part played by the time-intensity factor can afford a certain amount of information. If the single physical energy-dissipating entities — photons or particles of radiation — contribute independently to the observed effect, the time-intensity factor should make no difference. The all-or-none effect expressed in the exponential dose-effect curve excludes any effect of the rate at which radiation takes place. If, however, several ionizations or ionizing particles are required to cause the observed effect (sigmoid curve) recovery of the organism may occur and, therefore, the time over which the radiation is spread may affect the biological end-effect. Another example (CATCHESIDE, LEA and THODAY, 1946 a, b.) to which we shall also refer later on, is the radiation-induced breaks in the chromatids of two separate chromosomes (or chromosome arms) with subsequent interchange aberrations. The frequency of these aberrations increases as the square of the dose, and is therefore represented by a two-hit curve. The breaks may remain “open” for a period of at least four minutes before restitution or reunion occurs. It has been observed in this case that a given dose delivered over periods of increasing duration results in decreasing numbers of exchanges, because the second hit may occur too late to prevent restitution or reunion, with consequent loss of the chance of an inter-change.

The second requirement which lends support to the single-ionization type of action, is the lower efficiency of densely-ionizing radiations like alpha-radiation or neutron radiation, as compared with x- or beta-rays. The closer the ionizations are spaced along the track of an ionizing particle, the more will be contained in a volume it traverses, and the chance of any ionizations occurring within the target is obviously increased. Since the single-hit theory postulates that one of these ionizations is sufficient to cause the observed

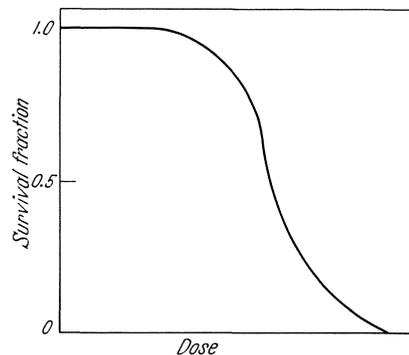


Fig. 4. Sigmoid-shape curve

effect, the remainder of the ionizations contribute to the total dose, but not to the biological effect, and is therefore wasted. Fig. 5 illustrates the effect of ionization density.

The difference in ionization density in tracks of  $\gamma$ -rays of various wave-lengths is not marked enough to cause a change in efficiency with regard to their biological action. LEA (1946) quotes numerous references on work with viruses done by him and co-workers, and others, which show that small viruses comply with the threefold test for the applicability of the single-hit theory.

In the case of larger viruses, such as vaccinia, complication arises from the fact that they possess an internal structure consisting of a genetical and a non-genetical part. Although a single ionization appears to be sufficient to inactivate a particle, it has to occur within the "sensitive" spot presumed to be associated with the genetical, i.e. nucleoprotein, part. Calculations based on the 37% inactivation dose of  $\gamma$ -, Roentgen and  $\alpha$ -rays lead to the conclusion that the sensitive area is not identical with the whole internal structure conceived as a spherical target. One has rather to assume a very asymmetrical target, or, still better, a multiplicity of targets. An ionization occurring in any one of these leads to the inactivation of this virus. The injury to this virus is interpreted as a lethal mutation.

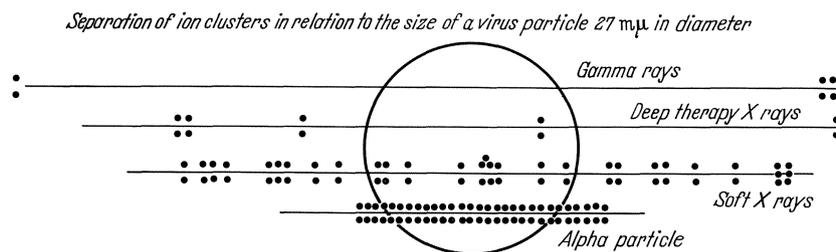


Fig. 5. Significance of ionization density. (L. H. GRAY, 1946)

The killing of bacteria is another example to which the single-hit mechanism and the interpretation as a lethal mutation is applicable. Exponential dose-effect curves, independence of dose-rate, and reduced efficiency of densely-ionizing radiations, and in addition independence of temperature during irradiation, all combine to prove the single-hit mechanism. Although various investigators have confirmed exponential curves, there are some who have obtained sigmoid curves. Moreover, a comparison of the mean lethal doses found by various investigators, shows some disagreement. It seems as though results with bacterial suspensions can show variations and are dependent on the technique of the investigator and the strains of bacteria.

## 2. Genetic effect caused by single hits in genes

It would be beyond the scope of this article to quote the evidence in detail, and the reader should refer for further information to the elaborate account given by LEA (1946) who also furnishes data of cytogenetic concepts and hereditary phenomena relevant to the problem. It suffices here to state that the same criteria as in the previous section are suggestive of a single-hit mechanism in the genes which are the constituents of chromosomes and carriers and transmitters of hereditary characteristics. As a result of single hits, an increase over the low natural frequency of mutations has been observed in the progeny of the irradiated organisms, e.g. bacteria, viruses, and especially of the fruit fly, *Drosophila melanogaster*.

## 3. Estimate of target sizes

As we have seen in the previous section, the action of radiations of differing ionization density, and the amount of radiation needed to yield a particular effect, were used to prove a single-hit mechanism in the target. From the knowledge of the distribution of the

ionizations it should be possible to draw conclusions in certain cases, with regard to the size, shape and number of sub-microscopic vital cell structures of critical sensitivity to ionizations produced in them. This method is the determination of target sizes and is restricted to cases in which special functions of the substrate can be measured, the loss of infectivity of a virus, for instance, or the change of hereditary characteristics by mutations of a gene.

Much effort has been spent on using radiation as an ultramicrotool for gaining knowledge of these structures. In some cases supplementary techniques, e.g. electron-microscopy, ultra-centrifugation and others, have approximately confirmed results obtained in radiation experiments, but beyond this the information is not of very decisive impact, especially in view of a multitude of very special assumptions and simplifications necessary to fit any particular situation, and to make the problem accessible to mathematical treatment. Reviewing Lea's exposition we shall now give an outline of the reasoning which is the basis of the estimation of target sizes. It is again postulated that one ionizing event, i.e., one ionization within, or the passage of an ionizing particle through, the sensitive volume, causes the observed effect. The probability of scoring an average of one hit per target is given by the 37 per cent dose. But the straight forward establishment of the 37 per cent dose is by no means enough to enable a calculation of the target size to be made without very special assumptions relating to certain ranges of target sizes and certain radiations.

**1. First method.** The simplest assumption is a random distribution of single ionizations in the irradiated system, e.g. tissue. Then the 37 per cent dose would correspond to that dose which in a target of volume  $v$  would produce  $1/v$  ionizations per unit volume of tissue. This method of calculation is only valid for very small targets. To give a numerical example:

Assume the 37 % dose =  $10^5$  R of hard  $\gamma$ -rays.  $10^5$  R corresponds to  $1.727 \times 10^{17}$  ion pairs per gramme of virus protein. Since this dose produces one hit per target volume the target volume is:

$$\frac{1}{1.727 \cdot 10^{17}} = 1.48 \times 10^{-18} \text{ ml} = 1.48 \times 10^3 \text{ m}\mu^3$$

whereby a small correction for the density of the virus protein is neglected.

The ionizations are in fact not distributed at random, but are studded along the track of the ionizing particle, which cannot produce an effect unless it passes through the target. The effect then depends upon the distance between consecutive ionizations — in other words, on the ionization density of the radiation employed. If the target dimensions are rather greater than the separation of consecutive ionizations, several ionizations may occur in the target, and any more than one would be wasted. The calculation based on random distribution does not take such waste into account, and will therefore lead to the target-size being the more under-estimated the larger it is.

**2. A second method.** This uses as a definition of a hit the passage of a particle through a target, and not the occurrence of one ionization. If the distance between consecutive ionizations is sufficiently small to ensure an ionization to occur within the target, then this method is applicable to large targets, but would lead again to an under-estimation of the target-size when the target is not large enough.

It is thus evident that the two methods are subject to limitations, and that there is a range of radiations of intermediate ionization density and a range of targets of sizes intermediate between "large" and "small", for which a third method is required to cover these intermediate ranges and at the same time not too much in error for the extremes on either side of the intermediate range.

Such a method has been devised (LEA, 1940) under the name "The associated-volume method", and will now be given in outline.

**3. Associated-volume method.** It is based on elaborate calculations of the probability of an ionization and its consequent biological effect, e.g., a gene mutation being produced

in a spherical target of radius  $r$  when a radiation dose equivalent to the production of  $N$  ionizations per unit volume is given.

In order to arrive at a solution of the problem, the ionizations along a particle track are thought of as centres of consecutive spheres of radius  $r$ . Because of the random spacing of the ionizations, these spheres will partly overlap, and their *net* volumes constitute the associated volume. This associated volume defines the space within which the centre of the target, e.g., a gene, must lie in order to receive an ionization in it. Those spheres which surround closely-packed clusters of secondary ionizations overlap to such an extent that only spheres around primary ionizations need be considered, taking into account that there are three times as many total as primary ionizations.

Since a certain proportion of the spheres belonging to consecutive primary ionizations overlap, the associated volume will be less than the total volume of these spheres by the "overlapping factor"  $F$ . Via the average number of hits corresponding to  $N$  ionizations per

unit volume one can then arrive at the dose required for an average of one hit per target.

The overlapping factor  $F$  is a function of the mean separation of consecutive primary ionizations and of the target diameter (tables of this function are given by LEA). The ionization density and the target diameter are thus introduced into the calculation and the shortcomings of methods 1 and 2 removed.

**4. Associated-volume method modified for very large targets and soft Roentgen rays.** The associated-volume method with a modified interpretation can be applied to very large tar-

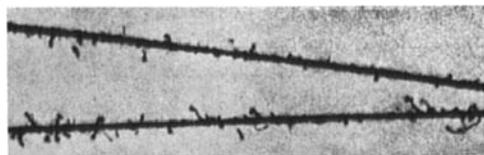


Fig. 6. Wilson Cloud Chamber photograph of alpha particle tracks with the tracks of delta-rays branching off the main track. The chamber was filled with moist helium gas in order to show especially the production of delta-rays. (T. ALPER, 1932)

gets, so large, in fact, that a single ionization in it is considered insufficient to constitute a hit. The assumption is then made that a hit within the sensitive volume is produced when an x-ray quantum is absorbed. For rather large targets and the very short photoelectron tracks of very soft Roentgen-rays, the photoelectron has an associated volume hardly bigger than the size of a sphere with a radius equal to the radius of the large target; and the whole track can, therefore, be considered as the unit producing a hit. Such cases may be rare; but if the track is not many times greater than the target diameter, the application of the associated-volume method gives results compatible with the assumption of the absorption of a Roentgen ray quantum.

#### a) Further factors involved in the estimation of target-sizes

The restriction to primary ionizations only, in the calculation of target sizes will lead to wrong results for densely-ionizing radiations, especially  $\alpha$ -rays, because an  $\alpha$ -ray track is not only made up of a line of densely packed primary ionizations and clusters of not-very-fast secondary ionizations, but also has spurs of energy-rich secondary ionization tracks branching off sideways from the path of the  $\alpha$ -particle. These spurs are called delta-rays, and their combined lengths exceed that of the  $\alpha$ -track itself.

Extensive calculations based on the associated-volume method make allowance for the number and the energies of these delta-rays, and also of the density of the irradiated material.

The shape of the target is another factor whose neglect would lead to inconsistencies when various types of radiation are used. If the estimates of the target-size increase with increasing ion-density, then the target is either of the shape of a filament or consists of a number of spherical targets, and the biological effect is produced when ionization occurs in one of them.

Though we shall return to the topic later in connection with the indirect action of radiation, we now mention briefly the possibility of the spread of the effect of an ionization,

which implies that the manifestation of the effect may be remote from the point at which the primary event occurred. The simple target theory assumes a spherical target within which an ionization anywhere causes the effect, but outside which no ionization, however near, is effective. It can, however, be assumed that the probability of a hit outside the target does not fall abruptly to zero when just outside, but gradually diminishes with increasing distance from the target centre. Calculations of target-size based on a definite boundary will differ from those based on an indefinite boundary. The difference can be summarised by stating that an indefinite boundary of the target causes the efficiency per ionization to decrease less steeply with increasing ion-density of the radiation than with the assumption of a definite boundary.

### b) Extension of experiments with dry substances

Since Lea has laid the foundation for the evaluation of target sizes some extension of his work has been carried out by Pollard and his co-workers (POLLARD, 1953; POLLARD, GUILD, HUTCHINSON and SETLOW, 1955; POLLARD, 1959) which has led to refinements and a broadening of the basis. Several points of interest arise from these experiments. POLLARD prefers to use "the inactivation cross section" instead of the associated volume concept for expressing the results of irradiation of dried material.

The inactivation cross section represents the chance of inactivation of the molecule per incident particle, when it is assumed that one ionization is required for inactivation, and it is smaller than the geometrical cross section of the molecule for not too densely ionizing particles. The probability that *at least one* ionization occurs in the average thickness of the molecule can be deduced from the known density of primary ionizations of the radiation used, and the inactivation cross section can be measured as a function of the energy loss per 100 Å length of the track of the incident particle.

POLLARD does not generally use any correction of his data for the contribution of delta-rays (apart from  $\beta$ -galactosidase, POLLARD, 1959) because of some theoretical uncertainties, but states that since the time when Lea calculated his tables for the effect of delta-rays in connection with the associated volume concept, additional facts have become known which, when taken into account, show the delta-ray corrections as having been over-estimated by at least a factor of 2. The additional facts were that energetic delta-rays are strongly scattered and have curled tracks instead of the assumed straight ones, and that they branch off from the particle track at angles other than  $90^\circ$ .

Lea's basic theory was confirmed, but extended to a greater variety of material, such as enzymes, albumin, hormones, nucleic acids, toxins, viruses and bacteriophages. The degree of correlation between target molecular weight and actual molecular weight may be seen in Fig. 7.

One important result of these investigations was that the temperature at which irradiation took place had, surprisingly, an effect on the target size calculated from these experi-

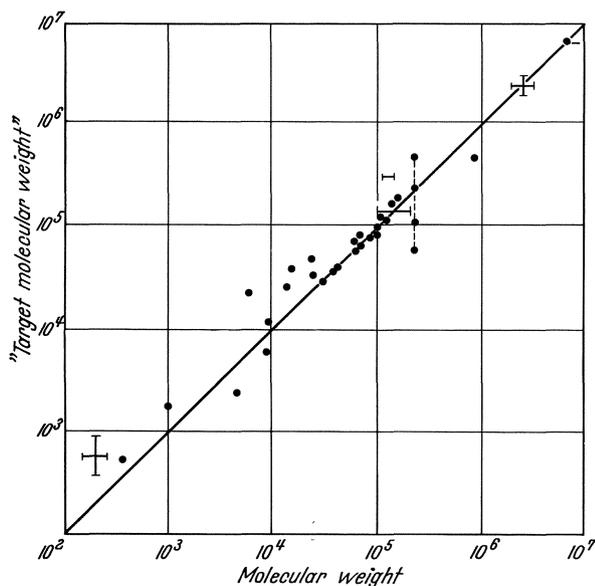
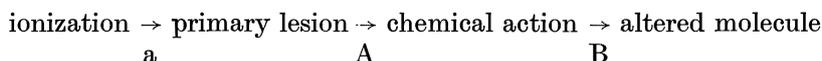


Fig. 7. Correlation between observed molecular weight and target molecular weight, according to W. R. GUILD reproduced from E. C. POLLARD (1959).

ments, and further, that the presence of substances added to the active material during drying increased the apparent target area in some cases, and in others decreased it.

The change of sensitivity by these additives can amount to an 8-fold difference. Pollard stresses quite rightly that since ordinary separation procedures do not produce so great modifications of sensitivity the effect of these additives does not detract from the practical value of the fairly close correlation shown in Fig. 7. However, from the theoretical point of view, of the significance of target sizes, these modifying effects appear to be of great importance and seem to require much further research which will have to reach beyond the mere insertion of hypothetical steps within the reaction chain shown below, and will probably hold the key to a deeper insight into the primary mechanism of energy dissipation. The variability of target sizes by the presence of added substances in the irradiated dry material was not known at the time when Lea developed his basic theories, and more will be said about the energy transfer in solids in later chapters on phase effect, radiation effect in polymers, and on the significance of microwave spectroscopy.

In order to rationalise the new situation, Pollard assumes that the positive charge on a protein molecule produced by ionization could migrate to other atomic groups as made probable by Gordy's experiments on para-magnetic resonance (GORDY, ARD and SHIELDS, 1955), and that this charge then settles in some particularly weak bond which he calls the *primary lesion*. When the protein comes into contact with water, or water and oxygen, the primary lesion is rendered reactive and *chemical action* ensues, e.g., bond breakage. Pollard therefore inserts into the reaction chain these two steps as shown by



in which modifying agents may interfere at either step A or B, or perhaps also at a.

After this more general account, some more detail should be mentioned. When tobacco mosaic virus is irradiated with deuterons, the results depend on the criterion of the lesion chosen. If the criterion is the ability to precipitate antibody to tobacco mosaic virus one obtains a very slight radiation sensitivity, and the sensitive volume for this criterion corresponds to a molecular weight of under 20,000, whereas for damage to the ability to produce infectivity much less radiation is required, i.e. the molecular weight deduced becomes much greater. A similar differentiation can be made with a southern bean mosaic virus where apparently two active sites are obtained of molecular weights 30,000 and 6,000.

When the transforming principle which consists of pure DNA is irradiated in the dry state with fast protons (GUILD and DEFILIPPES, 1957) two components are found, one corresponding to a molecular weight of between 5 and 15 million, and the other of only 300,000.

Further work on DNA irradiated in the dry state by Roentgen-rays (BUTLER, 1956) yields a molecular weight of  $10^6$  when the criterion is the fall in viscosity, but the sensitivity is far greater for DNA in solution. As with other substances the sensitivity to radiation and the corresponding molecular weight deduced depends much on the criterion chosen. The data given above vary between molecular weights of 300,000 and  $15 \times 10^6$ , but SMITH (1953) finds 4,000 when the ability of DNase to digest irradiated DNA is used as the criterion. It is thus clear that chemically and physico-chemically measured sensitivities can be higher as well as lower than biologically assessed sensitivities.

The variation of the radiation sensitivity of solids, by the addition or presence of other solids, is linked with the relatively recent findings that protective action by added substances in aqueous solutions is not a prerogative of the indirect action, as was at first supposed.

Most of the experiments of the variation of radiation sensitivity and consequent variations in target sizes, were carried out with dried enzymes. They are mentioned here, and not in the section on radiation effects on enzymes, because the important point is the energy transfer in solids, which is by no means confined to enzymes as such. ALEXANDER and CHARLESBY (1954) were the discoverers of the protective effect in molecules of solid polymers.

A few examples of the variation in radiation sensitivity of enzymes in the dry state may be mentioned. The addition of cysteine, or of glutathione, decreases the cross section of ribonuclease and invertase. Yeast extract decreases the cross section of these enzymes and also of papain and urease, whereas the presence of acetate buffer and of sucrose considerably increases the cross section of ribonuclease (BRAAMS, HUTCHINSON and RAY, 1958; BRAAMS, 1960). A decrease of the cross section of catalase was observed on the addition of cysteine or of glutathione, by NORMAN and GINOZA (1958).

A similar decrease in radiation sensitivity of tobacco mosaic virus nucleic acid was found when this virus was dried with the addition of 2 per cent glutathione (GINOZA and NORMAN, 1957).

### c) Summary

So far the concept and application of the target-hit theory has been discussed. The essential feature is that the dissipation of energy by ionizing radiations is not homogeneous on the micro-scale, but is associated with tracks of ionizing particles or photoelectrons as discrete packets of ionizations. The target-theory reflects this discontinuity by assuming sensitive volumes (targets) in organised matter in which an ionizing event (frequently a single ionization) has to occur for producing an observable effect (cell death, inactivation of a virus, gene mutation, etc.). The occurrence of such an event is called a hit, and the conditions of the validity of a single hit are:

1. The proportion of the survivors plotted against the dose must show an exponential relationship;
2. The effect should be independent of dose-rate since an all-or-none action is supposed;
3. Densely-ionizing radiation, such as  $\alpha$ -radiation, should have less effect than less densely-ionizing radiations, because one ionization only is required to produce the hit, and the remainder of the ionizations are wasted.

The ionization density plays a major role in the derivation of the various quantitative deliberations of the theory and, in particular, in the estimation of target sizes.

## III. A contrasting point of view

The problem of the action of radiation has attracted the attention not only of biophysicists, but also of biologists and pharmacologists generally. This is not surprising, for in certain cases the action of drugs and physical agents has features in common with the mode of action of radiations. Nor is it surprising that the interpretation of curves relating effects to the time of exposure to drugs, heat or drying, evoked the same controversy which had already started in 1905 (HENRI), namely, whether the sigmoid or the logarithmic curves are the expression of one or a few chance events in a particular molecule, or whether they are caused by the individual variation of resistance of the population of cells or organisms treated. All curves can be explained by either of these obvious hypotheses. CLARK, who severely criticized the single-event theory (CLARK, A. J., 1933), stands wholeheartedly for the individual-variation interpretation of the sigmoid curves and logarithmic curves obtained in the action of drugs on cells, and stresses the frequent variability of the curves when the conditions of the experiment are but slightly altered. In the case of radiation, he points to the extreme differences in doses necessary to kill different cells. For example 50 per cent of *Drosophila* eggs are killed by 108 r (PACKARD, 1931); 1500 r are needed to produce the same effect on *Ascaris* eggs (HOLTHUSEN and ZWEIFEL, 1932), and 80,000 r to produce this action on *Colpidium* (CROWTHER, 1926). As an illustration of the great variability of cell populations and the practical difficulty in obtaining material of sufficient uniformity, he quotes the observation of HOLTHUSEN (1927), that the eggs of one *Ascaris* worm may be twice as sensitive as those of another.

A further point in question is the action of heat on bacteria, which cannot possibly be explained in terms of action on a single molecule. As in the case of chemical time-action

curves (e.g. disinfection), sigmoid and logarithmic curves are obtained for killing bacteria by heat. Here one has an abrupt change of the physical condition, when bacteria are immersed in hot water and the complication of a slow permeation of drugs into the bacterium is absent. In spite of the difference in the physical mechanism, the time-action curves for chemical and physical agents are very similar. These comments illustrate that some investigators are reluctant to rely too much on the shape of curves expressing the dose-effect relationships, because this can vary considerably in many instances. There still remain cases in which exponential curves are quite consistently obtained and conclusions drawn from these are on firmer ground. CLARK summarizes the situation by saying that the attitude of various writers seems to depend chiefly on environment and training. Most physicists and chemists have adopted the single-event theory of action of drugs and radiation, and most biologists have explained their results as the expression of individual variation. This discussion has provided a general view of a section of workers opposed to the single-action mechanism.

Let us now return to the application of the target theory to mutations produced by radiation. MULLER, the discoverer of this phenomenon, objects to the validity of the theory on various grounds (MULLER, 1950). Not only are differences found in sensitivity between stocks of *Drosophila*, but also different target volumes under different conditions when the calculations are carried out in accordance with the target theory. Thus, STADLER (1928) observed about eight times as many mutations in sprouting seedlings as in dry seeds, on applying the same dose; yet, regardless of whether these are point mutations or minute deficiencies, they occur proportionally to dose, showing a one hit-effect and therefore making them eligible for target-size calculations.

MULLER, working with lethals in chromosomes of *Drosophila* present in diploid amounts, and using the frequency of lethals in the second chromosomes, found, as SEREBROVSKAYA and SHAPIRO (1935) had done before, more gene mutations in spermatozoa than in spermatogonia. It can hardly be argued, however, that the gene is smaller in germ cells of earlier stages and therefore harder to hit. Two further difficulties are met; namely, that the majority of gene mutations cannot be detected by the usual methods, and although attempts have been made to account for these by indirect methods, the assumptions involved are over-simplifications. Second, the inclusion of a hit *near* a gene causing a mutation jeopardizes the accuracy of the calculation of a target-size. We shall return to this point when discussing the indirect action of radiation. The final conclusion is that the calculation of gene or chromonema sizes may be grossly in error, since not every hit in the sensitive volume causes a mutation, and not every mutation is produced by a hit within the gene or chromonema concerned. Furthermore, various externally-applied agents can cause changes in the induced mutation frequency. MULLER (1954) therefore says: "It seems much more likely that these differences are caused by conditions which alter the likelihood of a given ionization or activation being effective, rather than by shrinking and swelling of a supposititious sensitive volume. But, if our interpretation is correct, the sensitive volume as calculated would not be a spatially fixed and definable thing, and would have meaning only as a mathematical description of the end result. The term used for it would therefore be a "misnomer".

#### IV. The indirect-action theory

Whereas the direct-action theory is concerned with the primary ionization act when it occurs in the formed structure of living matter, the fact that there is also a radiation effect in the medium surrounding and pervading these structures or, in aqueous solutions, in the water in which solutes are dissolved, was neglected for a long time. The neglect, or rather oversight, of the fact that the whole system, solvent as well as solutes, is the "target", is understandable when it is realised that research was preoccupied with radiation reactions in the gaseous phase, which lacks a solvent and in which measurements of energy-dissipation and reaction-rates are so much easier than in the condensed phase. When investiga-

tions were eventually extended to solutions, in particular to aqueous solutions, attention remained fixed for a while on the solute molecules rather than on the solvent. Apart from an early suggestion by DEBIERNE (1914) on the decomposition of water by  $\alpha$ -rays that H atoms and OH radicals are formed from ionized water molecules, it seems that a more comprehensive awareness of the problem appears in a much later paper by GLOCKER and RISSE (1928), in which they proved that liberation of oxygen from hydrogen peroxide or from potassium persulphate in aqueous solution irradiated by  $\alpha$ -rays is not due to the ionization of the atoms of the dissolved substance only, but that all ionizations in the solution are chemically effective.

In view of later developments, it is of interest to note that the authors express the effect in terms of electrons as the causative agent leading directly to the measured decomposition product, without any intermediate link. RISSE in a publication in the following year (1929) goes one step further when he mentions H atoms and/or OH radicals as possible intermediates of radiochemical effects generally. Some years later, FRICKE and co-workers published a number of papers based on the indirect-action concept (FRICKE and MORSE, 1929; FRICKE, 1934; FRICKE, HART and SMITH, 1938), but left the definition of the active agent open by referring to it more generally in terms of "activated water" and establishing in painstaking experiments the role of traces of organic impurities in causing the liberation of small quantities of gases, e.g., CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>. Since then the radiation chemistry of water — a seemingly simple compound — has been proved to be rather complicated. The American school, foremost amongst them O. A. ALLEN, and in England, DAINTON, WEISS, and others, gradually partly succeeded in disentangling the interdependent reactions undergone by pure water under irradiation, and the work done during the last 25 years has established the fundamental importance of free-radical reactions in radiation chemistry.

The original definition of free-radicals by WIELAND (1915) is the following: Free-radicals are complexes of abnormal valency, which possess additive properties, but do not carry an electric charge and are not free ions.

Although in the light of later experience some stable radicals have been discovered, and also radicals carrying an electric charge (radical ions), the essential feature of the majority of them is their high chemical reactivity and consequent short life.

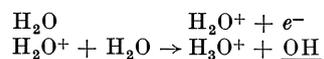
Free-radicals are capable of achieving oxidations and reductions of solutes in solutions, and of breaking carbon — carbon bonds, the latter being the only evidence of chemical change when oxidation and reduction reactions occurring simultaneously happen to balance each other.

The interaction between like and unlike radical pairs from water, i.e., between H atoms and OH radicals, and their reactions with any other solute present, lead to complicated forward and back reactions and to the formation and breakage of reaction chains. In the absence of solutes the radicals formed in water recombine to water, and no radiation chemical change is observed. If, however, the water contains dissolved oxygen a formation of hydrogen peroxide takes place.

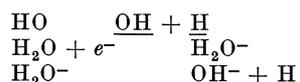
## 1. The formation of radicals in water by irradiation

The basic reactions of water subjected to ionizing radiations are twofold and interdependent, and a considerable amount of radiation energy is spent in these processes.

1. The decomposition into OH radicals and H atoms and solvated electrons  $e_{aq}^-$  according to:



and by capture of an electron



2. The decomposition into molecular hydrogen and hydrogen peroxide. In the absence of solutes the products of reaction (2) do not appear, because the H and OH change equimolar amounts of H<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> back into water according to:



and

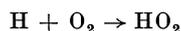


Any radicals from reaction (1) not used up in reaction (2) usually disappear by recombination:

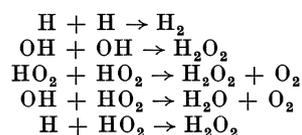


If, however, solutes are present which can react with H or OH, or both, molecular hydrogen and hydrogen peroxide can be found in the solution.

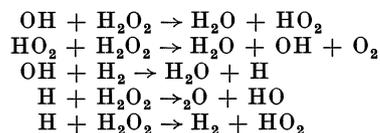
In addition to these basic reactions there are several possible secondary chemically-active entities derived from interaction between primary products, or from reaction of primary products with dissolved oxygen. The reaction of H atoms with dissolved oxygen leads to the formation of the peroxide radical HO<sub>2</sub>



Radical-radical interactions forming H<sub>2</sub>; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> near the site of radical formation are:



Reactions between radicals and molecular-reaction products after diffusion from electron tracks:



The solvated electron also called hydrated electron or polaron is a very reactive reducing agent. The experimental evidence for its existence has only recently been established by the development of the technique of pulse radiolysis [BOAG and HART (1962), and KEENE (1963)]. It is now possible to follow spectrographically reactions of the hydrated electron which absorbs strongly in the visible region with solutes in aqueous solution, reactions which last only microseconds.

These are the entities and reaction products which have been considered as the active agents of chemical reactions with solutes. In connection with the oxygen effect, to be discussed later, and the effect of hydrogen ion concentration, other entities will be introduced. It must not be forgotten that, as a result of an organic solute reacting with free-radicals from water, organic radicals of an infinite variety may be formed whose fate and participation in further reactions is largely unknown, as is also the fate of excited molecules. When the complexity of the molecular structure of the constituents of living matter, and the scanty knowledge of intracellular equilibria are taken into consideration, it is hardly surprising that a complete balance of reactions and measurements of reaction-rates have only been achieved in a few simple systems.

## 2. Criterion of the indirect action: the "dilution effect"

Although so far the active agents of the indirect action of radiation have been stated, the picture is still incomplete, because the actual proof of this mode of action is still missing. This proof lies in the fact that the radiation yield of a chemical reaction is inde-

pendent of the concentration of the solution over a wide range of concentrations. Only experiments with a series of different concentrations make it possible to recognise that the action is indirect, but one has to distinguish between two different cases according to the nature of the reaction product. The first case concerns the radiation effect on an aqueous solution of a simple inorganic substance, and the second that on an aqueous solution of an organic substance.

First case: Early experiments by FRICKE and MORSE (1929) may be quoted, in which the oxidation of an aerated aqueous ferrous sulphate solution by x-radiation was examined. It is important to note that the oxidation of  $\text{Fe}^{++}$  to  $\text{Fe}^{+++}$  is the only reaction which ferrous sulphate undergoes; once oxidized it is not further changed.

As will be seen in Fig. 8 the oxidation of the ferrous sulphate to ferric sulphate is strictly proportional to the x-ray dose up to a point when all the oxygen dissolved in the aerated solution has been exhausted, and this linearity of reaction holds for other concentrations too.

FRICKE and MORSE examined five concentrations of different molarity, namely: 0.00878; 0.00337; 0.00228; 0.00100; 0.0000406. On extrapolation of their experimental results they found that, within the limits of error a dose of  $5.5 \times 10^7$  r changed 1 mol. of ferrous salt to ferric independent of the concentration.

If there had been a predominantly direct action on the solute molecule, the effect of a given dose of radiation would have been a yield increasing with concentration. The independence of the yield can only be explained by the indirect action, i.e., the conversion of the water into active agents (radicals) which in turn react with the solute molecules.

Second case: The necessity of using a series of concentrations for establishing the mode of action of the radiation becomes even more obvious in the case of an organic solute. As an example the inactivation of an enzyme in aqueous solution may be quoted.

When the radiation dose (abscissa) is plotted against the corresponding activity of the enzyme ("surviving" fraction) as the ordinate, an exponential curve results, just as is shown in Fig. 2. This dose effect relationship is in contrast to the linearity of the ferrous sulphate reaction, and its cause will be explained in the paragraph on the protection effect.

Remembering that an exponential curve is one criterion of a single-hit mechanism, the interpretation would be justified — based on an experiment with only one solution — that the inactivation occurs by direct hit on the enzyme molecule. However, the use of a series of different initial concentrations of the enzyme solution soon proves, as in the case of the ferrous sulphate solution, that the yield for a given dose is constant and independent of the concentration, and therefore indirect (DALE 1940; DALE, MEREDITH and TWEEDIE 1943).

It will be seen from the table that for a 25 per cent inactivation of the various dilutions (column 1) the number of arbitrary enzyme units inactivated per 1.000 r (column 4) is,

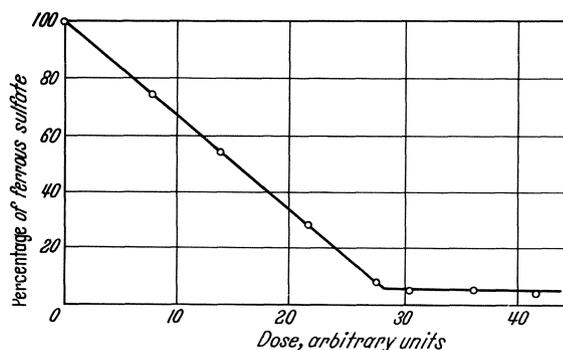


Fig. 8. Oxidation of ferrous sulphate by Roentgen-rays. (H. FRICKE and S. MORSE, 1929)

Table. 25 per cent inactivation of an enzyme, illustrating the "dilution effect"

1 Dilution	2 Roentgenray dose in R	3 Enzyme units inactivated	4 Enzyme units inactivated per 1000 R
1 ×	60,000	2,600	43
62 ×	800	40	50
258 ×	145	8	55
884 ×	45	2.3	50

within the limits of experimental error, a constant figure. It can be further seen that the dose required (column 2) to inactivate 25 per cent of the enzyme units in each of the solutions (column 3) goes down steadily with increasing dilution from 60.000 R to as low as 45 R. Since the number of enzyme units inactivated by a given dose is constant, whatever the initial concentration of the solution may be, a concentrated solution will *appear* very resistant to radiation, whereas a dilute solution will *appear* very sensitive. This phenomenon can only be explained, as before, by the indirect mode of action of radiation via radicals and is generally known by the name of "dilution effect" (DALE 1943). Earlier investigators, unaware of the dilution effect, were led to wrong conclusions with regard to the radiation sensitivity of dissolved substances, according to whether they happened to handle concentrated or dilute solutions. When the solutions were concentrated they found very little effect, or none at all, expressed as percentage inactivation, in spite of the use of very large doses of radiation, and judged their solutes to be radiation-resistant. When the solutions were dilute, a considerable effect was observed for low doses, and the solution appeared radiation-sensitive.

It may be useful to contrast the indirect mode of action with the direct hit mode of action:

*For a given dose of radiation:*

<i>Indirect Action</i>	<i>Direct Hit Action</i>
Absolute number of molecules inactivated remains constant whatever the initial concentration may be.	Absolute number of molecules inactivated increases with initial concentration (the number of effective hits being proportional to concentration).
Percentage inactivation increases with dilution (dilution effect).	Percentage inactivation remains constant whatever the initial concentration may be.

The earlier investigators were exposed to a second source of error, namely, the role played by other substances contained in the same solution, either deliberately added or present as "impurities" in the solvent. This will be discussed in the following paragraph, and is generally known by the name of "protection effect".

### 3. The protection effect

If two (or more) solutes, capable of reaction with radicals, are present in an irradiated solution, they will compete for the existing radicals according to their relative amounts and their rate constant for reaction with radicals. As a result the radiation effect on each of the solutes is less than it would be if these solutes were present in solution singly. In other words, the solutes appear to "protect" each other against the effect of radiation.

If we now have an organic biologically-active solute, for instance a virus or an enzyme in solution, then there is initially, i. e. before irradiation begins, only one solute present. As soon, however, as the radiation has started and continues, more and more active molecules are inactivated, so that two different types of molecules — active and inactive — are now present in the solution. Since both kinds of solutes may be able to react with, and therefore to compete for, radicals, the protective effect comes into play, and fewer and fewer radicals are left for reaction with the active molecules; and since only the loss of biological activity is scored in the experiment, increasingly greater increments of radiation dose are required to destroy the active molecules. This is the explanation of the exponential relationship of the dose-effect curve obtained when an organic substance is irradiated, and one criterion (in the present example the biological activity) chosen as the basis of the measurement of the radiation effect.

To demonstrate the exponential relationship in mathematical terms, assume a solution in which there were initially  $N_0$  active molecules. After a dose  $D$ , there are  $N$  active molecules remaining, but it must be remembered that the inactivated molecules are still

capable of reacting with radicals. Therefore the radicals produced by an increment of dose  $dD$  will be shared between the active and inactive molecules. Hence  $dN$ , the number of active molecules inactivated by  $dD$  will be given by

$$dD = -k \frac{N}{N_0} dD$$

whence it can be shown, as previously, that

$$\frac{N}{N_0} = e^{-kD}.$$

An exponential curve itself could suggest a direct action of radiation, but can also occur with indirect action. The combination of the dilution effect and the protection effect, however, proves the indirect action. The use of too concentrated and impure solutions reported in the early literature explains the mistaken assumption of radiation-resistance of a variety of substances.

#### 4. Further yield — dose relationships

It was stated before that as a consequence of the indirect action of radiation the yield of a reaction with radicals is constant over a wide range of concentrations. Why are there limits to this range? It has been found that in certain cases in which the experimental methods are sensitive enough to measure small biological or chemical changes, the yield of the radiation decreases when the solutions are extremely dilute. The resulting type of curve is shown in Fig. 9. There are two possible explanations for this yield-dose relationship. The separation of solute molecules in extremely dilute solutions may become so great that the chance of collisions, and therefore reactions, between solute molecules and radicals is much less than the chance of collisions between the radicals themselves, leading to elimination of radicals by recombination; this means wastage from the point of view of yield. Expressed slightly differently: the competition between radical—radical reaction and radical—solute reaction, which of course operates also at higher concentrations, is more in favour of radical-radical reactions the more dilute the solutions are. When, however, the solution is more concentrated, this competition becomes negligible and practically all radicals are used up in radical-solute reactions (range of constant yield) until in some cases an increase in yield can be observed with rising concentration of the solution, because the direct action gradually preponderates in very concentrated solutions. Such a rise will be more pronounced when the yield of direct action considerably exceeds that of indirect action, as is the case for some viruses (LEA 1946).

The alternative explanation for the lower yield in highly dilute solutions could be the presence of traces of impurities which probably cannot be entirely removed from the solvent. These impurities would act as a second solute, i. e. protectively, and would compete for radicals with increasing effectiveness when the concentration of the substance under investigation is decreased progressively relative to the constant amount of the impurity.

#### 5. The yield-concentration dependence for the deamination of amino acids

There are some reactions in which the range of constancy of yield is replaced by a persistent though gentle rise of the yield, with increasing concentration of the solute,

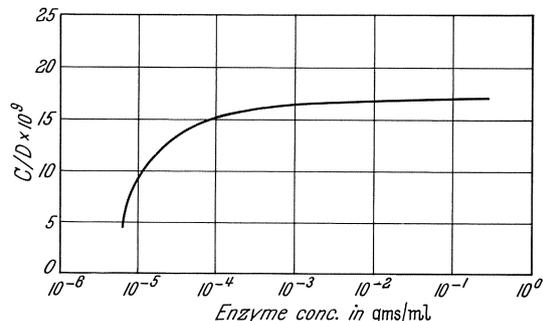


Fig. 9. Yield-dose relationship for carboxypeptidase. Reproduced from: "Ionizing radiations and cell metabolism". Ciba Foundation Symposium, London, Churchill Ltd. (1956)

notably in some enzyme reactions. A very outspoken case of a steep rise, however, is the deamination of glycine and also of L-serine, and perhaps of other amino acids, as shown in Fig. 10 (DALE und DAVIES 1950).

It is difficult at present to give an unequivocal explanation of these differences, because various factors may be involved, which will be discussed later in the chapter on enzymes. It may be said here, however, that amino acids are not very good protectors, which means that their ability to react with radicals requires more frequent collisions with them for deamination to succeed. In consequence, higher concentrations of solute are needed

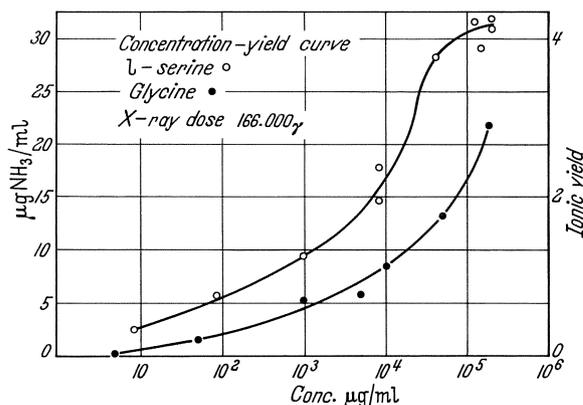


Fig. 10. Concentration-yield relationship for l-serine and glycine (DALE, 1950)

to overcome the competitive recombination of radicals. Furthermore the yield of the deamination eventually exceeds that of, e.g., enzymes. These two considerations may contribute to a shift of the attainment of a constant yield towards higher concentrations of solute and carry it to a range at which the direct action has a more decisive part. How much of the yield has to be ascribed to the direct action is a matter of conjecture, since it is not certain that the yield of a substance in solution is the same as it is in the dry state (KRENZ 1949).

## 6. The protection effect as an analytical tool

The chemical effects of radiation are notoriously small and in many cases inaccessible to measurement by even very sensitive microanalytical methods. There is also a practical limit to the amount of radiation which can be delivered in a reasonable time and compatible with the stability of biological substances in solution. It is therefore fortunate that the application of the protection effect makes it possible to obtain an insight into the radiation sensitivity of numerous substances which could not be assessed by conventional chemical methods. The principle is to measure the ability of a protective substance to react with radicals, i.e. its radiation sensitivity, by way of the decrease in radiation effect on a second solute caused by the presence of the protector.

FRICKE, HART and SMITH (1938) have studied the protective effect occurring in mixtures of various simple organic substances, and DALE (1942, 1947), and DALE, DAVIES and MEREDITH (1949) have developed this aspect further, using enzymes as particularly suitable indicators of the effect of radiation on the second solute added to the solution of the indicator. Any other substance than an enzyme can, of course, take the part of the indicator, provided sufficiently sensitive methods are available to measure an irreversible change of the molecule caused by irradiation. The method then consists in adding to the solution of the indicator of a given concentration the substance whose protective power is to be tested in known concentration, and to determine quantitatively the radiation effect on the indicator in the presence and absence of the protector. If no complicating reactions are occurring the protective power of a given substance may be expressed by the simple formula:

$$Q = \frac{D_{P+E} - D_E}{D_E} \times \frac{\text{weight of } E}{\text{weight of } P}.$$

Where  $D_{P+E}$  and  $D_E$  are, respectively, the doses required to produce the same degree of inactivation of the indicator E in the presence and absence of the protector P. Q is thus the ratio of the dose received by the protector to that received by the indicator per

unit weight of each. The simple concept of sharing of radicals by the two solutes implies a constant value for  $Q$ .

Some reactions are known (DALE, DAVIES and MEREDITH 1949) in which it has been observed that the protective power per unit mass of protector ( $Q$ ) is not constant, but decreases with increasing amounts of protector, and a special formula has been developed to cover such cases as well. The explanation for this relative decrease in protective power may be that in a certain proportion of the protector molecules a new radical is formed from the protector molecule, which in turn reacts with the indicator.

Experiments with a series of substances varying in molecular weight over a wide range ( $45$  to  $10^7$ ) show that their protective power per molecule is approximately proportional to their molecular weight. This applies, for example, to tobacco mosaic virus, egg albumin, and amino acids. In other words, no specificity of reactivity with radicals can be detected as one would expect, in view of the fact that the average composition of large molecules, and of many smaller ones, is very similar, and any possible effect of specific groups is outweighed by more numerous groups of average reactivity. The situation is very different when one examines small molecules in which one particular atomic group constitutes the greater part of the molecule. Highly-specific protective properties can then be found. An example of an extreme difference in protective power is provided by thiourea and urea.



Urea has a very low protective power indeed, whereas the mere substitution of S for O (thiourea) achieves a 10,000-fold rise. Similar, though smaller, differences are found for small changes in constitution, e.g.



Formate protects about 200 times better than oxalate.

By means of the same kind of experiment the high protective power of sulphur-containing compounds and of elemental sulphur itself, was revealed, and also the effect of substitution in groups not bonded to sulphur, which causes a drop in protective power. The example is the substitution of two methyl groups for hydrogen to form dimethylthiourea.

Whereas the experiments with two-solute systems generally yield information on the overall radiation sensitivity of substances, it is possible in certain cases to use the solution of one substance only and to measure the radiation effect on a reactive group as it is influenced by the structure of the molecule. The deamination of amino acids by radiation gives a yield of ammonia which depends on whether the amino group is in  $\alpha$  or in  $\beta$  position. Thus  $\beta$ -alanine has a lower yield of ammonia than  $\alpha$ -alanine. Also the presence of the glyoxaline group in the vicinity of the C-N bond of the  $\alpha$ -amino group of histidine causes an increase of the deamination yield.

## 7. Note on radiation "yield"

In the previous chapters the general expression "radiation yield", or briefly "yield", was used. For the information of readers a definition of this concept is needed.

In the older literature the efficiency of radiation used to be expressed by the term "ionic yield", which meant the number  $M$  of molecules changed by the number  $N$  of ion pairs produced by the radiation dose applied. Thus:

$$\text{ionic yield} = \frac{M}{N}.$$

Since the number of ion pairs formed in a gaseous system by a certain dose of radiation is easily measured, but is uncertain in liquids, the "ionic yield" was replaced in the modern

literature by the number of molecules changed per 100 e V of energy absorbed by the system under test. This notation avoids stress on the importance of ionization, but defines the effects of radiation in terms of energy, thus including also excitation processes.

This yield value is noted by  $G$  and a subscript added referring to the type of molecule changed. Thus  $G_{\text{H}_2\text{O}}$  for the recombination of OH and H means the number of water molecules formed by this reaction. When a species of molecules is destroyed a minus sign is added. The full presentation for the above reaction will be:

$$G_{\text{H}_2\text{O}} = H_{\text{-H}} + G_{\text{-OH}}$$

since many OH radicals and H atoms disappear as water molecules are formed. The  $G$  values are greater than the values for the ionic yield by a factor of about 3.

## 8. Interrelation between direct and indirect mode of action of radiation

Each of the two modes of action has its limitations, and it is probably true to say that neither alone can account for all observations made on the great variety of chemical and biological systems. The most pertinent objection to the target-hit theory in its narrowest sense is the modifying effect external factors can produce. The all-or-none effect of direct hits seems to impose the condition of invariability in face of external factors like change of temperature, gas phase, pressure, hydrogen ion concentration, water content, effect of protecting chemicals, pre- and post-treatment. It became gradually apparent that the conditions in which irradiation took place often played an important part. There are still cases which can be justifiably explained in terms of single hits, although even then free-radicals may be the actual cause and transmitters of the effects. Furthermore, there can be no doubt that events caused by direct action, as well as indirect action, are closely linked with the physical events occurring in the track of ionizing particles. Without the passage of a particle or a photon through matter, there are no radicals. The still-open and actively debated question is what distance these radicals can travel; in other words, how near the particle has to be to the vital biological structure. In fact, the difference between the two suggested modes of action will become the less relevant the nearer the origin of free radicals lies to the molecular or structural target. Viewed in this way the two theories would practically merge at some point.

The indirect-action theory, on the other hand, was inseparably linked with the protection effect, which seemed to have no place in any direct-action mechanism. Recent experiments, however (ALEXANDER and CHARLESBY 1954), have shown that protection could occur in dry systems consisting of polymers with a small admixture of a protecting substance.

The points raised in these general introductory remarks will now be discussed in greater detail.

## 9. The oxygen effect

The most important modifying condition is the presence (or absence) of dissolved oxygen in a system during irradiation. Oxygen causes an enhancement of the radiation injury generally referred to as the "oxygen effect". This effect is usually expressed by the dose-modifying factor, which is defined as the ratio of the radiation doses needed to produce the same degree of injury in the absence as in the presence of oxygen. The oxygen effect is very generally observed with only a few exceptions. During the last decade, considerable attention has been devoted to it, though scattered observations have been reported in the literature as far back as 1909 (SCHWARZ 1909). HOLTHUSEN in 1921 found *Ascaris* eggs more resistant to radiation in the absence of oxygen; MOTTRAM (1924) and JOLLY (1924) and others, found diminished radiation damage when the blood circulation in a limb was impaired during irradiation.

Since these and similar early results were reported diminution of radiation effects, consequent upon lack of oxygen during irradiation, has been proved in a great variety

of biological systems. Examples are: yeast (ANDERSON and TURKOWITZ 1941); *Vicia faba* (THODAY and READ 1947; READ 1959); *E. coli* (HOLLAENDER, STAPLETON and MARTIN 1951); *Tradescantia* (GILES and RILEY 1950). A comprehensive bibliography can be found in the reviews by GRAY (GRAY, CONGER, EBERT, HORNSEY and SCOTT 1953 and PATF 1953). The decrease of radiation effects when oxygen tension is lowered has been demonstrated for various criteria, e.g. lethality (DOWDY, BENNETT and CHASTAIN 1960), growth reduction and frequency of chromosome changes correlated with oxygen tension (THODAY and READ 1947), chromosome aberrations (GILES and RILEY 1950) and sex-linked lethal mutations (BAKER and SGOURAKIS 1950). These quotations reflect the widespread occurrence of an oxygen effect; but it has to be borne in mind that its mechanism need not be the same in all cases. There is certainly some indication that the primary radiation chemical events are involved, and this aspect is of particular relevance with regard to the application of the direct-action theory to chromosome breaks and chromosomal rearrangements in *Tradescantia*. It has been established by GILES and RILEY (1949 and 1950) that irradiation of *Tradescantia* inflorescences with Roentgen rays resulted in a decrease in aberration frequency in the absence of oxygen, i. e. in vacuo and in an atmosphere of nitrogen. It is essential in experiments on the oxygen effect that the absence or the presence of oxygen (respective to the desired gas phase) be maintained *during* irradiation. Any change carried out *after* irradiation is without effect on the frequency of aberrations. One has to assume that the Roentgen rays produce a substance which increases the frequency of aberrations and that this substance may either be able to cause chromosome breaks or have some effect on the recovery mechanism. These alternative interpretations are a recurring source of controversy in the subject of chromosome changes. There is evidence that oxygen is without influence on the reunion of broken ends of chromosomes and that the oxygen effect is due to the formation of hydrogen peroxide (or its precursors), formed as a reaction product from radicals. The results obtained by BAKER and SGOURAKIS (1950) on sex-linked lethal mutations in *Drosophila* show a similar oxygen effect, again without evidence that a recovery process is involved. GILES, as THODAY and READ (1949) do, inclines to the view that the radiation-chemical agent hydrogen peroxide is the cause of the chromosome breakage, since it was found that the oxygen effect with alpha-rays is much less than with Roentgen rays. In line with this result, it was established in later investigations that the oxygen effect increases in the order of alpha rays, neutrons, gamma-rays, hard Roentgen-rays, soft Roentgen rays, i. e. with radiation of decreasing ion density, and therefore with decreasing tendency to the formation of hydrogen peroxyde in anaerobic conditions. It will be remembered that the ion density in an alpha ray track is so great that there exists a core of OH radicals which combine to form hydrogen peroxide regardless whether the water contains dissolved oxygen or not, whereas hydrogen peroxide, in appreciable amounts, is only formed by less densely ionizing radiations when the water contains dissolved oxygen. SWANSON working with *Tradescantia* microspores (1955a, 1955b, 1955c) has observed various chromatid-aberration types induced by x-rays, which differed in their response to oxygen present at the time of irradiation. The oxygen/nitrogen aberration-frequency ratios ranged from 0.5 to 1.9 for chromatid deletions; and from 1.9 to 2.3 for chromatid exchanges. He concludes, in contrast to GILELS, that oxygen influences the rejoining of broken chromosome ends rather than primary production of breaks. On the same material, CONGER (1955) found no effect of oxygen on the frequency of the production of incomplete isochromatid breaks, and hardly any on that of exchanges, and concluded that O<sub>2</sub> influenced primary breakage. To quote all opinions, conforming as well as dissenting ones, on this aspect would involve too great a digression, but one may mention that EVANS and NEARY (1958) examined various types of chromatid breaks induced by <sup>60</sup>Co rays in aerated and deaerated water (N<sub>2</sub>) and came to the conclusion that oxygen does not influence a rejoining process, because incompleteness was the same in air and in nitrogen. Also the dose-modifying factor, on changing from air to nitrogen, was similar for all aberration types, as would be expected if oxygen increased the initial

number of chromosome breaks. Some of their results, however, were not in agreement with the classic theory of primary breakage, because of the low frequency of true chromatid breaks as distinct from acromatic lesions. They think that a new hypothesis developed by Revell's could explain these differences, since REVELL (1959) advances the idea that all aberrations result from an exchange process and are not due to primary breakage at all. Revell's quite novel theory does not acknowledge the occurrence of initial breaks, but assumes that aberrations occur as a result of exchange processes following contacts between chromatids. So far, examples of the oxygen effect on chromosome aberrations and mutagenesis have been given, but the effect also holds for the killing of bacteria, a criterion which is amenable to the interpretation of being due to single hits. HOLLAENDER, STAPLETON and MARTIN (1951) found the sensitivity of *E. coli* to Roentgen-rays changed by oxygen tension. The oxygen effect extends also to genetic reversions in the same bacillus, namely to mutations, to streptomycin resistance and to purine independence (ANDERSON 1951).

It is remarkable that the dose-modifying factor varies in the majority of criteria tested in numerous biological systems between relatively narrow limits of about 2 to 3, and also that the effect begins to show at very low oxygen tension, rising approximately linearly until the gas phase in equilibrium with the object under investigation contains about 20% of oxygen, which corresponds to the oxygen concentration of air. A further increase of oxygen is of negligible effect.

It is worth mentioning the interesting experiments on time-relationships in the oxygen effect, which show how nearly instantaneously the effect can operate (GRAY 1957).

Anoxic mouse ascites-tumour cells were injected into oxygenated sodium chloride solution and then irradiated, the whole procedure lasting not longer than a few seconds. This short time was sufficient to prove increased frequency of chromosome aberrations. Even more impressive are experiments on the survival of bacillus *Shigella flexneri* (HOWARD-FLANDERS and MOORE 1958). This organism is so small ( $1/2 \mu$  in diameter) that gas exchange can take place in less than a millisecond. It was possible to devise apparatus for changing the oxygen concentration and simultaneously delivering a pulse of fast-electron irradiation of high intensity within 0.02 seconds. The oxygen effect could be demonstrated quite clearly. It was further shown that exposure to oxygen, 0.01 seconds *after* irradiation in pure nitrogen, could not raise the radiation effect from the lower level characteristic of anoxic conditions.

As mentioned before, although the oxygen effect is an almost universal phenomenon, some exceptions to it have been observed. The Pneumococcal-transforming principle [T.P. (EPHRUSSI-TAYLOR and LATARJET 1955)] appears to be extremely sensitive to the attack of radicals formed by the radiolysis of water and requires unusually high concentrations of yeast extract for protection. Without the addition of the protector, inactivation by indirect action is not increased in the presence of oxygen.

The bacteriophage T-2 also shows no oxygen effect (LATARJET and EPHRATI 1948), when irradiated by itself, but when adsorbed to the bacterium the oxygen effect appears.

## 10. The effect of inert gases and of nitric oxide (NO) in relation to the oxygen effect

It has been found recently (EBERT, HORNSEY and HOWARD 1958) that the oxygen effect, and consequently the radiosensitivity in *Vicia faba* can be modified by the addition of inert gases under pressure to the air in which bean roots were exposed to Roentgen-rays. At a sufficient concentration of gas, the sensitivity decreased to the anoxic level, although the gases themselves are without effect in the absence of oxygen. Similar results have been obtained with Ehrlich ascites-tumour cells irradiated *in vitro*. The explanation is put forward that the inert gases at high concentration can displace oxygen from sites within cells at which oxygen molecules can increase radiosensitivity. In these experiments, sufficient oxygen has to be present throughout the root to ensure full sensitivity.

These interesting experiments appear to throw some light on part of the mechanism by which the oxygen effect can be explained. One may conclude that specific sites exist within the cell, which must be occupied by oxygen to confer oxygen-dependent-sensitivity, and that oxygen and the other gases compete for the same sites. Since it was further found that various inert gases are equally effective, but at pressures varying inversely to their partition coefficient between a lipid/water phase, it seems very probable that the intracellular sites from which oxygen is displaced may consist of some lipid-like material, perhaps in the nucleus or nuclear membrane. Cyclopropane, an anaesthetic gas, also blocked the oxygen-dependent sensitivity of bean roots.

In contrast, READ (1958) could show that the influence of oxygen on the sensitivity of bean roots to 8-ethoxycaffeine (KIHLMAN 1955) is the same as in the case of x-rays, but is *not* changed by the inert gas argon. Since it is further known that the effect of 8-ethoxycaffeine on chromosome breakage is linked with the respiratory mechanism situated in the mitochondria (KIHLMAN 1955), whereas the oxygen effect in the case of Roentgen-rays is independent of the respiratory mechanism, the site of oxygen action must be different in the two cases.

The situation with regard to the oxygen effect becomes even more complex by the discovery that nitric oxide is a gas which is capable of raising the radiation sensitivity of cells to a value characteristic of full aeration. This has been found in experiments on bacteria (HOWARD-FLANDERS 1957) and yeasts, and also on *Vicia faba* (KIHLMAN 1958) and Ehrlich mouse-ascites tumours. Although nitric oxide is not capable of maintaining life, it can, under strictly anaerobic conditions, fully replace oxygen with respect to its action on the sensitivity of cells to radiation.

As so often happens, the mechanism underlying one biological criterion may be different in various systems. The situation was much simpler when the oxygen effect was first observed, and the most probable explanation was thought of in terms of radical reactions occurring in the surrounding water, a mechanism which is still a likely basis in some instances.

An instructive diagram (GRAY 1953) illustrates the influence of dissolved molecular oxygen on radiosensitivity in terms of radicals formed by radiation. The reproduction of this diagram is not meant to stress the role of  $\text{HO}_2$ , which has been the subject of controversy, but to give an insight into the working of a possible and suggested mechanism of radiation effects in solutes or suspended matter.

It will be seen (Fig. 11), that the radical  $\text{HO}_2$  is here the active agent of oxidation which, in the presence of oxygen, increases the oxidation, observed under anaerobic conditions, by a factor of 3. It also explains why the oxygen effect is dependent on the amount of oxygen available, because the full effect can be achieved only when most of the hydrogen atoms are converted by combination with  $\text{O}_2$  to form  $\text{HO}_2$ , and the yield of this reaction will therefore rise steeply with oxygen concentration in the range of low oxygen tension and will approach asymptotically a level at which no further increase can occur. This mechanism, however, does not take into account the reductive properties

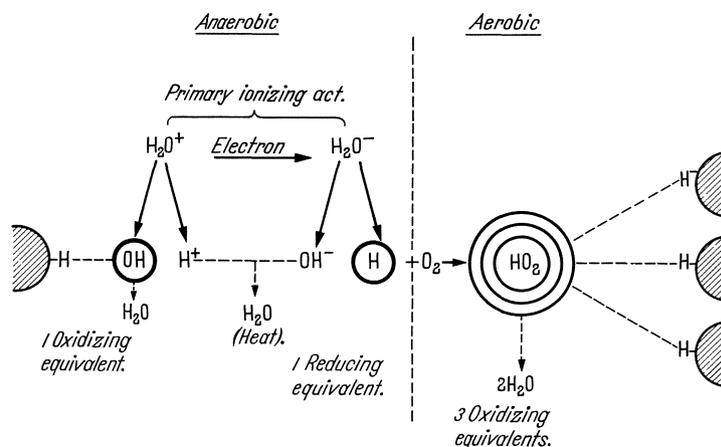
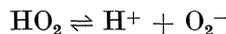


Fig. 11. Diagrammatic representation of the influence of dissolved molecular oxygen on radiosensitivity (L. H. GRAY, 1953)

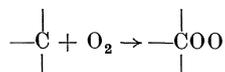
of the molecular ion  $O_2^-$ , which is formed by the dissociation of  $HO_2$  according to the equilibrium:



and is dependent on the hydrogen ion concentration. In acid solution, the equilibrium is shifted towards the left and in alkaline solution towards the right. Since irradiation experiments *in vitro* and *in vivo* on biological systems are usually carried out at near neutral reaction  $O_2^-$  will be present in excess. If the oxidation potential of  $HO_2$  is sufficiently greater than the reduction potential of  $O_2^-$ , the proposed mechanism may still hold, especially since not enough is known of the interaction of these entities with other secondary radical-reaction products. ALPER and HOWARD-FLANDERS (1956) reject the involvement of  $HO_2$  radicals in favour of formation of peroxide organic radicals in a target molecule. Be that as it may, the general trend of thought in explaining the radiation effects and their modification by external factors, remains the same in principle, namely the formation of a radical by radiation, either in the molecule of a vital structure, i.e., the formation of an organic radical, or outside, but near enough to be able to react with the "target" (how near, is open to question). The formation of organic radicals is well known from the radiation chemistry of organic compounds, and is the initial step in starting a chain reaction in organic polymers. This initial step may either occur by ionization of the molecule M according to:



or by withdrawal of an H atom through reaction with an OH radical, or H atom from the radiolysis of water, or indeed by any other organic radical. The newly-formed radical may then react in turn with other non-radical molecules, giving rise to more radicals, or may combine with another radical and thereby form a stable compound. Oxygen, which has a high affinity for organic radicals and also for H atoms, may react either by forming a peroxide radical



or by combining with an H atom, resulting in  $HO_2$ .

Such reactions may be the basis for the oxygen effect.

The enhancement of the anoxic radiation sensitivity by nitric oxide to the level of sensitivity in aerobic conditions may be no more than a superficial similarity in action when compared with oxygen. Both gases have similar electronic structures, having unpaired electrons, and are therefore paramagnetic and in a sense radicals. But nitric oxide is a much more reactive compound than oxygen and known to be able to interfere with a number of enzymes, although the survival of unicellular organism seems to be unaffected when the gas is applied under strictly anaerobic conditions.

In fact it has been found (DALE, DAVIES and RUSSELL 1961) that nitric oxide exerts a hidden conditioning effect on some cell constituents, which becomes apparent when radiation-injury is added. In the light of these results and those of POWERS, WEBB and EHRET (1960) with dry systems, the suggestion by HOWARD-FLANDERS (1957, 1958) that nitric oxide and oxygen exert their effect on an equivalent molecular basis cannot be upheld.

## 11. Water content as a modifying factor of radiation sensitivity

When it can be shown that water content modifies a radiation effect, support is provided for the belief that radicals formed from water by radiolysis are the causative agents, and that the injury is the result of indirect action. Investigations of this kind have been carried out during the last 30 years, and the length of this period proves that no unequivocal answer has yet been found. Most of the test objects used were seeds of plants in the dry state, and the radiation response of these seeds was compared with that of seeds soaked in water for various length of time, or exposed to atmospheres of varying humidity. The

criteria used were chromosome changes, mutations and growth inhibition. In all these experiments the inherent difficulty is encountered of separating the effects of irradiation from the chain of physiological changes connected with germination and started by moisture.

With certain reservations the majority of investigators observed an increase in radio-sensitivity as the water content increased. The earliest experiments were carried out by STADLER (1928) on soaked, sprouting seeds of barley, in which he found a higher frequency of induced point mutations than in dry dormant ones. No particular precautions were taken to account for any differences in the developmental stage. His results were confirmed and extended to the criterion of chromosome aberrations by numerous investigators (e.g. GUSTAFSSON, 1941; KAPLAN, 1951; D'AMATO and GUSTAFSSON, 1948). Some of these shortened the time interval between the start of soaking and irradiation sufficiently to make a change in the developmental stage unlikely. A better proof that the onset of development did not interfere with the radiation effect was provided by soaking pollen of *Antirrhinum* in 10 per cent sodium chloride solution for 8 hours just before irradiation, a procedure which resulted in an increase of the frequency of Roentgen ray-induced dominant and recessive mutations (KAPLAN, 1939, 1940 and 1946). If the pollen was dried again for 8 hours after soaking, before irradiation, the increase in radiation effect disappeared. Moreover, soaking for 33 hours was much less effective than soaking for 8 hours. Presumably the longer soaking started developmental processes. STAPLETON and HOLLANDER (1952) found that Roentgen ray-induced frequency of morphological mutants and damage to survival was considerably greater in wet than in dry *Aspergillus* spores and the same was true for the oxygen effect. More recent experiments with barley (CALDECOTT, 1955a, b, c and d; KONZAK, 1955; EHRENBERG, 1955) presented a more complex situation when the height of seedlings at 7 days was chosen as the criterion of radiation damage to the seed. CALDECOTT confirms the increased sensitivity of seeds to Roentgenrays after soaking at room temperature and at 3°C, but not at 0°C. Changing from soaking the seeds to exposing them to various degrees of air humidity in order to equilibrate the water content resulted in decreasing sensitivity. CALDECOTT (1955c) found that maximum sensitivity occurred when the water content of the embryo of the seed was 4% and that it approached a minimum at 8%. KONZAK (1955) reported a large increase in the sensitivity of seeds after soaking for 24 hours at 22°C. Soaking for such a long time is, of course, most likely to induce developmental changes.

The most recent contribution to the vexed question of the effect of water content on the radiation sensitivity of seeds is presented by HOSKINSON and OSBORNE (1960). They irradiated in an extensive series of experiments barley grains with <sup>60</sup>Co gamma rays after various periods of aerobic soaking and storage, and measured germination and seedling heights eleven days from the start of treatment. After a dose of 10,000 R, with 1 to 4 hours of soaking, the sensitivity increased until 7 hours pre-radiation storage, and decreased with longer storage periods. Similar results were obtained after a dose of 2,000 R with longer periods of soaking and storage. The marked decline of sensitivity during storage (see Fig. 12 and 13) was attributed to interruption of the rapid increase in metabolic rate as water became limiting. This interruption of the results links the radiation sensitivity with metabolic activity rather than with the effects of chemical action by free radicals formed from water during irradiation.

Whereas all these investigations were concerned with plant seeds, RUGH and CLUGSTON (1955) worked with the shrimp *Artemia salina*, making use of the fact that the development of these shrimps can be arrested at the blastula stage by drying-up, but can be restored to normal when re-hydrated. Their sensitivity, when dried out, was considerably less than in the rehydrated state. The maximum sensitivity was reached during the first hour of re-hydration; longer periods carried the embryo into a more radioresistant phase.

An effect of water content on the sensitivity of T 1 bacteriophage to Roentgen radiation has been observed by PERSON and LEWIS (1958). When water was added to frozen dried

preparations of T 1 bacteriophage before irradiation their sensitivity to radiation increased, in all probability due to the water content and not to interference by metabolism, because the viruses are *metabolically inert* when outside their host. The lowest relative humidity for the effect was 13% and at a relative humidity of 27% the maximum increase in

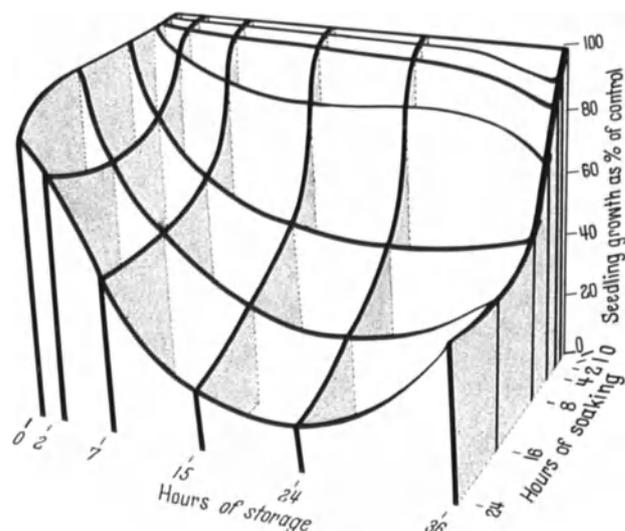


Fig. 12. Seedling growth from soaked, stored barley seeds receiving 2000 R of  $^{60}\text{Co}$  gamma-rays. (P. E. HOSKINSON and T. S. OSBORNE)

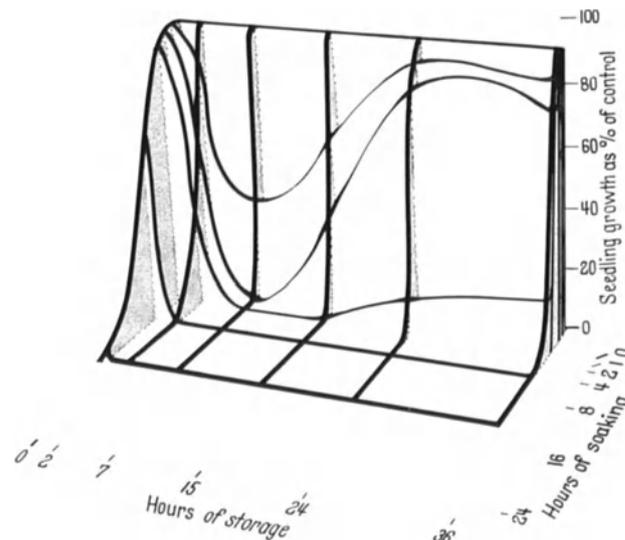


Fig. 13. Seedling growth from soaked, stored barley seeds receiving 10,000 R of  $^{60}\text{Co}$  gamma-rays. (P. E. HOSKINSON and T. S. OSBORNE)

appear of considerable importance in increasing the sensitivity of the yeast cells. HUTCHINSON (1957) interprets his results in terms of the migration model of ZIRKLE and TOBIAS (1953). The main conclusion from these calculations is that the mean distance of radical diffusion for all three enzyme systems is of the order of 30 Å. It is hardly likely that an  $\text{HO}_2$  radical could be responsible for an oxygen effect because at a concentration of oxygen at 5  $\mu\text{M}$ /litre at which an oxygen effect becomes noticeable for microorganisms the oxygen molecules are about 700 Å apart. It is, however, quite possible that the energy

sensitivity (about 2.5 times the minimum value) was obtained. At higher relative humidities the sensitivity remained constant.

The distinction between radiation effects due to radiolysis of water and effects due to physiological changes occurring in connection with variation of water content is not easy. Further, it is difficult to define the "dry" state of biological material, especially since very low water content in biological matter is not readily attained. HUTCHINSON, PRESTON and VOGEL (1957) studied the inactivation of invertase, alcohol dehydrogenase and coenzyme A after irradiation of dried and of wet yeast cells. The radio-sensitivity of wet cells was greater than that of dried cells, by a factor of 2 for invertase, or 20 for alcohol dehydrogenase, and of 100 for coenzyme A. In all cases, therefore, the radiosensitivity in wet cells is greater than in dried cells and in the case of coenzyme A, very considerably greater. The reference to dried cells in these experiments means cells which have been dried to a water content of 5% in a vacuum of 10 to 100  $\mu$  Hg for about 15 minutes. The interesting point is an additional two to four-fold increase in radiation resistance obtained when samples were pumped for 36 hours to a still lower water content, although this vigorous drying cannot have removed water in excess of a further 5%, since a maximal drying by heat (one hour at 108°C) caused additional loss of water of only 5%.

The last traces of water, therefore,

migration concept may alter these calculations if it could be evaluated numerically which is, at present, not possible. WOOD (1958) makes the comment that it is very difficult to avoid interpreting these studies by the indirect action hypothesis. The sensitive volume of coenzyme A in dry yeast calculated from the target theory tallies within a factor of 2 with the geometrical volume as determined by other methods, but the sensitive volume in wet yeast is approximately 100 times larger.

It appears from Hutchinson's experiments that the indirect action in wet yeast cells can be appreciably greater than the direct action (see also experiments on dilute solutions of trypsin and chymotrypsin, AUGENSTINE, 1959a, in chapter C 111 on enzymes, Radiation Yields). Although GRAY (1959) upholds the target concept applying the modification of blurring the boundaries of the target by a penumbra of 10 to 100 Å thickness on the basis of the short migration distance to radicals (30 Å) calculated by Hutchinson, the possibility remains that the range of attack by radicals may be greater when not only primary radicals from water decomposition are taken into account, but also those which may derive from interaction with organic molecules resulting in intermediate organic radicals which could pass on energy. It seems as if such a mode of transfer of energy has not been taken into account in the theoretical derivation of the distance of diffusion of radicals.

## 12. Phase effect

In close connection with the modification of radiation effects by water content, and also with the mechanism of the oxygen effect, is the "phase effect", i.e. liquid state versus frozen state, and the combination of the two effects. It is a general experience that freezing of a liquid phase causes a stoppage or decrease of efficiency of free radical mechanisms. "Trapped" radicals and hydrogen atoms at  $-196^{\circ}\text{C}$  have been identified. WOOD and TAYLOR (1957) carried out a comprehensive series of experiments with yeast cells in conditions of anoxia and phase-state-change. The frozen state and anoxia lead to decreased sensitivity to Roentgen radiation when compared with the liquid state in aerobic conditions. Similar results were obtained with *E. coli* by HOUTERMANS (1954) and by STAPLETON and EVINGTON (1956). They found that frozen cells were about three times more radioresistant than unfrozen ones. WOOD and TAYLOR discuss the suitability of several models to interpret their data. The oxygen effect might be explained by the action of radiation-induced diffusible radicals or radical reaction products, whereas the phase effect is assumed to stop any diffusion of these entities. Both effects separately could be explained on these lines. The finding of additional protection, however, when anoxic cells are irradiated in the solid phase, over that found for aerobic cells in the solid phase is incompatible with the suggested mode of action. They also reject the possibility that the phase effect operates only partially, that is leaving an unmodifiable fraction of Roentgen ray injury, but advocate a mechanism based on the concept of freezable and non-freezable water associated with cells in frozen suspensions. The frozen water is free water, the non-frozen consists of bound water and supercooled water. The non-frozen water will allow diffusing radicals to migrate to the radiation-sensitive region (ZIRKLE and TOBIAS, 1953), and the oxygen effect will depend on whether the cell is exposed in aerobic or anoxic conditions. This picture is in agreement with their experimental results and explains the phase and the oxygen effect, and in particular, the additional protection afforded by the frozen anaerobic state. One third of the radiation effect is attributed to the direct-action type of radiation which is assumed as unmodifiable, i.e. independent of the oxygen and phase effect.

Whereas the outcome of these investigations points to the preponderance of the indirect action, ALPER (1956, 1958) and HOWARD-FLANDERS and ALPER (1957) think it possible to dispense with free radicals formed by radiolysis of water as the active agent of radiation effects in living cells. They prefer an explanation in terms of direct ionization of vital target molecules endowed with special properties to account for the modification of radiation effects by oxygen and freezing. Generalising the concept of reunion of broken chromosomes,

which may be assumed to lead to the restoration of their normal function, they postulate that the ionization of a target molecule leaves it in a very reactive state followed by chemical reaction, for which Alper has coined the term "metionic reaction", to indicate that it is the step immediately following upon ionization. The metionic reaction may be a restoration to the status quo, e.g. recapture of an electron or reformation of a broken bond. The salient point is the restoration to the normal condition. When, however, the reaction leads to an irreversible change the manifestation of damage will be seen sooner or later, depending on the criterion chosen. If oxygen molecules in the vicinity take part in the metionic reaction, converting an organic target molecule into a peroxide, the peroxide may, according to ALPER, not be regarded as intermediate *chemical* agent of damage, but as useless or even harmful form of the target molecule itself. The extent of the radiation damage in cells is then assessed in terms of the unrestored fraction of the primarily affected target molecules. Whether the suggested mechanism is preferable to radical mechanism in use previously, is open to question.

It is evident from the oxygen effect that some reaction has to occur with oxygen subsequent to the formation of an organic radical, by either direct or indirect action. The mechanism suggested by ALPER and HOWARD-FLANDERS, however, raises difficulties in explaining the additional protection in cells afforded by the frozen anoxic state over that by the frozen state alone. Furthermore, target size calculations on a purely direct action become dependent on the oxygen effect. It would appear that indirect action via radicals from radiolysis of water has a definite influence on the radiation sensitivity, but in some cases other mechanisms are not excluded.

### 13. Radiation effects in polymers

The modifying effects were, for a long time, considered incompatible with the direct mode of action of radiation, and were in fact taken as a criterion against it. Recent developments, however, have demonstrated that there is a possibility of suggesting a mechanism by which modifying factors can be brought into line with the direct-action theory. A protection effect in solid material exists where action by radiation-chemical reaction with radicals formed from water cannot occur, and also an effect of oxygen can be shown. These developments began with the observation (ALEXANDER and CHARLESBY, 1954 and ALEXANDER, BLACK and CHARLESBY, 1955) that energy radiation absorbed by one molecule could be transferred to another. The irradiation of polymethylmethacrylate with  $\gamma$ -rays causes breakage of main-chain bonds and also of ester side-chains. The energy needed to break a main-chain bond, — 61 eV — was raised to 227 eV when the polymer contained 10 % of dimeta-tolyl-thiourea. Thus, there is a protective effect in a system where the action of the radiation is direct (ALEXANDER and CHARLESBY, 1954). Similarly, GINOZA and NORMAN (1957) have reported twofold protection when glutathione was added before drying or freezing tobacco mosaic virus.

Sensitization to the action of radiation with deuterons was found (SETLOW and DOYLE, 1955) when hyaluronidase was dried in vacuo together with hyaluronic acid. The mixture was more sensitive than hyaluronidase dried alone. Apparently a transfer of energy from the substrate to the enzyme took place.

Also an effect of oxygen could be demonstrated in the solid polymer, polyisobutylene (ALEXANDER, BLACK and CHARLESBY, 1955). The ultra-violet spectrum of the irradiated polymer differed according to whether the irradiation was carried out in the presence or in the absence of oxygen. A possible suggestion for the mechanism of this oxygen effect is that energy taken up by the polymer can migrate to the site of the dissolved oxygen and induce a reaction between the polymer and the oxygen. The reaction product then differed in its ultra-violet absorption-spectrum from that obtained by irradiation in vacuo. This kind of oxygen effect is not the same as the oxygen effect discussed earlier, because qualitatively-different reaction products are formed. It is, however, important to note that extraneous factors modified the radiation effects when the mode of action was direct.

Whilst discussing energy transfer and protection phenomena in solid polymers, it may be useful to mention a protection effect in polymers in aqueous solution, which is not caused by the attack of primary radicals from water. ALEXANDER and CHARLESBY (1955), have investigated the cross-linking of polyvinyl pyrrolidone induced by radiation. Whereas thiourea protected only by competition for the primary radicals, 8-hydroxyquinoline and  $\beta$ -mercaptoethylamine prevented cross-linking by stabilising active centres on the polymer molecules which had been produced by direct or indirect action of the radiation and are the reacting entities in the cross-linking process.

HENGLEIN and SCHNEIDER (1958) found that a number of substances, known to be inhibitors of radical chain polymerization, strongly obstructed cross-linking in solution. The most effective substances were oxygen, iodine, benzoquinone, DPPH, p-nitrophenol and p-nitroso- $\alpha$ -naphthol.

As DAINTON (1956) points out, this type of protection may have significance in biological systems. Although the attack by primary radicals is the initial step of a sequence of events leading to the observed end-effect, an added substance can block this sequence at any point and thereby act protectively. This would be a protection, regardless of whether this substance can compete for primary radicals or not.

It is now evident that protection or sensitization, or modification of radiation effects by extraneous factors is not a prerogative of the indirect mode of action and that these phenomena, since they can also occur in dry substances, are no criteria for or against direct or indirect action. The end-effect may be the same in both cases, but is reached by various different routes, and both modes of action may be valid in biological structures. It must not be forgotten that there is no such thing as "dry matter" in living cells. The dry content of cell constituents in their natural setting is at best not more than about 20 %, and it is in fact practically impossible to remove water completely from them because bound water and water of crystallisation are tenaciously held.

In short, looking at the situation in perspective, it can be said that there are various paths converging on the biological end-effect.

#### 14. The significance of microwave spectroscopy (electron spin resonance)

The new method of microwave spectroscopy, which is still in its early stages of development, has already done much to substantiate the primary chemical events following the initial physical step of energy dissipation. Pioneer work with this method has been done by ZAVOISKY (1945); GORDY, ARD and SHIELDS (1955); GORDY, SMITH and TRAMBARULO (1953); ZIMMER, EHRENBERG and EHRENBERG (1957) and ZIMMER (1959). The results of this method may be helpful in defining in chemical terms the processes which are the immediate sequence to a "hit" in a target. The method has been applied to crystalline solids and to isolated chemicals of biological importance in the dry state, but more recently also to cells, tissues and liquids.

The method is capable of detecting very small numbers of free radicals and atoms generated by radiation in matter. The condition for the appearance of para-magnetic resonance is that the system contains electrons with unpaired spin. When a magnetic field of strength  $H$  is applied the unpaired spin may align itself parallel or antiparallel to  $H$ . This gives rise to two energy states whose separation is  $\beta gH$ , where  $\beta g$  is the magnetic moment of the unpaired electrons. If microwaves of resonance frequency are allowed to impinge on the ions or radicals, transitions between the two energy states will occur which can be detected by absorption of microwave energy. Resonance is established when the microwave energy  $h$  equals the separation of the states  $\beta gH$ . In practice  $H$  is varied until resonance takes place. With this value of  $H$ ,  $\beta g$  can be deduced and conclusions drawn with regard to the nature of the ion or radical to which the unpaired electron is bound.

ZIMMER, EHRENBERG and EHRENBERG (1957) have shown that the concentration of the radiation-induced magnetic centres in glycine increased linearly between 2–350 kr and

was independent of the presence or absence of air, whereas in barley-embryos the irradiation in nitrogen gave rise to a smaller number of magnetic centres than in air. The persistence of the magnetic centres varies with the substance under investigation. The decrease in numbers is very slow in glycine, but faster in barley-embryos at the beginning. EHRENB

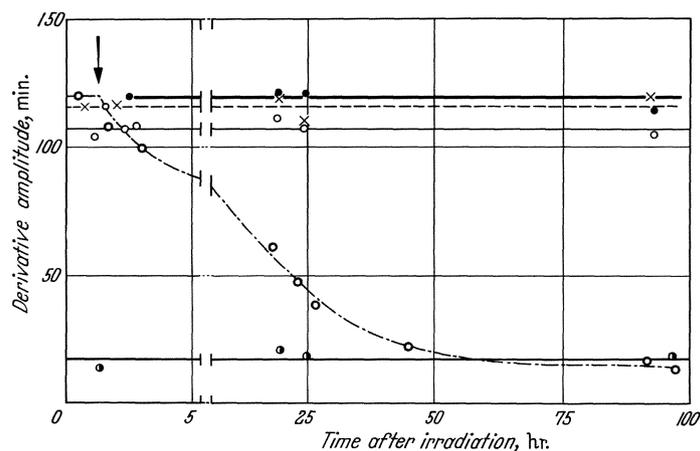


Fig. 14. Time dependence of derivative amplitude of electron spin resonance absorption in dry seeds (4.5%  $H_2O$ ) of *Agrostis stolonifera* Roentgen-irradiated and stored in different atmospheres. ● Unirradiated seeds stored in  $N_2$ . ● Irradiated in air, stored in air; ○ irradiated in  $N_2$ , stored in air; △ irradiated in  $N_2$ , stored in  $N_2$ ; × irradiated in  $N_2$ , stored in  $NO$ . The arrow indicates the moment when the gas was changed over the three latter samples. (B. SPARRMAN, L. EHRENB

BERG and EHRENB

BERG (1958) investigated by electron spin resonance-measurements the decay of Roentgen ray-induced free radicals in grass seeds (*Agrostis stolonifera*) of various water contents, and correlated the concentrations of free radicals to the growth-inhibiting effects of Roentgen rays. Although the amount of free radicals produced was independent of the water content and remained unchanged in the samples of lowest water content, an increasing proportion decayed when the water content was increased. The decay reached a nearly constant level and the growth-inhibiting effects ran parallel to the semi-constant levels.

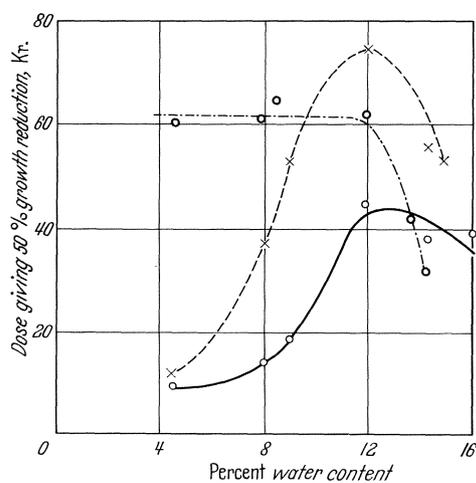


Fig. 15. The dose of Roentgen rays required for 50% growth inhibition of seeds of *Agrostis stolonifera* as a function of their water content. The seeds were irradiated and stored in air ○, in  $N_2$  △, and in  $NO$  ×. (B. SPARRMAN, L. EHRENB

BERG and EHRENB

BERG, 1959) served the dual purpose of demonstrating the mechanism of free radicals and of confirming the relationship between water content of seeds of *Agrostis stolonifera* and radiation sensitivity. The correlation between radiation-induced free radicals and biological effects is closer than in the previous study. The sensitivity was defined by the radiation dose causing 50% reduction of the growth of seedlings. When the gas, nitric oxide, was used as a radical scavenger and the seeds were irradiated and stored in air, or nitrogen or nitric oxide, a minimum sensitivity occurred at 12% water content in air or nitrogen, but in the presence of nitric oxide maximal protection was found at all water contents below 12%, indicating a reaction with nitric oxide. The authors conclude that below 12% water content, water is present as a mono-layer of hydration. Above 12%, water is in greater abundance and more loosely bound, thus promoting a greater rate of recombination of radicals.

Figure 14 indicates on the ordinate the magnitude of the signal of the electron spin resonance caused by the presence of free radicals, and on the abscissa the decay with time after irradiation in dependence of the treatment with the various gases. It is obvious that the presence of nitric oxide during storage causes a greatly accelerated decay of paramagnetic centres.

The instructive Fig. 15 clearly demonstrates the relationship between radiation sensitivity in nitrogen and air, with a minimum sensitivity at 12 % water content and, on the other hand, in the presence of nitric oxide, the maximal protection below 12 % water content.

The significance of the results obtained is that radiation produced in amino acids, proteins, nucleic acids and other biological substances, long-lived magnetic centres which are most probably free organic radicals and can in certain cases react with oxygen. The life time of these radicals in proteins and nucleic acids can extend over several days under anoxic conditions, but they decay quickly when oxygen is admitted. The particular role of sulphur containing compounds will be discussed in section C. 111 on Irradiation Effects on Enzymes. Thus the process of production of free radicals immediately following the primary physical step of energy dissipation in organic molecules, can explain the modifying influence of extraneous factors, as well as the so-called "after effects" which sometimes occur after irradiation has stopped.

## V. Clinical applications

**1. Oxygen.** Logically following up the phenomenon of the very general occurrence of the oxygen effect described earlier, GRAY, CONGER, EBERT, HORNSEY and SCOTT (1953), conceived the idea that it might be possible to enhance differentially the effectiveness of radiation in radiotherapy by increasing the oxygen tension in the irradiated tissues through breathing pure oxygen at normal or increased pressure *during* the period of irradiation. The idea has its roots in the experimental evidence not only with normal cells and tissues presented earlier, but also with various tumours for which the dependence of sensitivity to radiation on the prevailing oxygen tension has been shown. Examples of such tumours are the tar carcinoma 2146, the tar sarcoma 173 and sarcoma 378 (CRABTREE and CRAMER, 1934); mammary carcinoma (HALL, HAMILTON and BRUES, 1952); lymphosarcoma L<sub>1</sub> (HOLLCROFT, LORENZ and MATTHEWS, 1952); EHRLICH ascites tumour (GRAY, CONGER, EBERT, HORNSEY and SCOTT, 1953; DITTRICH and STUHLMANN, 1954; DESCHNER and GRAY, 1956), and C3H mammary adeno-carcinoma and mammary spindle-cell tumour (GOLDFEDER, 1956). It is important to note that CRAMER and CRABTREE have shown that the correlation between radiosensitivity and oxygen tension is based, not on the utilisation of oxygen by tissues, but on its availability, since depression of oxygen consumption by either cold or by cyanide or iodoacetate increased the radiosensitivity. Further support for GRAY's idea derives from the histological and clinical observation that the vascularisation of the tumour bed and the tumour cells is important for the results of radiotherapy. The blood supply to tumours is inferior to that of normal tissues, with the result that the core is liable to necrosis, and only a marginal zone of tumour tissue is adequately supplied with oxygen. THOMLINSON and GRAY (1955) have shown that in those tumours in which the cells form solid masses or cords a falling gradient of oxygen concentration is established from the periphery to the centre. In cords of radius of about 150 microns the centre has zero concentration of oxygen, and in cords of larger radius the cells in the centre become anoxic (CHURCHILL-DAVIDSON, SANGER and THOMLINSON, 1955). It is these anoxic, and therefore more radioresistant, cells which become the source of recurrent tumours.

It has been mentioned before that the increase in radiosensitivity begins to appear at very low oxygen pressure and rises steeply to the point of the oxygen concentration of air, beyond which it flattens out. Therefore the less well supplied with oxygen the cells are, the more they will gain in radiosensitivity by increasing the oxygen concentration in comparison with cells already near the optimum of oxygenation. It is this differential which is exploited in the proposal to let patients breathe pure oxygen at atmospheric or even higher pressure during the period of irradiation.

An encouraging beginning has been made with the clinical application of oxygenation in radiotherapy by CHURCHILL-DAVIDSON, SANGER and THOMLINSON (1955), though the results have to be considered as preliminary. The patients chosen were such that their

chance of cure by conventional radiotherapeutic methods was negligible. Cases treated were carcinoma of bronchus, of larynx, tongue, tonsil and pharynx, and chondro- and myxosarcomas, cerebral tumours and carcinoma of the upper oesophagus. The increase in radiosensitivity for bronchial carcinoma was insufficient to use this treatment with advantage on advanced cases. Better results were obtained in cases of carcinoma of the larynx. Here, however, a note of caution has to be made. HOWARD-FLANDERS and WRIGHT (1955) carried out experiments on the change of radiosensitivity of growing mammalian bone. They irradiated the tails of groups of mice (seven days old) which were breathing gas mixtures of various oxygen concentrations. When required, a condition of complete anoxia in the tails was obtained by a tail-cuff inflated to a pressure of 280 mm of mercury. Three weeks later the growth of the irradiated tails was compared with litter-mate controls. When the respired gas was changed from air to oxygen of 1 atmosphere the radiosensitivity increased by a factor of about 1.3. There is, therefore, some danger in giving to a patient breathing oxygen the same irradiation dose as is normally given to a patient breathing air. Since cartilage and bone are poorly vascularised tissues they may become victims of the oxygen effect when tumours are treated under conditions of increased oxygenation. This is of particular importance for Roentgen rays of 500 kV or less, because the absorption of energy in bone is greater than that in soft tissues (SPIERS, 1949).

The experience of the treatment of carcinoma of the larynx under oxygenation (CHURCHILL-DAVIDSON, SANGER and THOMLINSON, 1957) has confirmed the experimental results obtained with mice, because extensive radionecrosis of bone and cartilage occurred without simultaneous soft-tissue necrosis. The initial results of the treatment of carcinomas of tongue, tonsil and pharynx appeared to be very encouraging with regard to the effect on the primary growths as well as on the secondary glands, and were definitely superior to those obtained with conventional radiotherapy of similar cases. Of the miscellaneous tumours, the response to irradiation of two chondrosarcomas and of a myxosarcoma was very good, in spite of the fact that these tumours are relatively radio-resistant. This account of the clinical results of treatment is necessarily brief, and readers interested in details are referred to the original paper.

To achieve the full benefit of oxygenation the pressure of oxygen should be of the order of 3 atmospheres, because at least for larger tumours, the "tissue pressure" leads to congestion of the capillaries. The application of these high pressures complicates the treatment considerably. The patient has to be treated in a pressure chamber; the possibility of the onset of convulsions has to be taken into account by the administration of barbiturates and chlorpromazine; the patient has to be anaesthetised; and bilateral myringotomy has to be performed in order to avoid the possibility of rupture of the tympanic membrane by the increased barometric pressure.

EMERY, LUCAS and WILLIAMS (1960) claim to have improved the technique so that conscious patients can be treated under increased oxygen pressure. They use a transparent perspex chamber — which is more acceptable from a psychological point of view for a fully conscious patient — into which is incorporated an inter-communication system and an improved pressurisation mechanism. The authors seem to have used oxygen at not more than 2 atmospheres pressure and state that the patients suffered no pain or damage in ear or sinus under treatment.

**2. Chemical radiosensitisers.** To a different class of sensitisers to radiation belongs Synkavit, a K vitamin (tetrasodium 2-methyl-1:4-naphthohydroquinone). Considerable research has been carried out by J. S. MITCHELL (1960) to establish its value for clinical application in conjunction with palliative Roentgen ray therapy of advanced malignant tumours. Although its mode of action is at present uncertain and cannot be unequivocally linked with a direct or indirect mechanism, it should not be omitted in the context of this article.

This compound has, in common with a series of other quinones, an antimetabolic activity, but this property is not always in parallel with its clinical effectiveness. Therapeutic doses

of Roentgen and  $\gamma$ -radiation produce inhibition of synthesis of desoxyribonucleic acid, but the connection of this inhibition and the antimetabolic activity with structural changes in chromosomes is uncertain. If an agent of enzyme — inhibitor type is used to block the synthesis of nucleic acids, preferably by a mechanism different from that of Roentgen rays, the potentiating action would be of advantage. Since quinones are known to exercise a powerful influence on enzymatic processes, it seems that Synkavit, being a quinone, may act on enzymes somewhere in the synthesis of nucleic acids.

Synkavit has also been tried by MITCHELL and SIMON-REUSS (1952) on tissue cultures and was found to increase the cytological effects. KOHN and GUNTER (1955), however, obtained negative results with bacterium *E. coli* and *S. cerevisiae* when Synkavit was used immediately before the irradiation in aerobic conditions. HOWARD-FLANDERS and ALPER (1957) failed to find an enhancing effect of radiation when bacteria were cultured with Synkavit, regardless of whether irradiation was carried out in the absence or presence of oxygen.

Sensitising effects to irradiation in animals were demonstrated also for another chemical, iodo-acetate, by HAGEN and KOCH (1956), as well as FEINSTEIN, COTTER and HAMPTON (1954).

## VI. Concluding remarks

An attempt has been made in this chapter to present to the reader the various aspects of the modes of action of radiation in solutions and cells and other biological system. One aspect, however, which could not be discussed, before having stated the different theories, has received less attention than it deserves, namely the effect of radiation on coupled or parallel running reaction mechanisms.

It is frequently said that the fundamental problem of biological radiation effects is the small amount of energy absorbed by the irradiated systems as compared with the large biological effects observed. Apart from the fact that the energy absorbed in the whole volume is small, but localised and concentrated in volumes of molecular and atomic dimensions, is one really justified in calling the biological effects “large” from the point of view of involvement of energy? The effects are certainly conspicuous, impressive and decisive. The death of a cell is an important event for the organism or the organ within an organism; and so is the perpetuation of a radiation-induced mutational change in the progeny. Quite small amounts of energy absorbed in a suitable system may be sufficient to trigger off a chain of events which lead to the “large” biological end-effect, e.g., death. The target-hit theory tries to account for the stipulated discrepancy between energy absorbed and the result obtained from it, by assuming particularly vital key components and structures within the cell, which, when hit, cause the damage and eventual death of the cell. No doubt there are cell structures of greater importance than others, and this explanation will hold in certain cases. The indirect-action theory encompasses events which may occur at some (disputed) distance from vital structures, a distance depending on diffusion rates and life time and type of radicals, and also on intra- and inter-molecular migration of energy. Calculations of the effective radius of action seem sometimes to be unrealistic, because the parameters used are uncertain approximations in view of the complexity of the biological systems. All model experiments, for example in solutions or on dry substances, give useful clues to possible mechanisms, any of which may be at work in living cells in certain circumstances, and sometimes perhaps simultaneously. No model experiments, however, can be devised which will faithfully copy the integrated system of reactions which constitutes the orderly sequence in the physiological microcosmos of a cell. It may well be that a minute derangement, in time as well as in place, of numerous important reactions caused by the random distribution of the energy absorbed by the cell as a whole, unhinges reaction cycles which should remain linked, (DALE, 1955, 1960). Although some of these cycles may continue to work on their own accord, the co-ordination with parallel cycles may be lost and

with it the supply of intermediates at just the right time and place. We shall return to this topic in the chapter on the action of ionizing radiations on enzymes.

Whilst no single theory can account for all phenomena observed and no clue to key structures implicated in the radiation effects should be neglected, the possible disorganisation described should be borne in mind.

Grateful acknowledgement is made to the authors and publishers for their permission to reproduce the figures.

### References

- ALEXANDER, P., R. M. BLACK, and A. CHARLESBY: Radiation induced changes in the structure of polyisobutylene. *Proc. roy. Soc. A* **232**, 31—48 (1955).
- , and A. CHARLESBY: Energy transfer in macromolecules exposed to ionizing radiations. *Nature (Lond.)* **173**, 578—579 (1954).
- — Cross linking of polymers by  $\gamma$ -rays in dilute aqueous solution. A.E.R.E. M/R 1664, Harwell 1955.
- ALPER, T.: Über die  $\delta$ -Strahlen und die Beziehung zwischen Reichweite und Geschwindigkeit für langsame Elektronen. *Z. Physik* **76** 172—189 (1932).
- The modification of damage caused by primary ionization of biological targets. *Radiat. Res.* **5**, 573—586 (1956).
- A mechanism for the oxygen effect suggested by some recent experiments. "Organic peroxides in radiobiology", p. 134—138. London: Pergamon Press 1958.
- , and P. HOWARD-FLANDERS: Role of oxygen in modifying the radiosensitivity of *E. coli* B. *Nature (Lond.)* **178**, 978—979 (1956).
- ANDERSON, E. H.: The effect of oxygen on mutation induction by x-rays. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **37**, 340—349 (1951).
- ANDERSON, R. S., and H. TURKOWITZ: The experimental modification of the sensitivity of yeast to roentgen rays. *Amer. J. Roentgenol.* **46**, 537—542 (1941).
- BAKER, W. K., and E. SGOURAKIS: The effect of oxygen concentration on the rate of x-ray induced mutations in *Drosophila*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **36**, 176—184 (1950).
- BLAU, M., u. K. ALTENBURGER: Über einige Wirkungen von Strahlen II. *Z. Physik* **12**, 315—329 (1922).
- BRAAMS, R.: Changes in the radiation sensitivity of some enzymes and the possibility of protection against the direct action of ionizing particles. *Radiat. Res.* **12**, 113—119 (1960).
- F. HUTCHINSON, and D. RAY: Changes in the sensitivity of enzymes in the dry state to radiation. *Nature (Lond.)* **182**, 1506 (1958).
- BUTLER, J. A. V.: Ionizing radiation and cell metabolism, p. 59. London: J. A. Churchill, Ltd. 1956.
- CALDECOTT, R. S.: The effects of x-rays, 2 MeV electrons, thermal neutrons and fast neutrons on dormant seeds of barley. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **59**, 514—535 (1955a).
- Effects of hydration on x-ray sensitivity in *Hordeum*. *Radiat. Res.* **3**, 316—330 (1955b).
- CALDECOTT, R. S.: Effects of ionizing radiations on seeds of barley. *Radiat. Res.* **2**, 339—350 (1955c).
- Reduction in x-ray sensitivity of seeds by hydration. *Nature (Lond.)* **176**, 306 (1955d).
- CATCHESIDE, D. G., D. E. LEA, and J. N. THODAY: Types of chromosome structural change induced by irradiation of *Tradescantia* microspores. *J. Genet.* **47**, 113—136 (1946a).
- — The production of chromosome structural changes in *Tradescantia* microspores in relation to dosage, intensity and temperature. *J. Genet.* **47**, 137—149 (1946b).
- CHURCHILL-DAVIDSON, I., C. SANGER, and R. H. THOMLINSON: High-pressure oxygen and radiotherapy. *Lancet* **1955 I**, 1091—1095.
- — — Oxygenation in Radiotherapy-Symposium. Part II. Clinical application. *Brit. J. Radiol.* **30**, 406—422 (1957).
- CLARK, A. J.: The mode of action of drugs on cells. London: Edward Arnold & Co. 1933.
- CONGER, A. D.: Discussion in *J. cell. comp. Physiol.* **45**, Suppl. 2, 309—312 (1955).
- CRABTREE, H. G., and W. CRAMER: The action of radium on cancer cells. Part I. Effects of hydrocyanic acid, iodoacetic acid and sodium fluoride on the metabolism and transplantability of cancer cells. Part II. Some factors determining the susceptibility of cancer cells to radium. Part III. Factors determining the susceptibility of cancer cells to gamma radiation. *Eleventh Sci. Rep. of the Imp. Cancer Res. Fund.* 1934, p. 75—104.
- CROWTHER, J. A.: The action of x-rays on *Colpidium colpoda*. *Proc. roy. Soc. B.* **100**, 390—404 (1926). (See also *Proc. Cambridge Phil. Soc.* **23**, 284—287 (1926)).
- DAINTON, F. S.: Some aspects of radiation chemistry which are relevant to some radiobiological problems. In: *Progress in Radiobiology*, xix—xli. London: Oliver & Boyd 1956.
- DALE, W. M.: The effects of x-rays on enzymes. *Biochem. J.* **34**, 1367—1373 (1940).
- The effect of x-rays on the conjugated protein d-amino acid oxidase. *Biochem. J.* **36**, 80—85 (1942).
- Effects of x-rays on aqueous solutions of biologically active compounds. *Brit. J. Radiol.* **16**, 171—172 (1943).
- Action of radiation on aqueous solutions; experimental work with enzymes in solution. *Brit. J. Radiol., Suppl.* **1**, 46—50 (1947).
- Modern trends in radiation biochemistry. *Actions chimiques et biologiques des Radia-*

- tions, p. 207—243, 239. Paris: Masson & Cie. 1955.
- DALE, W. M.: Survey of the action of ionizing radiations in aqueous systems, and some considerations of energy transfer. Symposium on Bioenergetics, Brookhaven, 1959, Radiation Research, Suppl. 2. London: Academic Press 1960.
- , and J. V. DAVIES: The deamination of aqueous solutions of l-serine by x-radiation. *Nature (Lond.)* **166**, 1121 (1950).
- — and W. J. MEREDITH: Further observations on the protective effect in radiation chemistry. *Brit. J. Cancer* **3**, 31—41 (1949).
- — and C. RUSSELL: Nitric oxide as a modifier of radiation effects on *Shigella Flexneri*. *Int. J. Radiat. Biol.* **4**, 1—13 (1961).
- W. J. MEREDITH, and M. C. K. TWEEDIE: Mode of action of ionizing radiations on aqueous solutions. *Nature (Lond.)* **151**, 280—281 (1943).
- D'AMATO, F., and Å. GUSTAFSSON: Studies on the experimental control of the mutation process. *Hereditas (Lund)* **34**, 181—192 (1948).
- DEBIERNE, A.: Recherches sur les gaz produits par les substances radioactives. Decomposition de l'eau. *Ann. de Phys.* **2**, No 9, 97—127 (1914).
- DESCHNER, E. E., and L. H. GRAY: Unpublished 1956.
- DESSAUER, FR.: Über einige Wirkungen von Strahlen I. *Z. Physik* **12**, 38—47 (1923a).
- Über einige Wirkungen von Strahlen IV. *Z. Physik* **20**, 288—298 (1923b).
- DITTRICH, W., u. H. STUHLMANN: Wachstumshemmung des Ehrlich-Karzinoms der Maus in vivo durch Röntgenbestrahlung unter verschiedenen Sauerstoffpartialdrucken. *Naturwissenschaften* **41**, 122 (1954).
- DOWDY, A. H., L. R. BENNETT, and S. M. CHASTAIN: Protective action of anoxic anoxia against total-body roentgen irradiation of mammals. *Radiology* **55**, 879—885 (1950).
- EBERT, M., SHIRLEY HORNSEY, and ALMA HOWARD: Effect of inert gases on oxygen dependent radiosensitivity. *Nature (Lond.)* **181**, 613—616 (1958).
- EHRENBERG, A., and L. EHRENBERG: The decay of x-ray induced free radicals in plant seeds and starch. *Ark. Fysik* **14**, 133—141 (1958).
- EHRENBERG, L.: Factors influencing radiation induced lethality, sterility and mutations in barley. *Hereditas (Lund)* **41**, 123—146 (1955).
- EMERY, E. W., B. G. B. LUCAS, and K. G. WILLIAMS: Technique of irradiation of conscious patients under increased oxygen pressure. *Lancet* **1**, 248—250 (1960).
- EPHRUSSI-TAYLOR, H. S., and R. LATARJET: Inactivation par les rayons X d'un facteur transformant du pneumocoque. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **16**, 183—197 (1955).
- EVANS, H. J., and G. J. NEARY: The meaning of the oxygen effect in the interpretation of chromatid aberrations. *Radiat. Res.* **9**, 111 (1958).
- FEINSTEIN, R. N., G. J. COTTER, and M. M. HAMPTON: Effect on radiation lethality of various agents relevant to the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-catalase hypothesis. *Amer. J. Physiol.* **177**, 156—160 (1954).
- FRANCK, J., and R. PLATZMAN: Physical principles underlying photochemical radiation, chemical and radiobiological reaction, vol. 1, part I, p. 191—253. New York: McGraw-Hill Book Co. Inc. 1954.
- FRICKE, H.: Reduction of O<sub>2</sub> to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by the irradiation of its aqueous solution with x-rays. *J. Chem. Phys.* **2**, 556—557 (1934).
- E. J. HART, and H. P. SMITH: Chemical reactions of organic compounds with x-ray activated water. *J. Chem. Phys.* **6**, 229—240 (1938).
- , and S. MORSE: The action of x-rays on ferrous sulphate solution. *Phil. Mag.* **7**, 129—141 (1929).
- GILES jr., N. H., and H. P. RILEY: The effect of oxygen on the frequency of x-ray induced chromosomal rearrangements in *Tradescantia* microspores. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **35**, 640—646 (1949).
- — Studies on the mechanism of the oxygen effect on the radiosensitivity of *Tradescantia* chromosomes. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **36**, 337—344 (1950).
- GINOZA, W., and A. NORMAN: Radiosensitive molecular weight of tobacco mosaic virus nucleic acid. *Nature (Lond.)* **179**, 520—521 (1957).
- GLOCKER, R., u. O. RISSE: Über die photochemische Wirkung von Röntgenstrahlen verschiedener Wellenlänge. *Z. Physik* **48**, 845—851 (1928).
- GOLDFEDER, A.: Personal communication 1956.
- GORDY, W., W. B. ARD, and H. SHIELDS: Microwave spectroscopy of biological substances. I. Paramagnetic resonance in x-irradiated amino acids and proteins. II. Paramagnetic resonance in x-irradiated carboxylic and hydroxy acids. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **41**, 983—996, 996—1004 (1955).
- W. V. SMITH, and R. F. TRAMBARULO: Microwave spectroscopy. New York: John Wiley & Sons 1953.
- GRAY, L. H.: Comparative studies of the biological effects of X rays, neutrons and other ionizing radiations. *Brit. med. Bull.* **4**, 11—18 (1946).
- The initiation and development of cellular damage by ionizing radiations. The thirty-second Silvanus Thompson Memorial Lecture. *Brit. J. Radiol.* **26**, 609—618 (1953).
- Oxygenation in radiotherapy. *Brit. J. Radiol.* **30**, 403—406 (1957).
- Cellular radiobiology. *Radiat. Res., Suppl.* **1**, 73—101 (1959).
- A. D. CONGER, M. EBERT, S. HORNSEY, and O. C. A. SCOTT: The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. *Brit. J. Radiol.* **26**, 638—648 (1953).
- GUILD, W. R., and F. M. DEFILIPPES: Ionizing radiation and ultrasonic evidence for a minimum unit of transforming principle D.N.A.

- Biochem. biophys. Acta (Amst.) **26**, 241—251 (1957).
- GUSTAFSSON, Å.: Mutation experiments in barley. *Hereditas* (Lund) **27**, 225—242 (1941).
- HAGEN, U., and R. KOCH: Discussion remark. In: *Progress in Radiobiology*, p. 257. London: Oliver & Boyd Ltd. 1956.
- HALL, B. V., K. HAMILTON, and A. M. BRUES: Clarification of differences in radiosensitivity of tumours irradiated in vitro and in vivo on the basis of the effect of oxygen on radiosensitivity. *Cancer Res.* **12**, 268 (1952).
- HART, E. J., and J. W. BOAG: Absorption spectrum of the hydrated electron in water and in aqueous solutions. *J. Amer. chem. Soc.* **84**, 4090—4095 (1962).
- HENGLEIN, A., and CH. SCHNEIDER: Degradation and cross linking of polystyrene in solution by  $\gamma$ -radiation. *Radiat. Res.* **9**, 128 (1958).
- HENRI, V.: Etude de la loi de la vitesse d'hémolyse des hématies de poulet par la serum de chien. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **58**, 37—38 (1905).
- HOLLAENDER, A., C. E. STAPLETON, and F. L. MARTIN: X-ray sensitivity of *E. coli* as modified by oxygen tension. *Nature* (Lond.) **167**, 103—104 (1951).
- HOLLCROFT, J. W., E. LORENZ, and M. MATTHEWS: Factors modifying the effect x-irradiation on regression of a transplanted lymphosarcoma. *J. nat. Cancer Inst.* **12**, 751—763 (1952).
- HOLTHUSEN, H.: Beiträge zur Biologie der Strahlenwirkung. Untersuchungen an Askarieneiern. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **187**, 1—24 (1921).
- Der Grundvorgang der biologischen Strahlenwirkung. *Strahlentherapie* **25**, 157—173 (1927).
- , u. C. ZWEIFEL: Einfluß der Quantengröße auf die biologische Wirkung verschiedener Strahlenqualitäten; das Schädigungsbild von *Ascaris megaloccephala* in Abhängigkeit von der Strahlenqualität. *Strahlentherapie* **43**, 249—272 (1932).
- HOSKINSON, P. E., and T. S. OSBORNE: Radiosensitivity of seeds. II. Effects of soaking, storage and gamma rays. (In press) (1960). To be published in *Radiat. Res.*
- HOUTERMANS, T.: Über den Einfluß der Temperatur auf biologische Strahlenwirkungen. *Z. Naturforsch.* **98**, 600—602 (1954).
- HOWARD-FLANDERS, P.: Effect of nitric oxide on the radiosensitivity of bacteria. *Nature* (Lond.) **180**, 1191—1192 (1957).
- , and T. ALPER: The sensitivity of microorganisms to irradiation under controlled gas conditions. *Radiat. Res.* **7**, 518—540 (1957).
- , and D. MOORE: The time interval following pulsed irradiation within which the injured bacteria can be modified by dissolved oxygen. *Radiat. Res.* **9**, 422—437 (1958).
- , and E. A. WRIGHT: Effect of oxygen on the radiosensitivity of growing bone and a possible danger in the use of oxygen during radiotherapy. *Nature* (Lond.) **75**, 428—429 (1955).
- HUTCHINSON, F.: The distance that a radical formed by ionizing radiation can diffuse in a yeast cell. *Radiat. Res.* **7**, 473—483 (1957).
- A. PRESTON, and B. VOGEL: Radiation sensitivity of enzymes in wet and in dry yeast cells. *Radiat. Res.* **7**, 465—472 (1957).
- JOLLY, J.: Actions des rayons X sur les cellules. Modifications de la radiosensibilité par ligature des connexions vasculaires. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **91**, 351—354 (1924).
- KAPLAN, R. W.: Über die Häufigkeit phänotypisch abweichender Pflanzen in der  $F_1$ -Generation aus verschiedenen gequollenem und bestrahltem Pollen von *Antirrhinum majus*. *Z. induct. Abstamm.- u. Vererb.-L.* **77**, 568—579 (1939).
- Experimentelle und theoretische Untersuchungen über Mechanismus der Keimschädigung durch Röntgenstrahlen beim Pollen von *Antirrhinum majus*. *Biol. Zbl.* **60**, 298—318 (1940).
- Über die Häufigkeit von Faktormutationen durch Röntgenbestrahlung des Pollens von *Antirrhinum majus* in verschiedenen Quellungsstadien. *Naturwissenschaften* **33**, 348—349 (1946).
- Chromosomen- und Faktormutationsraten in Gerstenkörnern bei verschiedenartigen Quellungsbehandlungen oder Kälte während oder nach der Röntgenbestrahlung sowie bei Dosisfraktionierung. *Z. induct. Abstamm.- u. Vererb.-L.* **83**, 347—382 (1951).
- KEENE, J. P.: Optical absorptions in irradiated water. *Nature* (Lond.) **197**, 47—48 (1963).
- KIHLMAN, B. A.: Studies on the effect of oxygen on chromosome breakage induced by 8-ethoxycaffeine. *Exp. Cell Res.* **8**, 404—407 (1955).
- The effect of oxygen, nitric oxide and respiratory inhibitors on the production of chromosome aberrations by x-rays. *Exp. Cell Res.* **14**, 639—642 (1958).
- KOHN, H. I., and S. E. GUNTER: Effect of menadiol diphosphate (Synkavite) on the sensitivity of *E. coli* and *S. cerevisiae* to x-rays. *Radiat. Res.* **2**, 351—353 (1955).
- KONZAK, C. F.: Radiation sensitivity on dormant and germinating barley seeds. *Science* **122**, 197 (1955).
- KRENZ, F. H.: Private communication 1949.
- LATARJET, R., and E. EPHRATI: Influence protectrice de certaines substances contre l'inactivation d'un bacteriophage par les rayons. *C.R. and Soc. Biol. (Paris)* **142**, 497—499 (1948).
- LEA, D. E.: Radiation methods for determining number of genes in *Drosophila*. *J. Genet.* **39**, 181—188 (1940).
- Action of radiation on living cells. Cambridge: Cambridge University Press 1946.
- MITCHELL, J. S.: Studies in radiotherapeutics. Oxford: Blackwell Ltd. 1960.
- , and SIMON-REUSS: I. Experiments on the mechanism of action of tetrasodium 2-me-

- thyl-1:4-naphthohydroquinone diphosphate as a mitotic inhibitor and radiosensitiser, using the technique of tissue culture: Experimental methods and quantitative results. *Brit. J. Cancer* **6**, 305—316 (1952).
- MOTTRAM, J. C.: On the skin reactions to radium exposure and their avoidance in therapy: An experimental investigation. *Brit. J. Radiol.* **29**, 174—180 (1924).
- MULLER, H. J.: Some present problems in the genetic effects of radiation. *J. cell. comp. Physiol.* **35**, Suppl. 1, 9—70 (1950).
- The manner of production of mutations by radiation. In: *Radiation Biology*, vol. 1, part 1, p. 475—626. New York: McGraw-Hill Co. Inc. 1954.
- NORMAN, A., and W. GINOZA: Molecular interactions in irradiated solids. *Radiat. Res.* **9**, 77—83 (1958).
- PACKARD, C.: The biological effects of short radiations. *Quart. Rev. Biol.* **6**, 253—280 (1931).
- PATT, H. M.: Protective mechanisms in ionizing radiation injury. *Physiol. Rev.* **33**, 35—76 (1953).
- PERSON, S. R., and H. LEWIS: The effect of water content on the sensitivity of T1 bacteriophage to x-radiation. U.S. Atomic Energy Report, UCLA 431 (1958).
- POLLARD, E. C.: Primary ionization as a test of molecular organisation. *Advanc. biol. med. Phys.* **3**, 153—189 (1953).
- Radiation inactivation of enzymes, nucleic acids and phage particles. *Rev. Modern Physics* **31**, No 2, 273—281 (1959).
- W. R. GUILD, F. HUTCHINSON, and R. B. SETLOW: The direct action of ionizing radiation on enzymes and antigens. *Progr. Biophys.* **5**, 72—108 (1955).
- POWERS, E. L., R. B. WEBB, and C. F. EHRET: Storage, transfer and utilization of energy from X-rays in dry bacterial spores. *Radiat. Res. Suppl.* **2**, 94—121 (1960).
- READ, J.: Effect of a combined treatment with 8-ethoxycaffeine and argon on the roots of *Vicia faba*. *Nature (Lond.)* **181**, 616—617 (1958).
- Radiation biology of *Vicia faba* in relation to the general problem. Oxford: Blackwell Sci. Publ. 1959.
- REVELL, S. H.: The accurate estimation of chromatid breakage and relevance to a new interpretation of chromatid aberrations induced by ionizing radiations. *Proc. roy. Soc. B.* (in press) (1959).
- RISSE, O.: Einige Bemerkungen zum Mechanismus chemischer Röntgenreaktionen in wäßrigen Lösungen. *Strahlentherapie* **34**, 578—581 (1929).
- RUGH, R., and H. CLUGSTON: Hydration and radiosensitivity. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **88**, 467—472 (1955).
- SCHWARZ, G.: Über Desensibilisierung gegen Röntgen- und Radiumstrahlen. *Münch. med. Wschr.* **56**, 1217—1218 (1909).
- SEREBROVSKAYA, R. I., and N. I. SHAPIRO: The frequency of mutations induced by x-rays in the autosomes of mature and immature germ cells of *Drosophila melanogaster* males. *Dokl. Acad. Sci. URSS, N.S.*, **2**, 421—428 (1935) [Russian and English text].
- SETLOW, R., and B. DOYLE: The direct action of fast charged particles on hyaluronic acid, hyaluronidase and a combination of the enzyme and substrate. *Radiat. Res.* **2**, 15—25 (1955).
- SMITH, C. L.: The inactivation of desoxyribonuclease by electron bombardment, deuteron bombardment and heat. *Arch. Biochem. Biophys.* **45**, 83—90 (1953).
- SPARRMAN, B., L. EHRENBERG, and A. EHRENBERG: Scavenging of free radicals and radiation protection by nitric oxide in plant seeds. *Acta. chem. scand.* **13**, 199—200 (1959).
- SPEAR, F. G., L. H. GRAY, and J. READ: Biological effects of fast neutrons. *Nature (Lond.)* **142**, 1074—1075 (1938).
- SPIERS, F. W.: The influence of energy absorption and electron range on dosage in irradiated bone. *Brit. J. Radiol.* **22**, 521—533 (1949).
- STADLER, L. J.: The rate of induced mutations in relation to dormancy, temperature and dosage. *Anat. Rec.* **41**, 97 (1928).
- STAPLETON, G. E., and C. W. EVINGTON: Temperature dependence of bacterial inactivation by x-rays. *Radiat. Res.* **5**, 39—45 (1956).
- , and A. HOLLAENDER: Mechanism of lethal and mutagenic action of ionizing radiations on *Aspergillus terreus*. II. Use of modifying agents and conditions. *J. cell. comp. Physiol.* **39**, Suppl. 1, 101—113 (1952).
- SWANSON, C. P.: Relative effects of qualitatively different ionizing radiations on the production of chromatid aberration in air and nitrogen. *Genetics* **40**, 193—203 (1955a).
- The oxygen effect and chromosome breakage. *J. cell. comp. Physiol.* **45**, Suppl. 2, 285—298 (1955b).
- Effect of oxygen tension on the production of chromosome breakage by ionising radiations: An interpretation. *Radiobiology Symposium*, p. 254. London: Butterworth Sci. Publ. 1955c.
- THODAY, J. M., and J. READ: Effect of oxygen on the frequency of chromosome aberrations produced by x-rays. *Nature (Lond.)* **160**, 608 (1947).
- Effect of oxygen on the frequency of chromosome aberrations produced by alpha-rays. *Nature (Lond.)* **163**, 133—134 (1949).
- THOMLINSON, R. H., and L. H. GRAY: The histological structure of some human lung cancers and the possible implications for radiotherapy. *Brit. J. Cancer* **9**, 539—549 (1955).
- TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N. W., and K. G. ZIMMER: *Das Trefferprinzip in der Biologie*. Leipzig: S. Hirzel 1947.
- WIELAND, H.: Zur Frage nach dem intermediären Auftreten freier Radikale bei chemischen Reaktionen. *Der Zerfall aromatischer Hydrazo-*

- verbindungen. Chem. Ber. **48**, 1098—1112 (1915).
- WILSON, C. T. R.: Investigations on X-rays and  $\beta$ -rays by the cloud method. Part I. X-rays. Proc. roy. Soc. A **104**, 1—24 (1923).
- WOOD, T. H.: Cellular radiobiology. Ann. Rev. nuclear. Sci. **8**, 343—386 (1958).
- , and A. L. TAYLOR: Dependence of x-ray sensitivity of yeast on phase state and anoxia. Radiat. Res. **6**, 611—625 (1957).
- ZAVOISKY, E.: Paramagnetic relaxation of liquid solutions for perpendicular fields. J. Phys. USSR **9**, 211—216 (1945).
- ZIMMER, K. G.: Evidence for free radical production in living cells exposed to ionizing radiation. Radiat. Res., Suppl. **1**, 519—529 (1959).
- L. EHRENBERG u. A. EHRENBERG: Nachweis langlebiger magnetischer Zentren in bestrahlten biologischen Medien und deren Bedeutung für die Strahlenbiologie. Strahlentherapie **103**, 3—15 (1957).
- ZIRKLE, R. E., and C. A. TOBIAS: Effects of ploidy and linear energy transfer on radiobiological survival curves. Arch. Biochem. Biophys. **47**, 282—306 (1953).

## **B. Strahlenchemie des Wassers, wäßriger Lösungen und einfacher organischer Verbindungen**

Von  
**W. Minder**

Mit 34 Abbildungen

Trotz der Tatsache, daß Änderungen des chemischen Zustandes und des chemischen Geschehens nach Energieaufnahme aus ionisierender Strahlung die primäre Phase aller Strahlenreaktionen an biologischen Systemen beliebiger Natur und Differentiation darstellen müssen, ist die Strahlenchemie bis vor kurzem eine weitgehend vernachlässigte Wissenschaftsdisziplin geblieben. Andere und dringlicher scheinende Aufgaben haben in den ersten etwa 30 Jahren der Geschichte der Röntgenstrahlen und der Radioaktivität die Wissenschaftler in Anspruch genommen; den medizinisch orientierten Forscher beschäftigten vorwiegend Fragen im Zusammenhang mit seiner diagnostischen und therapeutischen Tätigkeit, den Physiker solche nach der Natur der Strahlungen und ihrer primären Wechselwirkungen mit der Materie, vorzüglich in ihrer einfachsten Form. Änderungen der Phänomenologie wurden entweder als interessante Nebenerscheinungen kurz erwähnt oder aber als unliebsame Komplikationen der experimentellen Sachlage empfunden. Die Zeit war noch nicht reif für ein tieferes Eingehen auf strahlenchemische Erscheinungen, besonders auch, weil eine sachgerechte Molekulartheorie der Materie fehlte. Erst die von KOSSEL und LEWIS begründeten Elektronentheorien der chemischen Bindung schufen im Zusammenspiel mit der erweiterten Quantentheorie und der Wellenmechanik die Voraussetzungen zum tieferen Verständnis strahlenchemischer Vorgänge.

Wenn man noch in den ersten Dezennien unseres Jahrhunderts die stöchiometrische Formulierung als das Endergebnis der Untersuchung der chemischen Änderung eines Stoffsystems betrachtete, so stellt dieselbe heute nur mehr die topologische Voraussetzung des Eindringens in das eigentliche Geschehen eines Stoffumsatzes dar. Dazu haben unerwartete Beobachtungen, besonders der Photochemie, wie etwa die Spaltung des Wasserstoffmoleküls durch die Resonanzlinie des Quecksilbers bei Gegenwart von Quecksilberdampf (Anregungsübertragung) oder die Anregung oder Löschung der Fluoreszenz durch sehr geringe Beimengungen fremder Stoffe (Energieleitung) oder auch die Induktion von endothermen Lichtreaktionen durch Licht mit zu geringer Photonenenergie (Energiespeicherung auf metastabilen Zwischenzuständen), die Grundlagen geliefert. Die alte Alchimistenregel: „Corpora non agunt, nisi fluida“ hat die moderne Erkenntnis, daß ein vom Grundzustand einer Molekel verschiedener energetischer Zustand zur Reaktion erforderlich ist, zum mindesten für Elektrolytlösungen in qualitativer Form vorweggenommen. Die Photochemie hat für zahlreiche Reaktionen die Energieerfordernisse quantitativ aufgeklärt, ein Hauptziel der Strahlenchemie der Zukunft wird es sein, dies in einem viel umfassenderen und allgemeineren Maße zu tun.

Zu der Tatsache, daß ein Nichtchemiker die nachfolgenden vier Abschnitte geschrieben hat, sind wohl einige Bemerkungen angebracht. Zunächst eine solche über den allgemeinen Standpunkt: Es ist unumgänglich, daß das Interessen- und Arbeitsgebiet eines Autors das „Setzen der Lichter“ im Bild eines Gesamtgegenstandes beeinflusst. So sind denn in den folgenden Darstellungen molekularphysikalische, dosimetrische und energetisch-kinetische Gesichtspunkte etwas stärker zum Ausdruck gekommen, als dies durch die

Überschreibungen der Abschnitte gefordert scheint. Demgegenüber tritt vielleicht die „reine Chemie“ manchenorts weiter zurück, als dies wünschenswert sein könnte. Die Autoren jener Untersuchungen, die im vorgegebenen Rahmen nicht die ihnen sicher zukommende Berücksichtigung erfahren konnten, mögen um entsprechende Nachsicht gebeten sein.

Um der Unsicherheit des Bodens einer analytischen Interpretation von Strahlenwirkungen auf lebende Objekte einige Stützen zu verschaffen, haben wir uns in Bern seit über 20 Jahren experimentell und theoretisch-analytisch mit Strahlenreaktionen an einfachen chemischen Systemen beschäftigt. Dabei war es möglich, grundsätzliche Gesetzmäßigkeiten, wie z. B. den Konzentrationseffekt, den Schutzeffekt und die Temperaturunabhängigkeit bei strahlenchemischen Umsätzen zu verallgemeinern und teilweise dafür auch Formulierungen vorzuschlagen. Für den Großteil dieser Untersuchungen wurden wäßrige Lösungen oder einfache organische Substanzen unter Anwendung verschiedener Analysemethoden verwendet.

Fast ebenso lange haben wir uns bemüht, strahlenchemische Umsätze Zwecken der Strahlendosismessung dienstbar zu machen. Dabei schien uns hierzu in erster Linie die Eisen(II)-Sulfatoxydation geeignet, und eine Reihe von Versuchen, einschließlich einer Serie von Absolutbestimmungen des Umsatzes, haben diese Auffassung bestätigt. Daneben wurden aber auch andere Strahlenreaktionen, wie die Spaltung von Chloroform und die Entfärbung von Methylenblau an Strahlungen verschiedener Qualität auf ihre dosimetrische Brauchbarkeit geprüft. Gerade bei strahlenchemischen Untersuchungen kann die grundsätzliche Bedeutung einer sinngerechten und mit genügender Selbstkritik durchgeführten Strahlendosismetrie nicht hoch genug veranschlagt werden. Alle quantitativen Interpretationen des Reaktionsgeschehens haben ja die korrekte Dosismessung zur Voraussetzung, und alle theoretischen Aussagen sind, besonders in der Strahlenchemie, nur soviel wert wie ihre meßtechnischen Grundlagen. So wurde denn bei quantitativen Schlußfolgerungen aus Ausbeutediskussionen eine stärkere Zurückhaltung geübt, als dies wohl von mancher Seite erwartet werden könnte.

Stets bereitet es eine besondere Freude, Helfern, Kollegen und Freunden nach Abschluß einer Arbeit für ihre Unterstützung zu danken. Während Jahren hat mich mein viel zu früh verstorbener Freund Prof. Dr. W. BUSER in chemischen Spezialfragen in liebenswürdigster Weise beraten. Aus seiner tiefen Sachkenntnis sind mir dabei ungezählte Bereicherungen zugeflossen. Die Herren Prof. Dr. H. AEBI, Direktor des Instituts für medizinische Chemie der Universität Bern, und Dr. W. ROTTENBERG, Chemiker der Sektion für Strahlenschutz des Eidg. Gesundheitsamtes, haben die große Mühe auf sich genommen, das Manuskript respektive die Korrekturfahnen einer gründlichen Durchsicht zu unterziehen. Ihre Kritik und ihre Anregungen waren dabei von höchstem Wert. Meiner Frau HEDWIG MINDER verdanke ich endlich die Verarbeitung des Literaturverzeichnisses und die sachlich und technisch schwierige Reinschrift der ganzen Abhandlung.

## I. Allgemeine Gesichtspunkte der Darstellung strahlenchemischer Ergebnisse

### 1. Begriff und Ziel der Strahlenchemie

Gemäß der Grundkonzeption des geplanten Gesamtwerkes soll die Darstellung der Strahlenwirkungen auf Wasser, wäßrige Lösungen und einfache organische Verbindungen nur diejenigen nachweisbaren stofflichen Veränderungen sowie deren (oftmals nicht erfaßbaren) Vorstufen und die damit verbundenen Überlegungen betreffen, welche durch *ionisierende Strahlungen* in den genannten Systemen verursacht werden resp. verursacht worden sind. Das damit umschriebene Wissensgebiet wird heute allgemein, nach einem von ALLSOPP (1951) gemachten Vorschlag, als *Strahlenchemie* (*radiation chemistry*, *chimie des radiations*) bezeichnet mit dem Willen, dasselbe einerseits gegen den als *Photochemie*

benannten Wissenskomplex abzugrenzen und andererseits die Möglichkeit zu schaffen, die Benennung *Radiochemie* (radiochemistry, radiochimie) für die (besondere) allgemeine und spezielle Chemie mit und an radioaktiven Stoffen zu reservieren.

Es braucht bei dieser Begriffsabgrenzung wohl kaum besonders und im einzelnen darauf eingegangen zu werden, daß dabei eine scharfe Sachtrennung nicht möglich ist. Jede tiefer eingehende Erörterung einer strahlenchemischen Reaktion wird die dabei gewissermaßen als Unterabteilung des Geschehens bekannten oder möglichen photochemischen Umwandlungen in Betracht ziehen müssen, und ebenso können die durch die Strahlungen radioaktiver Stoffe verursachten Änderungen eines Systems bei expliziten Darstellungen radiochemischer Stoffumsätze nicht völlig beiseite gelassen werden.

Das besondere Wesen strahlenchemischer Vorgänge liegt in der Tatsache begründet, daß dabei die den *Reaktionseinheiten* übermittelten, diskontinuierlichen (gequantelten) Energiebeträge in jedem Fall *größer sein können* (nicht müssen!) als die Potentiale irgendwelcher stabiler oder metastabiler Zustände der Reaktionseinheiten. Hieraus muß unmittelbar die Folgerung entnommen werden, daß durch ionisierende Strahlungen in einem System überhaupt *alle chemischen Reaktionen* verursacht werden können, die durch die chemische Zusammensetzung dieses Systems *möglich* sind. Daß dabei das *Endergebnis* all dieser möglichen Vorgänge relativ sehr einfach sein kann oder zu sein scheint, erleichtert natürlich die konkrete, strahlenchemische Arbeit in einem außerordentlichen Maße, erschwert aber andererseits in einem ebenso hohen Maße die Einsicht in das tatsächliche Geschehen und damit dessen sinnvolle und korrekte Formulierung. Es ist deshalb auch bis heute noch nicht möglich gewesen, den ganzen Reaktionskomplex eines einzigen, einfachen Stoffes bei Bestrahlung in allen Einzelheiten vollständig aufzuklären und darzustellen. Ebenso wenig ist bisher eine strahlenchemische Umwandlung bekannt, bei der alle Reaktionsprodukte quantitativ analytisch erfaßt worden wären und eine lückenlose Stoffbilanz hätte aufgestellt werden können. Die ganze Strahlenchemie ist also heute, und sicher auch für die nähere Zukunft, noch Stückwerk, welches an wenigen, sicher scheinenden Fixpunkten verankert ist und durch allgemeine, widerspruchsfreie Theorien zusammengehalten wird. Sie hat aber schon in überzeugendster Weise die Fragwürdigkeit von Anschauungen allgemeiner Art, deren Voraussetzungen auf Bestrahlungsergebnissen an Systemen komplizierter Natur beruhen, dargetan. Sie hat ebenso mit Evidenz gezeigt, daß eine topologische Formulierung einer Reaktion über die Einzelheiten der beteiligten Vorgänge nur sehr wenig Informationen vermitteln kann. Das eigentliche Geschehen muß dabei größtenteils verborgen bleiben.

Eine sinnvolle Diskussion strahlenchemischer Umsetzungen muß aber gerade von diesen Einzelheiten ausgehen. Dabei soll aber schon hier völlig klargestellt werden, daß dieselben nur in Sonderfällen experimentell prüfbar sind und deshalb nur in Ausnahmen zu quantitativen Korrelationen führen können.

Glücklicherweise gibt es drei derartige Ausnahmen von grundsätzlicher Bedeutung, welche, miteinander kombiniert, die genügend genaue Bestimmung der einem nicht allzu komplizierten System aus der Strahlung übermittelten Energie erlauben. Es sind dies die Bestimmung der in Gasen, insbesondere in Luft, durch die Strahlung verursachten Ionenzahl, ferner die Messung der Energie ionisierender Partikel und schließlich die Messung der von einem chemisch möglichst inerten System aus der Strahlung aufgenommenen Gesamtenergie.

Bekanntlich ist das Ergebnis der Kombination dieser Bestimmungen die genügend genaue Kenntnis der Fundamentalgröße  $W$ , der *Arbeit*, welche zur *Erzeugung eines Ionenpaares* in einem Gas der Strahlung im Mittel entzogen wird. Ihr Zahlenwert beträgt in Luft

$$W \cong 34,0 \text{ eV/Ip.} \cong 54,4 \cdot 10^{-12} \text{ erg/Ip.}$$

Für andere Strahlungen und andere Gase können die entsprechenden Energien der nachfolgenden Tabelle 1 entnommen werden.

Tabelle 1. Arbeit pro Ionenpaar  $W$  in eV verschiedener Strahlungen in verschiedenen gasförmigen Stoffen

Partikel	He	Ar	H <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	Luft	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub>
Elektronen (Mittelwerte)	42,3	26,4	36,3	34,9	34,0	30,9	33,0	27,3	26,2	24,7	
Elektronen von 2 MeV- Röntgenstrahlen		25,5		34,8	33,9	30,9	32,6	26,8			26,3
Protonen, 340 MeV		25,5	35,3	33,6	33,3	31,5					
Po- $\alpha$ -Strahlen	42,7	26,4	36,3	36,6	35,5	32,5	34,5	29,2	28,0	26,6	
Pu- $\alpha$ -Strahlen	42,0	26,3		36,4	35,6	32,9	34,2	29,1	28,0		25,9

Es ist für die Einsicht in die Einzelheiten irgendwelcher chemischer (und biologischer) Strahlenwirkungen höchst bedeutsam, daß die Energie, welche verschiedenen gasförmigen Systemen zur Bildung eines Ionenpaares übermittelt werden muß, relativ geringen Variationen unterliegt, und daß dieselbe auch von der Strahlenenergie und -qualität nur unerheblich beeinflußt wird. Daraus muß die zwingende Folgerung abgeleitet werden, daß wesentliche Wirkungsunterschiede bei verschiedenen Systemen nach Bestrahlung *nicht* mit Verschiedenheiten der *primären* Strahlenwirkungen in Zusammenhang gebracht werden können, sondern auf verschiedenen sekundären Reaktionsverläufen in diesen (verschiedenen) Systemen beruhen müssen. Was als Strahlenwirkung in Erscheinung tritt, ist das Ergebnis dessen, was im bestrahlten System kraft seiner Zusammensetzung, seiner Phase und seines Energiezustandes ablaufen muß oder kann. „Empfindlichkeitsunterschiede“ verschiedener Systeme gegenüber ionisierenden Strahlungen sind demnach Unterschiede der Reaktionsmöglichkeiten hinsichtlich der beobachteten Strahlenänderungen.

## 2. Strahlenchemische Ausbeute

Das Ziel strahlenchemischer Untersuchungen besteht, wie vorstehend bereits in allgemeiner Form angedeutet, in der restlosen, widerspruchslosen und quantitativen Verknüpfung der durch die Strahlung verursachten chemischen Umwandlungen mit der dem betrachteten System aus der Strahlung übermittelten Energie. Das wichtigste Ergebnis einer strahlenchemischen Untersuchung ist demnach in Form einer *Stoffmenge pro Energieeinheit* auszudrücken. Diese *strahlenchemische Ausbeute* ist also ihrer Dimension nach identisch mit dem *Kehrwert der Reaktionsenergie* („Bildungswärme“). Genau wie die Reaktionswärme nur die Potentialdifferenz zwischen Ausgangs- und Endprodukt darstellt und allein über die Zwischenglieder und deren Potentiale nichts auszusagen vermag, ist auch die strahlenchemische Ausbeute eine algebraische Summe über alle Stoffsysteme und deren Potentiale, welche an der beobachteten Nettoumwandlung beteiligt waren. Zusätzlich müssen aber stets Energieverluste sehr erheblichen Ausmaßes in Betracht gezogen werden, da ja nur ein Teil der nach ihrer Topologie sehr weiten Verteilung der Energie auf die verschiedenen Möglichkeiten im Sinne der beobachteten Reaktion wirksam sein kann. Der Energieverbrauch aus Strahlung, bezogen auf eine Elementarreaktion, muß also mindestens ebenso groß, in den meisten Fällen aber wesentlich höher sein als die Potentialdifferenz zwischen Ausgangs- und Endprodukt der strahlenchemischen Reaktion. Ausnahmen von dieser Forderung (des Energieprinzips) sind nur möglich bei exothermen Kettenreaktionen.

Es ist eine Frage der allgemeinen Konvention, in welcher Einheit die strahlenchemische Ausbeute ausgedrückt werden soll. Inhaltlich muß sie der Dimension  $\left[ \frac{dM}{dE} \right] = \left[ \frac{g}{erg} \right]$  entsprechen. Im Hinblick auf die Besonderheit der Energieumsätze bei Bestrahlung mit ionisierenden Strahlungen, die eben gerade in der Möglichkeit der Ionisierung liegen, und im Hinblick auf die Definition und Messung der *Dosis* ionisierender Photonenstrahlungen (zwischen etwa 5 keV und 3 MeV), welche beide auf der Ionisation der Luft begründet sind, wäre es ganz ohne Zweifel sinnvoll, die Menge des umgesetzten Stoffes auf die Zahl der durch die Strahlung im bestrahlten System verursachten Ionenpaare zu beziehen

und, wie LEA (1946) und später DALE (1947) vorgeschlagen haben, in Analogie zur Quantenausbeute in der Photochemie als *Ionenausbeute* zu definieren. Leider sind Ionenzahlen nur in gasförmigen Stoffen meßbar, während in kondensierten Systemen über ihre Existenz, ihren Charakter und ihre Zahl nur spärliche und keineswegs eindeutige Informationen vorliegen. Es wäre deshalb in einer solchen Definition eine mit fortschreitender Einsicht nicht haltbare Unklarheit enthalten. So ist von MINDER (1950) als Bezugsgröße der Energie der *W*-Wert von Luft (als des Meßkörpers der „Ionendosis“) in Vorschlag gebracht und später von MILLER (1952) unterstützt worden. Danach ist die Ionenausbeute durch

$$\frac{M}{N} = \frac{\text{Reaktionen}}{34 \text{ eV}}$$

eindeutig definiert und, was wesentlich schien, sachlich mit den Besonderheiten der Primärwirkungen ionisierender Strahlungen verbunden.

Der von BURTON (1952) gemachte Vorschlag, die Umsatzzahl strahlenchemischer Reaktionen auf die (vollständig willkürliche und weder molekularenergetisch noch meßtechnisch begründete) Energiegröße von 100 eV zu beziehen, hat in der Folge allgemeine Annahme gefunden. Danach wird der *G*-Wert eines strahlenchemischen Umsatzes definiert als

$$G = \frac{\text{Reaktionen}}{100 \text{ eV}},$$

wobei durch ein *Minuszeichen* der strahlenchemische *Verbrauch*, durch einen *positiven G*-Wert die strahlenchemische *Bildung* eines Stoffes zum Ausdruck gebracht wird. Das in Frage stehende „Molekül“ wird dem Symbol *G* sinnvollerweise in Klammer nachgesetzt. Es bedeutet also *G*(*R*) die Zahl der pro 100 eV im bestrahlten System gebildeten *Stoffeinheiten* (Moleküle, Ionen, Radikale, Atome) der Zusammensetzung *R*,  $-G(R)$  oder besser *G*( $-R$ ) die entsprechende Zahl verbrauchter Stoffeinheiten. Es müßte demnach bei vollständig bekanntem Reaktionsgeschehen die stöchiometrische Gleichheit

$$G(-A) = \sum n_i G(R_i)$$

gelten, wenn *A* das Ausgangsprodukt, *R*<sub>1</sub>, *R*<sub>2</sub>, . . . die verschiedenen Reaktionsprodukte und *n*<sub>*i*</sub> deren Polymerisationskoeffizienten darstellen.

Die Symbolik der Ausbeutewerte hat seit dem ursprünglichen Vorschlag von BURTON (1952) eine nicht unbedingt notwendige und für den dem direkten Kontakt mit der Strahlenchemie ferner stehenden Leser sicher etwas verwirrende Erweiterung erfahren. Von mehreren Autoren werden die Symbole *G*(*R*) resp. *G*( $-R$ ) ausschließlich für die durch die Analyse erfaßbaren gebildeten End- resp. verbrauchten Ausgangsprodukte des strahlenchemischen Umsatzes verwendet. Ausbeutewerte von Zwischenprodukten werden dann meist durch Beifügen des dem Produkt entsprechenden Index, also durch *G*<sub>*R*</sub>, ausgedrückt. Dieses Symbol wird nun aber von anderen Autoren häufig auch an Stelle von *G*(*R*) verwendet. Neuerdings haben HART und PLATZMAN (1961) für Radikal- und Molekularprodukte das Symbol *g*(*R*) in Vorschlag gebracht. Damit ist die Symbolik nun keineswegs mehr einheitlich und infolgedessen für den Außenstehenden das Verständnis erschwert. Es ist deshalb in den nachfolgenden Darstellungen auf die erwähnten Erweiterungen mit Absicht verzichtet worden, und das Symbol *G*(*R*) steht für alle Ausbeutewerte, gleichgültig ob dieselben direkt experimentell nachgewiesen oder aber berechnet sind, gleichgültig ob die in Frage stehende Stoffeinheit stabil und damit nachweisbar oder aber instabil und damit nur von kurzer Lebensdauer oder gar hypothetisch sei.

### 3. Dosimetrische Grundlagen

Die Bestimmung der Ausbeutezahlen strahlenchemischer Reaktionen setzt einerseits die quantitative Analyse der Reaktionsprodukte und andererseits die Kenntnis der vom bestrahlten System aufgenommenen Strahlenenergie voraus. Die letztere ist Aufgabe

und Ziel der *Strahlendosimetrie*. Es liegt im Wesen des Gegenstandes der Dosimetrie, daß dieselbe weder in ihren theoretischen Grundlagen noch in ihrer konkreten Durchführung einfach sein kann.

Zunächst kann die Messung einer Energie beliebiger Form grundsätzlich nur *mittelbar* auf Grund einer *Wirkung* durchgeführt werden, und die Entscheidung, welche Wirkung zur Messung herangezogen werden soll, ist vollständig willkürlich. Weiter sind die Energien, welche in der Strahlendosimetrie gemessen werden müssen, relativ zu trivialen Energieumsätzen gesprochen, klein bis sehr klein, so daß konventionelle Meßverfahren, wie z. B. die Calorimetrie, höchste Sorgfalt und einen sehr hohen experimentellen Aufwand erfordern, wenn das Ergebnis hohe Genauigkeitsansprüche erfüllen soll. Die Hauptschwierigkeit aber resultiert aus der weitgehenden Inkonstanz der bei der Messung verwendeten Parameter über den Qualitätsbereich der zu messenden Strahlungen.

Durch eine in den letzten Jahren erfolgte Auflockerung der Einheiten der Strahlendosis einerseits und den Verzicht auf die definitionsmäßige Festlegung eines Standardverfahrens der Messung andererseits hat man versucht, den obgenannten Schwierigkeiten gerecht zu werden. Im Grunde genommen handelt es sich aber nur um eine Verlagerung derselben von der Definition weg auf deren konkrete Realisierung.

In vollem Bewußtsein dieser unbefriedigenden Situation definiert und mißt man die („*Expositions*“-)*Dosis* von Photonenstrahlungen in „*Röntgen*“ (*R*) als „derjenigen Röntgen- oder  $\gamma$ -Strahlenmenge, welche in 0,001293 g Luft durch die in derselben verursachten Corpuscularemission so viele Ionen erzeugt, daß deren Ladung 1 ESE jedes Vorzeichens beträgt“, und die *absorbierte Dosis* in „*rad*“ als „der Energieaufnahme von 100 erg/g am interessierenden Ort des bestrahlten Systems“, ohne Rücksicht auf die Qualität der Strahlung und auf die Qualität des Systems.

Während in der Definition der (Expositions-)Dosis von Photonenstrahlungen (bis 3 MeV) das Prinzip ihrer meßtechnischen Konkretisierung enthalten, ja vorgeschrieben ist und damit die Dosisdefinition von der reinen Logik weg bewußt auf das experimentelle Feld ihrer Realisierung verschoben wird, ist die Definition der absorbierten Dosis logisch vollkommen, ihre meßtechnische Darstellung aber vollständig offen gelassen. Hier liegt nun ohne Zweifel ihre grundsätzliche und äußerst schwer überbrückbare Schwäche. Es gibt nämlich kein Meßprinzip, geschweige denn ein tatsächliches Meßverfahren, welches die am „interessierenden Ort“ eines konkreten Systems aus einem Strahlenfeld dem System pro g übermittelte Energie (in erg) ohne Zuhilfenahme mehrerer Parameter fremder Provenienz oder ohne Vereinfachungen oder Vernachlässigungen sicher zu erfassen gestattet. So ist auch die calorimetrische Messung der absorbierten Dosis — das sicher grundsätzlich bei weitem sauberste Verfahren — (abgesehen von seinen sehr großen experimentellen Schwierigkeiten) keineswegs einwandfrei, da ja z. B. in Festkörpern unter Umständen sehr erhebliche Energiebeträge in metastabilen Zuständen (Farbzentren, Thermoluminescenz, paramagnetische Zentren, Kristallgitteränderungen, *Wigner*-Effekt) auch bei Normaltemperatur über teilweise fast beliebig lange Zeiten nach Bestrahlung fixiert bleiben können. Ebenso wenig kann aber die Induktion chemischer Reaktionen durch Strahlung in irgendeinem konkreten System wirklich vollständig abgeschlossen werden. Alle Festkörper enthalten Verunreinigungen und Gaseinschlüsse (okkludiert oder gelöst), welche zu (exothermen oder endothermen) Reaktionen mit der Matrix aktiviert werden können, und in allen Flüssigkeiten (selbst in der wohl strahlenchemisch trügsten, dem Quecksilber) sind durch Bestrahlung (exotherme oder endotherme) Strukturwandlungen zwischen den atomaren Einheiten möglich, da ja bei Bestrahlung grundsätzlich alle Anregungsstufen aktiviert werden können.

Wenn auch die erwähnten Fehlermöglichkeiten der calorimetrischen Messung der absorbierten Dosis teilweise sicher als vernachlässigbar gering angesehen werden dürfen, so sollte durch diese Hinweise doch gezeigt werden, welche Schwächen die logisch so elegante Definition des „*rad*“ in sich schließt. Infolgedessen werden, abgesehen von wenigen grundsätzlichen Laboratoriumsversuchen, deren Bedeutung hier nicht in Frage

gestellt werden soll — im Gegenteil —, praktisch alle „absorbierten Dosen“ auf dem Umweg über die Luftionisation oder durch Vergleich mit derselben bestimmt. Das gilt sowohl für Eichmessungen an Systemen, die nicht auf der Gasionisation basieren, als auch besonders für die weitaus meisten „praktischen“ Dosismessungen. Dabei dient die Beziehung

$$1 \text{ R} = 0,876 \text{ rad (Luft)}$$

als durch die Genauigkeit des Wertes  $W \hat{=} 34,0 \text{ eV}$  bestimmte Grundlage zur Umrechnung, wobei für andere Systeme die allgemeine Geltung der unter der Bezeichnung *Bragg-Gray-Prinzip* (1911, 1938) bekannten Überlegungen angenommen wird. Dieses soll kurz wie folgt erläutert werden:

In einem *homogenen* Medium, dessen Dimensionen allseitig viel größer sind als die Reichweite der (zu messenden) ionisierenden Partikel in demselben, soll sich ein gegen die Reichweite der Partikel kleines Luftvolumen befinden. Wird nun dieses Medium *homogen bestrahlt*, d. h. so, daß in jedem Volumenelement  $dV$  desselben dieselbe Energie  $dE$  der Strahlung entzogen wird, so wird durch das (kleine) Luftvolumen die Energieübertragung  $\frac{dE}{dV} = \text{konst.}$  nicht gestört. In dem Luftvolumen werden pro Masseneinheit Luft (und pro Zeiteinheit)  $J_L$  Luftionenpaare erzeugt. Dazu ist pro Ionenpaar die Energie  $W$  notwendig. Die der Masseneinheit Luft aus der Strahlung übermittelte Energie ist also

$$E_L = J_L \cdot W .$$

Sind die vorstehenden (idealen) Voraussetzungen gültig, so läßt sich die der Masseneinheit des Mediums übermittelte Energie  $E_M$  berechnen nach

$$E_M = E_L \frac{S_M}{S_L} = \frac{S_M}{S_L} \cdot J_L \cdot W ,$$

wenn  $S_M$  und  $S_L$ , die *Massenbremsvermögen* des Mediums (Index  $M$ ) und der Luft (Index  $L$ ), für die in Frage stehende Strahlung bekannt sind. Das *Bragg-Gray-Prinzip* regelt somit den Zusammenhang zwischen der sog. „Ionendosis“ und der absorbierten Dosis („Energiedosis“).

In Tabelle 2 sind relative Massenbremsvermögen von Elektronen verschiedener Energie in verschiedenen Grundstoffen im Vergleich zu Luft wiedergegeben.

Tabelle 2. *Relative Massenbremsvermögen für Elektronen verschiedener Energie in verschiedenen Grundstoffen im Vergleich zu Luft = 1,000 (NBS)*

Element	Z	0,01 MeV	0,1 MeV	1 MeV	5 MeV	10 MeV	20 MeV
H	1	2,744	2,520	2,391	2,317	2,292	2,270
He	2	1,248	1,174	1,132	1,108	1,099	1,093
C	6	1,035	1,025	1,019	1,015	1,015	1,014
N	7	1,005	1,004	1,003	1,002	1,002	1,001
O	8	0,980	0,986	0,990	0,992	0,993	0,994
Al	13	0,853	0,887	0,906	0,916	0,920	0,924
Ca	20	0,798	0,859	0,893	0,911	0,918	0,923
Cu	29	0,665	0,746	0,782	0,805	0,814	0,822
Ag	47	0,552	0,648	0,703	0,732	0,743	0,753
W	74	0,439	0,549	0,611	0,646	0,658	0,670
Pb	82	0,415	0,528	0,592	0,627	0,640	0,652
U	92	0,388	0,504	0,570	0,605	0,618	0,630

Es soll aber nicht unerwähnt bleiben, daß der wichtigste Parameter der *Bragg-Gray-Beziehung*, das Verhältnis der Massenbremsvermögen nicht unmittelbar experimentell bestimmbar ist, sondern in seinen wesentlichen Inhalten aus der Theorie der Energieabgabe der Strahlung an ein Medium folgt. Dieselbe beträgt pro cm Bahnlänge

$$\frac{dE}{dx} = - \frac{4\pi e^4 z^2}{M_0 v^2} \cdot \frac{N \cdot \rho}{A} B .$$

Darin bedeuten  $e$  die Elektronenladung,  $z$  die Ladung,  $M_0$  die Ruhemasse und  $v$  die Geschwindigkeit der Partikel, ferner  $\frac{N \cdot e}{A}$  die Zahl der Atome pro  $\text{cm}^3$  des schwächenden Stoffes und

$$B = Z \left[ \lg \frac{2 M_0 v^2}{I} - \lg (1 - \beta^2) - \beta^2 \right]$$

dessen „Bremszahl“. Die Größe  $\beta = \frac{v}{c}$  entspricht der relativen Partikelgeschwindigkeit im Vergleich zur Lichtgeschwindigkeit, und  $I$  ist das „mittlere Anregungspotential“ der Atome der schwächenden Substanz. Dieses wird meist durch die vereinfachte Beziehung (BLOCH)

$$I \hat{=} 11,5 \cdot Z \text{ eV}$$

dargestellt und ist in dieser Form eine Näherung. Die hiermit verbundene Unsicherheit ist nicht sehr wesentlich (weil in die Gleichung ja  $\lg \frac{1}{I}$  eingeht), aber doch für eine Definitionsmessung natürlich von grundsätzlicher Bedeutung.

Das Massenbremsvermögen ist gegeben durch

$$S = \frac{1}{\rho} \cdot \frac{dE}{dx}$$

und schließlich das relative Massenbremsvermögen im Vergleich zu Luft

$$\frac{S_M}{S_L} \hat{=} \frac{A_L}{A_M} \cdot \frac{Z_M (\lg 2 m_0 v^2 - \lg I_M)}{Z_L (\lg 2 m_0 v^2 - \lg I_L)}$$

Auf diesen Grundlagen sind die Zahlenwerte der vorstehenden Tabelle 2 bestimmt worden.

Für Photonenstrahlungen darf an Stelle des Massenbremsvermögens (der durch die Strahlung verursachten Elektronen) mit für praktische Zwecke genügender Annäherung das Verhältnis der *wirksamen Massenschwächungskoeffizienten*, also

$$E_M = E_L \cdot \frac{(\mu - \sigma_s)_M \cdot \rho_L}{(\mu - \sigma_s)_L \cdot \rho_M},$$

verwendet werden. In Tabelle 3 sind zu deren Berechnung die Massenstreuoeffizienten und deren Anteile  $\frac{\sigma_a}{\rho}$  (Elektronenanteil) und  $\frac{\sigma_s}{\rho}$  (Streuphotonenanteil) für Wasser bei verschiedenen Photonenenergien wiedergegeben.

Tabelle 3. *Massenstreuoeffizienten und deren Anteile in Wasser für verschiedene Photonenenergien*

Photonen- energie in keV	$\frac{\sigma}{\rho}$	$\frac{\sigma_a}{\rho}$	$\frac{\sigma_s}{\rho}$	Photonen- energie in MeV	$\frac{\sigma}{\rho}$	$\frac{\sigma_a}{\rho}$	$\frac{\sigma_s}{\rho}$
5	0,218	0,002	0,216	1	0,071	0,031	0,040
10	0,214	0,004	0,210	2	0,049	0,026	0,023
20	0,206	0,008	0,198	4	0,032	0,019	0,013
40	0,194	0,013	0,181	10	0,017	0,012	0,005
100	0,164	0,023	0,141	20	0,010	0,007	0,003
200	0,136	0,029	0,107	40	0,0058	0,0045	0,0013
400	0,106	0,033	0,073	100	0,0027	0,0022	0,0005

Zur Bestimmung der strahlenchemischen Ausbeute ist es nun erforderlich, die Einheiten der (Expositions- und der absorbierten) Strahlendosis in eV umzurechnen. Die entsprechenden Umrechnungszahlen betragen

$$1 \text{ rad} = 62,42 \cdot 10^{12} \text{ eV/g}$$

und

$$1 \text{ R} = 54,7 \cdot 10^{12} \text{ eV/g Luft.}$$

Liegt demnach eine Dosismessung in R vor und soll mit derselben ein Ausbeutewert in einem Stoff  $M$  bestimmt werden, so muß der vorstehende Umrechnungsfaktor nach der *Bragg-Gray*-Beziehung noch mit dem Verhältnis der Massenbremsvermögen korrigiert werden nach

$$1 \text{ R} = 54,7 \cdot 10^{12} \cdot \frac{S_M}{S_L} \text{ eV/g}.$$

Wird als Umsatzzahl der  $G$ -Wert (Anzahl Reaktionen pro 100 eV) verwendet, so resultieren schließlich die folgenden Relationen der umgesetzten zur nicht umgesetzten Stoffmenge:

$$1 \text{ rad} = 1,04 \cdot 10^{-12} \cdot M \cdot G \text{ Reaktionen pro Molekül}$$

und

$$1 \text{ R} = 0,911 \cdot 10^{-12} \cdot \frac{S_M}{S_L} \cdot M \cdot G \text{ Reaktionen pro Molekül,}$$

wenn  $M$  das Molekulargewicht der Substanz bedeutet.

#### 4. Chemische Nachweisverfahren<sup>1</sup>

Für den Nachweis des strahlenchemischen Umsatzes sind selbstverständlich grundsätzlich alle Verfahren der quantitativen analytischen Chemie geeignet. Die Auswahl des Nachweisverfahrens wird aber durch die Anforderungen an höchste Empfindlichkeit einerseits und durch die Natur des bestrahlten Systems andererseits weitgehend vorgeschrieben. Wenn man das Verhältnis der durch die Strahlung umgewandelten Moleküle  $N$  zur Zahl der unveränderten  $N_0$  nach CHARLESBY (1958) in der vereinfachten Form

$$\frac{N}{N_0} \hat{=} 10^{-6} \cdot M \cdot G / \text{Mrad}$$

( $M$ : Molekulargewicht,  $G$ :  $G$ -Wert, vgl. S. 43) in Betracht zieht, so ist ohne weiteres verständlich, daß z. B. gravimetrische Analysenmethoden bei nicht extrem hohen Strahlendosen nicht verwendet werden können. Weiter muß in diesem Zusammenhang erwähnt werden, daß Strahlendosen von der Größenordnung 100—1000 rad, welche bei biologischen Objekten sehr tiefgreifende Veränderungen der Lebensäußerungen bewirken können, am chemischen Umsatz, etwa des Wassers des Objektes, analytisch nicht erfaßbar sind. Handelt es sich aber andererseits um Stoffe mit sehr hohem Molekulargewicht und werden durch die Strahlung solche Moleküle im Sinne einer vollständigen Eliminierung aus den Lebensprozessen verändert, dann genügen schon relativ kleine Dosen, um relativ sehr große Mengen derselben zu verändern, wie die vorstehende Tabelle 4 nach MINDER (1956) für eine Totalbestrahlung eines Menschen von 70 kg Gewicht zeigt. Dieselbe wurde berechnet für eine Strahlendosis von 500 R und einen totalen  $G$ -Wert von 6.

Während also im Körper eines erwachsenen Menschen durch die (mittlere Letal-)Dosis von 500 R insgesamt nur etwa 3 mg Wasser chemisch verändert werden, wäre die entsprechende Menge für Serumalbumin etwa 14 g und für DNS fast 4 kg. Dabei wären allerdings bei den beiden letztgenannten Stoffen die chemischen Änderungen (z. B. Abspaltung eines H-Atoms, Bruch einer Atombindung, Isomerisierung) chemisch-analytisch kaum nachweisbar und vielleicht auch kaum biologisch wirksam.

Tabelle 4. Durch 500 R veränderte Mengen verschiedener Stoffe bei  $G = 6$  und 70 kg Totalgewicht bei Ganzbestrahlung

Stoffe	Molekulargewicht	Menge in g
Wasser	18	0,003
Cystein	121	0,023
Adenylsäure	347	0,065
Triglycerid	836	0,157
Glykogen	3 640	0,685
Ribonuclease	14 000	2,635
Pepsin	36 000	6,76
Serumalbumin	73 000	13,72
Urease	483 000	90,7
Hämocyanin	6 600 000	1240
DNS	20 000 000	3760

<sup>1</sup> Vgl. z. B. WEISSBERGER: Physical Methods of Organic Chemistry, 1945.

Unter experimentellen Bedingungen (bei Großbestrahlungen in Reaktoren ist die Sachlage anders) können deshalb zur Erfassung strahlenchemischer Reaktionsprodukte nur die allerempfindlichsten analytischen Methoden verwendet werden. Diese sind:

- a) Manometrie,
- b) Viscositätsmessungen,
- c) Chromatographie und Elektrophorese,
- d) Titration,
- e) Colorimetrie und Spektralphotometrie,
- f) pH-Messung und Konduktometrie,
- g) Radioisotopennachweis,
- h) Mikrowellenspektroskopie,
- i) Massenspektroskopie.

All diesen erwähnten Verfahren kommt aber stets nur ein beschränkter Anwendungsbereich zu, und ihre Empfindlichkeiten sind sehr unterschiedlich. Ihre Verwendbarkeit nimmt grob etwa in der Reihenfolge der vorstehenden Aufzählung zu.

#### a) Manometrie

Abgesehen von den mit der strikten Temperaturstabilisation verbundenen Schwierigkeiten kann dieses Meßverfahren grundsätzlich sehr empfindlich gestaltet werden. Es ist aber nur zum Nachweis gasförmiger Reaktionsprodukte verwendbar. Besondere Bedeutung hat es zur Messung der molekularen Abbauprodukte des Wassers  $H_2$  und  $O_2$  gefunden. Zweifelsohne sind die Differenzen der Ausbeutewerte, wie sie bis vor kurzem noch zur Diskussion standen (vgl. S. 70 ff.), teilweise auf die technischen Schwierigkeiten der verlässlichen Messung sehr geringer Druckunterschiede zurückzuführen. Demgegenüber konnte erstmals von BREGER (1952) der Umsatz bei Bestrahlung von höheren Fettsäuren im Vakuum durch Druckmessungen und nachfolgende Gasanalyse bestimmt werden.

Mit Hilfe eines sehr geeigneten Ausgleichsmanometers haben HART und GORDON (1954) die Zersetzung des Wassers in  $H_2$  und  $O_2$  nach Abwarten der  $H_2$ - und  $H_2O_2$ -Sättigung bei Bestrahlung einer  $10^{-3}$  n-Lösung von KJ mit verschiedenen Strahlungen ( $^{60}Co$ - $\gamma$ -Strahlen, Neutronen verschiedener Energie und Reaktorstrahlungen) gemessen. Die Ergebnisse waren genau genug, um aus denselben eine verlässliche Dosisbestimmung der Reaktorstrahlung durchführen zu können.

Von besonderem Interesse erscheint die Messung der Druckzunahme bei der Bestrahlung von Stickoxydul  $N_2O$  unter Bildung von  $N_2$ ,  $O_2$  und  $NO_2$  nach DONDES (1956). Diese einfache Gasreaktion unter Bestrahlung erlaubt nicht nur eine wohl widerspruchsfreie Formulierung ihrer wichtigsten Einzelheiten, sondern ihr Verlauf mit steigender Dosis macht sie auch zu einem der besten Dosismessverfahren für sehr hohe Strahldosen zwischen etwa  $10^8$  und  $10^{10}$  rad.

#### b) Viscositätsmessung

Bekanntlich ist die Viscosität einer Flüssigkeit der meßbare Ausdruck für die Kräfte, welche aufgewendet werden müssen, um die Moleküle, aus denen die Flüssigkeit aufgebaut ist, gegeneinander zu verschieben, also der „inneren Reibung“. Diese ist allgemein abhängig von der Größe der Moleküle, der Molekülform und von den gegenseitigen zwischenmolekularen Bindungsverhältnissen. Die Viscositätsmessung ist also ein Mittel, um über Änderungen dieser Parameter, welche durch äußere Maßnahmen, wie z. B. durch Bestrahlung, verursacht werden, Aufschluß zu erhalten. Dabei werden die Meßschwierigkeiten sehr erheblich reduziert, wenn man sich auf Relativmessungen, z. B. im Vergleich zum reinen Lösungsmittel der in Frage stehenden Substanz, beschränken kann. Für wäßrige Lösungen bezeichnet man das Verhältnis der Viscosität einer Lösung zu derjenigen des Lösungsmittels Wasser  $\eta_0$  als *spezifische Viscosität*. Diese dimensionslose Größe ist nach der sog. *Staudingerschen* Regel in erster Näherung dem Molekulargewicht  $M$

des gelösten Stoffes, falls diesen aus fadenförmigen Molekülen besteht, und natürlich seiner Konzentration  $c$  proportional; also

$$\eta_{sp} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} \hat{=} k \cdot c \cdot M.$$

Werden demnach durch Bestrahlung große, insbesondere fadenförmige Moleküle depolymerisiert, so muß die spezifische Viscosität entsprechend absinken.

WEGMÜLLER (1942) hat wohl als erster den Strahlenabbau des Na-Salzes der *Thymonucleinsäure* auf Grund des Abfalles der spezifischen Viscosität näher verfolgt und damit die Spaltung dieses biologisch so bedeutsamen Makromoleküls in Wasser durch ionisierende Strahlungen nachgewiesen. Die von ihm gefundenen Ergebnisse sind in Abb. 1 dargestellt. SPARROW und ROSENFELD (1946) haben diesen Versuch wiederholt und bestätigt. Zusätzlich wurde von ihnen auch die Depolymerisation von Thymonukleohiston durch Bestrahlung nachgewiesen. Die Viscositätsmessung allein erlaubt keine eindeutige Molekulargewichtsbestimmung der Strahlenfragmente hochpolymerer Stoffe im Sinne der obigen Regel, sondern nur eine qualitative Angabe über die mittlere Molekulargewichtsänderung. Deshalb ist ihr Anwendungsbereich leider beschränkt.

### c) Chromatographie und Elektrophorese

Diese beiden neuen, bei kleinen Stoffmengen besonders zur qualitativen Untersuchung sehr geeigneten Analysenverfahren haben in der Strahlenchemie und Strahlenbiologie noch keineswegs die ihnen gebührende Beachtung gefunden. Die hervorragende Trennfähigkeit beider Methoden, besonders derjenigen der 2-dimensionalen Papierchromatographie und der Gaschromatographie in Verbindung mit zusätzlichen quantitativen Möglichkeiten, wie z. B. der radioaktiven Markierung, müßte mit relativ geringem Aufwand zu sehr brauchbaren Ergebnissen führen. Eine derartige Untersuchung von MINDER (1955) hat ergeben, daß bei Bestrahlung von *Dijodtyrosin* neben der von BARRON (1954) am *Tyrosin* nachgewiesenen  $\text{NH}_3$ -Bildung zusätzlich noch mindestens zwei weitere Spaltprodukte in größeren Mengen entstehen, von denen das eine jodfrei und von geringem Molekulargewicht ist, während das andere höchstwahrscheinlich dem p-Jodkresol entspricht.

Chromatographie in Verbindung mit *Ultraviolettflorescenzanalyse* wurden von MAURER (1959) und seinen Mitarbeitern RÜFER (1956) und FLEISCHER (1957) zur Untersuchung des Strahlenabbaues von *Riboflavin* und *Thiamin* verwendet. Dabei wurden auch spektralphotometrische Messungen der bestrahlten Lösungen durchgeführt, und systematische Änderungen der Absorptionsspektren mit der Bestrahlung gefunden.

Die Elektrophorese ist für die Trennung hochpolymerer Stoffgemische, besonders von *Proteinen*, ausgezeichnet geeignet. Sie ist von mehreren Autoren zum Nachweis von Strahlenwirkungen auf Eiweißlösungen mit Erfolg verwendet worden. Da diese Untersuchungen aber außerhalb des Rahmens dieser Darstellung fallen, sollte die Methode nur als solche erwähnt werden, ohne auf Einzelheiten näher einzugehen.

### d) Titration

Dieses einfache, hervorragend quantitative Nachweisverfahren ist von FRICKE und MORSE (1927) erstmals zur Messung der Oxydation von Eisen(II)-Lösungen durch

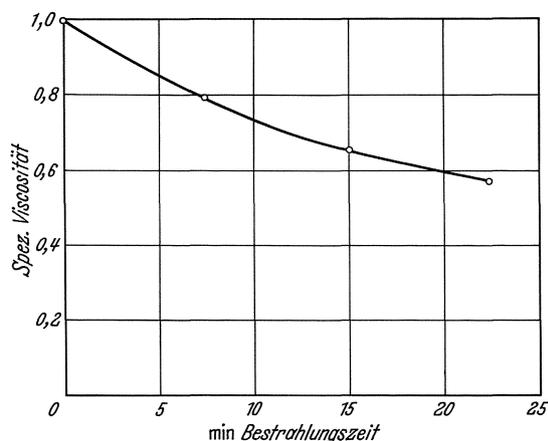


Abb. 1. Abnahme der spez. Viscosität wäßriger Lösungen des Natriumsalzes der Thymonucleinsäure bei Bestrahlung mit Röntgenstrahlen nach WEGMÜLLER (1942); Dosisleistung ca. 2000 R/min

Strahlung in Form der potentiometrischen Titration verwendet worden. Es wurden schon bei diesem ersten Versuch seine ausgezeichnete Brauchbarkeit und Widerspruchsfreiheit für die Messung bekannter, einfacher Reaktionsprodukte erwiesen. In zahlreichen Untersuchungen, die Eisen(II)-Oxydation als Dosimeterreaktion betreffend, ist die einfache Titration von MINDER u. Mitarb. (1944—1961) angewandt worden, wobei es ohne besondere Schwierigkeiten gelingt, die Konzentration der nicht oxydierten  $\text{Fe}^{++}$ -Ionen mit einer Genauigkeit von unter 1% Fehler zu messen. Die Meßbarkeitsgrenze liegt in der Größenordnung von  $10^{17}$  Ionen pro  $\text{cm}^3$ , entsprechend einer Strahlendosis von ca. 10000 R, ist also leider relativ hoch; oberhalb dieser Grenze ist aber die einfache Titration sicher genauer und sicherer als jedes andere Meßverfahren (vgl. S. 78ff.).

Selbstverständlich kann die Titration mit ihren technischen Modifikationen auch zum quantitativen Nachweis anderer Strahlenreaktionsprodukte verwendet werden. Es ist dies schon sehr frühzeitig durch GÜNTHER, v. D. HORST und CRONHEIM (1928) zum Nachweis der HCl-Bildung bei Bestrahlung von Chloroform und später durch LEFORT (1950) zum Nachweis der Oxydation von  $\text{J}^-$  und in neuerer Zeit durch ANDERSON und JOSEPH (1959) zum Nachweis der SH-Gruppen und von HARDWICK (1960) zur Messung der Oxalsäurebildung bei Bestrahlung wäßriger Lösungen von Ameisensäure geschehen.

#### e) Colorimetrie und Spektralphotometrie

Die Colorimetrie ist zur Messung der Farbänderung von gefärbten Lösungen durch Bestrahlung, besonders wenn diese in einer „Entfärbung“ bestehen, die Methode der Wahl. Liegt das Absorptionsgebiet des in Frage stehenden Stoffes außerhalb des sichtbaren Bereiches, oder wird durch die Bestrahlung ein Reaktionsprodukt gebildet, dessen Absorptionsbanden in der Nähe derjenigen des Ausgangsproduktes liegen, so muß zur Spektralphotometrie übergegangen werden, wobei dann allerdings die Eichschwierigkeiten der Messung erheblich größer werden. Besteht beispielsweise bei einer heterocyclischen Verbindung die Strahlenreaktion zu einem erheblichen Ausmaß nur in der Oxydation der Bindung eines H-Atoms oder in einer anderen geringfügigen Änderung des Moleküls, so kann die Absorptionsbande dieses Reaktionsproduktes so nahe bei derjenigen des Ausgangsstoffes liegen, daß eine Integration beider nicht mehr ohne Zuhilfenahme von teilweise willkürlichen Voraussetzungen möglich ist. Damit muß aber notwendigerweise ein Unsicherheitsfaktor in die Resultate hineingetragen werden.

Wohl die erste colorimetrische Messung einer Strahlenreaktion geschah an der „Entfärbung“ von Methylenblau in sehr verdünnter wäßriger Lösung durch CLARK und FITSCH (1931). Später haben ZIMMER (1944), GALICO und CAMERINO (1948), DAY und STEIN (1952) und MINDER und SCHOEN (1953) dasselbe Meßverfahren auf dieselbe Reaktion angewendet. ILG (1961) hat neben einer eingehenden Untersuchung der Bedingungen der Methylenblauentfärbung mit Hilfe der Colorimetrie auch die Strahlenentfärbung von Eosin bearbeitet. Mit demselben Meßverfahren wurden auch (1955) die Reduktion von Brom in wäßriger Lösung bei Bestrahlung und die Bromierung von Benzol (1956) untersucht.

Die ohne Zweifel ausgedehnteste Anwendung hat die Spektralphotometrie zur Messung der Strahlen-Oxydation von Eisen(II)-Ion gefunden. Dabei sind sowohl die direkte Messung des Anstieges der für das Eisen(III)-Ion charakteristischen Bande bei  $3045 \text{ \AA}$  wie auch der Weg über den Zusatz von Indicatoren (z. B.  $\text{SCN}^-$ -Ion) verwendet worden. Wegen der hohen Bedeutung der Eisen(II)-Oxydation, sowohl bezüglich allgemeiner Probleme der Strahlenchemie als auch als Dosimetersystem, soll auf die mit diesen Messungen des Umsatzes verbundenen Schwierigkeiten später (S. 78ff.) gründlicher eingegangen werden.

#### f) pH-Messung und Konduktometrie

Mit Hilfe der  $\text{H}^+$ -Ionenkonzentrationsmessung hat WEGMÜLLER (1942) als erster die „Hydrolyse“ von Äthylenbromid in wäßriger Lösung bei Bestrahlung unter Bildung von

Bromwasserstoffsäure verfolgt. Dieses Meßverfahren überdeckt aber einen so großen Konzentrationsbereich, daß damit sehr geringe Unterschiede, auch in der Umgebung des Neutralitätspunktes, nicht sicher erfaßt werden können. Es eignet sich deshalb nur für relativ hohe Änderungen der Acidität und kann damit nur bei relativ sehr hohen Strahlendosen zufriedenstellende Ergebnisse liefern. Dieser Nachteil haftet der Leitfähigkeitsmessung nicht an. Im Gegenteil, die *spezifische Leitfähigkeit* ist gerade im Gebiet sehr kleiner Konzentrationen gegen Änderung derselben sehr empfindlich und kann gegen diejenige des Lösungsmittels Wasser leicht durch einfache Subtraktion korrigiert werden. Wie von MINDER u. Mitarb. (1944—1954) in zahlreichen Versuchen an verschiedenen halogensubstituierten Kohlenwasserstoffen in wäßriger und nicht wäßriger Lösung gezeigt worden ist, eignet sich die Messung der spez. Leitfähigkeit in hervorragender Weise zum quantitativen Nachweis von durch Bestrahlung entstandenen *Elektrolyten*. Sicher und quantitativ erfaßbar sind damit schon Konzentrationen von der Größenordnung  $10^{-6}$  Mol/Liter. Die einzigen Voraussetzungen sind sehr reines Lösungsmittel, Fernhalten von Fremdstoffen und annähernde Konstanz der Temperatur für die Messung.

Während die pH-Messung nur auf Änderungen der Acidität (oder Basizität) durch Bestrahlung anwendbar ist, kann natürlich mit Hilfe der Leitfähigkeitsmessung Bildung oder Verbrauch beliebiger Elektrolyte erfaßt werden. Ihr Anwendungsgebiet ist deshalb viel weiter, allerdings auch unter Inkaufnahme entsprechend erweiterter Störmöglichkeiten der Ergebnisse. Von diesen erweiterten Möglichkeiten ist in letzter Zeit von LOTZ (1962) bei Bestrahlung von Chloralhydrat in Wasser und, was besonders wichtig ist, von SCHMIDT (1961) zum Nachweis geladener Spaltprodukte in bestrahltem Wasser Gebrauch gemacht worden.

#### g) Radioisotopennachweis

Von diesem höchst empfindlichen und grundsätzlich einfachen Meßverfahren ist in der anorganischen Strahlenchemie nur vereinzelt Gebrauch gemacht worden. RUDSTAM und SVEDBERG (1953) haben als erste bei der Strahlenoxydation von  $^{59}\text{FeSO}_4$ -Lösungen das  $\text{Fe}^{3+}$  in Form seiner Rhodanverbindung aus den bestrahlten Lösungen extrahiert und anschließend die Radioaktivität der Extrakte gemessen (vgl. S. 78ff.). Dabei ist die untere Meßgrenze durch die Wirksamkeit des Trennungsvorganges gegeben; was noch aus der bestrahlten Lösung abgetrennt werden kann, ist sicher auch meßbar. Dasselbe Verfahren ist neuerdings von MÜNZEL und AERNE (1960) zur chemischen Dosismessung an einer  $^{60}\text{Co}$ -Bestrahlungseinheit mit sehr guten Ergebnissen mit Hilfe des Isotops  $^{55}\text{Fe}$  verwendet worden.

Radioaktiver Isotopennachweis ist ohne Zweifel das beste Meßverfahren zur quantitativen Bestimmung der Strahlenprodukte organischer Stoffe, wenn dieselben z. B. durch Elektrophorese oder Chromatographie getrennt worden sind. Dabei würden besonders Mehrfachmarkierungen der Ausgangssubstanzen zu höchst brauchbaren und umfassenden Resultaten führen. Was diese Verfahren vor allem in der Strahlenbiochemie zu leisten imstande wären, braucht wohl nicht besonders erwähnt zu werden. An einfachen organischen Stoffen ist die radioaktive Markierung von MINDER (1955) und später von YALOW (1959) und YALOW und BERSON (1960) zum Nachweis der Strahlenprodukte des Jodtyrosins und von SHAPIRO und DICKENS (1960) zur Messung der Disulfidbildung bei der Bestrahlung von Thiollösungen verwendet worden. Ebenso sind in neuerer Zeit mehrere Bestrahlungsversuche an  $^{14}\text{C}$ -markierten Substanzen durchgeführt worden.

#### h) Die paramagnetische Resonanzabsorption

Ungepaarte Elektronen in Form von Radikalen oder Ionen in Stoffen bestimmen deren magnetische Klassenzugehörigkeit. Derartige Substanzen sind *paramagnetisch*, d. h. ihre magnetische Permeabilität  $\mu = 1 + 4\pi\kappa$  ist von 1 (leerer Raum) nur um das geringe positive Zusatzglied  $4\pi\kappa$ , der *Suszeptibilität*, verschieden. Ein Magnetfeld übt demnach auf sie eine geringe „anziehende“ Wirkung aus. Die Ursache dieser „positiven“

Kraftwirkung liegt in der Tatsache, daß die Spins der entkoppelten Elektronen durch das äußere Magnetfeld zu demselben parallel gerichtet werden. Dieser Richtung wirkt selbstverständlich die Temperatur entgegen, welche eine statistische Verteilung der Elektronenspins verursacht.

Werden nun durch eine Strahlung (cm-Wellen) geeigneter Frequenz die im Magnetfeld gerichteten Spins zum Mitschwingen (Umklappen) veranlaßt, so kann dies nur durch eine ganz bestimmte Frequenz (Resonanz) geschehen. Ein in das System eingestrahltes Spektrum muß demnach bei der Eigenfrequenz der Spins eine Absorptionslinie oder -bande aufweisen (*Elektronenspinsabsorption, paramagnetische Resonanz*).

Die Breite der Resonanzbande ist meist so gering, daß ihre quantitative Vermessung nicht durch Änderung der eingestrahlten Frequenz möglich ist. Zusätzlich möchte man natürlich eine eventuelle *Feinstruktur* der Resonanzbande feststellen. Die Resonanzbedingung lautet:

$$h\nu = g \cdot \beta \cdot H \cdot m_e,$$

wobei  $H$  die magnetische Feldstärke,  $\beta = \frac{eh}{4\pi m_0}$  das *Bohrsche* Magneton,  $\nu$  die Frequenz der eingestrahlten Mikrowellenstrahlung,  $m_e$  die magnetische Quantenzahl des Elektrons und  $g$  den „spektroskopischen Aufspaltfaktor“ bedeuten. Der letztere ist eine Konstante vom Wert  $g \hat{=} 2$ .

Beim experimentellen Vorgehen (sog. *Mikrowellenspektroskopie*) arbeitet man mit streng konstanter Frequenz  $\nu$  und variiert, was viel einfacher ist, stetig die Feldstärke  $H$ . Auf diese Weise erhält man die absorbierte Mikrowellenenergie als Funktion der Feldstärke resp.  $\frac{dE}{dH} = P(H)$  in Form eines Absorptionsspektrums. Die Zahl der absorbierenden Zentren (ungepaarte Elektronen) ist dem Integral über die Absorptionsbande proportional.

Die Anwendung der paramagnetischen Resonanzabsorptionsmessung auf die Untersuchung von Strahlenwirkungen erfordert die *Fixierung der paramagnetischen Zwischenglieder* (Radikale, eventuell Ionen) im bestrahlten System. Sie ist deshalb nur auf „feste“ Stoffe, in welchen die Primärprodukte der Molekülpaltung eine genügend lange Lebensdauer haben, anwendbar. Dies bedeutet leider eine erhebliche Einschränkung ihres Anwendungsbereiches. Andererseits stellt aber die Mikrowellenspektroskopie eine außerordentlich wertvolle Ergänzung zur Massenspektrographie dar. Die letztere ist nur an gasförmigen Systemen bei geringem Druck anwendbar und liefert die relative Anzahl und Molekularmasse der *geladenen* Molekülfragmente. Die Elektronenspinabsorption vermittelt nur die Existenz und die Anzahl der paramagnetischen Zentren, ohne über deren Natur unmittelbar Auskunft zu geben. Sie kann aber am bestrahlten System unter „normalen“ Existenzbedingungen zur Anwendung gebracht werden.

Wie besonders von ZIMMER (1959) und seinen Mitarbeitern gezeigt worden ist, bleiben durch Bestrahlung erzeugte paramagnetische Zentren (Radikale) auch in „quasifesten“ biologischen Objekten fixiert und werden damit nachweisbar. Eine Interpretation der Versuchsergebnisse hinsichtlich Zahl und eventuell Natur derselben ist hierbei aber ohne Zuhilfenahme von Hypothesen nicht möglich. Von höherer und allgemeinerer Bedeutung sind deshalb paramagnetisch Resonanzabsorptionsmessungen an bestrahlten, biologisch wichtigen Reinsubstanzen. Derartige Untersuchungen sind in neuerer Zeit z. B. von ZIMMER u. Mitarb. (1959) und besonders von BOX und FREUND (1959) durchgeführt worden. Wie eindrucksvoll dabei der Zusammenhang der durch die Strahlung bewirkten paramagnetischen Absorptionszentren mit der vom System aufgenommenen Strahlendosis sein kann, soll durch die Abb. 2 nach ZIMMER (1960) zum Ausdruck gebracht werden. Es ergibt sich dabei z. B. für Glycin eine strenge Proportionalität des Integrals des paramagnetischen Absorptionsspektrums mit der Strahlendosis, als Ausdruck für die Bildung der entsprechenden Zentren ohne vorgängige, mehrstufige Reaktionsketten. Selbstverständlich ist der proportionale Wirkungsverlauf mit der Dosis *kein* eindeutiger Beweis für eine *direkte* und unmittelbare Bildung derselben durch die Strahlung.

Die bereits erwähnten Autoren BOX und FREUND (1959) haben ihre umfassenden Messungen an bestrahlten Aminosäuren und Di- und Tripeptiden weitergehend und bezüglich des pauschalen Strahlenumsatzes quantitativ ausgewertet. Dabei war es zunächst erforderlich, die Umsatzzahl ( $G$ -Wert) als solche zu definieren. Als  $G$ -Wert der durch die Mikrowellenspektroskopie erfaßbaren Strahlenwirkungen schlagen die Autoren die *Zahl der ungepaarten Elektronen* im bestrahlten System vor, welche durch 100 eV absorbiertener Strahlenenergie verursacht worden sind. Mit Sicherheit darf dazu gesagt werden, daß diese Zahl annähernd mit derjenigen der Molekülfragmente übereinstimmen muß, da Biradikale und eventuell zweiwertige Ionen mit ungepaarten Elektronen selten sind. Allerdings muß in diesem Zusammenhang nachdrücklich erwähnt werden, daß durch die so gemessenen Umsatzzahlen nur die Zahl der ungepaarten Elektronen *im Zeitpunkt der Messung* erfaßt werden kann. Dabei ist es durchaus möglich, daß im Zeitintervall zwischen Bestrahlung und Messung (beide Zeiten eingeschlossen) ein erheblicher Anteil der tatsächlich durch die Strahlung gebildeten Zentren durch Umsätze mit ihrer Umgebung wieder verlorengegangen sind. Leider liegen, abgesehen von solchen an Eis, bisher noch keine Messungen der Zentrenzahl in Abhängigkeit von der Zeit nach der Bestrahlung (zur Extrapolation auf  $t = 0$ ) vor, ebenso fehlen, wieder mit wenigen Ausnahmen (im jetzigen Stadium kurz nach der Einführung dieser hochinteressanten Untersuchungsmethode), quantitative Messungen der Zentrenzahl bei Bestrahlung (und Messung) in der Umgebung des absoluten Nullpunktes der Temperatur, bei welcher die primär gebildeten Produkte unter Ausschluß von Weiter- oder Rückreaktionen „eingefroren“ werden müßten.

Unter den vorerwähnten Konzeptionen ergibt sich der  $G$ -Wert der ungepaarten Elektronen zu

$$G = \frac{100 \cdot k}{D \cdot M \cdot f} \int P_{(H)} dH .$$

Dabei bedeuten

$k$  = Eichfaktor der Apparatur, bestimmt an paramagnetischer Substanz mit bekannter Zahl ungepaarter Elektronen, z. B.  $\text{CrCl}_3$ ;

$\int P_{(H)} dH$  = Integral der Mikrowellenkraftabsorption über die Absorptionsbreite;

$D$  = Strahlendosis in R;

$M$  = Masse des Präparates in g und

$f \triangleq 58 \cdot 10^{12} \text{ eV/g} \cdot \text{R} = \text{Umrechnungsfaktor der Dosis von R auf eV/g.}$

In Tabelle 5 sind die Messungen von BOX und FREUND an zehn Aminosäuren und zehn einfachen Polypeptiden wiedergegeben.

Die Tabelle zeigt sehr erhebliche Unterschiede in der Wirkung. Es lassen sich aber daraus kaum einfache Gesetzmäßigkeiten im Zusammenhang mit dem Molekülbau herauslesen. So wird z. B. der Abfall des  $G$ -Wertes mit der Länge des Paraffinanteiles in der Reihe Alanin —  $\alpha$ -Aminobuttersäure — Norvalin beim Norleucin (4  $\text{CH}_2$ -Gruppen) wieder rückläufig. Ebenso ist kein Zusammenhang des  $G$ -Wertes mit der Anzahl der sicher leicht angreifbaren Aminogruppen in den Polypeptiden ersichtlich. Demgegenüber darf der hohe  $G$ -Wert des Cystein-Monohydrates wohl mit dem gebundenen Wassermolekül in Zusammenhang gebracht werden.

Paramagnetische Resonanzspektren zeigen häufig eine Form, welche nicht durch eine einfache Resonanzbedingung von der vorstehenden Form dargestellt werden kann. Die

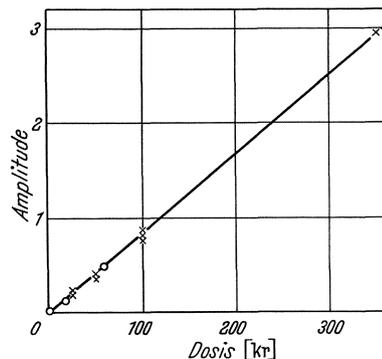


Abb. 2. Zunahme der paramagnetischen Resonanz in Glycin mit steigender Strahlendosis (nach ZIMMER 1960)

dabei vorliegende *Feinstruktur* der Absorptionsbande wird durch den Einfluß von Atomkernen in der Nachbarschaft des ungepaarten Elektrons verursacht. Solche Atomkerne mit magnetischem Moment ändern das magnetische Feld am Elektron, wobei diese Änderung von der Orientierung der Kernmomente abhängt. Dabei sind beim Kernspin  $I$  insgesamt  $2I + 1$  Orientierungen möglich. Man kann deshalb unter Voraussetzung einer

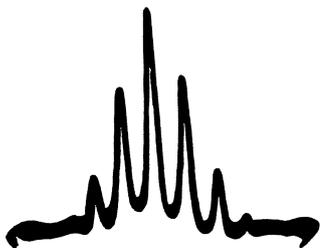


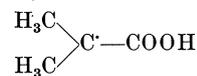
Abb. 3. Hyperfeinstruktur des paramagnetischen Resonanzspektrums von bestrahlter  $\alpha$ -Aminoisobuttersäure (nach BOX und FREUND 1959)

Tabelle 5.  $G$ -Werte aus Mikrowellenspektroskopie bestrahlter Aminosäuren und Polypeptide

Aminosäure	$G$ -Wert	Di- oder Tripeptid	$G$ -Wert
Glycin	0,7	Glycylglycin	2,3
Alanin	0,9	Glycylglycylglycin	1,3
$\alpha$ -Aminobuttersäure	0,3	Alanylglycylglycin	0,9
$\alpha$ -Aminoisobuttersäure	0,5	Leucylglycin	0,8
Norvalin	0,1	Alanylalanin	0,5
Leucin	0,5	Glycylalanin	0,7
Isoleucin	0,4	Alanylvalin	0,9
Norleucin	0,6	Glycylleucin	0,1
Cystin	0,1	Glycylnorvalin	0,1
Cystein-Monohydrat	2,6	Glycylglycylleucin	0,1

bestimmten Molekularstruktur und Ortsannahme des ungepaarten Elektrons Voraussetzen über die Form der Feinstruktur des Mikrowellenabsorptionsspektrums machen, resp. umgekehrt aus dieser Rückschlüsse auf Struktur und Elektronenort der paramagnetischen Einheit und damit über diese selbst gewinnen.

In Abb. 3 ist das Mikrowellenspektrum von bestrahlter  $\alpha$ -Aminoisobuttersäure  $(\text{CH}_3)_2 = \text{CNH}_2 - \text{COOH}$  nach BOX und FREUND (1959) wiedergegeben. Dasselbe zeigt 7 Maxima, welche dadurch zustande kommen, daß das absorbierende Elektron bei der Spinresonanz mit sechs gleichwertigen H-Kernen in Wechselwirkung steht. Diese Art der Wechselwirkung ist aber im vorliegenden Fall nur möglich, wenn das ungepaarte Elektron am  $\alpha$ -Kohlenstoffatom gebunden ist. Das durch die Bestrahlung entstandene Radikal muß deshalb die Struktur



haben, also durch Abspaltung der Aminogruppe gebildet worden sein. Diese Form der Strahlenreaktion ist bei Aminosäuren auch in wäßriger Lösung (DALE, DAVIES und GILBERT 1949, 1949 und MINDER 1956) die vorherrschende.

Es ist ohne Zweifel von Interesse, die Ausbeutezahlen für die Elektronenspinresonanzabsorption  $G(e)$  mit denjenigen der  $\text{NH}_3$ -Bildung derselben Stoffe in wäßriger Lösung (0,13 molar) zu vergleichen. Tabelle 6 gibt diesen Vergleich unter Verwendung der Ergebnisse der obengenannten Autoren wieder.

Das Verhältnis der Ausbeutezahlen variiert zwischen 2,1 und 4,4, wobei die  $G$ -Werte der  $\text{NH}_3$ -Abspaltung in wäßriger Lösung erheblich konstanter sind, als diejenigen der Zahl der ungepaarten Elektronen. Es darf angenommen werden, daß zwischen den möglichen Reaktionen



oder

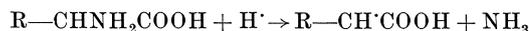
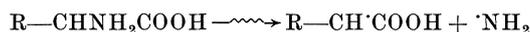


Tabelle 6. Vergleich der  $G$ -Werte der paramagnetischen Resonanzabsorption und der  $\text{NH}_3$ -Bildung in wäßriger Lösung

Substanz	$G(e)$	$G(\text{NH}_3)$	$G(\text{NH}_3)/G(e)$
Glycin	0,7	3,1	4,4
Alanin	0,9	2,7	3,0
Cystin	0,1	2,4*	—
Glycylglycin	2,3	4,8	2,1
Leucylglycin	0,9	2,5	2,8
Glycylglycylglycin	1,3	2,7	2,1

\* Wert wegen Spontanspaltung unsicher.

in wäßriger Lösung, bei denen die Aminogruppe mit Sicherheit abgespalten wird und der Strahlenumwandlung in trockenem Zustand



ein Zusammenhang zu bestehen scheint. Dieser liegt wohl darin, daß auch bei Bestrahlung in trockenem Zustand die wahrscheinlichste Molekülsplaltung in einer Abtrennung der  $\text{NH}_2$ -Gruppe besteht, wie dies aus chemischen Gründen wahrscheinlich ist (Bindungsenergie C—N nur 3,3 eV), und durch den Versuch von BOX und FREUND (1959) an der  $\alpha$ -Aminoisobuttersäure erwiesen werden konnte.

Elektronenspinresonanzuntersuchungen wurden außer an Aminosäuren besonders von LUCK und GORDY (1956) neben stickstoffhaltigen Substanzen auch an gefrorenen Alkoholen und Mercaptanen durchgeführt. Als Strahlenprodukte wurden von *Methanol* und *Äthanol* die Ionenradikale  $\cdot\text{CH}_2\dot{\text{C}}$  resp.  $\text{C}_2\text{H}_4\dot{\text{C}}$  angenommen. Später haben SMALLER und MATHESON (1959) dafür die ungeladenen Radikale  $\text{H}_2\text{C}\cdot\text{OH}$  und  $\text{CH}_3\text{HC}\cdot\text{OH}$  gemäß einem Reaktionsmechanismus unter Wasserstoffabspaltung, also z. B.



vorgeschlagen. Dieselben Autoren haben auch in festen Kohlenwasserstoffen das Vorhandensein ungepaarter Elektronen nach Bestrahlung nachgewiesen und schließlich waren schon vorher von GORDY, ARD und SHIELDS (1955) gleichartige Ergebnisse an Hydroxysäuren gefunden worden. Auf die allgemein hochwichtigen Ergebnisse der Elektronenspinresonanzmessungen an Eis soll an anderer Stelle gründlicher eingegangen werden (vgl. S. 77 ff.).

### i) Massenspektrometrie

Die auf ihre Molekularmasse zu untersuchende Substanz wird in das Massenspektrometer als *verdünntes Gas* eingeführt, durch *Elektronenstoß ionisiert*, anschließend (durch eine geeignete Kathode) beschleunigt und durch ein besonders geformtes Magnetfeld nach den Massen auf einen Empfänger focussiert. Ohne besondere Vorkehrungen registriert das Massenspektrometer somit *positiv geladene* Stoffeinheiten. Da die Aufladung derselben in der Apparatur durch in der Energie variablen Elektronenstoß erfolgt, sind die registrierten Stoffeinheiten grundsätzlich als *strahlenchemische Produkte* aufzufassen, wobei wegen der geringen Zeit zwischen Ionisation und Registrierung (Größenordnung  $10^{-6}$  s) und der niedrigen Stoffkonzentration Folgereaktionen der ionisierten Partikel innerhalb derselben, besonders aber untereinander, weitgehend vermieden werden. Das Massenspektrogramm eines definierten molekularen Stoffes gibt also quantitativ Auskunft über die innerhalb  $10^{-6}$  s ablaufenden Folgen nach positiver Ionisierung durch Elektronenstoß unter weitgehendem Ausschluß von Zwischenreaktionen. Man darf diesen Komplex von Erscheinungen mit gutem Recht als *Primärreaktionen* in der verdünnten Gasphase bezeichnen.

Die Massenspektrogramme chemischer Verbindungen, auch solcher mit einfacher Zusammensetzung, wie etwa des Wassers, sind ausnahmslos relativ sehr komplex. Neben dem positiven und eventuell negativen Ion der Ausgangssubstanz erscheinen bei mehratomigen Molekülen zahlreiche positiv (und eventuell auch negativ) geladene *Spaltprodukte*, welche als Folge des Elektronenstoßes in der Ionenquelle des Spektrometers entstanden sind. Dabei werden oftmals auch chemisch ganz ungewöhnliche Stoffpartikel beobachtet, wie z. B. vollständig dehydrogenierte Kohlenstoffgerüste bei Kohlenwasserstoffen. Die Massenspektrogramme sind der quantitative, experimentelle Beweis dafür, daß die Ionisierung eines Moleküls durch Elektronenstoß in demselben die tiefstgehenden Veränderungen verursachen kann. Als Beispiel sollen in Tabelle 7 die Ergebnisse der massenspektrometrischen Messungen von MOHLER, LANGEL und TATE (1944) an *Benzol* wiedergegeben werden.

Selbst in einem so symmetrisch, kompakt und fest gebauten Molekül wie Benzol werden durch Stoß und Ionisierung durch 72 eV-Elektronen innerhalb etwa einer  $\mu$ s über 30 z.T. höchst eigenartige, geladene Abbauprodukte verursacht (!), wobei etwa die Hälfte der von der Ionisierung betroffenen Moleküle in dieser kurzen Zeit chemische Veränderungen erleidet. Rechnet man die ungeladenen Molekülfragmente zu den beobachtbaren geladenen hinzu, so müßte sich deren Gesamtzahl auf sicher über 50 erhöhen.

Das Massenspektrogramm eines Moleküls kann über die *ungeladenen* Molekülfragmente keine Auskünfte vermitteln. Durch Einbau einer *zweiten Ionisierungsvorrichtung* in das Massenspektrometer kann dieser Nachteil zum mindesten teilweise behoben werden. Dabei ist allerdings der Umstand zu berücksichtigen, daß durch die zweite Ionisierung

weitere Reaktionen an den neutralen Fragmenten der ersten Ionisierung verursacht werden können.

Tabelle 7. *Relative Verteilung der positiven Ionen, entstanden aus Benzol nach Stoß mit 72 eV-Elektronen*

Massenzahl	Ion	Relative Häufigkeit in %	Massenzahl	Ion	Relative Häufigkeit in %
78	$C_6H_6^+$	100	39	$C_3H_3^+$	0,6
77	$C_6H_5^+$	15,2	38	$C_3H_2^+$	3,6
76	$C_6H_4^+$	4,6	37	$C_3H^+$	2,5
75	$C_6H_3^+$	1,7	36	$C_3^+$	0,3
74	$C_6H_2^+$	4,0			
73	$C_6H^+$	1,0	28	$C_2H_4^+$	0,2
72	$C_6^+$	0,2	27	$C_2H_3^+$	1,3
			26	$C_2H_2^+$	1,1
63	$C_5H_3^+$	2,6	25	$C_2H^+$	0,14
62	$C_5H_2^+$	0,6	24	$C_2^+$	0,03
61	$C_5H^+$	0,5			
60	$C_5^+$	0,2	15	$CH_3^+$	0,01
			14	$CH_2^+$	0,02
52	$C_4H_4^+$	13,5	13	$CH^+$	0,03
51	$C_4H_3^+$	15,7	12	$C^+$	0,05
50	$C_4H_2^+$	13,4			
49	$C_4H^+$	2,1	78	$C_6H_6^{++}$	1,8
48	$C_4^+$	0,3	77	$C_6H_5^{++}$	0,15
			75	$C_6H_3^{++}$	0,42
			73	$C_6H^{++}$	0,015

stößenden Elektronen ändern zu können. Es kann damit einwandfrei gemessen werden, welche Energie die Elektronen mindestens haben müssen, damit eine bestimmte Fragmentation in Erscheinung tritt. Daß dieses *Appearance-Potential* mit der Energiezufuhr zur entsprechenden Reaktion in engstem Zusammenhang stehen muß, ist selbstverständlich. Allerdings ist es mit dieser in den meisten Fällen nicht identisch. Das Appearance-Potential  $P_a$  setzt sich nach

$$P_a = P_i + P_d + E_a + E_c$$

zusammen aus *Ionisationsenergie*  $P_i$ , aus der *Dissoziationsarbeit*  $P_d$ , einer eventuellen *Anregungsenergie*  $E_a$  eines oder mehrerer Fragmente und schließlich aus der eventuellen *kinetischen Energie*  $E_c$  derselben nach und als Folge der Dissoziation. Aus der Messung des Appearance-Potentials allein können die einzelnen Anteile der obigen Energiesumme nicht bestimmt werden. Für zahlreiche Verbindungen sind aber die Ionisationspotentiale  $P_i$ , die Dissoziationsarbeiten  $P_d$  und, allerdings in weit geringerem Maße, auch die Energien für verschiedene Anregungsstufen aus z.B. optischen Messungen bekannt. In diesen Fällen erlaubt die massenspektrometrische Untersuchung einen Einblick in das Reaktionsgeschehen, wie er durch kein anderes Verfahren verschafft werden kann.

Mit der Bestimmung der Massenzahl, der Ladung und der relativen Anzahl bestimmter, geladener Reaktionsprodukte der Ionisation sind aber die Informationen der Massenspektrometrie noch keineswegs erschöpft. Wie bereits erwähnt, ist aus der Flugzeit zwischen Ionenquelle und Magnet auch die Zeit bestimmt, innerhalb der die Reaktionen ablaufen müssen. Finden aber während der Flugzeit und der Durchlaufzeit durch das Magnetfeld noch weitere chemische Änderungen statt, so muß sich dies in einer *Unschärfe* der entsprechenden Massenspektrenlinien äußern. Hieraus sind Rückschlüsse auf die relative Beständigkeit resp. Unbeständigkeit der entsprechenden Fragmente möglich.

Viel wichtiger ist aber die Möglichkeit, in der Ionenquelle die *Energie der*

## II. Strahlenchemie anorganischer wäßriger Systeme

### 1. Strahlenchemie des Wassers

#### a) Einleitung und Allgemeines

Wasser ist trotz seiner Allgegenwart einer der bemerkenswertesten Stoffe auf Erden. Nicht nur sind unter den herrschenden Temperatur-Druckbedingungen alle seine drei Phasen, für welche der Mensch auch verschiedene Ausdrücke („Dampf, Wasser, Eis, Schnee“) in seinen verschiedenen Idiomen geschaffen hat, beständig, sondern Wasser ist ein mehr oder weniger wesentlicher Bestandteil aller Baueinheiten der Erdkruste bis hinunter zu den mineralischen Gemengteilen, es bildet neben einer Bedeckung von fast  $\frac{3}{4}$  der Erdoberfläche als Ozeane, Meere, Seen und Flüsse viele hundert Meter mächtige Eisschichten um die Pole und in Gebirgen und steht, abgesehen von extremen Trockengebieten, neben Stickstoff und Sauerstoff an dritter Stelle in der Zusammensetzung der Atmosphäre.

Leben ohne Wasser ist undenkbar, und es ist gewiß kein Zufall, daß alle Lebewesen diesen Stoff als wichtigsten Bestandteil mit sich führen, auch dann, wenn ihre frühesten Vorfahren schon vor Hunderten von Millionen Jahren aus den Meeren auf das feste Land aufgestiegen waren. Heute noch wird auch der Mensch in buchstäblichem Sinn aus Wasser geboren.

Wasser ist in flüssiger Form das bei weitem umfassendste Lösungsmittel, und es gibt in der anorganischen und organischen Welt nur ganz wenige Substanzen, welche in Wasser „vollständig unlöslich“ sind. Wasser ist deshalb das Mittel, in welchem die Stoffe räumlich auf Erden verschoben werden, und es ist auch das Medium, in welchem sie ohne Zutun menschlichen Willens miteinander in Wechselwirkung treten. Aus wäßriger Lösung beziehen, mit Ausnahme des Kohlenstoffs (und für Stickstoffbakterien des Stickstoffs), alle Organismen die Grundstoffe zu ihrem Aufbau, in wäßrigem Milieu finden die für das Leben erforderlichen Synthesen, Umsätze und Akkumulationen statt, und schließlich ist nochmals das Wasser die Voraussetzung dazu, daß ein Organismus nach dem Tode wieder in die anorganische Stoffwelt übergeht.

Die topologische Physik des Wassers ergibt fast nur Extremwerte. Sie zeigt im Vergleich zu andern einfach gebauten Flüssigkeiten mit überraschender Eindringlichkeit die ausgesprochene Besonderheit dieser so trivialen Substanz. Es beginnt schon bei der Mechanik. Wasser hat von allen einfachen Flüssigkeiten, mit Ausnahme der einatomigen Metallflüssigkeit Quecksilber und des (3 OH-Gruppen im Molekül enthaltenden) Glycerins mit  $48,9 \cdot 10^{-6}$  die geringste *Kompressibilität*, ein Wert, der nur halb so groß ist wie diejenigen von  $\text{CS}_2$ ,  $\text{C}_6\text{H}_6$ ,  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CCl}_4$  und  $\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$ , 3- bis 4fach kleiner als diejenigen von  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$  und mehr als 6mal kleiner als derjenige von Pentan. Nicht genug damit; Wasser ist die einzige Flüssigkeit mit *negativem Temperaturkoeffizienten* der Kompressibilität. Eine Temperaturerhöhung unter hohem äußerem Druck muß also verdichtend wirken. Wieder mit Ausnahme des Quecksilbers weist Wasser mit 72,8 dyn/cm den höchsten Wert der *Capillarkonstante* auf, und es hat, mit derselben Ausnahme, den höchsten *Elastizitätsmodul* und einen relativ sehr hohen, absoluten *Viscositätswert*.

Daß der *Brechungsindex* für Licht kleiner, die Lichtphasengeschwindigkeit also größer ist als in allen anderen einfachen Flüssigkeiten, sei nur der Vollständigkeit halber vermerkt.

Eindrücklicher aber sind die thermodynamischen Meßwerte. Zunächst der Vergleich mit seinen chemischen Homologen  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{H}_2\text{Se}$  und  $\text{H}_2\text{Te}$  bezüglich der *Schmelz-* und *Siedepunkte*. Allgemein gilt die Gesetzmäßigkeit, daß gleichgebauten Stoffe um so höher schmelzen und siedend, je schwerer ihre Moleküle sind. Wie sich Wasser und seine Homologen dabei verhalten, zeigt Abb. 4. Würde Wasser der Gesetzmäßigkeit der übrigen homologen Verbindungen folgen, so würde sein Schmelzpunkt etwa bei  $-86^\circ\text{C}$  und sein Siedepunkt bei  $-66^\circ\text{C}$  liegen. Damit im Zusammenhang stehen die sehr hohen Werte

der *Schmelzwärme* von 79,7 cal/g (doppelt bis 4fach höher als diejenigen anderer Flüssigkeiten) und besonders der *Verdampfungswärme* von 539,1 cal/g (2,5- bis 12fach höher), der sehr kleine *Ausdehnungskoeffizient* von 0,00018 (5- bis 10fach geringer) und der hohen *spez. Wärme* von 0,999 cal/g Grad (etwa 2fach höher als die anderer Flüssigkeiten) und schließlich der 3- bis 5fach höhere *kritische Druck*.

Am imponierendsten ist aber wohl die Besonderheit des Wassers (und des Eises) bezüglich der Kraftwirkung elektrischer Ladungen in demselben. Da diese für das Verhalten von Ionen beliebiger Art und Provenienz in Wasser, besonders für deren Rekombinationswahrscheinlichkeiten, von grundsätzlichem Einfluß ist, sollen in Tabelle 8 einige Zahlenwerte der *Dielektrizitätskonstante*  $\epsilon$  mitgeteilt werden.

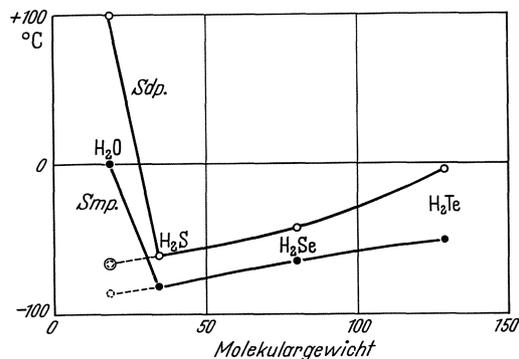


Abb. 4. Verlauf der Schmelz- (•) und Siedepunkte (◦) der chemischen Homologen des Wassers im Vergleich zu diesem selbst in Abhängigkeit vom Molekulargewicht

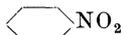
Mit Ausnahme des sehr stark *polaren* Nitrobenzols und der ebenfalls stark polaren Alkohole sind die Dielektrizitätskonstanten einfacher Flüssigkeiten 15—35mal geringer als diejenigen des Wassers. Ähnliche Verhältnisse gelten auch für Festkörper und Eis. Die Kraftwirkung zwischen elektrischen Ladungen in Wasser (oder Eis) beträgt demnach nur etwas mehr als 1% von derjenigen im leeren Raum (oder in Luft). Daß dieser Faktor von der Größenordnung 1/100 für alle

elektrostatischen Phänomene in Wasser von ausschlaggebender Bedeutung sein muß, ist selbstverständlich.

Größe, Form und Struktur des Wassermoleküls sind aus röntgenographischen und elektronographischen Messungen heute hinreichend bekannt. Zusätzlich liefert das hohe *elektrische Dipolmoment* in Verbindung mit wellenmechanischen Betrachtungen ein verlässliches Bild der Elektronenverteilung im Molekül. Im Grundzustand hat das Sauerstoffatom die Elektronenkonfiguration  $1s^2 2s^2 2p_x^2 2p_y 2p_z$ , d. h. es sind in der Hülle 8 Elektronen enthalten, von denen 6 zu Spinpaaren geordnet sind, während die *Orbitale* der 2 ungepaarten ( $2p_y 2p_z$ ) Valenzelektronen normal aufeinanderstehen. Dies hat zur Folge, daß in Verbindungen von der Form  $A_2O$  die beiden Partner A zum Zentrum des O-Atoms einen Winkel von der Größenordnung  $90^\circ$  miteinander einschließen müssen. Je

stärker aber die Elektronenhülle von A *polarisierbar* ist, je mehr also dessen Valenzelektron durch die Feldwirkung des O-Atoms beeinflußt werden kann, desto stärker wird auch die Feldwirkung zwischen den A-Kernen wirksam sein. Dadurch resultiert ein Potentialminimum des Moleküls  $A_2O$  bei einem etwas größeren Winkel als  $90^\circ$ . Beim H-Atom ist infolge der geringen Kernladung eine relativ sehr starke Polarisierung durch das stark elektronegative O-Atom des (einigen) 1 s-Elektrons vorhanden und damit wird der Bindungswinkel im  $H_2O$ -Molekül maximal vergrößert. Er beträgt  $105^\circ$  und ist erheblich größer als z. B. derjenige der dazu homologen Verbindung  $H_2S$  von nur  $92^\circ$  mit dem erheblich weniger elektronegativen S-Atom. Das Wassermolekül hat deshalb die in Abb. 5 schematisch (in der Ebene) dargestellte „Form“. Der Abstand zwischen dem O-Kern

Tabelle 8. *Dielektrizitätskonstanten  $\epsilon$  einiger einfacher Flüssigkeiten und Festkörper im Vergleich zu  $H_2O$*

Flüssigkeit	$\epsilon$	Flüssigkeit	$\epsilon$	Festkörper	$\epsilon$
$H_2O$	81	$CHCl_3$	5,0	$H_2O (-2^\circ C)$	93,9
 $NO_2$	37	$(C_2H_5)_2O$	4,34	$CaCO_3$	7,6
$CH_3OH$	35,4	$C_6H_6$	2,29	$CaF_2$	6,8
$C_2H_5OH$	26,8	$C_6H_5CH_3$	2,4	$NaCl$	5,6
$C_5H_{11}OH$	16,0	$CCl_4$	2,25	$SiO_2$	4,5

stärker aber die Elektronenhülle von A *polarisierbar* ist, je mehr also dessen Valenzelektron durch die Feldwirkung des O-Atoms beeinflußt werden kann, desto stärker wird auch die Feldwirkung zwischen den A-Kernen wirksam sein. Dadurch resultiert ein Potentialminimum des Moleküls  $A_2O$  bei einem etwas größeren Winkel als  $90^\circ$ . Beim H-Atom ist infolge der geringen Kernladung eine relativ sehr starke Polarisierung durch das stark elektronegative O-Atom des (einigen) 1 s-Elektrons vorhanden und damit wird der Bindungswinkel im  $H_2O$ -Molekül maximal vergrößert. Er beträgt  $105^\circ$  und ist erheblich größer als z. B. derjenige der dazu homologen Verbindung  $H_2S$  von nur  $92^\circ$  mit dem erheblich weniger elektronegativen S-Atom. Das Wassermolekül hat deshalb die in Abb. 5 schematisch (in der Ebene) dargestellte „Form“. Der Abstand zwischen dem O-Kern

und den Protonen beträgt  $0,92 \text{ \AA}$  und damit die Normaldistanz zwischen ihrer Verbindung und dem O-Kern  $0,56 \text{ \AA}$ .

Solche Moleküle mit *asymmetrischer Ladungsverteilung* sind *elektrische Dipole*. Sie werden deshalb durch ein äußeres elektrisches Feld im Raum gerichtet, bzw. sie führen in einem Wechselfeld (hin- und hergehende) Rotationen aus. Ist die Struktur des Moleküls bekannt, so läßt sich mit Hilfe der Frequenz dieser Rotationsschwingung das *Dipolmoment* des Moleküls (Produkt aus Ladung und Abstand) messen. Dasselbe beträgt für Wasser

$$\mu_{(\text{H}_2\text{O})} = 1,85 \cdot 10^{-18} \text{ (cgs).}$$

Setzt man für die Ladung die Elektronenladung und für den Abstand  $0,92 \text{ \AA}$  ein, so würde für jede OH-Bindung ein Dipolmoment von  $4,416 \text{ D}$  ( $1 \text{ D} = 10^{-18} \text{ cgs}$ ) resultieren. Auf die Symmetrieachse projiziert, ergibt sich daraus je  $2,694 \text{ D}$ , total also  $5,39 \text{ D}$ . Der tatsächliche Wert von  $1,85 \text{ D}$  entspricht  $34,2\%$  dieses berechneten Wertes. Die OH-Bindung hat also zu ziemlich genau einem *Drittel ionischen* (heteropolaren) Charakter. Dies ist, zusammen mit dem damit verbundenen hohen Dipolmoment, die Ursache der meisten physikalischen und physikochemischen Besonderheiten des Wassers.

Die wichtigste Folge der Struktur des Wassermoleküls und der damit verbundenen Besonderheiten der Ladungsverteilung ist dessen *Tendenz zur Agglomeration*. Voraussetzung dazu ist natürlich, daß auch der Partner zur Komplexbildung polaren Charakter hat, entweder in Form eines Ions oder eines neutralen Moleküls mit Dipolcharakter. Es sind deshalb alle Ionen in wäßriger Lösung *hydratisiert*, d.h. sie sind mit einer gewissen Anzahl  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküle „elektrostatisch“ assoziiert. Dies gilt sowohl für Kationen wie für Anionen. Die *Hydratationszahl* darf sicher nicht als fest und unveränderlich angesehen werden; sie stellt aber doch einen für makroskopische Effekte bestimmenden (Mittel-)Wert dar. Es gibt verschiedene Verfahren, Hydratationszahlen zu messen, am einfachsten geschieht dies auf Grund der *Ionenbeweglichkeit* (Stromleitung in wäßrigen Elektrolytlösungen). In Tabelle 9 sind einige entsprechende Zahlenwerte zusammen mit Mittelwerten der Hydratationszahlen nach BELL (1958) wiedergegeben.

Es ergibt sich aus den Werten der Tabelle 9 z. B. das Paradoxon, daß für die Alkalien die Beweglichkeit im elektrischen Feld mit dem Ionenradius (der Widerstand gegen die Bewegung wäre dem Quadrat des Ionenradius proportional) wächst. Dasselbe gilt für die Halogene. Demgegenüber nimmt aber die Hydratationszahl mit zunehmendem Atomgewicht und damit der Querschnitt für den Widerstand ab. Die hohen Werte der Beweglichkeit von mehrwertigen Ionen ist selbstverständlich auf die höhere Ladung zurückzuführen. Um sie mit denjenigen einwertiger Ionen zu vergleichen, müssen ihre Beweglichkeiten durch die Ladungszahl geteilt werden. Daraus folgt z. B., daß die Hydratation von  $\text{Fe}^{++}$  relativ zur Ladung höher sein muß als diejenige von  $\text{Fe}^{3+}$ . In gleicher Weise paradox verhalten sich die strukturell vergleichbaren Ionen  $\text{HCOO}^-$  und  $\text{CO}_3^{--}$  einerseits und  $\text{H}_3\text{C}-\text{COO}^-$  und  $-\text{OOC}-\text{COO}^-$  andererseits. Die Zahl der maximal assoziierbaren  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküle ist also, offenbar wegen der Raumbegrenzung, nach oben begrenzt. Die Hydratationszahlen müssen ja neben den sie verursachenden elektrischen Gegebenheiten

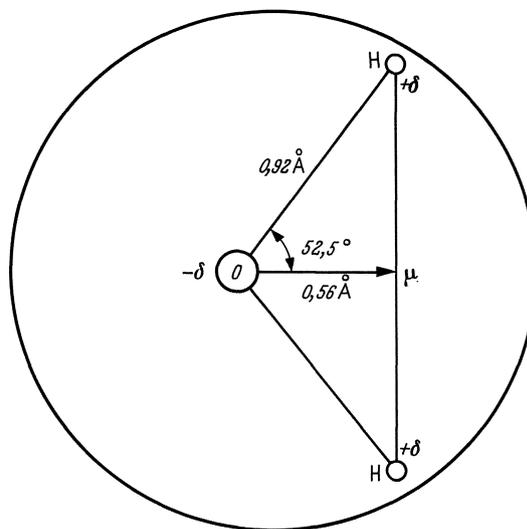


Abb. 5. Schema des Aufbaues des Wassermoleküls mit Angaben der Atomabstände, der Winkel, den Ladungsverschiebungen ( $+\delta$ ,  $-\delta$ ) und der Richtung des Dipols ( $\mu$ )

zusätzlich besonders auch durch Größe und Struktur des  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküls beeinflusst werden. Die gegenseitige Beeinflussung der  $\text{H}_2\text{O}$ -Dipole bringt es mit sich, daß um einen geladenen Zentralkörper (Ion) eine *Koordination* der Hydratationsmoleküle stattfinden muß. An Kationen lagern sich die negativen Pole der  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküle, also die O-Atome an, während Anionen die positiven H-Atome an sich binden. Der Winkel von  $105^\circ$  der Richtungen zwischen den Schwerpunkten der positiven Ladung (H-Atome) und dem Schwerpunkt der negativen Ladung (O-Atom) schreibt die räumliche Struktur dieser Anlagerung weitgehend vor. Sie kann bei kugelsymmetrischer Feldverteilung z.B. tetraedrisch, hexaedrisch oder oktaedrisch sein, bei besonderen Bindungsverhältnissen zwischen Ion und Wasser sind aber auch kleinere Koordinationszahlen der „ersten Sphäre“

Tabelle 9

Ion	Radius in Kristallen Å	Beweglichkeit $\frac{\text{cm}^2}{\Omega \cdot \text{Mol}}$	Hydratationszahl	Ion	Radius in Kristallen Å	Beweglichkeit $\frac{\text{cm}^2}{\Omega \cdot \text{Mol}}$	Hydratationszahl
$\text{H}^+$	?	330	1	$\text{OH}^-$	?	180	1 (?)
$\text{Li}^+$	0,78	34,9	5	$\text{F}^-$	1,33	48,3	4
$\text{Na}^+$	0,98	45,2	4	$\text{Cl}^-$	1,81	67,3	2
$\text{K}^+$	1,33	67,0	3	$\text{Br}^-$	1,96	70,0	1
$\text{Rb}^+$	1,49	70,5	2	$\text{J}^-$	2,20	68,8	1
$\text{Cs}^+$	1,65	70,5	2	$\text{HCOO}^-$	?	47	?
$\text{NH}_4^+$	?	64		$\text{CH}_3\text{COO}^-$	?	35	?
$\text{Ca}^{++}$	1,06	102	4	$\text{SO}_4^{--}$	?	136	1**
$\text{Fe}^{++}$	0,83	90	6+	$\text{CO}_3^{--}$	?	120	?
$\text{Fe}^{3+}$	0,67	183	6*	$\text{COO}^-$	?	136	?
				$\text{COO}^-$			

\* An  $\text{Cr}^{3+}$  gemessen. \*\* In Vitriolen. + In  $\text{FeSO}_4$ .

möglich. Dabei verursachen die radial gerichteten Dipole des Wassers weitere Anlagerungen in weiteren Sphären, deren Anisotropie sich im Wechselspiel mit der thermischen Bewegung langsam nach außen verliert.

Die Hydratation ist ein energieliefernder Prozeß. Genügt die dabei frei werdende Energie, um ein Ion aus dem Kristallverband (aus der Oberfläche) frei zu machen, so ist die Substanz als solche in Wasser löslich. Haben Ablösung und Hydratation stattgefunden, so ist das Ion so stark gegen seine entgegengesetzt geladenen Partner abgeschirmt, daß eine Wiedervereinigung verunmöglicht ist. Deshalb ist die Lösung als solche stabil. Die Hydratation von Ionen ist also die tiefere Ursache zur Bildung von Elektrolytlösungen.

Die einfachste Form eines hydratisierten Ions liegt vor bei der Anlagerung eines einzigen  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküls, wie beim Wasserstoffion. Dieses existiert in wäßriger Lösung unter normalen Verhältnissen stets als  $[\text{H}_3\text{O}]^+$ , also als *Hydroniumion*. Wenn demnach in der Folge von Wasserstoffionen  $\text{H}^+$  die Rede sein wird, so sind darunter in Wirklichkeit in wäßriger Lösung immer Hydroniumionen  $\frac{\text{H}}{\text{H}} > \text{O} \cdots \text{H}^+$  zu verstehen. Aus elektrischen und räumlichen Symmetriegründen muß das (die Ladung tragende) Proton den beiden H-Atomen des  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküls in Richtung des Dipols gegenüberliegen. Dabei werden die beiden Elektronenpaare der OH-Bindungen durch die Protonenladung derart beeinflusst, daß deren „Aufenthaltswahrscheinlichkeit“ (Quadrat der  $\Psi$ -Funktion) nun auch teilweise auf die Bindung  $\text{H}_2\text{O} \cdots \text{H}^+$  übergreift. Dadurch wird das Hydroniumion zu mehr als einer einfachen (elektrischen) Anlagerung. Wegen der *Spinabsättigung* der beiden „freien“ O-Orbitale im Wasser kann es aber nicht zu einer eigentlichen chemischen Bindung kommen. Was dabei entsteht, wird häufig als *Hybrid* bezeichnet, um die Mittelstellung derartiger Atomkomplexe zwischen „echten“ Verbindungen und „einfachen Anlagerungen“ zum Ausdruck zu bringen.

Vergleichbare Verhältnisse finden sich auch beim  $\text{OH}^-$ -Ion. Aus ähnlich gelagerten Symmetriegründen liegt hier tatsächlich das Molekülsystem:  $\text{HO} \angle \text{H} > \text{O}$  oder  $[\text{H}_3\text{O}_2]^-$  vor, wobei wieder die H—O-Bindungselektronen des Wassers zwischen den beiden O-Atomen oscillieren und damit auch die  $\text{HO}^-$ — $\text{H}_2\text{O}$ -Bindung zu einer Hybridbindung verstärken.

Bei höheren Hydratationszahlen sind die Verhältnisse natürlich entsprechend komplizierter und in Einzelheiten nicht mehr vollständig übersehbar. Sicher ist dabei aber, daß auch bei der Anlagerung mehrerer  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküle an ein Ion die Bindungen teilweise hybriden Charakter aufweisen, da bei solchen größeren Komplexen sich die Orbitale teilweise überlappen und damit die Übergangswahrscheinlichkeiten endliche Werte annehmen.

Die Struktur des Wassers in fester Phase liefert zum tieferen physikochemischen Verständnis der Besonderheiten dieser Substanz konkrete Grundlagen. Bekanntlich ist Wasser (wieder) der

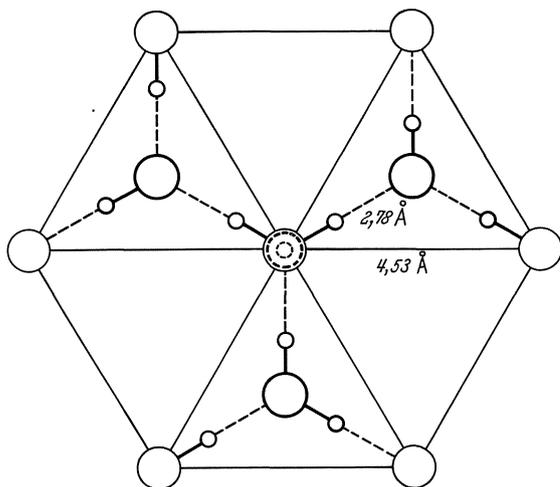


Abb. 6

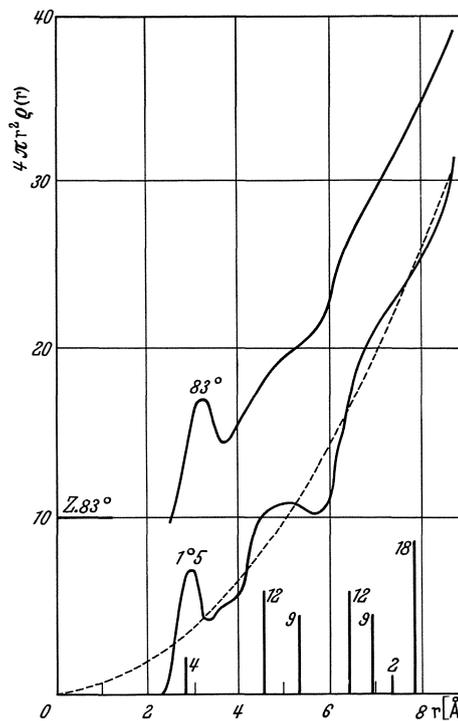


Abb. 7

Abb. 6. Schema der Struktur des Eises; große Kreise: O-Atome, kleine Kreise: H-Atome. Das Sauerstoffatom in der Mitte und die sechs in den Ecken des regelmäßigen Sechsecks liegen in derselben Ebene. Die drei dick ausgezogenen O-Atome liegen höher, das gestrichelt gezeichnete in der Mitte tiefer; sie besetzen die Ecken eines Tetraeders. „Echte Bindungen“ sind ausgezogen, Wasserstoffbrücken gestrichelt

Abb. 7. Dichteverteilung in flüssigem Wasser bei 1,5 und 83° C (ausgezogene Kurven) im Vergleich zur isotropen Massenverteilung (gestrichelte Kurve) bestimmt aus Röntgeninterferenzen. Auf der Abszisse sind die aus der Struktur des Eises berechneten Koordinationsorte mit den entsprechenden Koordinationszahlen angegeben. Man beachte, daß die II. Koordination (12) bei 1,5° C noch sehr deutlich in Erscheinung tritt, während sie bei 83° C nur noch angedeutet ist

einziges Stoff, welcher zwischen 0° C und +4° C einen *negativen Ausdehnungskoeffizienten* aufweist und dessen Dichte in *fester Phase kleiner* ist als in flüssiger unmittelbar vor dem Gefrierpunkt. Mit der Struktur in Zusammenhang stehen auch die beiden Extremwerte von nur  $-1,85^\circ\text{C}$  *Schmelzpunktserniedrigung* und nur  $0,52^\circ\text{C}$  *Siedepunkterhöhung* pro Mol gelöster Substanz.

Die I. Koordinationszahl des gewöhnlichen Eises (vgl. Abb. 6) beträgt 4, seine Struktur ist rhomboedrisch; jedes  $\text{H}_2\text{O}$ -Molekül ist in vier gleichen Abständen von 2,78 Å tetraedrisch von vier Molekülen und in II. Koordination im Abstand von 4,53 Å von zwölf weiteren Molekülen umgeben. Der Valenzwinkel des  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküls von  $105^\circ$  ist vom Tetraederwinkel von  $109^\circ 28'$  nur sehr wenig verschieden. Deshalb werden die Verbindungslinien zwischen den (tetraedrisch angeordneten) O-Atomen durch die H-Atome besetzt. Der Gesamtabstand von 2,78 Å verteilt sich mit 1,02 Å auf die chemische

OH-Bindung und mit 1,76 Å auf die *Dipol-Dipol-Bindung* OH — — — O zwischen zwei verschiedenen Wassermolekülen. Sehr beachtenswert ist dabei die *Verlängerung* der „echten“ OH-Bindung um ca. 10 % von 0,92 auf 1,02 Å als Ausdruck der Hybridisierung der Dipol-Dipol-Bindung. Die letztere wird häufig wegen ihrer allgemeinen Bedeutung als *Wasserstoffbindung* oder *Wasserstoffbrücke* bezeichnet. Durch die Wasserstoffbindung zwischen den H<sub>2</sub>O-Molekülen kommt die Kristallisation des Wassers zu Eis schon bei 0° C zustande und nicht erst bei ca. —86° C (vgl. Abb. 4, S. 58). Ein Eiskristall bildet damit ein durch Wasserstoffbrücken zusammengehaltenes Riesenmolekül. Die Bindungsenergie der Wasserstoffbrücke OH— — —OH beträgt nach Bestimmungen mit verschiedenen Methoden etwa 0,25 eV. Die Schmelzwärme des Wassers von 79,8 cal/g = 1,44 kcal/Mol entspricht aber nur 0,063 eV/Molekül, was offenbar bedeutet, daß bei 0° C in flüssigem Wasser nur etwa 1/4 der H-Bindungen wirklich haben gebrochen werden können. Schon hieraus ergibt sich, daß flüssiges Wasser bei tieferen Temperaturen in noch erheblichem Maße assoziiert sein muß und damit eine molekulare Koordination aufweist (Abb. 7). Hier liegt die Hauptursache für seine physikalischen Besonderheiten. Dabei darf aber nicht angenommen werden, daß die Agglomerationen von im Mittel 3 bis 4 H<sub>2</sub>O-Molekülen als solche stabil sind und über beliebige Zeiten erhalten bleiben. Die Energie der H-Brücke von etwa 0,25 eV ist von der thermischen Energie 1/2 kT = 0,0115 eV pro Freiheitsgrad nur in einem Faktor von etwa 20 verschieden, so daß (*Maxwellsche* Verteilung) stets genügend Molekülagglomerationen vorhanden sein werden, bei denen die thermische Energie genügt, um die H-Bindung zu brechen. Die Agglomerationszahl von ca. 3,5 bei 0° C entspricht demnach einem *dynamischen Gleichgewicht* zwischen ständigem Bruch und ständigem, neuem Schluß.

Die Wasserstoffbrückenbildung mit der durch die Valenzwinkel des H<sub>2</sub>O-Moleküls weitgehend festgelegten Art der Agglomeration, sowohl im festen als auch im flüssigen Zustand, hat noch eine weitere, bisher nicht erwähnte wichtige Folge. Sowohl Eis wie flüssiges Wasser sind Stoffe mit *sehr offener molekularer Struktur*. Berechnet man für einen Moleküldurchmesser von 2,78 Å das kugelförmige Volumen, so resultiert dasselbe zu 11,3 Å<sup>3</sup>. In hexagonal dichtester Packung (wie sie bei zahlreichen Kristallen und im Mittel auch in flüssigem Hg vorliegt) wäre dabei pro H<sub>2</sub>O-Molekül ein Volumen von 15,1 Å<sup>3</sup> erforderlich, d.h. 50,7 % des Volumens, welches ein H<sub>2</sub>O-Molekül bei der Dichte  $\rho = 1$  tatsächlich beansprucht. Die Dichte des Wassers müßte demnach ohne ordnende, zwischenmolekulare Kräfte 1,95 sein. Der unerfüllte Raum ist also fast 5mal so groß, wie er unter Minimalbedingungen sein könnte (18,5 Å<sup>3</sup> pro H<sub>2</sub>O-Molekül gegen 3,8 Å<sup>3</sup> bei hexagonal dichtester Packung; bei dieser beträgt das Füllungsverhältnis 3/4).

Bei der Auflösung eines Mols eines Stoffes im Liter Wasser (1 Molekül auf 55 H<sub>2</sub>O-Moleküle) wird deshalb die Wasserstruktur kaum wesentlich geändert, wenn dieser Stoff nicht selber eine sehr starke Agglomerationstendenz aufweist. Daher die geringe Schmelzpunktserniedrigung. Die dabei eintretende Hydratation geladener Partikel hat im Gegenteil häufig eine lokale Kontraktion des Gefüges zur Folge (*Lösungsstriktion*).

Die Agglomeration des Wassers in flüssiger Phase ist auch die Ursache der sehr hohen *Verdampfungswärme* von 539 cal/g = 9,7 kcal/Mol entsprechend 0,42 eV/Molekül. Der größte Teil der Verdampfungswärme muß also aufgewendet werden, um die Wasserstoffbrücken aufzubrechen; deshalb die geringe Siedepunktserhöhung bei Lösungen. Selbst der Wasserdampf ist nach dessen Spektrum noch in geringem Grade polymer.

Selbstverständlich werden auch die hohe Oberflächenspannung und die hohe Capillarkonstante des flüssigen Wassers durch die Wasserstoffbrückenbildungen verursacht. Dasselbe gilt für den relativ sehr hohen Siedepunkt und die geringe Kompressibilität, sowie für deren negativen Temperaturkoeffizienten. Besonders eindrücklich kommt aber die durch die Agglomeration verursachte, relativ geringe Verschieblichkeit der Moleküle im Temperaturverlauf der absoluten Viscosität des Wassers zum Ausdruck.

Die Viscosität einer Flüssigkeit ist das Maß für die Energie, welche aufgewendet werden muß, um die Moleküle derselben gegeneinander zu verschieben, also ein Maß der

„innern Reibung“. Eine molekulare Theorie der Viscosität (GUZMAN 1913; EYRING 1936) muß deshalb von der Anzahl der Moleküle ausgehen, welche wegen ihres Energieinhaltes  $E$  eine Verschiebung erleiden können. Deren Anteil ist nach der Energieverteilungsfunktion proportional zu  $e^{-\frac{E}{kT}}$ . Ein Ausdruck mit diesem Temperaturglied würde der Verschiebungsbereitschaft der Moleküle, also einem physikalischen Inhalt, den man z. B. mit dem Wort „Fluidität“ bezeichnen könnte, entsprechen. Die Viscosität ist zu diesem Inhalt reziprok, also proportional zu  $e^{\frac{E}{kT}}$ .

Die graphische Darstellung des Temperaturverlaufes der absoluten Viscosität des Wassers in Abb. 8 zeigt nun, daß dieselbe sehr genau aus zwei Gliedern zusammengesetzt ist, gemäß der Gleichung

$$\eta = A e^{\frac{E'}{kT}} + B e^{\frac{E''}{kT}}.$$

Die aus dem Kurvenverlauf resultierenden Konstanten betragen:

$$A = 9,83 \cdot 10^{-5}; B = 9,02 \cdot 10^{-10};$$

$$E' = 0,109 \text{ eV}; E'' = 0,375 \text{ eV}.$$

Die Größen  $A$  und  $B$  haben die gleiche Dimension wie die Viscosität [ $\text{g}/\text{cm}^{-1} \text{sec}^{-1}$ ]; sie können also als „Wirkung/ $\text{cm}^3$ “ konkretisiert werden. Sie entsprechen den Zahlenwerten der Viscosität bei sehr hohen Temperaturen. Ihr Verhältnis zeigt, daß der zweite Anteil gegenüber dem ersten rasch mit steigender Temperatur verschwinden muß. Tatsächlich ist er oberhalb  $80^\circ \text{C}$  nicht mehr nachweisbar.

Die Konstanten  $E'$  und  $E''$  entsprechen den „Aktivierungsenergien“ für das Zustandekommen einer molekularen Verschiebung. Ihr Verhältnis

$$\frac{E''}{E'} = 3,44$$

kann als Maß für den Grad der Assoziation eines mit steigender Temperatur rasch abfallenden Anteils des Wassers betrachtet werden. Es ist für die Strahlenchemie des Wassers und für diejenige wäßriger Lösungen sicherlich von erheblicher Bedeutung, daß der assoziierte Anteil noch bei  $20^\circ \text{C}$  nahezu einen Viertel zur Gesamtviscosität beiträgt. Die mit der Temperaturbewegung natürlich ständig veränderliche, aber bei tieferen Temperaturen leicht und sicher nachweisbare Assoziation ist deshalb auch noch bei normalen Versuchstemperaturen eine durchaus ins Gewicht fallende Erscheinung.

Wasserstoffbrücken finden sich aber nicht nur zwischen Wassermolekülen, sondern überall zwischen OH-Gruppen und elektronegativen Substituenten, wobei besonders solche mit teilweiser  $\pi$ -Bindung (Mehrfachbindungen, vgl. S. 111 ff.) wie  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{NO}$ ,  $>\text{CO}$ ,  $>\text{N}$  wirksam sind. Dabei kann die H-Bindung zwischen verschiedenartigen Molekülen statthaben. Sie kann aber auch innerhalb der Molekel selbst auftreten, wobei erhebliche Eigenschaftsänderungen bewirkt werden, resp. Besonderheiten auftreten. Von besonderer Bedeutung ist die Tatsache, daß die *Hydrolyse höher polymerer Verbindungen* wohl in allen Fällen durch Wasserstoffbrückenbildung über ein  $\text{H}_2\text{O}$ -Molekül eingeleitet wird. Aber auch der umgekehrte Vorgang, welcher in lebenden Systemen auch unter tiefen Temperaturbedingungen zum Aufbau der erforderlichen Makromoleküle führt, also die *Polykondensation von Bauelementen* zu Ketten- oder Netzsystemen unter Wasseraustritt, wird nach heutiger Auffassung wohl überhaupt nur über vorgängige Wasserstoffbrücken ermöglicht.

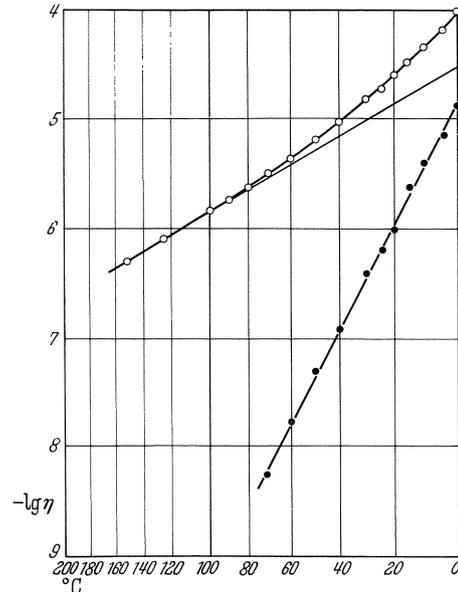
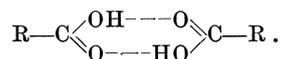


Abb. 8. Verlauf der absoluten Viscosität des Wassers mit der Temperatur zwischen  $0$  und  $153^\circ \text{C}$ . Zerlegung des Verlaufes (oben) in zwei Geraden entsprechend verschiedenen Aktivierungsenergien. Abszissenwerte  $1/T$ , aber mit  $t^\circ \text{C}$  angeschrieben

Die angeführten Verhältnisse sollen noch durch einige einfache Beispiele erläutert werden.

Die sehr starke Polarität des HF-Moleküls bewirkt, daß Fluorwasserstoff bei höheren Drucken auch noch in der Gasphase assoziiert ist und zwar sind Komplexe von 4, 5 und 6 Molekülen dabei besonders häufig. Wie Elektronenbeugungsuntersuchungen gezeigt haben, liegen die Komplexe als zickzackförmige Ketten vor.

Niederpolymere organische Säuren dimerisieren durch Wasserstoffbrückenbildung zwischen den Carboxylgruppen nach dem Schema



Dabei finden in wäßriger Lösung sowohl im undissoziierten Zustand, wie besonders bei Dissoziation Anlagerungen von  $\text{H}_2\text{O}$ -Molekülen statt:

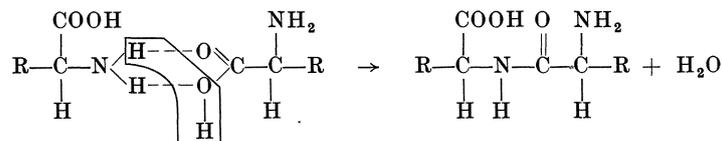


In beiden Fällen erweisen sich die beiden O-Atome der Carboxylgruppe als vollständig gleichwertig. Das Ladungselektron und die  $\pi$ -Elektronen oscillieren also zwischen den beiden C—O-Bindungen hin und her.

Aldehyde, Ketone und Äther sind in Wasser deshalb leicht löslich, weil ihre O-Atome zu Brückenbildungen mit Wassermolekülen führen. Überhaupt wird die „*Hydrophilie*“ einer Verbindung oder einer Atomgruppe durch deren Fähigkeit zur Assoziation mit Wasser bestimmt.

Assoziation kann aber auch als Vorstufe von Reaktionen auftreten.

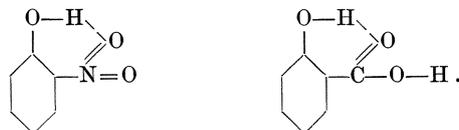
Unter dieser Gruppe ist wohl die Verbindung ( $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$ ) die bekannteste. Der erste Schritt zur Reaktion  $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$  ist eine Wasserstoffbrückenbildung nach der Form  $\text{H}_3\text{N} \cdots \text{H}-\text{OH}$ , welcher unter weiteren  $\text{H}_2\text{O}$ -Anlagerungen an die Zwischenform dann die Spaltung des  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküls folgt. Daß solche Vorstufen die Voraussetzung zum Aufbau der biologisch so wichtigen Makromoleküle darstellen, ist bereits erwähnt worden. So geht die Polykondensation von Aminosäuren zu Polypeptiden und schließlich zu Proteinen grundsätzlich nach dem Schema



vor sich. Daß beim umgekehrten Vorgang, bei der Hydrolyse von Eiweißstoffen, das Wasser an der Gruppe  $\text{—N—C—}$  und hier besonders die N—C-Bindung angreifen muß,

ist nach dem Vorstehenden leicht zu verstehen.

Wasserstoffbrücken, besonders zwischen dem Wasserstoff von OH-Gruppen und benachbarten negativen Partnern innerhalb desselben aromatischen Moleküls, sind die Ursachen der besonderen Eigenschaften solcher (intramolekularer) *Chelate*. Als Beispiele sollen Orthonitrophenol und Salicylsäure dienen.



In den genannten Substanzen ist wegen der Doppelbindungen und den damit verbundenen leichteren Verschieblichkeiten der  $\pi$ -Elektronen die H—O-Bindung besonders stark. Es ist leicht einzusehen, daß m-Verbindungen oder gar p-Verbindungen

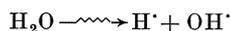
wegen der zu großen Distanz zwischen den Partnern, keine solchen Chelate bilden können. Chelate mit Metallionen  $Mg^{++}$ ,  $Fe^{++}$  und  $Co^{++}$  sind bekanntlich die Grundkörper der biologisch so bedeutsamen Stoffe Chlorophyll, Hämoglobin und Vitamin  $B_{12}$ , wobei bei allen sowohl chemisch wie strukturell das gleiche Molekulargerüst vorliegt.

### b) Strahlenchemische Primärreaktionen des Wassers

„Chemisch reines“ Wasser ist eine außerordentlich schwer herzustellende Substanz und nur unter sehr weitgehenden Vorsichtsmaßnahmen haltbar. Nicht nur stellt sich bei offener Aufbewahrung ziemlich rasch ein Gleichgewicht gegen die Atmosphäre ( $O_2$ ,  $N_2$ , Ar,  $CO_2$ ) ein, sondern alle Gefäße geben mit der Zeit aus ihrer Oberfläche Stoffe in das Lösungsmittel Wasser ab. Will man sich deshalb von den strahlenchemischen Reaktionen des Wassers Rechenschaft geben, so kann dies nur unter experimentell sehr stark erschwerten Bedingungen geschehen (z. B. Vakuum, geschlossenes Gefäßsystem aus reinstem Polyäthylen, rigorose Entgasung). Deshalb sind auch heute noch die Einsichten in die strahlenchemischen Vorgänge der Substanz  $H_2O$  keineswegs vollständig und widerspruchsfrei, trotzdem besonders in den letzten Jahren viel sehr gute experimentelle Arbeit geleistet worden ist.

Die Bedeutung des Wassers als zentrale Substanz zahlreicher Strahlenreaktionen ist sehr früh erkannt worden und die Bemühungen um deren Aufklärung ist fast so alt, wie die Kenntnis ionisierender Strahlungen selbst. So hat wohl als erster GIESEL (1902) auf die Zersetzung von Wasser in  $H_2$  und  $O_2$  durch „Radiumstrahlen“ aufmerksam gemacht, deren Stöchiometrie von RAMSAY und CAMERON (1907) und später von DEBIERNE (1914) untersucht wurde. Die erstgenannten Autoren fanden dabei das bedeutsame Resultat, daß neben den erwähnten Produkten auch  $H_2O_2$  gebildet wird, also neben einem Molekülabbau auch eine Molekülsynthese stattfindet. Wichtig nach heutigen Gesichtspunkten waren ferner der Nachweis durch DUANE und SCHEUER (1913), daß Eis durch Strahlung praktisch *nicht* in seine Bestandteile zersetzt wird und besonders der Befund von WASSMER (1916), daß  $H_2$  in den Reaktionsprodukten (gegenüber  $O_2$ ) stets im *Überschuß* auftritt.

Wenn schon DEBIERNE (1914) bei der Spaltung des Wassers die *Radikalbildung*



als primäre Reaktion in Erwägung zog, so mußte dieser Mechanismus genau 30 Jahre später durch WEISS (1944) erneut gefordert werden, um in seiner Bedeutung allgemeiner erkannt zu werden. Dabei standen dem letzteren Autor die Ergebnisse der photochemischen  $H_2O$ -Zersetzung durch kurzwelliges Ultraviolett zur Verfügung.

Die früheren Widersprüche in den experimentellen Ergebnissen waren neben der Arbeit an nicht genügend gereinigtem Wasser besonders bedingt durch die Verwendung von  $\alpha$ -Strahlen einerseits und  $\beta$ - resp.  $\gamma$ - und Röntgenstrahlen andererseits. Dies hat auch noch später Anlaß zu im einzelnen verschiedenen Interpretationen gegeben, und erst in neuerer Zeit ist man sich über die quantitativen Folgen der verschiedenen differentiellen Energieabgabe hinsichtlich der Reaktionsprodukte klar geworden. Es soll aber in diesem Zusammenhang keineswegs verschwiegen werden, daß auch in den heutigen Formulierungen der Strahlenchemie des Wassers, sowohl was die Reaktionen als auch die Zwischenglieder betrifft, noch bedeutsame hypothetische „Bindeglieder“ enthalten sind.

Die Bindungsenergie zwischen den H-Atomen und dem O-Atom im Wassermolekül beträgt aus Messungen nach verschiedenen Methoden 5,19 eV. Wird demnach mindestens dieser Energiebetrag einem  $H_2O$ -Molekül aus Strahlung zugeführt, so kann *Dissoziation* desselben eintreten. Die Wahrscheinlichkeit der Dissoziation ist allgemein um so höher (vgl. Abb. 19, S. 112), je mehr der vom Molekül aufgenommene Energiebetrag den obigen Wert der *Dissoziationsenergie* übersteigt. Diese Bedingung ist bei einer Elektronenabtrennung (positive Ionisation) stets erfüllt, da das I. Ionisationspotential des Wassers  $P_i = 12,56$  eV beträgt.

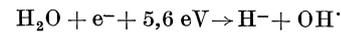
Die Dissoziation des  $\text{H}_2\text{O}$ -Ions müßte also bei Ionisierung mit hoher Ausbeute stattfinden. Trotzdem hat aber das  $\text{H}_2\text{O}^+$ -Ion, zum mindesten in der verdünnten Gasphase, eine beträchtliche Stabilität, wie dessen große Ausbeute im Massenspektrometer zeigt. Die primären Reaktionsverhältnisse sind schon unter den hierbei herrschenden, einfachsten äußeren Umständen recht kompliziert, wie durch die Messungen von MANN, HUSTRULID und TATE (1944) und KLOPFER und SCHMIDT (1960), die in der nachfolgenden Tabelle 10 wiedergegeben sind, eindrücklich dargetan wird.

Die Tabelle vermittelt einige interessante Aspekte von allgemeinerer Bedeutung. Zunächst ist die Tatsache bemerkenswert, daß das tiefere Appearancepotential des  $\text{H}^-$ -Ions gut mit der Energie der OH-Bindung übereinstimmt und wesentlich kleiner ist,

Tabelle 10. *Massenspektrometrie des Wassers*

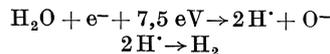
Ionenart	Häufigkeit relativ	Appearance-Potential eV	Angegebener Bildungsprozeß
$\text{H}_2\text{O}^+$	100	$13,0 \pm 0,2$	$\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{O}^+ + e$
$\text{H}_3\text{O}^+$	17	$13,8 \pm 0,5$	$\text{H}_2\text{O}^+ + \text{H} \rightarrow \text{H}_3\text{O}^+ (?)$
$\text{OH}^+$	21	$18,7 \pm 0,2$	$\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^+ + \text{OH}^+ + e$
$\text{O}^+$	2	$\begin{cases} 18,8 \pm 0,5 \\ 28,1 \pm 1,0 \end{cases}$	$\begin{cases} \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2 + \text{O}^+ + e \\ \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^+ + \text{H}^+ + \text{O}^+ + e \end{cases}$
$\text{H}^+$	20	$19,5 \pm 0,2$	$\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{OH}^+ + \text{H}^+ + e$
$\text{H}_2^+$	1,5	$23,0 \pm 2,0$	$\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}^+ + \text{H}_2^+ + e$
$\text{H}^-$	?	$\begin{cases} 5,6 \pm 0,5 \\ 8,5 \pm 1,0 \end{cases}$	$\begin{cases} \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{OH}^+ + \text{H}^- - e \\ \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}^{++} + \text{H}^- + \text{H}^- - e (?) \end{cases}$
$\text{O}^-$	?	$\begin{cases} 7,5 \pm 0,3 \\ 23,7 \pm 0,5 \\ 36,0 \pm 3 \end{cases}$	$\begin{cases} \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2 + \text{O}^- - e (?) \\ \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^+ + \text{H}^+ + \text{O}^- \\ \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^+ + \text{H}^+ + \text{O}^- + e \end{cases}$

als die Appearancepotentiale aller positiven Ionen. Der Einfang eines Elektrons von 5,6 eV an ein  $\text{H}_2\text{O}$ -Molekül kann demnach zur Dissoziation



führen. Dabei ist allerdings nicht zu entscheiden, ob die Elektronenanlagerung direkt an das  $\text{H}_2\text{O}$ -Molekül erfolgt oder aber erst nach dem Stoß an das zunächst neutrale H-Atom, welches durch denselben abgetrennt worden ist. Die Tatsache, daß ein  $\text{OH}^-$ -Ion vollständig fehlt, macht die zweite Möglichkeit unwahrscheinlich.

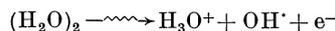
Schwieriger zu verstehen ist dagegen der Prozeß, welcher bei nur 7,5 eV zum  $\text{O}^-$ -Ion führt. Er kann energetisch nur formuliert werden, wenn man annimmt, daß die gegenüber der Bindungsenergie von  $5,2 \text{ eV} + 4,4 \text{ eV} = 9,6 \text{ eV}$  der beiden H-Atome fehlende Energie von 2,1 eV gleichzeitig durch deren Vereinigung zu  $\text{H}_2$  oder aber durch die Elektronenaffinität des O-Atoms geliefert wird. Die zweite Möglichkeit scheint wegen des weitgehenden Ausschlusses von sekundären Reaktionen und besonders wegen des Fehlens des  $\text{OH}^-$ -Ions wahrscheinlicher. Es wäre dann etwa das Schema



anzunehmen. Ebenso ist auch der Vorgang der  $\text{H}^-$ -Bildung beim 2. Appearancepotential dieses Ions von 8,5 eV nicht ohne weiteres verständlich. Die große Streubreite der Messung ( $\pm 1 \text{ eV}$ ) scheint auf Sekundärprozesse hinzudeuten, wohl etwa von der Form des Ladungsaustausches mit Anregung oder Stoßübertragung:



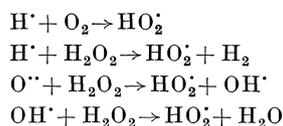
Bei den positiven Ionen sind die energetischen Verhältnisse offensichtlich einfacher. Zur Bildung des  $\text{H}_2\text{O}^+$ -Ions sind 13,0 eV erforderlich in guter Übereinstimmung mit dem I. Ionisationspotential von  $P_i = 12,56 \text{ eV}$ . Da bei schon 0,8 eV mehr auch das  $\text{H}_3\text{O}^+$ -Ion auftritt, muß für dessen Bildung der in der Tabelle 10 angegebene Prozeß angenommen werden, wobei allerdings die Frage nach der Herkunft des H-Atoms nicht geklärt ist. Dieses muß höchstwahrscheinlich aus einem der vorstehend besprochenen Vorgänge herkommen, da es bei den im Massenspektrometer herrschenden Drucken kaum mehr möglich ist, daß die Reaktion



in so hohem Ausmaße stattfinden kann.

Zur Bildung der übrigen positiven Ionen  $\text{OH}^+$ ,  $\text{O}^+$ ,  $\text{H}^+$  und  $\text{H}_2^+$  ist neben dem Ionisationspotential zusätzlich noch die Zufuhr der Trennungsarbeit von mindestens 5,2 eV erforderlich. Diese Ionen können demnach erst oberhalb 17,8 eV überhaupt in Erscheinung treten. Das ist auch der Fall. Hierbei sind allerdings die Energieverhältnisse für das Ion  $\text{O}^+$ , zu dessen Bildung beide OH-Bindungen gelöst werden müssen, nicht einfacher Natur, sondern es muß offenbar auch hier ein Teil der Dissoziationsarbeit des  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküls durch die sofortige exotherme Wiedervereinigung der beiden H-Atome zu  $\text{H}_2$  geliefert werden.

Grundsätzlich werden im gasförmigen System  $\text{H}_2 + \text{O}_2$  durch Energiezufuhr nach FONER (1964) neben den erwähnten Ionen die neun neutralen Produkte  $\text{H}^\cdot$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{O}^\cdot$ ,  $\text{OH}^\cdot$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{HO}_2^\cdot$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  und  $\text{O}_3$  gebildet. Davon werden im Massenspektrometer die Radikale  $\text{O}^\cdot$ ,  $\text{OH}^\cdot$  und  $\text{HO}_2^\cdot$  schon bei einem einzigen Zusammenstoß mit der Wand (sehr im Gegensatz zu z. B.  $\cdot\text{CH}_3$  oder  $\cdot\text{C}_2\text{H}_5$ ) zerstört. Das  $\text{HO}_2^\cdot$  Radikal kann durch die vier verschiedenen Vorgänge



entstehen. Davon sind besonders der erst- und der letztgenannte von wesentlicher Bedeutung.

Die Ergebnisse und Darlegungen über die Bestrahlungsprodukte in der verdünnten Gasphase sind auf flüssiges Wasser nur mit höchster Vorsicht übertragbar. Wenn das Wesen jener Reaktionen besonders darin besteht, daß Wechselwirkungen zwischen den durch „Elektronenstoß“ mit Energie geladenen Molekülen und solchen der Umgebung ohne besondere Energieinhalte (sog. Stöße II. Art) weitgehend vermieden sind, so ist in flüssiger Phase gerade das Gegenteil der Fall. Wie aus dem vorhergehenden Kapitel hervorgeht, hat man bei irgendwelchen Vorgängen energetischer oder kinetischer Art in flüssigem Wasser *niemals ein einzelnes  $\text{H}_2\text{O}$ -Molekül* in Betracht zu ziehen, sondern stets eine Agglomeration von Molekülen, sei diese nun bloß durch Raumerfüllung und *van der Waals*sche Kräfte verursacht, oder aber durch Hydratation oder H-Brückenbildung energetisch enger gebunden. In chemisch reinem Wasser ist natürlich nur die letztere Agglomeration vorhanden, während in wäßriger Lösung alle Übergänge zwischen *van der Waals*scher Bindung und chemischer Verbindung zwischen Gelöstem und Dispersionsmittel möglich sind. Dadurch wird aber die Sachlage im einzelnen unüberblickbar kompliziert.

Wird flüssigem Wasser durch Bestrahlung Energie zugeführt, so muß dies natürlich in grundsätzlich derselben Art geschehen, wie bei allen anderen stofflichen Systemen. Die Energiezufuhr erfolgt aber zunächst stets an höhere molekulare Bereiche, sei sie nun ihrem Wesen nach „elastischer“ oder „inelastischer“ Natur. Dabei kann der elastische Anteil wegen der Kleinheit des Verhältnisses ( $M$  Molekularmasse,  $m$  Elektronenmasse)

$$\frac{4 M \cdot m}{(M + m)^2} \cong 0,00003$$

bei Elektronenstoß wohl überhaupt für die Bestrahlung vernachlässigt werden, und er kann auch bei schweren Korpuskeln nur in fester Phase erhebliche Bedeutung erlangen.

Eine korrekte Beschreibung der Verhältnisse beim sog. inelastischen Stoß muß sich wellenmechanischer Ansätze (vgl. auch S. 115) bedienen, wobei alle konkreten Vorstellungen über die Phänomenologie des „Stoßes“ gegenstandslos werden. Auch wenn eine solche Betrachtungsweise mit erheblichen begrifflichen Schwierigkeiten verbunden ist, so soll doch hier zunächst ein besonders wichtiger Gesichtspunkt herausgegriffen werden (MAGEE 1962). Die Wechselwirkung einer bewegten Partikel darf als Wellenpaket aller Anregungsstufen (einschließlich Ionisationen) der durchlaufenen Materie aufgefaßt

werden. Dabei fordert die Unbestimmtheitsrelation, daß die mit der Impulsänderung  $\Delta m v$  der Partikel verbundene De Broglie-Wellenlänge  $\lambda_B$  der Beziehung

$$\lambda_B \cdot \Delta m v \hat{=} h$$

entspricht. Damit wird die De Broglie-Wellenlänge zu

$$\lambda_B \hat{=} \frac{h}{\Delta m v} \hat{=} \frac{h \cdot v}{\Delta E}.$$

Setzt man nun in diese Beziehung für Elektronen die sicher sehr vernünftigen Werte von  $v = 10^{10}$  cm/s und  $E = 30$  eV (angenäherter Wert  $W$  für die Arbeit pro Ionenpaar) ein, so wird

$$\lambda_B = \frac{6,62 \cdot 10^{-27} \cdot 10^{10}}{30 \cdot 1,6 \cdot 10^{-12}} = 0,138 \cdot 10^{-5} \text{ cm} \hat{=} 140 \text{ \AA}.$$

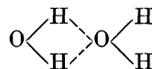
Der Ort der (gequantelten) Energieaufnahme ist demnach über einen Materialbereich von über 100 Å Durchmesser *unbestimmt*. Wenn demnach als Folge eines inelastischen „Stoßes“ eine Kernschwingungsfrequenz eines Moleküls angeregt (Molekularanregung), ein Elektron auf ein (potentiell) höheres Niveau gehoben (Elektronenanregung) oder ein Elektron abgelöst worden ist (Ionisierung), so kann über den Ort dieser Energieaufnahme keine bestimmte Aussage gemacht werden, ebensowenig aber über ihre besondere Art. Dabei erfordert der Elektronendurchgang durch den Molekülkomplex mit obengenannter Dimension eine Zeit von etwa  $10^{-16}$  s. Die Energiekonzentration auf eine Molekularanregung kann nicht vor ca.  $10^{-13}$  s (Kernschwingungsfrequenz) stattgefunden haben, während eine solche zur Elektronenanregung oder -ablösung sicher viel rascher erfolgt (*Frank-Condon-Prinzip*). Ionisierungen und Elektronenanregungen finden deshalb statt, bevor das System irgendwelche stofflichen Änderungen erfahren kann.

Dabei sind aber auch die letzteren nicht voraussehbar. Aus all dem folgt aber die die gesamte Strahlenchemie beherrschende Fundamentaltatsache, daß die durch ein Molekülsystem aufgenommene *Energie primär für alle beliebigen Anregungszustände und an jedem beliebigen Ort* dieses Systems verfügbar ist. Es ist deshalb auch jede beliebige Folge dieser Energiezufuhr innerhalb des Molekularsystems an sich möglich, vorausgesetzt, daß diese ihrem Ausmaß nach dafür ausreicht.

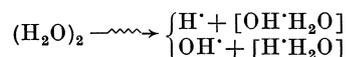
Stoffliche Änderungen sind selbstverständlich durch die chemische Zusammensetzung des Systems vorgezeichnet, wobei die Möglichkeiten um so zahlreicher und mannigfaltiger werden, je komplizierter das System gebaut und zusammengesetzt ist. In diesem Sinne wirkt auch eine Polymerisation, Komplexbildung oder Agglomeration komplizierend.

Die teilweise Agglomeration in flüssigem Wasser hat zur Folge, daß die Zahl der primären Strahlenreaktionen erheblich vergrößert und damit der Überblick über dieselben entsprechend erschwert wird. Über die möglichen Spaltungen und deren Produkte bei Einzelmolekülen gibt die vorstehende Tabelle 10, S. 66, Auskunft. Ist aber die Reaktionseinheit eine Wasseragglomeration, so sind sofort erheblich mehr stoffliche Änderungen möglich.

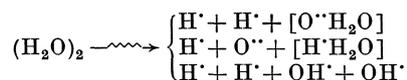
Ist der Wasserkomplex beispielsweise dimer, etwa nach der Form



so können bei einfachem Bindungsbruch sofort die Radikale

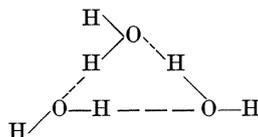


gebildet und bei Spaltung zweier Bindungen die Umsätze

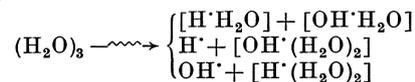


erwartet werden.

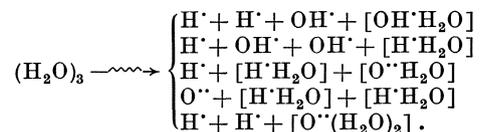
Bei trimerem Agglomerat etwa nach



ist die Zahl und Mannigfaltigkeit der Spaltungen natürlich größer. So entstehen bei einfachem Bindungsbruch



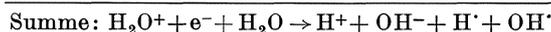
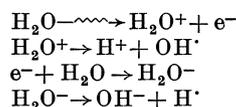
und bei Doppelbrüchen die Produkte



Hierbei sind nur die neutralen Spaltprodukte (Radikale) berücksichtigt worden. Bei Einschluß geladener Produkte würde die Zahl sehr wesentlich höher. Ebenso wenig wurden Umsätze mit der Umgebung berücksichtigt, was den konkreten Verhältnissen ebenfalls nicht gerecht wird. All diese Primärprodukte finden sich ja bei ihrer Bildung in unmittelbarem Kontakt mit ihren Nachbarn. Ionen und Radikale müssen deshalb sofort (ca. innerhalb  $10^{-11}$  s) hydratisiert, also mit  $\text{H}_2\text{O}$ -Molekülen der Umgebung verbunden werden (vgl. S. 59 ff.), und diese agglomerierten Produkte sind es, welche später unter sich oder mit gelösten Stoffen Reaktionen eingehen.

Es bedeutet deshalb ohne Zweifel eine „terrible Simplifikation“ der tatsächlichen Sachlage, wenn die primären Strahlenreaktionen des Wassers gegenwärtig in der Literatur nur im Sinne einer einfachen Spaltung des einfachen  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküls dargestellt werden, und man sollte sich über diese (manchmal nicht bewußte und bisher kaum erwähnte) sehr starke Vereinfachung der Betrachtung gründlich im klaren sein. Es soll in diesem Zusammenhang auch nicht verschwiegen werden, daß diese einfache Art der Interpretation zahlreiche Schwierigkeiten mit sich bringt, auch wenn sie den Großteil der genügend genau untersuchten Strahlenreaktionen in wäßrigem Milieu befriedigend zu formulieren vermag.

Nach den von DEBIERNE (1914) erstmals entwickelten und später von WEISS (1944) erneut formulierten Ideen führt die Bestrahlung von Wasser zu den Radikalen  $\text{H}\cdot$  und  $\text{OH}\cdot$ . Die Vorgänge dieser Radikalbildung werden von verschiedenen Autoren etwas unterschiedlich formuliert und auch in ihrer gegenseitigen Bedeutung verschieden bewertet. Darnach soll die Ionisation eines  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküls den Ablauf



verursachen.

Daneben kann eine Elektronenanregung mit genügender Energie (ca. 7 eV) direkt zu einer Dissoziation in die *Radikale* führen:



wobei dieser zweite Vorgang möglicherweise ebenso wichtig ist.

Mit Hilfe der diesen Radikalbildungen folgenden *Folgereaktionen* ist es grundsätzlich möglich, die in bestrahlten wäßrigen Systemen beobachteten stofflichen Umsätze darzustellen. Deshalb hat dieses einfache Schema der Primärreaktionen, besonders unter

Chemikern, heute fast widerspruchlos Aufnahme gefunden, und es soll in der Folge auch, als zum mindesten der Phänomenologie genügend, weiter diskutiert werden. Dabei wird sich nach der Besprechung einzelner Reaktionen noch Gelegenheit geben, darauf kritisch im Sinne der vorstehenden Darstellungen einzugehen.

Die durch Bestrahlung nachweisbaren Reaktionsprodukte in sehr reinem Wasser sind je nach der Natur der verwendeten Strahlung qualitativ und quantitativ verschieden. Es ist deshalb von Vorteil, eine entsprechende Unterteilung vorzunehmen.

#### *α) Hochionisierende Strahlungen*

Wie im Anschluß an die erste Untersuchung von DUANE und SCHEUER (1913) von BONET-MAURY und LEFORT (1948), LEFORT (1951) und ANTA und LEFORT (1954) gezeigt werden konnte, entstehen bei Bestrahlung von reinstem Wasser mit  $\alpha$ -Strahlen die stabilen Produkte  $H_2$ ,  $H_2O_2$  und  $O_2$ . Dabei betragen die Ausbeutezahlen:

$$\begin{aligned} G(H_2) &\cong 1,8 \text{ Moleküle/100 eV} \\ G(H_2O_2) &\cong 0,95 \text{ Moleküle/100 eV} \\ G(O_2) &\cong 0,42 \text{ Moleküle/100 eV} \end{aligned}$$

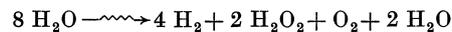
und der  $H_2O$ -Verbrauch

$$G(-H_2O) \cong 3,6 \text{ Moleküle/100 eV.}$$

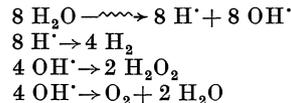
Diese von LEFORT und ANTA und LEFORT (1951, 1954) in zwei verschiedenen Mitteilungen angegebenen  $G$ -Werte verhalten sich zueinander wie

$$G(-H_2O) : G(H_2) : G(H_2O_2) : G(O_2) = 8 : 4 : 2,11 : 0,91,$$

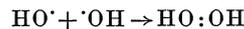
also annähernd wie 8:4:2:1. Man darf also zunächst die approximative Stöchiometrie



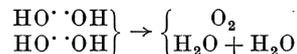
zur Grundlage einer eingehenderen Betrachtung nehmen, da die obigen Verhältnisse kaum zufällig sein können. Der angenäherten Stöchiometrie kann durch die Formulierungen



Genüge getan werden. Dabei geben zunächst nur die letztgenannten Reaktionsschritte zu weiteren Erörterungen Anlaß. Die Dimerisation  $2 OH^\cdot \rightarrow H_2O_2$  erfordert die Vereinigung der beiden ungepaarten Elektronen der  $OH^\cdot$ -Radikale nach



zu Hydroperoxid. In dichten Bahns Spuren liegen nun aber die  $OH^\cdot$ -Radikale so nahe beieinander, daß auch Reaktionen von der Form



durchaus möglich werden. Daß im Mittel 2  $H_2O$ -Moleküle am gesamten Reaktionsgeschehen teilnehmen müssen, ohne im Endergebnis in Erscheinung zu treten, ergibt sich mit Evidenz aus den  $G$ -Werten, welche den Gleichungen

$$a) G(-H_2O) = 2 G(H_2O_2) + 2 G(O_2)$$

und

$$b) G(-H_2O) = G(H_2O_2) + G(H_2)$$

genügen müßten. Bezogen auf Sauerstoff (a) beträgt die Summe der rechten Seite 2,74 und Wasserstoff (b) 2,75, also identische Werte. Demgegenüber beziffert sich aber der experimentelle Wasserverbrauch auf  $G(-H_2O) = 3,6$ . Durch die Strahlung gebildetes

$\text{H}_2\text{O}_2$  wird aber selber durch Strahlung teilweise wieder zersetzt (vgl. S. 74 ff.). Das Ausmaß dieser Zersetzung müßte selbstverständlich der gebildeten Menge proportional sein.

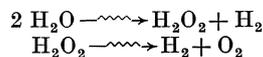
Diese Interpretation steht mit dem Dosisverlauf der einzelnen Reaktionsprodukte zum mindesten bei höheren Dosen grundsätzlich im Einklang. In Abb. 9 sind die Versuchsergebnisse von LEFORT (1951, 1954) wiedergegeben. Während die Ausbeute von  $\text{H}_2$  bei kleinen Dosen, diesen streng proportional ansteigt, tendiert die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentration gegen einen Sättigungswert hin, während der Exponent des Anstieges für  $\text{O}_2$  eindeutig  $> 1$  ist. Wie MINDER (1946, 1947) durch allgemeine Rechnungen gezeigt hat, ist der erstere Verlauf ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) der Ausdruck einer Reaktion, bei der das gebildete Produkt ( $X$ ) selber wieder verschwindet nach dem allgemeinen Ansatz

$$\frac{dX}{dD} = a - bX,$$

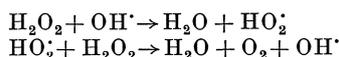
während die letztere ( $\text{O}_2$ ) durch eine Reaktionskette mit zusätzlichem, von selbst ablaufendem Reaktionsglied darstellbar ist nach der grundsätzlichen Form

$$\frac{dX}{dt} = aJ - bX.$$

Genau diese Verläufe liegen aber für  $\text{H}_2\text{O}_2$  einerseits und  $\text{O}_2$  andererseits bei Bestrahlung reinsten Wassers mit  $\alpha$ -Strahlen vor. Man darf sie also durch die formalen Gleichungen



darstellen. LEFORT (1951) hat für den letzten Reaktionsschritt die Formulierung

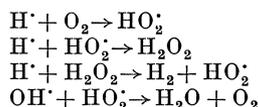


angegeben, wobei bei genügender  $\text{HO}_2^\cdot$ -Konzentration auch noch der zusätzliche Vorgang

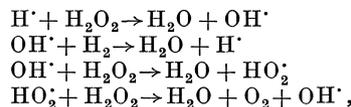


zur Sauerstoffbildung führen soll. Daß dabei die oben skizzierte Kinetik zum mindesten grundsätzlich im Spiele sein muß, ist durch die Beobachtung der (durch die Gleichung geforderte) Dosisabhängigkeit der  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Ausbeute durch SHALEK und BONNER (1953) erwiesen.

Sind die obengenannten Reaktions- und Zwischenprodukte tatsächlich vorhanden, so sind unter ihnen mannigfaltige, zusätzliche Reaktionen möglich, so unter Sauerstoffbeteiligung (Biradikal)



und weiter die Rückbildungen der Molekularprodukte zu Wasser nach:



welche alle auf Grund der Reaktionsfähigkeit der daran beteiligten Partner und ohne Energiekonsum aus der Strahlung ablaufen können.

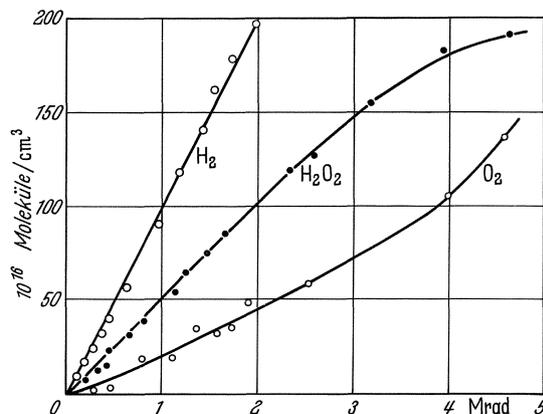


Abb. 9. Bildung von  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  und  $\text{O}_2$  bei Bestrahlung von Wasser mit  $\alpha$ -Strahlen nach LEFORT (1954)

Es kann aber trotzdem gar keinem Zweifel unterliegen, daß auch die hier absichtlich etwas komplizierter gewählte Darstellung gegenüber den tatsächlichen Reaktionsverhältnissen noch eine sehr rigorose Vereinfachung darstellt. Die Hauptschwierigkeit einer von Hypothesen freien Interpretation liegt in der Tatsache, daß es kaum möglich wird, die primär gebildeten, kurzlebigen Zwischenprodukte in flüssigem bestrahltem Wasser direkt quantitativ erfassen zu können, um sie dann mit den tatsächlich erfaßbaren, stabilen Endprodukten in einen widerspruchsfreien Zusammenhang zu bringen. Leider sind auch die ohne Zweifel wichtigsten Primärprodukte  $H\cdot$  und  $OH\cdot$  nur über den Umweg ihrer Wirkungen auf zusätzliche Reagenten nachweisbar, so daß selbst ihrer Anteilnahme und Bedeutung am beobachtbaren Reaktionsgeschehen noch ein hypothetischer Anteil anhaftet.

SENVAR und HART (1958) haben unter strengen experimentellen Bedingungen die Ausbeuten der stabilen Reaktionsprodukte des Wassers bei Bestrahlung mit 3,4 MeV- $\alpha$ -Strahlen [ $^{10}B(n, \alpha)^7Li$ -Prozeß] erneut bestimmt. Die gefundenen Werte waren

$$\begin{aligned} G(H_2) &= 1,45 \pm 0,03 \\ G(H_2O_2) &= 1,29 \pm 0,06 \\ G(O_2) &= 0,10 \pm 0,01 \end{aligned}$$

und weichen erheblich von denen von LEFORT (1951) und ANTA und LEFORT (1954) gegebenen ab. Sie genügen ebenfalls sehr genau der Beziehung

$$2 G(H_2O_2) + 2 G(O_2) = G(H_2O_2) + G(H_2),$$

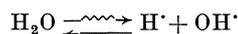
wobei die Summe der linken Seite 2,78, diejenige der rechten Seite 2,74 beträgt und mit demjenigen aus den vorstehend erwähnten Messungen von LEFORT u. Mitarb. (1948, 1951, 1954) praktisch identisch sind. Es bestehen also eigentlich nur qualitative Unterschiede zwischen den Ergebnissen beider Arbeitsgruppen.

Diese Diskrepanzen sind wohl teilweise durch die Verwendung von  $\alpha$ -Strahlen mit recht unterschiedlicher Energie (3,4 resp. 5,3 MeV) bedingt, zu einem anderen Teil aber auf Unsicherheiten der Dosimetrie zurückzuführen. In beiden Untersuchungen wurden die Strahlendosen auf  $G$ -Werte der  $Fe^{++}$ -Oxydation durch  $\alpha$ -Strahlen basiert. Leider sind aber, wie kürzlich MINDER (1960) gezeigt hat, bei  $\alpha$ -Strahlen die Ausbeutewerte der Eisen(II)-Oxydation noch mit erheblichen Unsicherheiten behaftet, so daß verlässliche Dosiswerte damit hier noch nicht erhalten werden können. Es wäre damit im Grunde genommen auch nicht möglich, aus den Ergebnissen sichere quantitative Formulierungen abzuleiten. Diese Diskrepanz zeigt eindringlich, wie wichtig es ist, den besonderen dosimetrischen Voraussetzungen der Interpretation strahlenchemischer Umsätze die erforderliche Aufmerksamkeit zu widmen.

### *$\beta$ ) Strahlungen mit geringer spezifischer Ionisation*

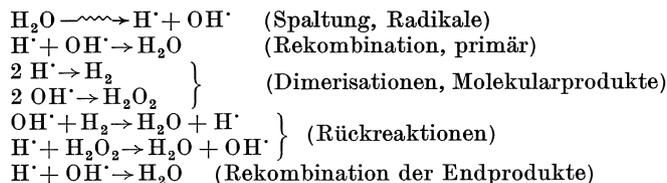
Wie erstmals von ALLEN (1948) überzeugend gezeigt worden ist, sind bei Bestrahlung reinsten Wassers mit Röntgen- und Elektronenstrahlen überhaupt keine stabilen Reaktionsprodukte nachweisbar. Dadurch wird natürlich die Einsicht in die Reaktionsverhältnisse nicht erleichtert. Jeder Versuch einer Darstellung derselben, und sei er noch so wohl begründet, muß deshalb seinem Wesen nach hier Hypothese bleiben. Dabei besteht aber kein Zweifel, daß die vom Wasser aufgenommene Strahlenenergie sich in Reaktionen umsetzen muß. Diese sind aber offenbar derart, daß keine Änderung der Zusammensetzung resultiert.

Unter der Voraussetzung der primären  $H_2O$ -Spaltung in  $H\cdot + OH\cdot$  müßte demnach das Gleichgewicht



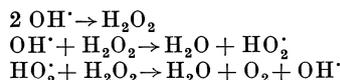
erfüllt sein, wobei die tatsächlichen Reaktionsabläufe mit Sicherheit sehr erheblich komplizierter sind, als dies durch die obige Gleichgewichtsgleichung formuliert wird.

ALLEN (1948) hat die folgenden Mechanismen vorgeschlagen, welche bisher keinem begründeten Einwand begegnet sind:

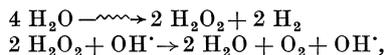


Eine teilweise experimentelle Begründung dieses Reaktionsschemas darf in der schon recht lange Zeit zurückliegenden Beobachtung von GÜNTHER und HOLZAPFEL (1938) gesehen werden, daß beim Abpumpen während der Bestrahlung von reinem (?) Wasser  $\text{H}_2$  produziert werden kann. Leider ist dieser für die Kinetik der Strahlenchemie des Wassers hochwertige Versuch bisher noch nicht unter strengsten Bedingungen und unter quantitativer Messung des Wasserstoffs (und eventuell gleichzeitig entstandenem  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) wiederholt worden.

Die von ZINN u. Mitarb. (1956) am „Borax III“ (Argonne boiling water reactor) gemachte Beobachtung, daß die Wasserzersetzung in  $\text{H}_2$  und  $\text{O}_2$  unter Siedebedingungen eine viel höhere ist als ohne Blasenbildung, hat für die Strahlenchemie von reinem Wasser neue Anhaltspunkte beigebracht. Zunächst wurde diese Tatsache auch unter experimentellen Bedingungen von GORDON und HART (1958) bestätigt, wobei unter  $\text{CO}_2$ -Durchfluß auch bei Bestrahlung mit  $\gamma$ -Strahlung  $\text{H}_2$  mit einer Ausbeute von  $G(\text{H}_2) = 0,40$  und  $\text{O}_2$  mit  $G(\text{O}_2) = 0,20$  nachgewiesen werden konnte. Offenbar muß durch die Wegnahme des Molekularproduktes  $\text{H}_2$  durch den Gasstrom die Folgereaktion  $\text{OH}\cdot + \text{H}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{H}\cdot$  wegfallen, wodurch dann die Reaktionskette

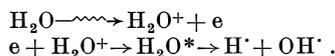


zur Sauerstoffbildung führt. Die beobachtete Stöchiometrie kann dabei unter Weglassung der Zwischenprodukte formuliert nach



wobei das induzierende  $\text{OH}\cdot$ -Radikal am Schluß wieder gebildet wird.

Alle die vorstehenden Formulierungen lassen die *geladenen Zwischenprodukte* weitgehend, für die den Primärreaktionen folgenden Vorgänge vollständig außer Betracht. Es ist dies wiederum ohne Zweifel eine sehr starke Vereinfachung der tatsächlichen Sachlage. Der bis vor kurzem weitverbreitete Standpunkt, nach welchem *Ionenreaktionen* nur von unwesentlicher Bedeutung sein könnten, wurde teilweise durch das praktisch vollständige Fehlen von Kenntnissen der Ionenchemie, teilweise aber durch eine theoretische Untersuchung von BURTON und MAGEE (1952) verursacht. Nach dieser sollten nämlich freie Elektronen nach der Primäriodisation vom ionisierten Molekül sofort wieder eingefangen werden, lange bevor sie Zeit gehabt hätten, eine genügende Distanz zu überwinden, um sich dann einem neutralen Molekül anzulagern. Das Ergebnis eines derartigen Wiedereinfanges müßte ein hochangeregtes Molekül sein, dessen Dissoziation zu den Primärradikalen führt, z. B.



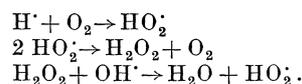
Damit wäre aber der Ionisationsvorgang in einem flüssigen System, insbesondere in Wasser, nur in seiner allerersten Zeit (Größenordnung  $10^{-16}$  s entsprechend „Elektronen-umlaufzeit“) als solcher manifest und für irgendwelche Folgen von einer primären Elektronenanregung nicht mehr verschieden. Konsequenterweise dürfte dann auch auf eine Betrachtung der Reaktionsmöglichkeiten geladener Molekülfragmente verzichtet werden.

Dieser an sich begründeten Theorie stehen aber die unumstößlichen Ergebnisse von *Leitfähigkeitsmessungen* an bestrahlten Flüssigkeiten gegenüber. Ohne auf frühere derartige Versuche von JAFFÉ (1908) und GREINACHER (1909) an flüssigen Paraffinen näher einzugehen, soll hier besonders auf die Messungen von STAHEL (1929) an bestrahltem Hexan und MOHLER und TAYLOR (1935) an bestrahltem Schwefelkohlenstoff hingewiesen werden, bei welchen, allerdings ohne Sättigung erreichen zu können, in der Größenordnung pro Masseneinheit dieselben Ionisationsströme gefunden wurden, wie in Gasen. In neuerer Zeit hat RICHARDS (1952) nachgewiesen, daß der Ionisationsanteil der  $\delta$ -Strahlung bei Bestrahlung durch  $\alpha$ -Strahlen auch in Flüssigkeiten gemessen werden kann. Es ist klar, daß eine Stromführung in bestrahlten Flüssigkeiten nur durch *Ladungsträger mit endlicher Lebensdauer* vor sich gehen kann. Was bei organischen Flüssigkeiten gesichert ist, muß auch für Wasser Geltung haben. Es ist nicht anzunehmen, daß hier grundsätzlich andere Verhältnisse vorliegen, wie z.B. bei dem chemisch doch recht ähnlich gebauten Stoff  $\text{CS}_2$ . Ebensowenig scheint es berechtigt, die im Gaszustand nachgewiesenen zahlreichen Ionen aus Wasser (vgl. Tabelle 10, S. 66) für Betrachtungen der Reaktionsmöglichkeiten in flüssigem Zustand völlig zu ignorieren.

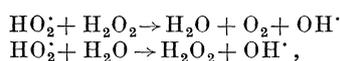
Leider ist die Ionenchemie, insbesondere diejenige bestrahlter Systeme, auch heute noch beinahe eine Tabula rasa, ähnlich wie dies etwa vor 30 Jahren noch mit der Radikalchemie der Fall war. Deshalb können auch noch keine ins Einzelne gehenden Angaben gemacht werden. Man steht hier erst am Beginn einer tieferen Einsicht. Daß aber Strahlenprodukte, wie z. B.  $\text{H}_2\text{O}_2$ , teilweise in ionisch dissoziierter Form nach  $\text{H}_2\text{O}_2 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HO}_2^-$  vorliegen, ist aus dessen Säurecharakter bekannt, und daß die durch die Bestrahlung erhöhte Wasserdissoziation  $\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{OH}^-$  chemisch von Bedeutung sein muß, ist unbestreitbar, auch wenn diesen Tatsachen bisher überhaupt kaum Beachtung geschenkt worden ist. Schließlich ist von HART (1959) darauf hingewiesen worden, daß das wichtige (sekundäre?) Strahlenradikal  $\text{HO}_2$  höchstwahrscheinlich in einem Dissoziationsgleichgewicht nach  $\text{HO}_2 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{O}_2^-$  vorliegt, wobei das  $\text{O}_2^-$ -Ion wegen seiner besonders leichten Elektronenabgabe ein sehr starkes Reduktionsmittel sein müßte.

#### *$\gamma$ ) Einfluß des Sauerstoffes*

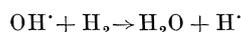
Wie schon erwähnt, ist nicht besonders entgast, offenstehendes Wasser stets eine Gleichgewichtslösung von  $\text{O}_2$ ,  $\text{N}_2$  und  $\text{CO}_2$ . Von diesen ist die letztgenannte Komponente teilweise ionisch dissoziiert nach  $\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ . Für den Charakter des gelösten Biradikals Sauerstoff bestehen elektronische Gründe für eine lose Assoziation mit Wasser nach  $2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightleftharpoons \text{H}-\text{O}-\text{H} \cdot \text{O}_2 \cdot \text{H}-\text{O}-\text{H}$ . Unabhängig von der Strahlenqualität reagieren, wie besonders WEISS (1952) erstmals dargetan hat, die einfachen Strahlenprodukte des Wassers mit  $\text{O}_2$  unter Bildung und Beteiligung des *Hydroxoniumradikals* nach



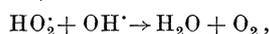
Weiter müssen auch die Reaktionen



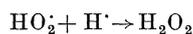
sowie zusätzlich



in Betracht gezogen werden, welche wieder zu den Ausgangsprodukten  $\text{H} \cdot$  und  $\text{O}_2$  zurückführen. Dagegen glaubt RIGG (1952) nicht an den weiteren Vorgang



welcher aber von anderen Autoren zusammen mit der zusätzlichen Hydroperoxidbildung



als wahrscheinlich angenommen wird.

Der Einfluß des Sauerstoffes auf das Reaktionsgeschehen bei der Bestrahlung von Wasser muß aber sinnvollerweise zusammen mit der Bildung und dem Abbau des dabei stets vorhandenen Hydroperoxids betrachtet werden.

Wie erstmals von RISSE (1929) durch eingehende Versuche gezeigt worden ist, muß Wasser zur  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Bildung bei Bestrahlung mit Röntgenstrahlen  $\text{O}_2$  enthalten. Ohne  $\text{O}_2$ -Gehalt entsteht praktisch kein  $\text{H}_2\text{O}_2$ . RISSE hat auch als erster auf die Möglichkeit eines Zusammenhanges zwischen der Hydroperoxidbildung und den biologischen Strahlenwirkungen hingewiesen. Umgekehrt wird aber  $\text{H}_2\text{O}_2$  durch Strahlung in wäßriger Lösung abgebaut. Die Reaktionsverhältnisse des Systems ( $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) können deshalb nicht einfacher Art sein. Zunächst muß sich mit steigender Strahlendosis eine Gleichgewichtskonzentration von  $\text{H}_2\text{O}_2$  einstellen gemäß der Gleichung

$$\frac{d[\text{H}_2\text{O}_2]}{dD} = a - b \cdot [\text{H}_2\text{O}_2] = 0,$$

wobei die Neigung  $a$  des Anstieges und die Höhe des Gleichgewichts  $[\text{H}_2\text{O}_2] = \frac{a}{b}$  (für  $D \rightarrow \infty$ ) natürlich von den Faktoren, welche die Reaktionskonstanten  $a$  und  $b$  beeinflussen, abhängen.

Sowohl FRILLEY (1947) wie später EBERT und BOAG (1952) haben in ausgedehnten Versuchen die vorstehende Reaktionsgleichung (integriert)

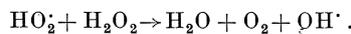
$$[\text{H}_2\text{O}_2] = \frac{a}{b} (1 - e^{-bD})$$

bestätigt gefunden. Dabei hat der erstgenannte Autor mit Röntgenstrahlen (0,95 resp. 1,5 Å) gearbeitet, während die Versuche von EBERT und BOAG (1952) mit 1 MeV-Elektronen durchgeführt wurden. Die aus den Resultaten berechneten Umsätze betragen (für  $D \rightarrow 0$ :  $\frac{d[\text{H}_2\text{O}_2]}{dD} = a$ ):  $G(\text{H}_2\text{O}_2) = 1,63$  (FRILLEY) und  $G(\text{H}_2\text{O}_2) = 1,16$  (EBERT und BOAG). Es ist durchaus möglich, daß dieser Unterschied mit der Verschiedenheit der differentiellen Energieabgabe der verwendeten Strahlungen in Zusammenhang steht, ist doch die Wahrscheinlichkeit der Dimerisation  $2 \text{OH} \cdot \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$  in erster Linie durch die Spurendichte gegeben.

Die von der Gleichung geforderte Sättigung (Gleichgewicht zwischen  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Aufbau und -Abbau) der  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentration hat durch DANTON und ROWBOTTOM (1952) eine chemische Erklärung gefunden. Ist die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentration im bestrahlten System noch gering, so findet der weitere Aufbau nach



statt, solange als die Bedingung  $a > b \cdot [\text{H}_2\text{O}_2]$  gilt. Ist demgegenüber die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentration hoch genug, so werden die  $\text{HO}_2 \cdot$ -Radikale in vermehrtem Maße mit demselben reagieren gemäß



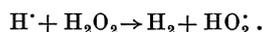
Falls diese Interpretation der Wirklichkeit entspricht, müßte es möglich sein, aus der Konstante  $b$  Rückschlüsse auf die unbekanntene  $\text{HO}_2 \cdot$ -Konzentration zu ziehen, da dieselbe ja der Wahrscheinlichkeit des letztgenannten Reaktionsschrittes entsprechen müßte.

Aus den Ergebnissen von EBERT und BOAG (1952) mit 1 MeV-Elektronen ergibt sich diese Reaktionswahrscheinlichkeit zu  $b = 12,9 \cdot 10^{-18} \text{ g}/100 \text{ eV}$ . Wird deshalb in dieser Lösungsmasse die Energie von 100 eV durch Strahlung deponiert, und ist darin 1  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Molekül enthalten, so müßte die dabei vorhandene  $\text{HO}_2 \cdot$ -Konzentration genügen, um den Hydroperoxidabbau mit der Wahrscheinlichkeit 1 zu bewirken. Es wäre von hohem allgemeinem Interesse, auf diese und ähnliche Versuchsergebnisse gründliche Diffusionsrechnungen, wie dies von LEA (1947) und neuerdings mit Hilfe von Computern von HART (1958) auf einfachere Aufgaben getan worden ist, anzuwenden.

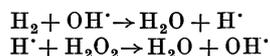
FRICKE (1935) glaubte seinerzeit eine Abhängigkeit des  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Abbaus von der Dosisleistung nachgewiesen zu haben, und zwar sollte die Abbaugeschwindigkeit von  $\text{H}_2\text{O}_2$  bei der Dosisleistung  $J$  durch die Gleichung

$$-\frac{d[\text{H}_2\text{O}_2]}{dt} = k \sqrt{J}$$

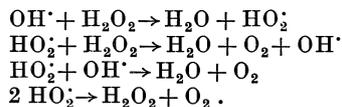
darstellbar sein. Weder RISSE (1929) noch später FRILLEY (1947) und JOHNSON (1951) haben aber eine solche Abhängigkeit nachweisen resp. bestätigen können. Der letztgenannte Autor sowie LEFORT (1951) fanden, daß bei luftfreien, verdünnten  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösungen bei Bestrahlung  $\text{H}_2$  gebildet wird nach



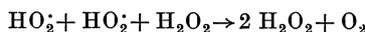
Ein Überschuß an molekularem Wasserstoff verstärkt den  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Abbau, und zwar um so mehr, je geringer die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentration ist. Nach ALLEN, HOCHANADEL (1952) ist dafür die Reaktionskette



maßgebend. Ist der  $\text{H}_2$ -Überschuß verbraucht, so wird molekularer Sauerstoff gebildet gemäß der Kette

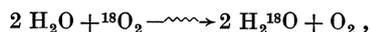


Für den Abschluß der Reaktionskette halten HART und MATHESON (1952) die Dreikörperreaktion



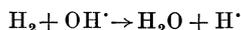
für 1000fach wahrscheinlicher als die einfache Dimerisation entsprechend dem letzten Glied der vorstehenden Kette. Eine Entscheidung hierüber könnte durch eine eingehende Diskussion der Gleichgewichtskonzentration des  $\text{H}_2\text{O}_2$  gefunden werden, da dieselbe ja durch eine der beiden Abschlußreaktionen verursacht werden muß. Sicher ist dabei, daß die letztere zu höheren Endkonzentrationen führen muß als die erstere und zusätzlich auch nur bei genügend vorhandenem  $\text{H}_2\text{O}_2$  überhaupt möglich ist.

Interessant sind in diesem Zusammenhang noch zwei neuere Beobachtungen. Wird nach HART (1958) Wasser, welches isotopisch markierten Sauerstoff  $^{18}\text{O}_2$  gelöst enthält, bestrahlt, so wird als Bestrahlungsprodukt auch  $\text{O}_2$  ohne  $^{18}\text{O}$  gefunden. Die dazu führende formale Reaktion, ohne Berücksichtigung der Zwischenglieder, muß also sein



und stellt damit den Beweis für das Eintreten des gelösten  $\text{O}_2$  in das Reaktionsgeschehen dar. Derartige Untersuchungen, auch unter Verwendung von T, werden wohl schon in naher Zukunft gesicherte Formulierungen gestatten und damit den noch weitgehend hypothetischen Charakter zahlreicher, vorstehend angeführter Verläufe in positivem oder negativem Sinne zu entscheiden gestatten, wobei allerdings für den Wasserstoff *Isotopieeffekte* berücksichtigt werden müßten.

Bei Bestrahlung mit  $\gamma$ -Strahlen unter Blasenbildung (vgl. S. 73) wird nach GORDON und HART (1958) die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Ausbeute nicht sicher meßbar geändert. Das damit verbundene Ausbleiben der Reaktion



verhindert demnach den vermehrten Verbrauch des  $\text{OH} \cdot$ -Radikals und gleichzeitig auch den Abbau von  $\text{H}_2\text{O}_2$  durch den  $\text{H} \cdot$ -Überschuß.

Zum tieferen Verständnis des Sauerstoffeinflusses ist weiter die Tatsache von Bedeutung, daß paramagnetische Gase ( $\text{O}_2$ ,  $\text{NO}$ ) nach GRAY und BOAG (1960) ganz allgemein durch ihre alleinige Gegenwart, wahrscheinlich durch Anlagerung, die Natur der durch

die Strahlung gebildeten Primärprodukte verändern, was durch eine tiefgreifende Änderung der Mikrowellenspektren zum Ausdruck kommt. Weiter müßte nach den Untersuchungen von JONES (1939) bei luftgesättigtem Wasser wohl auch die Bildung von Salpetersäure und nach den Ergebnissen von KIRCHER u. Mitarb. (1960) vielleicht in geringem Maße sogar diejenige von Ozon bei Strahlenreaktionen in belüfteten wäßrigen Lösungen in Betracht gezogen werden.

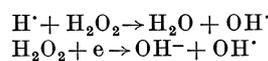
#### δ) Elektronische Zustände in bestrahltem Eis

Für die tiefere Einsicht in die allerersten energetischen und (unter Einschluß des Elektronengleichgewichtes) auch materiellen Strahleneinflüsse auf das Wasser sind die in letzter Zeit vorgenommenen Messungen der Mikrowellenabsorption an bestrahltem Eis von hoher allgemeiner Bedeutung. Wasser ist im unbeeinflussten Zustand diamagnetisch als Ausdruck der strukturellen Abschirmung seines an sich hohen Dipolmomentes durch Agglomerationserscheinungen.

Wird Wasser in fester Phase mit genügend hohen Dosen bestrahlt, so ist seine paramagnetische Resonanz leicht feststellbar. Sie ist der unzweideutige Ausdruck dafür, daß durch die Bestrahlung eine teilweise elektronische Änderung des  $\text{H}_2\text{O}$ -Gefüges (vgl. S. 61) stattgefunden haben muß. Welcher Art dieselbe aber ist, kann aus den Versuchsergebnissen allein nicht entschieden werden. Für die Anlage paramagnetischer Zentren bestehen in Eis verschiedene Möglichkeiten. Die sehr offene Struktur der Eiskristalle erlaubt (vgl. Abb. 6, S. 61) nicht nur eine Elektronenverschiebung, z. B. ins Innere eines O-Tetraeders, sondern auch die Verschiebung eines  $\text{H}^\cdot$ -Radikals oder  $\text{H}^+$ -Ions auf eine Zwischengitterlage, wie z. B. in den Schwerpunkt einer unbesetzten Fläche der O-Tetraeder. Beide Verschiebungen müßten wegen der an den erwähnten Stellen vorhandenen Ladungsverteilung eine gewisse Stabilität aufweisen und damit bei tiefen Temperaturen über längere Zeit bestehen bleiben.

Die bisher durchgeführten Versuche bestätigen diese Anschauung. Nach MATHESON und SMALLER (1955) beträgt die Ausbeute an nachweisbaren paramagnetischen Zentren in entgastem Eis, welches bei  $-196^\circ\text{C}$  mit  $\gamma$ -Strahlen bestrahlt wurde, 0,14 Radikalpaare pro 100 eV. Die nachgewiesenen Reaktionsprodukte der Bestrahlung (nach dem Auftauen),  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  und  $\text{O}_2$  ergeben je nach Bestrahlungstemperatur verschiedene Ausbeuten zwischen 0,003 ( $\text{O}_2$  bei entgastem Eis und  $-196^\circ\text{C}$ ) und 0,70 ( $\text{H}_2\text{O}_2$  bei  $\text{O}_2$ -Gegenwart und  $-20^\circ\text{C}$ ). Bei ganz tiefen Bestrahlungstemperaturen ( $-196^\circ\text{C}$ ) scheint  $\text{O}_2$  nach GHORMLEY und STEWART (1956) keinen Einfluß auf die Ausbeute zu haben, während ein solcher zwischen  $-100$  und  $-20^\circ\text{C}$  deutlich in Erscheinung tritt. Es scheinen somit bei verschiedenen Temperaturen verschiedene Mechanismen, allerdings mit viel geringeren Ausbeuten als in flüssiger Phase, vorzuliegen.

Diese Änderungen werden auch durch *Fluoreszenzerscheinungen* bestätigt. GROSSWEINER und MATHESON (1954) haben die *Thermolumineszenz* von bestrahltem Eis zwischen  $-196$  und  $-115^\circ\text{C}$  untersucht und je nach Dosis zwei verschieden gelegene „Glowkurven“ nachgewiesen, eine bei  $-155^\circ$  mit hoher Intensität und eine solche mit etwa 100fach geringerer Intensität bei  $-115^\circ\text{C}$ . Die erstere fällt in das Temperaturgebiet des Verschwindens der paramagnetischen Resonanz, welche den primär gebildeten freien Radikalen zugeschrieben wird, während die zweite in der Nähe ( $-128^\circ\text{C}$ ) des Verschwindens des Restes der Mikrowellenabsorption liegt und mit sekundären durch die Reaktionen



aus  $\text{H}_2\text{O}_2$  gebildeten  $\text{OH}^\cdot$ -Radikalen in Zusammenhang gebracht wird.

Es besteht kein Zweifel, daß eine gründliche Untersuchung der elektronischen Zustände von bestrahltem Eis, unter möglichster Anwendung aller zur Verfügung stehenden

Methoden, die Einsicht in die metastabilen Zustände des Wassers und damit auch in die primären Reaktionsabläufe bei wäßrigen Lösungen wesentlich erweitern könnte. So haben die vorstehend besprochenen, an sich noch spärlichen Versuchsergebnisse schon mit Sicherheit gezeigt, daß beispielsweise elektronischer Energietransport in Eis bei Bestrahlung unter verschiedenen Bedingungen erfolgen muß, und daß mindestens zwei getrennte, metastabile elektronische Zustände in festem  $\text{H}_2\text{O}$  vorhanden sind. Die Tatsache, daß aus bestrahltem Eis, wenn auch mit nur relativ geringer Ausbeute, nach dem Auftauen alle zu erwartenden stabilen Reaktionsprodukte isoliert werden können, zeigt zusammen mit der hohen Abhängigkeit der Ausbeuten von der Bestrahlungstemperatur, daß diese Energiezustände zum mindesten zum Teil zur Spaltung der  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküle ausreichen müssen. Damit ist die allgemeine Bedeutung derartiger Untersuchungen erwiesen, denn sie stellen ja die wohl einzige Möglichkeit dar, die molekularen Zwischenzustände über beliebig lange Zeiten zu fixieren. Daß Zwischenzustände auch für Reaktionen in flüssigem Wasser von wesentlicher Bedeutung sein müssen, ist durch dessen Agglomerationszustand bei tieferen Temperaturen (vgl. S. 59ff.) mit Sicherheit anzunehmen.

## 2. Die Strahlenoxydation von Eisensulfat

### a) Allgemeines

Die von FRICKE und MORSE (1927) erstmals beschriebene Oxydation von Eisen(II)-Ionen in schwefelsaurer, sauerstoffhaltiger wäßriger Lösung durch Röntgenstrahlen ist in der Folgezeit von zahlreichen Autoren unter den verschiedensten Gesichtspunkten untersucht worden. Sie stellt deshalb die experimentell bei weitem am besten bekannte Strahlenreaktion an einem wäßrigen System dar. Im Hinblick auf ihre ausgezeichnete Verwendbarkeit als *strahlenchemische Dosimeterreaktion* ist auch den Bestrahlungsbedingungen und ihren Einflüssen auf den Ausbeutewert ( $G$ -Wert) besondere Aufmerksamkeit gewidmet worden, im Gegensatz zu zahlreichen anderen, weniger gut untersuchten Strahlenreaktionen, bei denen oftmals die äußeren Umstände der Bestrahlung nur ungenügend berücksichtigt worden sind.

Die Eisen(II)-Oxydation durch Bestrahlung soll deshalb hier auch als Beispiel für die Betrachtung anderer, weniger gründlich untersuchter Strahlenreaktionen an anorganischen wäßrigen Systemen dienen und infolgedessen mit einer gewissen Vollständigkeit zur Darstellung gelangen. Dabei wird es möglich sein, mehrere der gewonnenen Gesetzmäßigkeiten zu verallgemeinern und auf andere Strahlenreaktionen zu übertragen.

Eisen kommt in neutraler und saurer wäßriger Lösung in zwei Oxydationsstufen vor, als  $\text{Fe}^{++}$ -Ion unter Abtrennung der beiden  $\text{N}_1$ -Elektronen und als  $\text{Fe}^{3+}$ -Ion unter zusätzlichem Verlust eines  $\text{M}_3$ -Elektrons. Die beiden Ionisierungszustände sind unter Normalbedingungen nebeneinander beständig, wenn keine oxydierenden oder reduzierenden Stoffe in der Lösung vorhanden sind. Die Beständigkeit ist besonders groß für stark verdünnte Lösungen bei einem Überschuß an Schwefelsäure. Unter Abschluß gegen kurzwelliges Licht (braune Flaschen), behalten solche Lösungen ihren Permanganattiter innerhalb 1% über mehrere Monate. Dies ist besonders wichtig für Eisen(II)-Sulfatlösungen von beispielsweise  $n/500 \text{ Fe}^{++}$  in 0,8 n Schwefelsäure, wie sie als Dosimetersysteme verwendet werden. Selbst tagelanges Durchperlen von Sauerstoff führt zu keiner meßbaren Oxydation; das schwache Biradikal  $\text{O}_2$  ist nicht in der Lage dem  $\text{Fe}^{++}$  ein weiteres Elektron zu entreißen.

### b) Analytische Meßverfahren

Zur Messung der Strahlenwirkung auf Eisenlösungen sind alle Verfahren brauchbar, welche die eine der beiden Oxydationsstufen neben der anderen quantitativ zu erfassen gestatten. Allgemein ist ein Analysenverfahren zu strahlenchemischen Versuchen um so geeigneter, je eindeutiger seine Angaben sind und je höher seine Empfindlichkeit ist.

Es soll ferner durch äußere Bedingungen möglichst wenig beeinflußt werden und schließlich selbst keinen chemischen Eingriff in das bestrahlte System verursachen.

Unter diesen Gesichtspunkten sind mehrere und recht verschiedenartige Nachweisverfahren für die Strahlenoxydation von Eisen(II)-Sulfat verwendet worden. Dabei sind z.T. etwas unterschiedliche Resultate erzielt, teilweise aber ausgezeichnete Übereinstimmung derselben gefunden worden. Leider ist aber bisher noch kein gründlicher, systematischer Vergleich aller verwendeten Analysenverfahren untereinander durchgeführt worden. Ein solcher wäre im Hinblick auf die Verwendung der Eisen(II)-Oxydation als strahlenchemische Dosimeterreaktion sehr erwünscht.

FRICKE und MORSE (1927, 1928) haben bei ihren ersten Versuchen den nicht oxydierten Anteil in ihren sehr verdünnten Lösungen (bis ca.  $n/25000$ ) durch *potentiometrische Titration* bestimmt. Diese Meßmethode weist neben einer hohen Empfindlichkeit und einer scharfen Bestimmung des Umschlagspunktes eine Temperaturabhängigkeit auf und ist bei sehr großen Verdünnungen etwas heikel wegen des nicht immer leicht überblickbaren Zustandes der Elektroden. Sie hat deshalb in neuerer Zeit keine Anwendung mehr gefunden.

Demgegenüber ist von MINDER u. Mitarb. (1942—1961) die *gewöhnliche Titration* mit  $\text{KMnO}_4$  unter Verwendung von stets frisch bereiteten Lösungen (zwischen  $n/50$  und  $n/200 \text{ KMnO}_4$ ) in ausgedehntem Maße verwendet worden. Dabei ist es unter geeigneten Arbeitsbedingungen möglich, den Umschlagspunkt auch bei  $n/200$ -Lösungen mit großer Schärfe beobachten zu können. Die Konzentration einer beispielsweise  $n/500 \text{ FeSO}_4$ -Lösung kann ohne Schwierigkeiten mit einer Genauigkeit von unter 1 % Fehler bestimmt werden. Dieses allereinfachste, klassische Meßverfahren ist deshalb höchst brauchbar, besonders auch, weil es durch äußere Umstände, auch bei großen Verdünnungen, kaum beeinflußt wird.

Am weitesten verbreitet, besonders unter angelsächsischen Autoren, ist der Nachweis des durch die Strahlung oxydierten Eisens durch *photometrische Messungen* mit oder ohne Verwendung entsprechender Indikatoren. Eisen(III)-Ion weist in wäßriger Lösung bei  $3045 \text{ \AA}$  eine scharfe (Resonanz-) Absorptionsbande auf, deren Höhe im Absorptionsspektrum als Maß für die  $\text{Fe}^{3+}$ -Konzentration verwendet werden kann (AMPHLETT 1952; DEWHURST 1954; HART u. Mitarb. 1956—1958; MILLER 1952—1954 u. a.). Leider weist die Absorption der  $3045 \text{ \AA}$ -Bande einen ziemlich hohen Temperaturkoeffizienten auf (BASTIAN u. Mitarb. 1953; DEWHURST u. Mitarb. 1954), so daß schon geringe Temperaturdifferenzen bei der Messung das Ergebnis beeinflussen können. Zusätzlich ist die Bestimmung der Höhe der Absorptionsbande und damit die Eichung des Meßverfahrens keine ganz einfache Aufgabe. Aus diesen Gründen ist die Genauigkeit dieser an sich sehr einfachen Meßmethode keine sehr hohe; Unterschiede der Oxydation von wenigen Prozent können bei starker Oxydation damit kaum sicher erfaßt werden.

Zahlreich sind auch die Bestrahlungsversuche unter Verwendung von *Indikatoren* zum Reaktionsnachweis, da sowohl  $\text{Fe}^{++}$ - als auch  $\text{Fe}^{3+}$ -Ionen mit mehreren Stoffen tief gefärbte Komplexe bilden, deren Konzentration durch Absorptionsmessungen leicht bestimmt werden kann. Eine ausgedehnte Anwendung haben gefunden der Eisen(II)-Komplex mit o-Phenanthrolin (LEFORT u. Mitarb. 1954—1958), das Dipyridyl und die Isonitrosodiphenylthiobarbitursäure (TSCHICHOLD 1959) und auch das  $\text{Fe}^{3+}$ -Rhodanid (MINDER 1953; EHRENBERG und SEALAND 1954; MÜNZEL 1960), wobei hier der Einfluß der Sulfationen berücksichtigt werden muß.

Das letztgenannte System erlaubt eine Abtrennung des oxydierten Eisens durch Ausziehen mit organischen Lösungsmitteln (z.B. Isoamylalkohol). Damit wäre bei sehr hohen Strahlendosen und entsprechend hohen Fe-Konzentrationen der bestrahlten Lösung grundsätzlich auch eine gravimetrische Bestimmung des Strahlenumsatzes möglich. Eine solche ist aber bisher nicht durchgeführt worden.

Das sehr elegante Verfahren der Umsatzbestimmung mit Hilfe des *radioaktiven Isotopennachweises* geht in seinen Anfängen auf eine kurze Mitteilung von RUSTAM und

SVEDBERG (1953) zurück. Es ist in neuerer Zeit von MÜNDEL und AERNE (1960) in ausgedehnterem Maße zu dosimetrischen Zwecken verwendet worden. Beide langlebigen Radioisotopen des Eisens,  $^{59}\text{Fe}$  und  $^{55}\text{Fe}$  mit den Halbwertszeiten von 45 d resp. 2,9 a, sind grundsätzlich brauchbar, das letztere wegen seiner erheblich größeren Lebensdauer natürlich besser. Die Messung des Umsatzes besteht darin, nach der Bestrahlung die  $\text{Fe}^{3+}$ -Ionen als Rhodankomplex nach dem vorerwähnten Verfahren abzutrennen und dessen Radioaktivität zu bestimmen. Damit sind nach den genannten Autoren schon Umsätze bei Strahlendosen von nur 500 r mit befriedigender Genauigkeit meßbar.

Der radioaktive Isotopennachweis ist das wohl einzige Verfahren, welches mit absoluter Sicherheit gestatten würde, die Umsatzverhältnisse auch bei Bestrahlung neutraler  $\text{Fe}^{++}$ -Lösungen zu bestimmen. Wie von MINDER u. Mitarb. (1945) gezeigt worden ist, entsteht hier bei Bestrahlung ein Niederschlag von dreiwertigem Eisen in Form von  $\text{FeOHSO}_4$ , welcher ohne Schwierigkeiten aus der Lösung abgetrennt werden kann. Eine Aktivitätsbestimmung von Niederschlag und Restlösung mit anschließender Titration der letzteren müßte eine sehr sichere Bilanz des Strahlenumsatzes liefern.

### e) Absolutmessung des Umsatzes

Die absolute Bestimmung der Umsatzzahl einer strahlenchemischen Reaktion setzt eine Absolutbestimmung der dem System zugeführten (absorbierten) Strahlendosis voraus. Bekanntlich liefern die Standardverfahren der absoluten Dosismessung sehr verlässliche und untereinander mit hoher Präzision übereinstimmende Werte der Dosis nur für konventionelle Röntgenstrahlen zwischen etwa 60 und 300 kV Erzeugungsspannung, und zwar zunächst nur für den Meßkörper Luft. Will man so gewonnene (Expositions-)Dosiswerte weiter konkretisieren (z. B. in absorbierten Dosen ausdrücken) oder aber auf andere, z. B. kondensierte Systeme, übertragen, so sind erhebliche Umrechnungen erforderlich, welche sich als gesichert geltender Konstanten bedienen müssen, wie beispielsweise der Arbeit pro Ionenpaar ( $W = 34$  eV) und des Verhältnisses der Massenschwächungskoeffizienten oder desjenigen der Massenbremsvermögen. Soll die Erweiterung auf andere Energiebereiche oder gar andere Strahlenarten ausgedehnt werden, so sind die Übertragungsschwierigkeiten entsprechend größer.

Es ist deshalb bei einer ersten Gruppe von absoluten Bestimmungen der Umsatzzahl ( $G$ -Wert) der  $\text{Fe}^{++}$ -Oxydation auf derartige Übertragungen überhaupt verzichtet und die vom bestrahlten System aufgenommene Energie direkt calorimetrisch gemessen worden. Derartige  $G$ -Werte-Messungen an der Strahlenoxydation von Eisen(II)-Sulfatlösungen durch die  $\gamma$ -Strahlung sehr starker  $^{60}\text{Co}$ -Quellen wurden von HOCHANADEL und GHORMLEY (1953), LAZO, DEWHURST und BURTON (1954), KEENE (1957), MILVEY, GENNA, BARR und LAUGHLIN (1958) und von HART, KOCH, PETREE, SCHULMAN, TAIMUTO und WYCKOFF (1958) vorgenommen. Es soll nicht verschwiegen werden, daß auch hierbei Übertragungsrechnungen zwischen Calorimetersystem und Versuchslösung erforderlich waren und daß die calorimetrische Dosismessung mit sehr hohen experimentellen Schwierigkeiten verbunden ist, gilt es doch, Wärmemengen in der Größenordnung  $10^{-6}$ — $10^{-1}$  cal/g mit einer Genauigkeit von unter 1 % experimentellem Fehler zu bestimmen. Um so höher sind die schönen Ergebnisse der erwähnten Autoren (vgl. Tabelle 11) zu bewerten.

Ein grundsätzlich anderer Weg zur Absolutbestimmung der Umsatzzahl der Strahlenoxydation von  $\text{Fe}^{++}$ -Lösungen ist von MINDER u. Mitarb. (1951—1961) beschritten worden. Er gründet sich auf die Tatsache, daß die Dosis in einem kugelförmigen System vollständig berechenbar ist, wenn dasselbe entweder selbst homogen strahlt oder aber durch eine punkt- oder kugelförmige Strahlenquelle in seinem Zentrum bestrahlt wird. Die entsprechenden Dosisfunktionen lauten für eine punktförmige Strahlenquelle im Kugelzentrum (MINDER und SCHINDLER 1952):

$$\bar{D}_c = \frac{3 KM}{R^2} \cdot \frac{1 - e^{-(\mu - \sigma_s)R}}{(\mu - \sigma_s)R}$$

und für die *mittlere Dosis* im Innern einer homogenen strahlenden Kugel

$$\bar{D}_i = \frac{9 KM}{4 R^2} \cdot G [(\mu - \sigma_s) R],$$

wenn

$$G [(\mu - \sigma_s) R] = 1 + 8 \sum_1^{\infty} \frac{\nu + 3}{(\nu + 4)!} [-2(\mu - \sigma_s) R]^\nu$$

die Volumintegralfunktion der Dosisverteilung darstellt.

Es sind demnach zur Dosisberechnung die Kenntnis der Dosiskonstante  $K$  in  $R \text{ cm}^2/\text{mCi h}$  oder in  $\text{rad cm}^2/\text{mCi h}$ , der totalen Aktivität  $M$  des strahlenden Systems, des wirksamen Schwächungskoeffizienten  $(\mu - \sigma_s)$  der emittierten Strahlung und des Radius  $R$  des kugelförmigen bestrahlten oder selbst strahlenden Systems erforderlich.

Tabelle 11. *Absolute Bestimmung der Umsatzzahl (G-Wert) der Eisen(II)-Oxydation durch  $\gamma$ -Strahlen*

Autoren	Jahr	Isotop	Methode*	Dosis- konstante	G-Wert	Bemerkungen
HOCHANADEL und GHORMLEY	1953	$^{60}\text{Co}$	Cal.	—	$15,6 \pm 0,3$	—
LAZO, DEWHURST und BURTON	1954	$^{60}\text{Co}$	Cal.	—	$15,8 \pm 0,3$	—
MILVEY, GENNA, BARR und LAUGHLIN	1958	$^{60}\text{Co}$	Cal.	—	15,45	—
HART, KOCH, PETREE, SCHULMAN, TAIMUTO und WYCKOFF	1958	$^{60}\text{Co}$	Cal.	—	15,6	—
MINDER	1953	$^{86}\text{Rb}$	Kugel	—	$14,6 \pm 0,6$	Akt. nur aus „Pile- Faktor bekannt
MINDER	1953	$^{60}\text{Co}$	Kugel	13,56	$14,4 \pm 0,7$	Akt. durch Vergleich mit Ra
MINDER	1956	Ra	Kugel	8,2	$16,2 \pm 0,5$	—
MINDER	1958	Ra	Kugel	8,4	$15,4 \pm 0,5$	—
MINDER und TSCHICHOLD	1959	$^{60}\text{Co}$	Kugel	12,96 **	$16,0 \pm 0,4$	Akt. durch Vergleich mit Ra
MINDER und TSCHICHOLD	1959	$^{192}\text{Ir}$	Kugel	4,92 **	$16,3 \pm 0,8$	Akt. berechnet aus Spektrum und Ver- gleich mit Ra
MINDER	1959	Ra	Kugel	8,4	$15,9 \pm 0,4$	—
MINDER	1960	Ra	Kugel	8,33	$16,1 \pm 0,2$	—

\* Cal. = calorimetrische Messung; Kugel = Kugeldosimeter.

\*\* Dosiskonstante neu berechnet.

In Tabelle 11 sind die Ergebnisse der besprochenen Versuche wiedergegeben. Dabei wurden von den amerikanischen Autoren belüftete, von MINDER u. Mitarb. mit  $\text{O}_2$ -gesättigte Lösungen bestrahlt. Es ist durchaus möglich, daß die geringen Unterschiede der Ergebnisse mit dieser Verschiedenheit der bestrahlten Lösung zusammenhängen, da der  $\text{O}_2$ -Gehalt während der Bestrahlung den Umsatz in erheblichem Maße beeinflusst, wie später (S. 85ff.) gezeigt werden soll.

Der Mittelwert der vier Bestimmungen auf Grund calorimetrischer Messungen der absorbierten Energie beträgt  $G(\text{Fe}^{3+}) = 15,6 \pm 0,1$  Ionen pro 100 eV. Die mittlere Streuung liegt unter 1%. Die beiden ersten Messungen von MINDER mit  $^{86}\text{Rb}$  und  $^{60}\text{Co}$  (1953) geschahen mit Isotopenlösungen, deren Aktivität nicht genügend genau bekannt war resp. für die letztere mit einer berechneten Dosiskonstante für  $^{60}\text{Co}$  von  $K = 13,56$

unter Zugrundelegung des alten Wertes der Arbeit pro Ionenpaar von  $W = 32,5 \text{ eV/Ip}$ . Wird das Ergebnis auf den neuen Wert der Dosiskonstante korrigiert, so resultiert die Umsatzzahl zu  $G = 15,0 \pm 0,7$ , welche mit den neueren Ergebnissen viel besser übereinstimmt. Rechnet man alle neueren Messungen mit Radium auf die heute sicher auf 1% Abweichung genaue Dosiskonstante von Radium mit  $K = 8,33 \text{ R cm}^2/\text{mgh}$  um, so resultiert für die seit 1956 durchgeführten Messungen der Umsatzzahl der  $\text{Fe}^{++}$ -Oxydation mit  $\gamma$ -Strahlen des Radiums (bei  $\text{O}_2$ -Sättigung der Lösung) der Zahlenwert von  $G_0 = 15,91 \pm 0,12$  Ionen pro 100 eV. Die Differenz zum Mittelwert der calorimetrischen Messungen beträgt ziemlich genau 2% und zeigt die Richtigkeit beider Absolutmethoden. Die Umsatzzahl der Eisen(II)-Sulfatoxydation bei Gegenwart von Sauerstoff beträgt also für  $\gamma$ -Strahlen zwischen etwa 0,8 und 1,3 MeV Photonenenergie:  $G(\text{Fe}^{3+}) = 15,8 \pm 0,2$  Ionen pro 100 eV absorbierter Strahlenenergie.

#### d) Phänomenologie der Eisen(II)-Strahlenoxydation

Als Beispiel für die Einzelheiten der Absolutbestimmung der Umsatzzahl sind in Abb. 10 die experimentellen Ergebnisse der neueren Kugeldosimetermessungen von MINDER (1956—1961) zur Darstellung gebracht worden. Der Abb. 10 ist zunächst die sehr wesentliche Tatsache zu entnehmen, daß

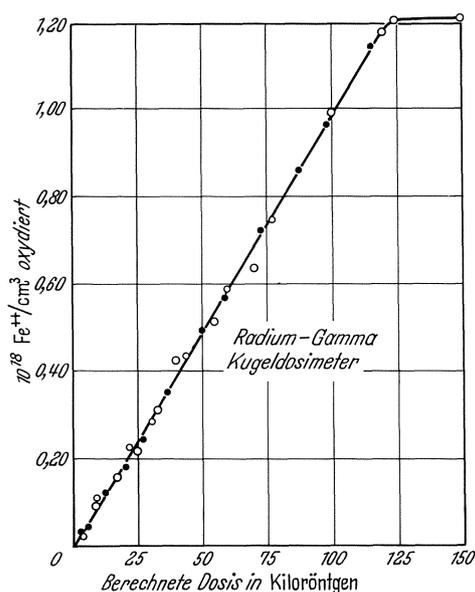


Abb. 10. Oxydation des Eisen(II)-Sulfates durch die  $\gamma$ -Strahlung von Radium. Eichversuche des sog. FRICKE-Dosimeters nach dem Kugeldosimeterprinzip (nach MINDER 1961)

der Umsatz dieser Strahlenreaktion bei den vorliegenden Reaktionsbedingungen (0,8 n  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und  $\text{O}_2$ -Sättigung) *streng* mit der *Dosis proportional* verläuft. Diese strenge Proportionalität bleibt erhalten, bis mindestens 95% der  $\text{Fe}^{++}$ -Ionen oxydiert sind. Die Strahlenreaktion verläuft demnach nicht nach dem Massenwirkungsgesetz und ist vollständig *irreversibel*. Daraus ergibt sich mit eindeutiger Konsequenz, daß die Eisen(II)-Oxydation durch Strahlung nicht durch direkten Angriff der Strahlung auf den Reagenten stattfinden kann, sondern *indirekt über das Dispersionsmittel* erfolgen muß. FRICKE und MORSE haben diesen Schluß schon aus ihren ersten Versuchen (1927) gezogen und die Eisen(II)-Oxydation bei Bestrahlung „aktivierten Wassermolekülen“ zugeschrieben. Diese Ansicht wurde weiter durch ein anderes, sehr wesentliches Ergebnis dieses ersten Versuches, nämlich durch die Tatsache erwiesen, daß der absolute Umsatz bei Bestrahlung von der Konzentration des Reagenten innerhalb der Grenzen  $n/25000$  bis  $n/5000$  unabhängig ist. Dieser nach FRICKE benannte *Verdünnungseffekt* wurde später von LIECHTI, MINDER und WEGMÜLLER (1945) an der Eisen(II)-Sulfatoxydation nach oben bis zu  $n/500$ -,  $n/50$ - und  $n/5$ -Lösungen und von KREUZ und DEWHURST (1949) nach unten bis zu  $7 \cdot 10^{-6}$  n-Lösungen untersucht. Dabei fand sich, wie Abb. 11 zeigt, der Grenzwert der Konzentrationsunabhängigkeit bei ca.  $5 \cdot 10^{-5}$ , also nahe bei der Konzentration der ursprünglichen Versuche von FRICKE und MORSE. Weitere Untersuchungen an wäßrigen Lösungen zahlreicher organischer Substanzen von MINDER u. Mitarb. (1946, 1951, 1953) und von DALE u. Mitarb. (1948) haben die *allgemeine Gültigkeit des Verdünnungseffektes* erwiesen.

Wenn die Strahlenoxydation, wie Abb. 11 zeigt, bis zu Konzentrationen von ca.  $n/20000$  ihrem absoluten Ausmaß nach konzentrationsunabhängig verläuft, so kann leicht berechnet werden, daß die von FRICKE mit „Aktivierung“ bezeichnete Ursache der beobachteten Reaktion  $\text{Fe}^{++} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$  innerhalb eines Lösungsvolumens von

$3,3 \cdot 10^{-17} \text{ cm}^3$  (bei  $m/20000$  ist ein Ion, Radikal oder Molekül auf ca.  $10^6 \text{ H}_2\text{O}$ -Moleküle vorhanden), d.h. über Distanzen von etwa  $100 \text{ \AA}$  (Kugelradius) völlig verlustlos zum Reagenten  $\text{Fe}^{++}$  transportiert werden muß. Es sind dies, molekular betrachtet, sehr große Abstände, und es ist eine ohne Zweifel grundsätzliche Frage, auf welche Weise diese Energieübertragung, denn um eine solche muß es sich ja handeln, stattfindet. Dabei sind zunächst zwei grundsätzlich verschiedene Möglichkeiten der Energieübertragung ins Auge zu fassen, nämlich *elektronischer Energietransport* und *Wanderung* der „Aktivierung“ in Form von reaktionsfähigen Strahlenprodukten des Wassers.

Elektronische Energieübertragung setzt ein geordnetes Atomsystem, wie es ein Kristall oder etwa ein periodisch gebautes Makromolekül darstellt, voraus. In flüssigem Wasser ist ein solcher nur über Distanzen möglich, wie sie durch die Assoziation und Koordination der  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküle (z.B. bei der Hydratation) gegeben sind.

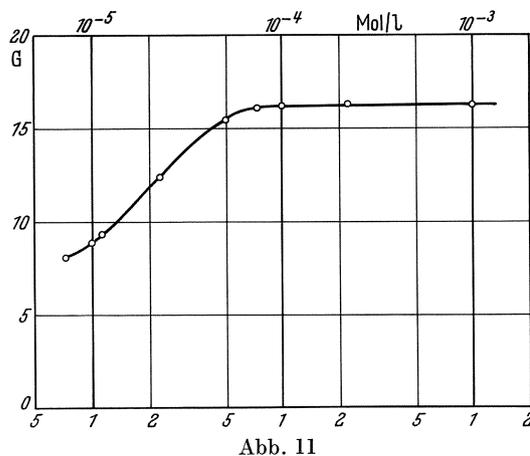


Abb. 11

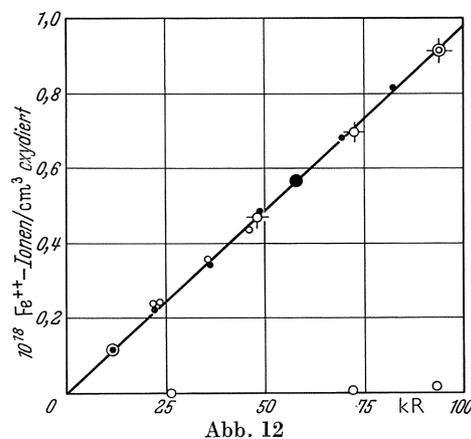


Abb. 12

Abb. 11. Abhängigkeit des Umsatzes ( $G$ -Wert) der Eisen(II)-Oxydation von der Konzentration der bestrahlten Lösung (korrigiert nach KRENZ und DEWHURST 1949)

Abb. 12. Temperaturunabhängigkeit der Eisen(II)-Oxydation durch  $\gamma$ -Strahlen. Volle Kreise:  $4^\circ \text{ C}$ , leere Kreise:  $42^\circ \text{ C}$ , Kreise mit Kreuzen:  $54^\circ \text{ C}$ . Große Signaturen: Präzisionsbestimmungen. Kreise auf Abszisse: in festem  $\text{CO}_2$  gefrorene Lösungen (nach MINDER und LICHTI 1946)

Anders liegen die Verhältnisse bei der „Wanderung“ reaktiver Strahlenprodukte des Lösungsmittels. Sind dieselben als solche zeitlich beständig, so können sie durch *Diffusion* an jeden beliebigen Ort des Systems hingelangen. Die Begrenzung der „Reichweite“ der Wanderung wird demnach durch die „Lebensdauer der Aktivierung“ der Strahlenprodukte des Wassers bestimmt. Die Wanderung als solche ist experimentell prüfbar. Werden die primären Strahlenprodukte durch Gefrieren fixiert, so muß die Ausbeute der Strahlenreaktion auf einen kleinen Bruchteil von derjenigen in der flüssigen Phase abfallen.

Solche Prüfungen sind von MINDER und LICHTI (1946) an der Eisen(II)-Oxydation und anschließend (1946, 1951) auch an anderen Stoffen in wäßriger Lösung vorgenommen worden. Die Ergebnisse an Eisen(II)-Sulfat sind in Abb. 12 dargestellt. Innerhalb eines Temperaturbereiches von  $50^\circ \text{ C}$  ist für flüssige  $n/500 \text{ Fe}^{++}$ -Lösungen *kein Temperatureffekt* der Strahlenreaktion nachweisbar. Diese fällt aber auf nicht mehr sicher meßbare Werte ab, wenn die  $\text{Fe}^{++}$ -Lösung in fester Phase bestrahlt wird. Damit ist der Energietransport in seinem weitaus größten Anteil durch *Diffusion* erwiesen. Die „Aktivierungen“ des Wassers nach FRICKE und MORSE (1927) sind diffusionsfähige, energiebeladene Strahlenprodukte des Wassers, also *Wasserionen* und *Wasserradikale*.

HUMMEL und SPINKS (1953) glaubten einen geringen Temperatureffekt der  $\text{Fe}^{++}$ -Oxydation durch  $\alpha$ -Strahlen nachgewiesen zu haben. Wie aber von DAINTON und SUTTON (1953) dargetan worden ist, muß diese Beobachtung auf die Temperaturabhängigkeit der verzögerten  $\text{Fe(II)}$ -Oxydation durch  $\text{H}_2\text{O}_2$  bei tiefer Temperatur zurückgeführt werden.

Nach den derzeitigen Vorstellungen über das Wesen der Eisen(II)-Oxydation durch Strahlung kann ein der Temperatur in engeren Grenzen proportionaler Anstieg der Reaktionsausbeute erst bei Konzentrationen erwartet werden, bei denen die Strahlenreaktion nicht mehr konzentrationsunabhängig verläuft. Erst hier müßte die Temperaturabhängigkeit der Diffusionsgeschwindigkeit mit steigender Temperatur eine Vergrößerung der Wahrscheinlichkeit der beobachteten Reaktion bewirken. Temperaturversuche der Strahlenoxydation von Eisen(II)-Sulfat bei Konzentrationen unter  $m/20000$  (vgl. Abb. 11) sind aber bisher nicht ausgeführt worden. Auch an anderen Systemen fehlen vorläufig entsprechende Untersuchungen.

In diesem Zusammenhang erscheint die neuere Beobachtung von SCHULER (1958) von hohem Interesse. Danach beginnt die Ausbeute der  $Fe^{++}$ -Oxydation durch die hochionisierende Rückstoßstrahlung der Kernreaktion  $^{10}B(n, \alpha)^7Li$  schon unterhalb von  $n/500$ -Lösungen abzusinken. Sie ist bei einem Normalwert von 4,31 (vgl. Abb. 14, S. 89) schon bei  $n/4000$ -Lösungen auf 4,03 abgefallen. Diese Verringerung der Konzentrationsunabhängigkeit um ca. zwei Zehnerpotenzen ist ohne Zweifel auf die viel höhere Spurendichte der Primärprodukte zurückzuführen, bei welcher die Wanderungsdistanzen entsprechend reduziert sind. Hier wären Temperaturversuche besonders interessant.

Die ausgedehnte Anwendung des Systems  $Fe^{++}$ -Sulfat in 0,8 n  $H_2SO_4$  als Dosimeterreaktion hat auch dazu Anlaß gegeben, eine eventuelle Abhängigkeit des Umsatzes von der *Dosisleistung* einer sehr eingehenden Prüfung zu unterziehen. Bei den Temperaturversuchen von MINDER und LIECHT (1946) wurden mit Absicht verschiedene Radiummengen, 40 mg einerseits und 200 mg andererseits, verwendet (vgl. Abb. 12), die Dosisleistung also zwischen 3,3 rad/min und 16,4 rad/min, d.h. im Verhältnis 1:5 variiert. Der Umsatz war in beiden Fällen völlig gleich. Später (1951) wurde die Dosisleistung für Röntgenstrahlen auf ca. 50 R/min (250 kV; 0,5 Cu), auf 2650 R/min (50 kV; ca. 1,0 Al) und auf 6900 R/min (31 kV; 1 mm Be) erhöht. Dabei fand sich in den beiden ersten Fällen keine sichere Änderung des Umsatzes, während bei der 31 kV-Strahlung, 6900 R/min, welche nur mit 1 mm Be gefiltert war, ein deutlicher Abfall des Umsatzes beobachtet wurde. Dieser ist aber durch die sehr erhebliche Qualitätsänderung der Strahlung verursacht, umfaßte doch das verwendete Spektrum alle Energien von 31 keV bis hinunter zu nur etwa 3 keV. Der Einfluß der Strahlenqualität (LET; spez. Energieabgabe) auf den Umsatz soll später (S. 86ff.) eingehend besprochen werden.

Weitere Kontrollen der Abhängigkeit des Umsatzes von der Dosisleistung wurden von MILLER und WILKINSON (1952) bis zu 500 rad/min und von HOCHANADEL und GHORMLEY (1953) bis zu 15000 R/min vorgenommen. Dabei wurde die vollständige Konstanz der Reaktionsausbeute nachgewiesen. In neuerer Zeit konnte diese Konstanz von SCHULER und ALLEN (1956) auch für gepulste Elektronenstrahlen gezeigt werden, selbst wenn die Einzelimpulse Dosisleistungen von der Größenordnung  $2 \cdot 10^6$  rad/s aufweisen, vorausgesetzt, daß die bestrahlte Lösung gut durchmischt wird. Die Eisen(II)-Oxydation durch Bestrahlung ist also von der Dosisleistung in *außerordentlich weiten Grenzen unabhängig*, was ihre weite Verwendbarkeit als Dosimeterreaktion natürlich in höchstem Maße begünstigt. Nach den Befunden von KEENE (1957) dürfte die Grenze der Dosisleistungsunabhängigkeit sogar noch um zwei Zehnerpotenzen höher angesetzt werden, was aber durch neueste Versuche von ANDERSON und HART (1962) doch wieder fraglich gemacht wurde.

#### e) Natur der aktiven Wasserprodukte

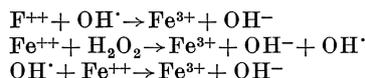
Wenn nach der Idee von DEBIERNE (1914) und der Theorie von WEISS (1944) die primäre Strahlenwirkung auf das Wasser in einer Spaltung der Wassermoleküle besteht, so muß eine solche auch in verdünnten wäßrigen Lösungen stattfinden. Die „Aktivierung“ des Wassers besteht nach heutiger, allgemeiner Auffassung besonders in dessen Spaltung in die Radikale  $H\cdot$  und  $OH\cdot$  und in der gleichzeitigen oder nachfolgenden Bil-

dung ihrer Dimerisate, der sog. Molekularprodukte  $\text{H}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Dabei muß die Ausbeutegleichung

$$G(-\text{H}_2\text{O}) = G(\text{H}\cdot) + 2G(\text{H}_2) = G(\text{OH}\cdot) + 2G(\text{H}_2\text{O}_2)$$

gelten, wenn, wie dies bisher geschehen ist, nur die Radikale und Molekularprodukte in Betracht gezogen werden.

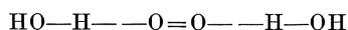
Unter diesen Gesichtspunkten kann die Oxydierung des Eisen(II)-Ions in sehr einfacher Weise formuliert werden. Sie findet durch das  $\text{OH}\cdot$ -Radikal und dessen Dimerisat  $\text{H}_2\text{O}_2$  statt. Dabei spielt das Ausmaß der Dimerisation oder dasjenige der primären  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Bildung, wie das nachfolgende Schema zeigt, für die Gesamtausbeute keine Rolle.



Diese einfache Betrachtungsweise beantwortet die Fragen, ob und wenn ja welche anderen Produkte des Wassers am Reaktionsgeschehen noch beteiligt sein könnten, nicht. Da bisher keine experimentellen Verfahren bekanntgeworden sind, um die primären Strahlenprodukte des Wassers direkt quantitativ zu bestimmen, kann eine Beantwortung dieser Fragen nur über Umwege gesucht werden. Darüber sollen im Anschluß an die Besprechung des Einflusses des Sauerstoffgehaltes der  $\text{Fe}^{++}$ -Lösungen auf die Ausbeute und bei den Reaktionen von Eisen(II)-haltigen Mehrstoffsystemen weitere Angaben gemacht werden.

#### f) Luft- respektive $\text{O}_2$ -Gehalt

Die Gegenwart von Luftsauerstoff in den bestrahlten Lösungen macht die Reaktionsverhältnisse sofort erheblich verwickelter. Ohne besondere Maßnahmen zu dessen Anschluß ist eine wäßrige Lösung stets auch eine solche von Sauerstoff und steht bezüglich ihrer Konzentration mit der umgebenden Luft in einem thermodynamischen Gleichgewicht. Bei Zimmertemperatur und Normaldruck beträgt dabei der  $\text{O}_2$ -Gehalt des Wassers ca. 10 mg pro Liter entsprechend einem  $\text{O}_2$ -Molekül auf ca. 18000  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküle. Wasser, das mit der Atmosphäre im Gleichgewicht steht, ist demnach eine etwa m/3000  $\text{O}_2$ -Lösung. Entsprechende Verhältnisse, mit vergleichbaren Zahlenwerten ( $\alpha = 14,45 \text{ cm}^3/\text{l}$ ) gelten selbstverständlich auch für Stickstoff. Dabei sind bisher kaum verlässliche Informationen über das „innere Wesen“ dieser Lösungen, wie z.B. Natur der gelösten Stoffpartikel, Hydratation derselben, strukturelle Änderungen von Gelöstem und Lösendem (in dessen unmittelbarer Umgebung), bekannt. Es darf aber als sicher angenommen werden, daß sich das schwache Biradikal  $\text{O}_2$  dabei anders verhält als das äußerlich „abgesättigte“ Molekül  $\text{:}\ddot{\text{N}}\text{:}\ddot{\text{N}}\text{:}$ , und daß es zum mindesten 2  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküle durch Wasserstoffbrücken etwa nach der Form



an sich bindet. Ebenso darf als sicher angesehen werden, daß dabei die H-Brücken, deren Energie ca. 0,3 eV beträgt, die  $\text{O}_2$ -„Doppelbindung“ von 5,1 eV erheblich auflockern, so daß eine Dissoziation des obengenannten Komplexes in 2  $\text{H}_2\text{O}_2$  nun relativ geringere Energien erfordert. Die oxydative Wirkung in einer  $\text{O}_2$ -haltigen wäßrigen Lösung muß also bei Energiezufuhr durch Strahlung erheblich größer sein als diejenige in einer  $\text{O}_2$ -freien.

Bestrahlungsversuche an  $\text{FeSO}_4$ -Lösungen mit verschiedenem Sauerstoffgehalt haben die vorstehenden Konzeptionen vollauf bestätigt. Wird der Sauerstoff vollständig aus der Lösung vertrieben, etwa durch langes Durchperlen eines „inerten“ Gases, wie z.B.  $\text{N}_2$ , so beträgt der Umsatz der  $\text{Fe}^{++}$ -Oxydation genau die Hälfte desjenigen unter  $\text{O}_2$ -Sättigung. Abb. 13 zeigt eine solche Versuchsreihe bei Bestrahlung mit der Gesamtstrahlung von  $^{86}\text{Rb}$  (Kugeldosimeterversuch), nach MINDER (1953).

Systematische Untersuchungen über die Abhängigkeit des Umsatzes der  $\text{Fe}^{++}$ -Oxydation vom Sauerstoffgehalt der bestrahlten Lösung sind von EBERT u. Mitarb. (1952, 1954) und von HART u. Mitarb. (1956, 1958) durchgeführt worden. Danach muß angenommen werden, daß die Relation  $G(\text{Fe}^{3+})_{\text{O}_2}/G(\text{Fe}^{3+})$  außer vom  $\text{O}_2$ -Gehalt noch in geringerem Maße von zusätzlichen Faktoren abhängig ist, insbesondere auch von der primären  $\text{Fe}^{++}$ -Konzentration. Der leichte Abfall des  $G(\text{Fe}^{3+})_{\text{O}_2}$ -Wertes bei sehr kleinen  $\text{Fe}^{++}$ -Konzentrationen wurde von RIGG (1952) mit der Tatsache erklärt, daß die  $\text{Fe}^{++}$ -Oxydation bei Gegenwart von  $\text{O}_2$  zu einem erheblichen Anteil durch das bei diesen Bedingungen gleichzeitig gebildete  $\text{H}_2\text{O}_2$  verursacht wird. Dabei sind je nach  $\text{O}_2$ - und  $\text{Fe}^{++}$ -Konzentrationen und der Natur der Strahlung (LET) zwei verschiedene, aber gleichzeitig und nebeneinander ablaufende Reaktionen zur Bildung von  $\text{H}_2\text{O}_2$  möglich. Die erstere,

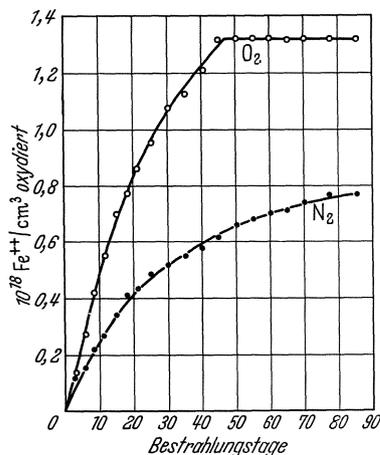
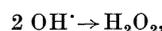
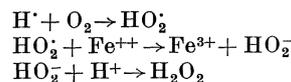


Abb. 13. Strahlenoxydation von ca.  $n/500$   $\text{FeSO}_4$ -Lösungen in  $0,8$  n Schwefelsäure durch die Gesamtstrahlung von  $^{86}\text{Rb}$ . Obere Kurve:  $\text{O}_2$ -Sättigung der Lösung; untere Kurve:  $\text{N}_2$ -Sättigung. Der exponentielle Verlauf ist durch den radioaktiven Zerfall des  $^{86}\text{Rb}$  verursacht (nach MINDER 1953). Die Ausbeuten verhalten sich genau wie 2:1

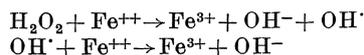
welche besonders bei hochionisierenden Strahlungen wahrscheinlich ist, entspricht der einfachen Dimerisation von  $\text{OH}^\cdot$



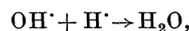
während die letztere das Ergebnis einer Reaktionskette ist und in saurer Lösung ihren Anfang beim  $\text{H}^\cdot$  nimmt:



In beiden Fällen wird  $\text{Fe}^{++}$  durch  $\text{H}_2\text{O}_2$  nach dem schon erwähnten Schema



oxydiert. Es erscheint klar, daß der zweitgenannte Reaktionsverlauf erhebliche Zeiten erfordert und bei sehr geringen  $\text{Fe}^{++}$ -Konzentrationen nicht mehr quantitativ ablaufen kann, weil damit die Rekombination



je nach Konzentrationen der in Frage stehenden Reaktionspartner, in beliebig hohem Maße in Konkurrenz treten kann.

### g) Strahlungen mit verschiedener spezifischer Energieabgabe

Im Hinblick auf die großen und grundsätzlichen Schwierigkeiten der Messung absorbierter Dosen, insbesondere an Corpuscularstrahlungen, stellt die strahlenchemische Dosismessung mit Hilfe der  $\text{Fe}^{++}$ -Oxydation hier ein außerordentlich wertvolles Hilfsmittel der Dosimetrie dar. Es sind deshalb in neuerer Zeit zahlreiche Ausbeutebestimmungen der Oxydation von Eisen(II)-Ion mit Strahlungen verschiedener Natur und Energie durchgeführt worden. Ihre Ergebnisse sind nicht nur hinsichtlich ihres eigentlichen Zweckes höchst interessant, sondern sie erlauben auch Einblicke grundsätzlicher Natur in das Reaktionsgeschehen bestrahlter, wäßriger Stoffsysteme. Dabei muß aber die Einschränkung im Auge behalten werden, daß die Verhältnisse der relativ einfachen  $\text{Fe}^{++}$ -Oxydation besonders hinsichtlich ihrer quantitativen Ergebnisse nicht ohne weiteres auf andere Systeme übertragen werden dürfen.

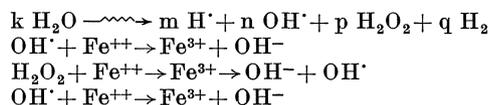
Nach den an reinem Wasser gefundenen Reaktionsausbeuten und nach ihrer Formulierung (vgl. S. 70 ff.) darf als feststehend angenommen werden, daß die Radikalreaktionen bei Strahlungen mit verschiedener spezifischer Energieabgabe bezüglich der stabilen Endprodukte quantitativ verschieden ablaufen müssen. Während eine Bestrahlung von reinem Wasser mit Röntgen- oder  $\gamma$ -Strahlen im Endergebnis zu keinen

von der Ausgangssubstanz verschiedenen Produkten führt, werden die Molekularprodukte  $H_2$  und  $H_2O_2$  bei Bestrahlung mit  $\alpha$ -Strahlen sowohl bei Gegenwart wie bei Abwesenheit von Sauerstoff gebildet. Dabei ist deren Ausbeute um so größer, je höher die spezifische Energieabgabe ist. Ihre Bildung muß demnach ein *Spureneffekt* sein, welcher grundsätzlich nach der Theorie der Rekombination verlaufen muß, also mit der Konzentration der Reaktionseinheiten in der Spur stark (in erster Näherung etwa quadratisch) anwächst. In demselben Maße wie die primären Radikale aber zur Bildung der Molekularprodukte führen, müssen sie selber aus der Lösung verschwinden. Läßt man deshalb verschiedene Strahlungen mit verschiedener spez. Energieabgabe (LET) unter sonst gleichen Bedingungen auf eine  $FeSO_4$ -Lösung einwirken, so muß das Ergebnis in Form des  $G$ -Wertes ein Maß für den relativen Einfluß der verschiedenen oxydierenden Vorgänge sein. Dabei kommen als oxydierende Agenzien, bei der üblichen, vereinfachten Betrachtungsweise, besonders die Produkte  $OH\cdot$ ,  $HO_2$  und  $H_2O_2$  in Betracht. Ohne  $O_2$ -Gegenwart würde  $HO_2$  fehlen.

Selbstverständlich könnte der Ausbeutewert durch gleichzeitig vorhandene reduzierende Stoffe wie z.B.  $H\cdot$ ,  $O_2^-$  oder hydratisierte Elektronen  $e_{aq}^-$  vermindert werden, und es wäre grundsätzlich anzunehmen, daß deren Konzentration bei verschiedener spez. Energieabgabe (LET) eine verschiedene wäre.

Die Hauptfrage ist demnach diejenige nach den Einzelvorgängen der Eisen(II)-Oxydation, nach deren gegenseitigen Relationen und besonders nach dem quantitativen Ausmaß der einzelnen reaktionsfähigen Zwischenprodukte bei Strahlungen mit verschiedener spez. Energieabgabe. Hierüber sind für  $\alpha$ -Strahlen nach den in Abschnitt I gemachten Angaben verlässliche Zahlenwerte verfügbar. Danach betragen die Ausbeutewerte für  $H_2O_2$  0,95 resp. 1,25 Moleküle/100 eV, wenn die Bestrahlung in Abwesenheit von  $O_2$  erfolgt und 0,87 bis 0,91 Moleküle/100 eV in luftgesättigtem Wasser.

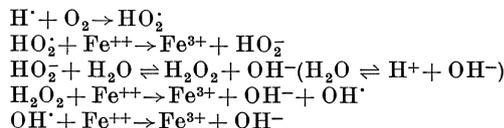
In wäßriger Lösung ohne  $O_2$ -Gehalt erfolgt die Oxydation von  $Fe^{++}$  durch das  $OH\cdot$ -Radikal oder sein Dimerisationsprodukt  $H_2O_2$ .



Es wird deshalb ein  $Fe^{++}$ -Ion durch ein  $OH\cdot$ -Radikal oxydiert, ohne Rücksicht darauf, ob die Oxydation direkt erfolgt oder erst im Anschluß an die Dimerisation. Natürlich steht hierbei der Oxydation eine eventuelle nachfolgende Reduktion durch  $H\cdot$  gegenüber und das gesamte Ausmaß im Verhältnis zu den primär verbrauchten  $H_2O$ -Molekülen wird hauptsächlich auch bestimmt durch die relative Bedeutung der Rückreaktion zu Wasser



Ist die Lösung mit  $O_2$  gesättigt, so kommen zu den obengenannten Vorgängen noch die folgenden hinzu:



Die Ausbeute wird ohne Dimerisierung  $2 H\cdot \rightarrow H_2$  also *verdoppelt*, in guter Übereinstimmung mit den Versuchsergebnissen von MINDER (1953) u. a. (vgl. S. 86). Für diese zusätzliche Reaktionsgruppe ist es nun aber von ausschlaggebender Bedeutung, ob und in welchem Ausmaß neben der Rückbildung zu Wasser auch noch eine Dimerisation der primären Radikale stattfindet. Werden durch eine solche die  $H\cdot$ -Radikale zu  $H_2$  dimerisiert, so kann die ganze durch das  $HO_2$ -Radikal bewirkte Reaktionsgruppe überhaupt nicht mehr ablaufen, und ein  $O_2$ -Einfluß auf die Ausbeute müßte deshalb ausbleiben.

Nach MILLER und WILKINSON (1953) ist das Verhältnis der Ausbeuten mit und ohne Sauerstoffgegenwart bei Bestrahlung mit  $\alpha$ -Strahlen sicher wesentlich kleiner als mit Strahlungen mit geringerer spez. Energieabgabe.

In  $O_2$ -freier Lösung muß demnach die Ausbeute durch die Beziehung

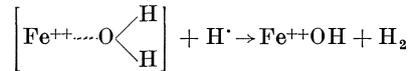
$$G(Fe^{3+}) = G(OH) + 2G(H_2O_2)$$

dargestellt werden können, wozu in saurer Lösung (vgl. weiter unten) noch derjenige Anteil der  $H\cdot$ -Bildung zu addieren wäre, der sich mit  $H^+$  zu  $H_2^+$  dimerisiert.

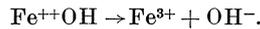
Bei  $O_2$ -Sättigung bewirkt nach vorstehendem Reaktionsschema jedes gebildete  $HO_2\cdot$ -Radikal die Oxydation von 3  $Fe^{++}$ -Ionen. Damit wird die Ausbeutebeziehung

$$G(Fe^{3+}) = G(OH) + 2G(H_2O_2) + 3G(H).$$

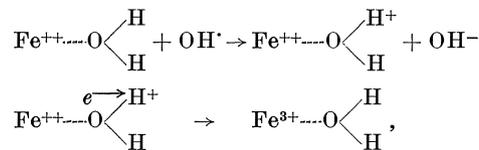
Zu diesen (ohne Zweifel noch vereinfachten) Reaktionsschemata müßte aber noch der Einfluß der Hydratation des  $Fe^{++}$ -Ions und damit auch eine eventuelle *oxydierende* Wirkung von  $H\cdot$ -Radikalen berücksichtigt werden. Wie in Abschnitt 1 dargetan wurde, ist mit der Hydratation eine Hybridisierung der  $H-O-H$ -Bindungen verbunden. Es wäre nun durchaus denkbar, daß ein freies  $H\cdot$  die geschwächte Wasserbindung bei einem genügend energiereichen Stoß aufzubrechen imstande wäre, etwa nach dem Schema



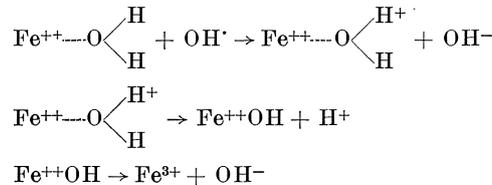
und nachfolgender Spaltung unter Oxydation nach



ROTHSCHILD und ALLEN (1958) glauben diesen Reaktionstypus bei sauerstofffreien Lösungen nachgewiesen zu haben. Selbstverständlich muß ein Hydratationseinfluß aber in jedem Fall in Betracht gezogen werden. Wenn der Hydratationsmantel von 6  $H_2O$ -Molekülen (vgl. Tabelle 9, S. 60) unabhängig von der Ladung des  $Fe$ -Ions derselbe ist, so kann die Oxydation  $Fe^{++} \rightarrow Fe^{3+}$  durch eine oxydierende Einheit, wie z. B.  $OH\cdot$ , mit höchster Wahrscheinlichkeit nicht in einem einfachen Elektronenzug aus dem (allseitig abgeschirmten)  $Fe^{++}$ -Ion bestehen, sondern sie muß zunächst den  $H_2O$ -Mantel angreifen. Der primäre Elektronenverlust wird demnach ein  $H_2O$ -Molekül betreffen. Dabei sind grundsätzlich zwei Möglichkeiten des weiteren Verlaufes denkbar, sofortiger Elektronenübergang aus dem zentral gelegenen  $Fe^{++}$ -Ion:



oder aber wahrscheinlicher eine Reaktion unter Spaltung eines  $H_2O$ -Moleküls nach dem Typus



(Die übrigen fünf Hydratationsmoleküle sind der Übersichtlichkeit halber weggelassen worden.) Daß als Folge der  $Fe^{++}$ -Oxydation eine erhebliche räumliche Wandlung (Kontraktion) des Hydratationsmantels stattfinden muß, geht mit Sicherheit aus der starken Zunahme der Ionenbeweglichkeit (von 45 auf 61 Einheiten pro Ladung, vgl. Tabelle 9) hervor.

Strahlungen mit hoher spezifischer Energieabgabe (LET) ergeben erheblich geringere Ausbeuten der Eisen(II)-Oxydation. Da die Rekombinationsgeschwindigkeit, gleich wie diejenige der Bildung der Molekularprodukte in erster Näherung von der Konzentration der Primärprodukte nach

$$\frac{dc}{dt} = -\alpha \cdot c^2$$

in hohem Maße abhängt (Abnahme der Konzentration  $c$  der Primärprodukte), so muß die nach einer bestimmten Zeit gebildete Zahl der Molekularprodukte und ebenso die Zahl der Rekombinationen zu Wasser bei Strahlungen mit hoher spez. Energieabgabe eine viel höhere sein. Da sich z.B. die spez. Ionisation von  $\alpha$ -Strahlen zu derjenigen schneller Elektronen in der Größenordnung wie 100:1 verhält, so laufen Rekombination und Bildung der Molekularprodukte in den Spuren der ersteren größenordnungsmäßig  $10^4$ mal schneller ab. Es muß also

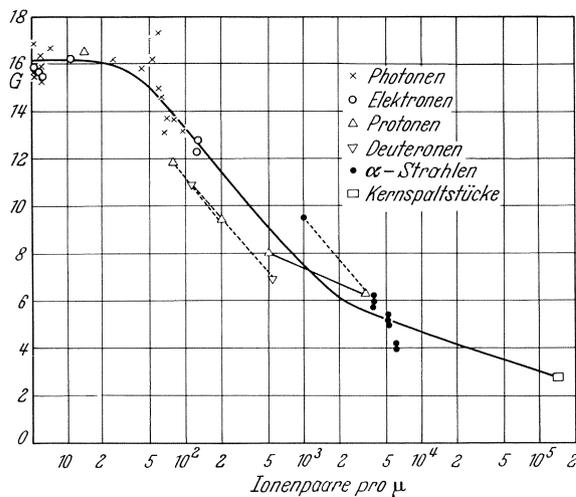


Abb. 14

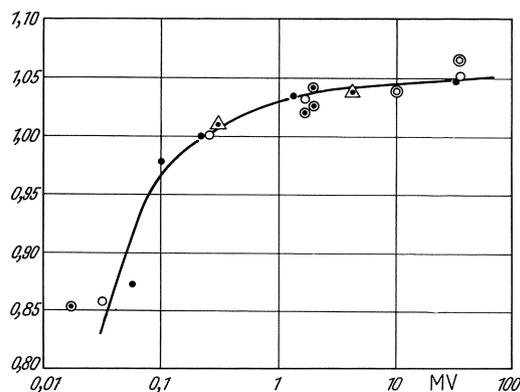


Abb. 15

Abb. 14. Verlauf des  $G$ -Wertes der Eisen(II)-Oxydation in sauerstoffhaltiger Lösung in Abhängigkeit von der spezifischen Energieabgabe (LET) ausgedrückt in Ionenpaaren pro  $\mu$  Wasser nach MINDER (1960)

Abb. 15. Verlauf des  $G$ -Wertes der Strahlenoxydation von Eisen(II)-Sulfat für Photonen und Elektronen zwischen 10 keV und 30 MeV. Versuchsergebnisse nach HAYBITTLE et al. (1956), DALE et al. (1957), McDONELL et al. (1954), HARDWICK (1952), DONALDSON et al. (1955), SALDICK et al., WILD et al. (1956), SCHULER et al. (1956) und MINDER (1952—1960). Einfache Kreise, Punkte und Dreiecke entsprechen Photonenstrahlungen, Doppelkreise Elektronenstrahlungen. Als Einheit der Ordinate wurde der  $G$ -Wert für 250 kV-Röntgenstrahlen gewählt, für welche eine saubere Dosismessung mit konventionellen Mitteln keine grundsätzlichen Schwierigkeiten bietet (nach MINDER 1958, 1961)

bei dicht ionisierenden Strahlungen sowohl die Rückbildung zu Wasser als auch die Bildung der Molekularprodukte  $H_2$  und  $H_2O_2$  aus den Radikalen  $H\cdot$  und  $OH\cdot$  eine viel ausgesprochenere sein, bevor die Radikale ihrerseits zu Reaktionen mit einem gelösten Stoff führen können. Für den hier zu besprechenden Fall der Eisen(II)-Oxydation hat dies zur Folge, daß insbesondere alle Folgewirkungen des  $H\cdot$ -Radikals unterdrückt werden, da  $H_2$  zur  $Fe^{++}$ -Oxydation oder  $Fe^{3+}$ -Reduktion kaum mehr einen Beitrag liefern kann.

Selbstverständlich wirkt die Diffusion der Rekombination und Dimerisation der primären Radikale entgegen. Da die Diffusionsgeschwindigkeit mit steigender Temperatur wächst, so müßte bei Strahlungen hoher spez. Energieabgabe ein Temperatureinfluß auf die Ausbeute vorhanden sein, in quantitativem Gegensatz zu Röntgen- oder Elektronenstrahlen, wo ein solcher nicht nachgewiesen werden konnte (vgl. S. 83).

Das experimentelle Material der  $Fe^{++}$ -Oxydation zeigt ausnahmslos einen starken und gesetzmäßigen Abfall der Ausbeute mit zunehmender spez. Energieabgabe (LET) mit einer Variation des  $G$ -Wertes von 16 (bei 30 MeV-Elektronen) bis 2,7 (bei U-Spaltstücken). Eine graphische Darstellung des Verlaufes des  $G$ -Wertes der Eisen(II)-Oxydation

mit steigender spez. Energieabgabe unter Auswahl der verlässlichst scheinenden Meßwerte (Dosimetriemessungen) ist kürzlich von MINDER (1960) vorgenommen worden. Sie ist in Abb. 14 wiedergegeben.

Zu der Darstellung müssen einige Bemerkungen angebracht werden. Zunächst solche formaler Natur. Während die als Ordinaten dargestellten  $G$ -Werte innerhalb ihrer experimentellen Fehlerbreite feststehen, ist die Wahl der Abszissen in mehreren Hinsichten etwas willkürlich. Zunächst erfolgte die Wahl des Wassers für das Ausmaß der spez. Energieabgabe als Bezugsstoff wegen dessen allgemeiner Bedeutung für Bestrahlungsfolgen und wegen der hier in Frage stehenden besonderen Umstände. Der Maßstab „Ionenpaare pro  $\mu$ “ ( $\text{Ip}/\mu$ ) wurde wegen dessen größerer Anschaulichkeit gewählt, wobei der Energiewert von  $W = 34 \text{ eV}/\text{Ip}$  in Rechnung gesetzt worden ist, um irgendwelche Schwierigkeiten der Interpretation bezüglich des  $W$ -Wertes des Wassers, sowohl was seine zahlenmäßige Größe als auch was die Phänomenologie der Energieabgabe betrifft, zu vermeiden. Für die unter den Elektronen eingeschlossenen  $\beta$ -Strahlen wurde die *mittlere* Energie  $\bar{E}$  zur Berechnung des Abszissenwertes verwendet. Schließlich wurde auch die mittlere spezifische Ionisation der verschiedenen Strahlungen für die Abszisse verwendet, d. h. die *Bragg*-Kurve gemittelt. Durch dieses Vorgehen sind alle Abszissenwerte mit einer gewissen, nicht zu umgehenden Unsicherheit behaftet, wodurch aber der allgemeine Verlauf nicht beeinflußt wird.

Inhaltlich zeigt die Darstellung zunächst den schon erwähnten Abfall des  $G$ -Wertes mit zunehmender spez. Energieabgabe von etwa 16 bei Elektronen und Photonen hoher Energie auf etwa 3 bei Kernspaltstücken. Die gemittelte Kurve zerfällt in drei getrennte Abschnitte. Unterhalb etwa  $30 \text{ Ip}/\mu$  ist der  $G$ -Wert von der spez. Energieabgabe in nur sehr geringem Maße abhängig und fast konstant auf einem Wert  $16,0 \pm 0,5$ . Oberhalb  $2000 \text{ Ip}/\mu$  scheint er einem minimalen Grenzwert zuzustreben. Im Zwischenstück (zwischen etwa  $40 \text{ Ip}/\mu$  und  $2000 \text{ Ip}/\mu$ ) ist der Abfall des  $G$ -Wertes in der (hier verwendeten semilogarithmischen) Darstellung sehr annähernd linear und kann durch die Funktion

$$G = 24,8 - 5,8 \log (\text{LET})$$

dargestellt werden, wenn LET in  $\text{Ip}/\mu \text{ H}_2\text{O}$  ausgedrückt wird. Die Änderung des  $G$ -Wertes folgt demnach in diesem theoretisch bedeutsamen Zwischengebiet der allgemeinen Funktion

$$-\frac{dG}{d(\text{LET})} = \frac{2,5}{\text{LET}},$$

d. h. die Abnahme des  $G$ -Wertes mit steigender spez. Energieabgabe ist der Größe der letzteren umgekehrt proportional. Die obige Gleichung kann noch etwas konkretisiert werden. In der Form

$$-dG = 2,5 \frac{d(\text{LET})}{\text{LET}}$$

besagt sie, daß der Absolutwert der *Abnahme* der Strahlenausbeute der *relativen Zunahme* der spez. Energieabgabe proportional ist. Für jede Zunahme der spez. Energieabgabe um 40 % fällt der  $G$ -Wert der Eisen(II)-Oxydation um eine Einheit ab. Unterhalb etwa  $20 \text{ Ip}/\mu$  ist  $dG = 0$ , der Koeffizient der relativen Zunahme der spez. Energieabgabe muß also 0 sein; oberhalb ca.  $2000 \text{ Ip}/\mu$  ist er nach dem dargestellten Verlauf dreimal kleiner als im eingehender besprochenen Zwischengebiet. Hier ist eine relative Zunahme des LET von 115 % erforderlich, damit der  $G$ -Wert noch um eine Einheit abfällt.

Für das Gebiet sehr energiereicher Photonen- und Elektronenstrahlungen stellt die Untersuchung der Abhängigkeit des  $G$ -Wertes der Eisen(II)-Oxydation von der Strahlenenergie ein sehr verlässliches Mittel zur Abklärung der grundsätzlichen Frage nach dem Einfluß des *Polarisationseffektes* auf die Strahlenwirkung dar. ZSULA, LUZZI und LAUGHLIN (1957) glaubten für das Gebiet zwischen 6,3- und 16-MeV-Elektronen einen dem Einfluß des Polarisationseffektes entsprechenden Abfall der Ausbeute nachgewiesen zu haben, wobei sie aber nur mit Strahlendosen unter 4000 rad arbeiteten. Zusätzlich verwendeten

sie spektralphotometrische Verfahren zur Umsatzbestimmung. Auf so einfache Weise kann aber eine Frage von derart grundsätzlicher Bedeutung kaum geklärt werden. Wie die graphische Darstellung der Versuchsergebnisse an Photonen und Elektronen bis zu 30 MeV in Abb. 15 nach MINDER zeigt, kommt der Polarisierungseffekt *nicht* in einem Abfall des  $G$ -Wertes zum Ausdruck, sondern es erfolgt im Gegenteil ein schwacher aber stetiger Anstieg bis zu 30 MeV. Diese Tatsache kann auf zwei verschiedene Arten interpretiert werden. Entweder ist ein Einfluß des Polarisierungseffektes auf die Eisen(II)-Oxydation nicht vorhanden, oder aber dieser wird durch eine weitere Zunahme der Ausbeute mit abnehmender spez. Energieabgabe überkompensiert. Eine Entscheidung zwischen den beiden Möglichkeiten kann nicht getroffen werden. Gegen beide sind sehr begründete Einwände möglich.

Wenn auf der einen Seite die Theorie des Polarisierungseffektes sowie ihre zahlenmäßige Konkretisierung wohl kaum in Zweifel gezogen werden müssen, so stellen andererseits die in Abb. 15 dargestellten Versuche die bisher ohne Zweifel verlässlichste experimentelle Kontrolle des Polarisierungseinflusses dar. Ihre mehr als negative Antwort erfordert eine gründliche Überprüfung aller mit dem Polarisierungseffekt in Zusammenhang stehenden Fragen und Überlegungen sowie ihrer Voraussetzungen.

ANDERSON und HART (1961) haben in letzter Zeit die Abhängigkeit des  $G$ -Wertes der Eisen(II)-Sulfatoxydation in Standarddosimeterlösungen von der Energie schwerer Partikel, Protonen, Deuteronen und  $\alpha$ -Strahlen erneut sehr gründlich untersucht. Die von ihnen publizierten Ausbeuten sind in Tabelle 12 enthalten.

Rechnet man die Energie der verwendeten Strahlenpartikel nach der vereinfachten Bremsformel (BETHE) für nicht relativistische Geschwindigkeiten

$$-\frac{dE}{dx} = \frac{2\pi e^4 z^2 M}{mE} \cdot \frac{N \cdot Z \cdot \rho}{A} \cdot \lg \frac{4mE}{M \cdot I}$$

auf gleiche Masse und Ladung um und trägt die  $G$ -Werte in eine entsprechende Darstellung ein, so ergibt sich die Abb. 16. Es ist sehr bemerkenswert, daß die Meßpunkte sich mit nur relativ geringen Abweichungen um eine Kurve gruppieren, deren Verlauf zwischen 10 und 1 MeV sehr annähernd durch eine Gerade mit der Gleichung

$$G = 6(1 + 0,83 \log E')$$

Tabelle 12.  $G$ -Werte der  $Fe^{++}$ -Oxydation durch schwere Partikel verschiedener Energie (nach ANDERSON und HART 1961)

Protonen		Deuteronen		$\alpha$ -Strahlen	
Energie in MeV	$G(Fe^{++})$	Energie in MeV	$G(Fe^{++})$	Energie in MeV	$G(Fe^{++})$
10,6	10,88	21,1	10,98	41,7	8,36
10,2	11,08	20,8	10,91	26,2	7,42
7,92	10,52	10,9	10,10	25,4	7,00
6,80	10,10	7,7	8,58	17,6	6,38
6,10	9,70	5,94	8,36	16,8	5,90
5,29	9,37	4,90	7,23	15,0	5,77
4,80	9,27			14,6	5,96
3,84	9,05			9,0	5,30
				5,3*	5,10
				3,4*	4,3

\* Natürliche  $\alpha$ -Strahlen (Po).

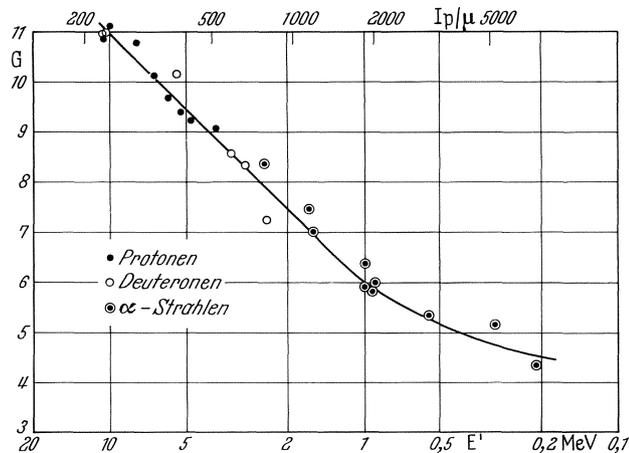


Abb. 16. Verlauf des  $G$ -Wertes der Eisen(II)-Oxydation durch Protonen, Deuteronen und  $\alpha$ -Strahlen in Abhängigkeit von der Energie. Die tatsächlichen Partikelenergien betragen für Deuteronen das doppelte, für  $\alpha$ -Strahlen das 16fache der in der Fig. 16 angegebenen Werte; Abszissenwerte oben: Approximative Ionenzahlen pro  $\mu$  Wasser (Messungen nach ANDERSON und HART 1961)

dargestellt werden kann. Darin bedeutet  $E'$  die nach der Bremsgleichung auf gleiche spez. Energieabgabe „reduzierte Partikelenergie“, also  $E' = E/Mz^2$ , bei  $M = z = 1$  für Protonen.

Die Kombination dieses Zusammenhanges mit der Gleichung auf S. 90 gestattet, für das Gebiet  $10 \text{ MeV} > E' > 1 \text{ MeV}$  eine einfache Beziehung herzustellen. Setzt man die beiden Gleichungen einander gleich, so erhält man

$$6(1 + 0,83 \log E') \hat{=} 24,8 - 5,8 \log (\text{LET})$$

und daraus den einfachen Zusammenhang

$$\log (\text{LET}) \hat{=} 3,25 - 0,86 \log E',$$

welcher zunächst natürlich nur für die Eisen(II)-Oxydation und auch nur im Energiegebiet schwerer Partikel etwa zwischen  $1 < E' < 10 \text{ MeV}$  Geltung hat. Die Beziehung bedeckt aber den weitaus wichtigsten Energiebereich. Zusätzlich gestattet die Gleichung auf S. 91 eine angenäherte Bestimmung der Energie schwerer Partikel, wenn der  $G$ -Wert für die Eisen(II)-Oxydation bekannt ist. Dies dürfte in vielen Fällen eine erhebliche Hilfe bei Bestrahlungsaufgaben und solchen der Dosimetrie darstellen.

### 3. Strahlenchemie anderer wäßriger Elektrolytlösungen

Kein anderes anorganisch-wäßriges Elektrolytsystem ist auch nur annähernd so gründlich auf seine strahlenchemischen Reaktionen hin untersucht worden, wie die schwefelsaure Eisensulfatlösung. Kein anderes System hat deshalb auch bisher eine ähnliche Bedeutung bezüglich der allgemeinen Einsicht in das Reaktionsgeschehen oder bezüglich seiner Verwendbarkeit als Dosimeterreaktion erlangt. Es ist somit möglich und im Hinblick auf die prinzipielle Gleichartigkeit der Vorgänge bei anderen wäßrigen Systemen auch berechtigt, die Darstellung der Ergebnisse hier wesentlich summarischer zu gestalten.

Grundsätzlich muß jedes oxydierbare oder reduzierbare System in wäßriger Lösung durch ionisierende Strahlungen oxydiert oder reduziert werden. Man darf diese Behauptungen sogar noch weiter dahingehend verallgemeinern, daß jeder Stoff, welcher unter mehreren elektronischen Zuständen oder in anderen verschiedenen Formen existenzfähig ist, durch Strahlung Modifikationen erfahren muß. Die Tatsache, daß diese Behauptung bis heute noch nicht in dieser allgemeinen Form experimentell bewiesen ist, bedeutet kein Gegenargument; dort wo experimentelle Untersuchungen vorliegen, stellen sie ausnahmslos Bestätigungen dar. Dabei ist die Richtung der gefundenen Reaktionen aber sehr weitgehend durch die Besonderheit des Systems bedingt, und schließlich wird das quantitative Ausmaß des Umsatzes durch die relative Stabilität der in Frage stehenden Systeme gegenüber den im bestrahlten Wasser chemisch wirksamen Intermediärprodukten und deren Zwischenreaktionen vorgeschrieben.

#### a) Einfache Strahlenoxydationen

Neben Wasser und Eisen(II)-Ion sind an zahlreichen weiteren anorganischen Stoffen in wäßriger Lösung Strahlenoxydationen beobachtet worden. Da die Genauigkeit und Vollständigkeit der Untersuchungen im einzelnen aber sehr unterschiedlich sind, so sollen die Ergebnisse zunächst in Tabellenform zusammengestellt werden. Dabei sollen, soweit möglich, auch Einzelheiten der Ergebnisse angegeben werden, ohne jedoch zunächst auf die Reaktionswege und -mechanismen näher einzugehen.

Auch wenn die Ergebnisse der nachfolgenden Tabelle 13 zu einem erheblichen Teil nur als semiquantitativ betrachtet werden dürfen und auch nicht durchwegs den heutigen Ansprüchen an strahlenchemische Untersuchungen entsprechen, so können daraus doch einige allgemeine Gesetzmäßigkeiten entnommen werden.

Zunächst ist, soweit dies durch Umsatzmessungen belegt wird, ein Einfluß des  $O_2$ -Gehaltes bei Bestrahlung mit  $\alpha$ -Strahlen kaum oder nicht vorhanden, ähnlich wie dies auch bei den Reaktionen in reinem Wasser der Fall ist. Diese Tatsache legt die Vermutung nahe, daß die Oxydationen durch Bestrahlung mit  $\alpha$ -Strahlen hauptsächlich als Folgen der Molekularprodukte des Wassers anzusehen sind, wobei die Möglichkeit der Bildung des  $HO_2$ -Radikals, bei Gegenwart von  $O_2$ , für den Gesamtumsatz kaum ins Gewicht fällt.

Für alle Fälle, bei denen der  $O_2$ -Einfluß auf die Oxydation durch  $\alpha$ -Strahlen geprüft worden ist, nämlich für die Anionenreaktionen  $AsO_2^- \rightarrow AsO_4^{3-}$ ,  $PO_3^{3-} \rightarrow PO_4^{3-}$  und  $NO_2^- \rightarrow NO_3^-$  sind die Umsätze mit und ohne Sauerstoff praktisch dieselben, und die

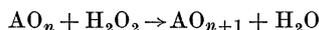
Tabelle 13. Strahlenchemische Oxydationen in wäßriger Lösung\*

Reaktion	G: Photonen		G: $\alpha$ -Strahlen	
	ohne $O_2$	mit $O_2$	ohne $O_2$	mit $O_2$
$Br^- \rightarrow \frac{1}{2} Br_2$			2—10 **	
$J^- \rightarrow \frac{1}{2} J_2$	0,3—1,5 **		1,6—10 **	
$Br_2 \rightarrow HBrO$		1,2		
$Fe^{II}(CN)_6^{4-} \rightarrow Fe^{III}(CN)_6^{3-}$	1,2			
$Ce^{3+} \rightarrow Ce^{4+}$	1,8		3,2	
$SeO_3^{2-} \rightarrow SeO_4^{2-}$	1,2			
$AsO_2^- \rightarrow AsO_4^{3-}$	0,6—3 **	1,2—15 **	0,2—1 **	0,3—1,1 **
$Cr^{2+} \rightarrow Cr^{3+}$	6—10 **			
$NO_2^- \rightarrow NO_3^-$	0,6—1,65 **	1,2—2 **	0,4	0,4
$NH_4OH \rightarrow NO_3^-$		1,3		
$N_2H_4 \rightarrow N_2 + NH_3$	2,2	2,2—20 (?)	1,0	0,6—1,0
$NH_2OH \rightarrow NH_3 + N_2O$		3		
$H_2S \rightarrow S$	„groß“			
$CO \rightarrow HCOOH + CO_2$	4,0			

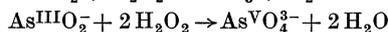
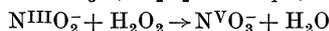
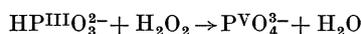
\* Vgl. z.B. HAISSINSKY: Actions chimiques et biologiques des Radiations. Paris 1955—1965.

\*\* Konzentrationsabhängig; über beschränkte Bereiche geprüft.

Oxydation als solche findet unter Eintritt von Sauerstoff in das (negativ geladene) Radikalion statt. Diese Übergänge dürfen deshalb grundsätzlich nach dem Schema



formuliert werden, also



Bei allen Vorgängen wurde nach FRICKE und HART (1935), HAISSINSKY und LEFORT (1951) und COTTIN und HAISSINSKY (1953) eine Konzentrationsunabhängigkeit des Umsatzes über mehrere Zehnerpotenzen gefunden. Die gleichzeitige Prüfung des gebildeten  $H_2O_2$  bis zum Ende der Reaktion  $AsO_2^- \rightarrow AsO_4^{3-}$  ergab mit dem Abfall der  $AsO_2^-$ -Konzentration eine Zunahme des  $H_2O_2$ , als grundsätzlichen Beweis des obengenannten Reaktionsschemas. Immerhin bedeutet der Eintritt von 2 O-Atomen in das Ion eine Komplikation dieser einfachen Anschauung. Der Nachweis von  $H_2$  bei der Oxydation der arsenigen Säure mit einem  $G(H_2) = 0,53$ , unabhängig vom Ausmaß der noch unoxydierten  $AsO_2^-$ -Menge, schließt einen Übertritt beider O-Atome des  $H_2O_2$ , wenn auch in mehreren Schritten, unter  $H_2$ -Bildung aus. Umgekehrt ist die  $H_2$ -Bildung bei der Oxydation der phosphorigen Säure dem jeweiligen Ausmaß dieser Oxydation proportional. Es ist deshalb auch diese Strahlenreaktion in ihren Einzelheiten komplizierter, als dies durch das Schema dargetan wird.

Wie allgemeiner erwartet werden muß, sind die Umsätze der Strahlenoxydation bei Bestrahlung mit Photonen mit wenigen Ausnahmen höher. Weiter ist hier der Einfluß des  $O_2$ -Gehaltes, soweit die Ergebnisse eine quantitative Interpretation erlauben, viel

ausgesprochener. Die Gegenwart der Radikale  $H\cdot$ ,  $OH\cdot$  und  $HO_2$  im bestrahlten System erlaubt auch eine größere Mannigfaltigkeit des Reaktionsgeschehens und, was hier von Wichtigkeit ist, grundsätzlich auch entgegengesetzte Reaktionsverläufe, also Reduktionen der durch die Strahlung vorgebildeten Reaktionsprodukte. Damit müssen Dosisverläufe nach der Gleichung auf S. 71 erwartet werden. Wie durch Abb. 17 nach HAISSINSKY und LEFORT (1951) und COTTIN und HAISSINSKY (1953) gezeigt wird, ist dies für den Umsatz  $AsO_2^- \rightarrow AsO_4^{3-}$  mit Sicherheit, für  $HPO_3^{2-} \rightarrow PO_4^{3-}$  möglicherweise der Fall. Bei der erstgenannten Strahlenreaktion ist eine vollständige Oxydation des  $AsO_2^-$ -Ions auch bei sehr hohen Dosen mit Röntgenstrahlen nicht zu erreichen, sondern nur ein konstanter Gleichgewichtszustand zwischen  $AsO_2^-$  und  $AsO_4^{3-}$ . Demgegenüber ist der Anstieg der Oxydation von  $HPO_3^{2-}$  mit der Dosis fast geradlinig und folgt, soweit dies die dargestellten Meßergebnisse dartun, ziemlich sicher nicht einer Exponentialfunktion. Die Reversibilität

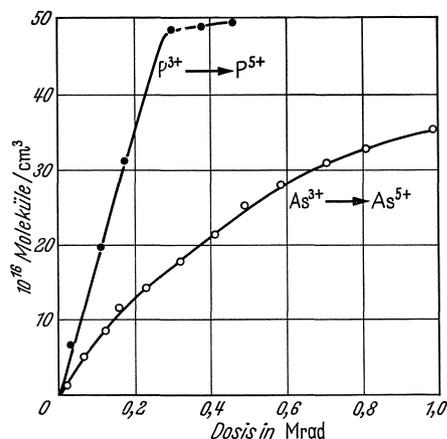
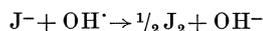


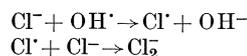
Abb. 17. Verlauf der Oxydation der Anionen der phosphorigen und arsenigen Säure mit steigender Strahlendosis (nach HAISSINSKY und LEFORT 1951 und COTTIN und HAISSINSKY 1953)

ist sehr gering, was ohne Zweifel mit der höheren chemischen Stabilität des  $PO_4^{3-}$ -Ions in Zusammenhang steht.

Für die einfacheren Oxydationen ohne stoffliche Änderung des Reagenten bietet eine formale Formulierung natürlich keine Schwierigkeiten. Diese Vorgänge müssen grundsätzlich z. B. nach



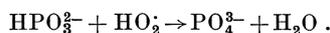
vor sich gehen. Diesen Typus haben ANBAR und THOMAS (1964) für die Oxydation von  $Cl^-$  bei Bestrahlung von wäßrigen NaCl-Lösungen unter Bildung des Ions  $Cl_2^-$  nach



nachgewiesen.

Die Oxydationen unter chemischer Änderung des Ions (O-Eintritt) sind aber am einfachsten durch Reaktionen mit dem  $HO_2$ -Radikal zu formulieren,

wenn dasselbe, bei Sauerstoffgegenwart, gebildet werden kann; z. B.



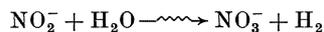
Ohne Zweifel darf ein erheblicher Anteil des erhöhten Umsatzes bei Bestrahlung mit  $O_2$  auf diesen Reaktionstypus zurückgeführt werden.

Viel schwieriger scheint die Formulierung der Umsätze in  $O_2$ -freien Lösungen, soweit sie nicht durch das gebildete Hydroperoxid (entsprechend etwa der Differenz gegen die Umsätze bei Bestrahlung mit  $\alpha$ -Strahlen) verursacht werden können. Es darf kaum angenommen werden, daß die höhere Stabilität des Arsenat-, Phosphat- oder Nitrations gegenüber den Anionen der arsenigen, phosphorigen oder salpetrigen Säure zur Spaltung des  $OH\cdot$ -Radikals (Bindungsenergie: 4,40 eV = 101 kcal/Mol) ausreicht. Es müssen demnach zwischen Ausgangs- und Endprodukt Zwischenglieder eingeschaltet sein, deren Natur durch die tatsächliche Existenz von wasserstoffhaltigen Ionen der in Frage stehenden Säurereste nahegelegt wird. So darf als Beispiel eine Kette etwa von der Form

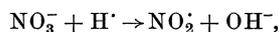


angenommen werden, wobei Einzelheiten des Geschehens offenbleiben müssen. Mit Sicherheit kann aber gesagt werden, daß die Hydratationsmäntel aller in Frage stehenden Radikationen sehr zahlreiche und keineswegs einfache Reaktionen ermöglichen und auch prädestinieren.

Der erheblich höhere Umsatz der Reaktion  $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$  mit Photonen gegenüber  $\alpha$ -Strahlen kann nicht über die Bildung von  $\text{H}_2\text{O}_2$  stattfinden und der nur geringe Einfluß der Sauerstoffgegenwart erfordert deshalb eine vollständige Abspaltung des O-Atoms aus Wasser. Die formale Reaktionsgleichung



kann natürlich das Bedürfnis nach Einsichten in die Einzelheiten dieses Vorganges keineswegs befriedigen. Zu dessen Verständnis wären weitere und umfassendere Versuche unter Messung der eventuell vorhandenen  $\text{H}_2$ -Bildung sowie isotopisch markierte Reagenten notwendig. Gesichert scheint jedenfalls die teilweise Reversibilität der Reaktion, da es auch bei sehr hohen Dosen nicht gelingt, die Oxydation über 60 % hinauszutreiben. Dieser Grenzwert ist nach den Versuchen von SCHWARZ und SALZMAN (1958) möglicherweise auf die nachträgliche Reduktion

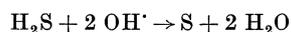


welche mit steigender  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration anwachsen müßte, zurückzuführen.

Technisch gerichtete Untersuchungen von HARTECK und DONDES (1958) sowie solche einer russischen Gruppe haben gezeigt, daß die Strahlensynthese der Salpetersäure aus Luft, respektive in  $\text{N}_2$ -gesättigtem Wasser auch ein sehr ernsthaftes praktisches Interesse verdient.

Noch erheblich größer sind die besonderen Schwierigkeiten des Verständnisses der Strahlenreaktionen  $(\text{NH}_4\text{OH}) \xrightarrow{\text{Strahlung}} \text{NO}_2^-$ ,  $\text{N}_2\text{H}_4 \xrightarrow{\text{Strahlung}} \text{NH}_3 + \text{N}_2$ ,  $\text{NH}_2\text{OH} \xrightarrow{\text{Strahlung}} \text{NH}_3 + \text{N}_2\text{O}^-$  und  $\text{CO} \xrightarrow{\text{Strahlung}} \text{HCOOH} + \text{CO}_2$ , auch wenn dieselben alle grundsätzlich in einfacher Weise durch formale Reaktionsgleichungen dargestellt werden könnten.

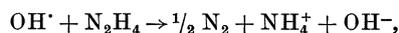
Bei der Strahlenoxydation von Schwefelwasserstoff in wäßriger Lösung, welche von RISSE (1929) erstmals beobachtet worden ist, entsteht als Bestrahlungsprodukt elementarer Schwefel. Leider ist die Ausbeute ( $G$ -Wert) für diese an sich einfache Strahlenreaktion noch nicht quantitativ bekannt. Die Tatsachen, daß sie als solche „groß“ ist, daß sie wahrscheinlich von der  $\text{H}_2\text{S}$ -Konzentration der bestrahlten Lösung abhängt und daß zum Ausfällen des Schwefels als Niederschlag eine Polymerisation der durch Oxydation gebildeten S-Atome notwendig ist, und schließlich die sicher teilweise elektrolitische Spaltung der  $\text{H}_2\text{S}$ -Moleküle schließen auch hier einen einfachen Reaktionsverlauf etwa von der Form



als tatsächlichen Vorgang aus. Wegen der Komplexität des Systems ( $\text{H}_2\text{O} + \text{H}_2\text{S}$ ) sind ohne Zweifel mehrere und verschiedene Reaktionen in Betracht zu ziehen, wobei die Gleichgewichte  $\text{H}_2\text{S} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HS}^-$  und  $\text{HS}^- \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{S}^-$  auch solche mit Ladungstransport erfordern.

Ein gewisses allgemeines Interesse bieten ebenfalls die Ergebnisse der Oxydation von *Hydrazin* in wäßriger Lösung. Nach HAISSINSKY und LEFORT (1955) entsteht bei Bestrahlung von  $\text{N}_2\text{H}_4$  in Wasser bei Gegenwart von  $\text{O}_2$  nur freier Stickstoff, während in entlüfteten Lösungen daneben auch  $\text{NH}_4^+$ -Ion produziert wird. Da Hydrazin in wäßriger Lösung von  $\text{H}_2\text{O}_2$  nur äußerst langsam angegriffen wird, sind die Ausbeutezahlen mit und ohne  $\text{O}_2$  praktisch gleich, mit Ausnahme von stark alkalischen Lösungen ( $\text{pH} = 12$ ), in denen der  $G$ -Wert bei  $\text{O}_2$ -Gegenwart bis auf 20 ansteigen soll. Hohe Hydroxylionkonzentrationen begünstigen also die Dehydrogenierung von  $\text{N}_2\text{H}_4$  durch Strahlung in hohem Maße. Es müssen deshalb auch an diesem Vorgang geladene Zwischenprodukte beteiligt sein.

Etwas besser ist die Einsicht bei Bestrahlung in Abwesenheit von  $\text{O}_2$ . Die Reaktionsprodukte  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{N}_2$  und  $\text{H}_2$  treten annähernd im Verhältnis 2:1:1 ( $G \cong 2$ ) auf. Ihre Stöchiometrie genügt der Reaktionsgleichung



wobei das primär gebildete H<sup>·</sup>-Radikal, weil nicht verbraucht, als Wasserstoffgas nach  $H^{\cdot} \rightarrow \frac{1}{2} H_2$  freigesetzt werden müßte. Das auslösende Moment der beobachteten Strahlenreaktion wäre damit ein sekundärer Elektronenverlust des Hydrazinmoleküls unter nachfolgender Spaltung in ein N-Atom und ein NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Ion. Eine entsprechende Spaltung bei primärer Strahlenionisation ist in wäßriger Lösung kaum wahrscheinlich.

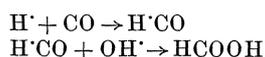
Bei der von FRICKE, HART und SMITH (1938) untersuchten Oxydation von *Kohlenoxid* in wäßriger Lösung ohne Sauerstoff wurden die Reaktionsprodukte CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> und Formaldehyd beobachtet mit den G-Werten von 2,5, 1,03 und 0,3. In stark alkalischer Lösung ist der Verbrauch von CO höher, aber ohne CO<sub>2</sub>- und H<sub>2</sub>-Bildung. Das Reaktionsprodukt ist hier fast ausschließlich Ameisensäure. Genaue Ausbeutezahlen sind leider nicht bekannt.

Die Formulierung der Reaktionsgleichungen bietet in beiden Fällen unter Zugrundelegung einfacher Verhältnisse Schwierigkeiten. Die Tatsache, daß für die Reaktionsprodukte in neutraler Lösung annähernd die Beziehung

$$G(\text{CO}_2) \cong 2 G(\text{H}_2) + 2 G(\text{H}_2\text{CO}),$$

also praktische Atomäquivalenz zwischen O und H gilt, wirft die Frage nach dem Verbleib der restlichen Hälfte des Wasserstoffs aus dem für die Reaktion verbrauchten Wasser auf, welche aus dem verfügbaren experimentellen Material nicht beantwortet werden kann.

Die Bildung von Ameisensäure aus CO in alkalischer Lösung ist von erheblichem biologischem Interesse. Der Umsatz  $\text{CO} + \text{H}_2\text{O} \rightsquigarrow \text{HCOOH}$  geht wohl in zwei Schritten nach



vor sich, wobei die OH-Ionenkonzentration einen Ladungswechsel beider Radikale verhindert und damit ihre Anlagerung an das CO-Molekül (mit Biradikalcharakter im angeregten Zustand) günstigigt.

Neben der Oxydation von Br<sup>-</sup>-Ion findet in wäßriger Lösung auch eine Oxydation von Br<sub>2</sub> statt, wie MINDER (1955) gezeigt hat. Das Reaktionsprodukt ist unterbromige Säure HBrO und damit ein Beweis für die Präponderanz der oxydativen Wirkung bei Bestrahlung wäßriger Lösungen



Die Ausbeute dieses Überganges ist relativ sehr hoch und beträgt  $G(-\text{Br}_2) \cong 18$ . Die bei Bestrahlung von Bromwasser zu erwartende HBr-Bildung findet demgegenüber in nur ganz untergeordnetem Ausmaß statt, wie durch die nur relativ sehr geringe Leitfähigkeitszunahme der bestrahlten Lösungen erwiesen werden konnte.

### b) Einfache Strahlenreduktionen

Allgemein gesprochen sind Reduktionen bei Bestrahlung einfacher wäßriger Lösungen anorganischer Stoffe erheblich weniger häufig zu beobachten als Oxydationen. Es liegt dies nicht nur daran, daß das experimentelle Material hierüber spärlicher ist, sondern diese Tatsache ist offenbar in der Natur der Einzelvorgänge und der daran beteiligten Primärprodukte begründet. Am auffallendsten ist dabei die Beobachtung, daß bei Bestrahlungen mit  $\alpha$ -Strahlen bei der Strahlenreduktion eines Elektrolyten stets molekularer Wasserstoff gebildet wird, und zwar, wie LEFORT (1954) gezeigt hat, fast unabhängig von der Reaktion in praktisch gleicher Ausbeute [ $G(\text{H}_2) \cong 1,7$ ] wie in reinem Wasser (vgl. S. 70). Hieraus muß offenbar der wichtige Schluß gezogen werden, daß die Dimerisation zum Molekularprodukt  $2 \text{H}^{\cdot} \rightarrow \text{H}_2$  auf der dichten Bahnspur von  $\alpha$ -Strahlen durch die Gegenwart reduzierbarer Ionen kaum beeinflußt wird. Weiter ist die bei Strahlenreduktionen manchmal beobachtete O<sub>2</sub>-Bildung ein Beweis dafür, daß das Endergebnis

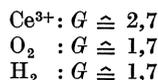
der Bestrahlung, d.h. die Reduktion der gelösten Substanz, über eine Folge von Vorgängen stattfindet, an denen die „oxydierenden“ Strahlenprodukte des Wassers  $\text{OH}\cdot$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  und  $\text{HO}_2\cdot$  beteiligt sein müssen.

Die Verwendung der Reduktion von *Cer(IV)-Ion* in schwefelsaurer Lösung zu dosimetrischen Zwecken hat, ähnlich wie bei der Eisen(II)-Oxydation, dazu geführt, daß diese Strahlenreaktion bisher viel gründlicher untersucht worden ist als alle übrigen Strahlenreduktionen. Sie soll deshalb, als Beispiel für andere Reduktionen, etwas eingehender besprochen werden. CLARK und COE (1937) haben als erste beobachtet, daß die Reduktion  $\text{Ce}^{4+} \rightsquigarrow \text{Ce}^{3+}$  durch Bestrahlung mit Röntgenstrahlen in schwefelsaurer Lösung bis zum vollständigen Verschwinden des  $\text{Ce}^{4+}$ -Ions getrieben werden kann. Dabei blieb die Ausbeute über den ganzen Umsatz konstant; erst bei fast vollständiger Reduktion schien sie etwas abzufallen. Entgaste Lösungen (also frei von  $\text{O}_2$ ) ergaben dieselbe Ausbeute wie belüftete.

Weiter wurde von den genannten Autoren gefunden, daß bei gleichzeitiger Gegenwart von  $\text{Hg}^{++}$ -Ionen die Reduktion verstärkt wird, ein Effekt, der auch bei Zusatz von Alkohol und Benzol zu beobachten ist, daß dagegen  $\text{Ag}^+$ -Ion die Strahlenwirkung auf  $\text{Ce}^{4+}$  schwächt. CLARK und COE sind also die eigentlichen Entdecker des sog. *Schutzeffektes* (1937).

Neuere Untersuchungen von LEFORT und HAISINSKY (1951), ANTA und HAISINSKY (1954) mit  $\alpha$ -Strahlen, HARDWICK (1952), HOCHANADEL und GHORMLEY (1953) und WEISS (1952) haben diese ersten Beobachtungen bestätigt. Zusätzlich lieferten sie quantitative Ausbeutewerte. Diese betragen für Röntgen- und  $\beta$ -Strahlen  $G(-\text{Ce}^{4+}) = 2,7 \pm 0,2$  und für  $\alpha$ -Strahlen 3,2, wobei vielleicht eine stetige, geringe Zunahme des  $G$ -Wertes mit steigender spezifischer Energieabgabe vorhanden ist.

Die Strahlenreduktion ist unabhängig von der  $\text{O}_2$ -Konzentration der bestrahlten Lösung und steigt, wie die Abb. 18 nach WEISS (1952) zeigt, streng mit der Strahlendosis proportional an. Gleichzeitig mit der  $\text{Ce}^{4+}$ -Reduktion wird  $\text{O}_2$  aus der bestrahlten Lösung freigesetzt. Der entsprechende Ausbeutewert beträgt  $G(\text{O}_2) \cong 1,7$  und stimmt mit demjenigen der Bildung von freiem Wasserstoff überein. Die Reaktionsprodukte sind also



Die erste Umsatzzahl ist weitgehend unabhängig von äußeren Bestrahlungsbedingungen, wie besonders von der Konzentration der bestrahlten Lösung (in 0,8 n  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), von der Dosisleistung und von der Temperatur. Der Umsatz läßt sich auf relativ einfache Weise an der für das  $\text{Ce}^{4+}$ -Ion charakteristischen, schmalen Absorptionsbande bei 3200 Å messen. Damit ist diese einfache und in saurem Milieu vollständig irreversible Strahlenreaktion sehr geeignet als strahlenchemische Dosimeterreaktion im Dosisgebiet zwischen etwa  $10^5$  und  $10^8$  rad. Es sind deshalb auch mehrere Ausbeutevergleiche, besonders von HARDWICK (1952) und EHRENBURG und SEALAND (1954), mit der Eisen(II)-Oxydation durchgeführt worden, wobei allerdings mit wenigen Ausnahmen leider keine direkten Dosismessungen durchgeführt worden sind. Die wichtigsten Ergebnisse sind umgerechnet in Tabelle 14 wiedergegeben.

Trotzdem in den experimentellen Werten noch erhebliche Unsicherheiten sowohl meßtechnischer als auch grundsätzlich methodischer Natur enthalten sind, so zeigen sie doch wohl überzeugend, daß das Verhältnis zwischen der Ausbeute der Eisen(II)-Oxyda-

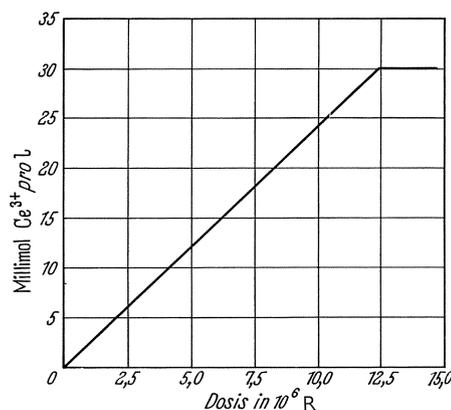


Abb. 18. Verlauf der Reduktion von Cer(IV)-Ionen in saurer wäßriger Lösung in Abhängigkeit von der Strahlendosis nach WEISS (1952)

tion und der Cer(IV)-Reduktion mit zunehmender spezifischer Energieabgabe stetig absinkt. Der dabei resultierende  $G$ -Wert der Cer(IV)-Reduktion ist mit Ausnahme desjenigen der  $^3\text{H}$ -Bestrahlung von einer bemerkenswerten Konstanz. Man darf deshalb in genügender, erster Näherung annehmen, daß die spezifische Energieabgabe der Strahlung auf die Cer(IV)-Reduktion in schwefelsaurer Lösung keinen erheblichen Einfluß hat. Falls sich diese Feststellung als wirkliche Tatsache erweisen sollte, so wäre sie zur Lösung komplizierter dosimetrischer Aufgaben von sehr hohem praktischem Wert. Einige Bemerkungen hierüber scheinen deshalb wohl am Platz.

Die schwierigsten Probleme der Dosismessung werden durch Strahlenquellen gestellt, welche Mischstrahlungen aussenden, wie etwa radioaktive Stoffe mit nicht hinreichend bekannter Isotopenzusammensetzung, Spaltproduktgemische oder Reaktoren, wo stets neben einer nicht allzu schwierig überblickbaren  $\gamma$ -Strahlung auch  $\beta$ -Strahlungen und eventuell auch schwere Corpuscularstrahlungen ( $\alpha$ -Strahlen und Neutronen und eventuell Rückstoßkerne) vorhanden sind. Ein quantitatives Erfassen der Gesamtstrahlung und deren Komponenten ist hierbei ohne eine sehr weitgehende qualitative Analyse des Gemisches nicht möglich. Aber auch diese selbst würde eingehende und schwierige Voruntersuchungen erforderlich machen. Zusätzlich sind für die Dosismessung der einzelnen Komponenten verschiedene und hinreichend geeichte Meßapparaturen notwendig, wobei erst noch eine Diskriminierung zwischen der zu messenden und den die Messung störenden Komponenten durchgeführt werden müßte.

Tabelle 14. Vergleich der Ausbeuten der Reaktionen  $\text{Fe}^{++} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$  und  $\text{Ce}^{4+} \rightarrow \text{Ce}^{3+}$  bei verschiedenen Strahlungen

Strahlung	Mittlere Energie der Elektronen in keV	$\frac{G(\text{Fe}^{3+})}{G(\text{Ce}^{3+})}$	$G(\text{Ce}^{3+})$
$^{36}\text{P}-\beta$	697	5,6	2,52
$^{60}\text{Co}-\gamma$	630	5,5	2,58
Ra- $\gamma$	450	6,2	2,52
$^{35}\text{S}-\beta$	45,8	6,3	2,38
Rö 250 kV	~30	5,25	2,95
Rö 150 kV	~20	4,85	3,18
Rö 14 kV	~11	3,65	3,22
$^3\text{H}-\beta$	5,7	2,82	4,4 (?)
Po- $\alpha$	—	1,8	2,78

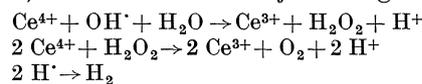
Zusätzlich sind für die Dosismessung der einzelnen Komponenten verschiedene und hinreichend geeichte Meßapparaturen notwendig, wobei erst noch eine Diskriminierung zwischen der zu messenden und den die Messung störenden Komponenten durchgeführt werden müßte.

Bei Konstanz des  $G$ -Wertes der Cer(IV)-Reduktion über den ganzen Qualitäts- und Energiebereich könnte mit diesem System zunächst die Dosis der Gesamtstrahlung bestimmt werden. Eine konventionelle Messung der  $\gamma$ -Strahlendosis und eine (Aktivierungs-) Analyse der Neutronenstrahlung ergäben Auskunft über die Anteile dieser Komponenten. Schließlich würde eine Dosismessung der Gesamtstrahlung mit Hilfe der Eisen(II)-Oxydation in Zusammenhang mit deren Energieabhängigkeit (vgl. Abb. 14, S. 89) und den vorherigen Ergebnissen eine zum mindesten approximative Trennung in die Komponenten  $\gamma$ -Strahlen,  $\beta$ -Strahlen, Neutronen und Korpuskeln mit hoher spezifischer Ionisation erlauben. Es ist sofort einzusehen, daß dieses Vorgehen allen bisher angewandten Verfahren sowohl bezüglich Einfachheit der experimentellen Mittel als auch bezüglich der Einzelheiten der Ergebnisse überlegen wäre. Die gründliche Abklärung der Energieunabhängigkeit der Cer(IV)-Reduktion ist deshalb eine sehr wichtige und dankbare Aufgabe.

Der Übergang von  $\text{Ce}^{4+} \rightsquigarrow \text{Ce}^{3+}$  bei Bestrahlung ist in der Frühzeit der Radikaltheorie der Strahlenwirkungen häufig als Beweis für das Vorhandensein und die Wirkung der  $\text{H}^{\cdot}$ -Radikale angesehen worden. Dabei wurde diese Reduktion in der einfachst möglichen Form  $\text{Ce}^{4+} + \text{H}^{\cdot} \rightarrow \text{Ce}^{3+} + \text{H}^+$  dargestellt. Die Bildung von Sauerstoff mit einer Ausbeute von  $G(\text{O}_2) \hat{=} 1,7$  und das vollständige Fehlen von  $\text{H}_2\text{O}_2$  schließen diese einfache Formulierung aus und zeigen gleichzeitig, daß dabei eine vollständige Wasserspaltung stattfinden muß. Der Stöchiometrie der Reaktionsprodukte kann einigermaßen Genüge getan werden durch den Umsatz

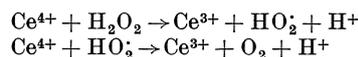


Die Reduktion von Cer(IV)-Ion wird deshalb jetzt allgemein nach den Vorgängen



angenommen.

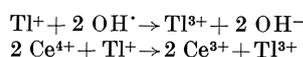
Daneben muß besonders für  $\alpha$ -Strahlen nach LEFORT und HAISSINSKY (1951) auch das einfache Reduktionsschema ohne Beteiligung des  $\text{OH}\cdot$ -Radikals



entsprechend der 2. Zeile der vorstehenden Vorgänge allein in Betracht gezogen werden. Dies würde bei einer Ausbeute von  $G(\text{H}_2) = 1,7$  einen  $G$ -Wert für die  $\text{Ce}^{4+}$ -Reduktion von 3,4 erfordern, welchen die genannten Autoren als Mittelwert auch glauben gefunden zu haben.

Bei der Verwendung von Strahlungen mit geringerer spezifischer Ionisation sind die Ergebnisse weniger einheitlich, insbesondere hinsichtlich der Bildung von molekularem Wasserstoff  $\text{H}_2$ . So wurden für Röntgen- und  $\gamma$ -Strahlen  $G(\text{H}_2)$ -Werte zwischen 0 und 0,8 von HARDWICK (1952), RIGG (1952) und LEFORT (1955) angegeben, wobei aber der Ausbeutewert der  $\text{Ce}^{4+}$ -Reduktion keineswegs Schwankungen in einem ähnlichen Ausmaß unterworfen ist. Es ist deshalb durchaus möglich, daß die erheblichen Unterschiede der  $\text{H}_2$ -Bildung bei der  $\text{Ce}^{4+}$ -Reduktion durch weniger dicht ionisierende Strahlungen teilweise auf unzulänglichen experimentellen Mitteln beruhen, um so mehr, als das Verhältnis zum gleichzeitig gebildeten  $\text{O}_2$  einigermäßen als konstant  $G(\text{H}_2)/G(\text{O}_2) \hat{=} 0,5$  angegeben wird und der  $G(\text{Ce}^{3+})$ -Wert von  $2,7 \pm 0,2$  doch als weitgehend gesichert angesehen werden darf.

Werden aber die oxydierenden Primärprodukte des Wassers durch oxydierbare Stoffe wie  $\text{Tl}^+$  oder Ameisensäure eliminiert, so steigt, wie SWORSKI (1956, 1957) gezeigt hat, die Reduktion bis auf eine Ausbeute von  $G(\text{Ce}^{3+}) \hat{=} 7,8$  an. Die Vorgänge können z.B. für Thalloionen nach



formuliert werden.

Trotz dem bisherigen erheblichen Aufwand mußten noch zahlreiche Einzelfragen der  $\text{Ce}^{4+}$ -Strahlenreduktion offenbleiben. Es besteht aber hinsichtlich der bereits erwähnten Dosimetrie von Mischstrahlungen ein dringliches Bedürfnis, diese Lücken bald zu schließen und dabei der  $\text{Ce}^{4+}$ -Strahlenreduktion ein ähnliches Maß an Interesse zuzuwenden, wie dies in den letzten etwa 15 Jahren für die  $\text{Fe}^{++}$ -Oxydation geschehen ist.

Die Strahlenreduktion anderer Elektrolyte in wäßriger Lösung darf etwas summarischer dargestellt werden, besonders auch im Hinblick auf die Tatsache, daß darüber leider weniger eingehende experimentelle Daten vorhanden sind. Es sollen deshalb zunächst in Tabelle 15 die hauptsächlichsten Ergebnisse zusammengestellt werden.

Ein Vergleich der vorstehenden Tabelle 15 mit den Zahlenwerten der Tabelle 13, S. 93, für die Oxydationen zeigt sofort die bedeutend geringere Einheitlichkeit der Ergebnisse. Daran ist mit Sicherheit nicht nur die allgemein weniger gründliche Bearbeitung der Strahlenreduktionen schuld, sondern diese sind ohne Zweifel im einzelnen erheblich verwickeltere Vorgänge als die Strahlenoxydationen. Wie aus den  $G(\text{H}_2)$ -Werten der Reduktionen mit  $\alpha$ -Strahlen zwingend hervorgeht, ist aber ein wesentlicher Beitrag an

Tabelle 15. Ausbeuten der Strahlenreduktion von einfachen wäßrigen Elektrolytlösungen\*

Reaktion	Photonen		$\alpha$ -Strahlen	
	$G \rightarrow$	$G(\text{H}_2)$	$G \rightarrow$	$G(\text{H}_2)$
$\text{Ce}^{4+} \rightarrow \text{Ce}^{3+}$	2,7	0—0,8 (?)	3,2	1,7
$\text{MnO}_4^- \rightarrow \text{MnO}_2$	9—11	0,1	4	1,6
$\text{Co}^{3+} \rightarrow \text{Co}^{2+}$	4			
$\text{Tl}^{3+} \rightarrow \text{Tl}^+$	> 1			
$\text{JO}_3^- \rightarrow \frac{1}{2} \text{J}_2$	3,2		< 0,05	1,7
$\text{Pu}^{6+} \rightarrow \text{Pu}^{4+}$			> 1	
$\text{Br}_2 \rightarrow 2 \text{Br}^-$	0,06			
$\text{S}_2\text{O}_8^{2-} \rightarrow 2 \text{SO}_4^{2-}$	20—40 **			

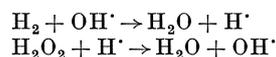
\* Vgl. z. B. HAISSINSKY: *Actions chimiques et biologiques des Radiations*. Paris 1955—1961.

\*\* Noch nicht bekannter Kettenmechanismus.

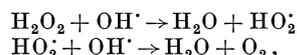
das Ausmaß der Reduktion durch  $H\cdot$ -Radikale nicht vorhanden. Die Reduktion ist also kein einfacher, durch  $H\cdot$  verursachter Vorgang, sondern weitgehend davon abhängig, ob der gelöste Elektrolyt mit  $H_2O_2$  oder (eventuell teilweise auch) mit dem  $OH\cdot$ -Radikal nach dem für die Cer(IV)-Reduktion angegebenen Schema reagieren kann. Dies scheint für  $MnO_4^-$  und  $Cr_2O_7^{2-}$  ausgesprochen der Fall zu sein, nicht aber für  $JO_3^-$ . Sinnvolle Formulierungen bereiten aber erhebliche Schwierigkeiten, wie schon FRICKE und BROWNSCOMBE (1938) für die  $Cr_2O_7^{2-}$ -Reduktion und CLARK und COE (1937) für die  $MnO_4^-$ -Reduktion angegeben haben, trotzdem es natürlich einfach wäre, der Stöchiometrie entsprechende Reaktionsgleichungen aufzustellen. Ähnlich sind die Verhältnisse auch für die (allerdings schwache) Reduktion von  $JO_3^-$ . Die von HAISSINSKY und LEFORT (1949) vorgeschlagenen Möglichkeiten scheinen kaum zu befriedigen.

Zu den einfachen Strahlenreduktionen ist schließlich auch noch der *Strahlenabbau von Hydroperoxid* zu zählen. Zu den auf S. 75ff. in Zusammenhang mit den Strahlenreaktionen in Wasser gemachten Angaben sollen deshalb hier noch einige, den eigentlichen „Reduktionsmechanismus“ betreffende zusätzliche Bemerkungen beigelegt werden.

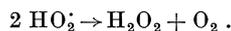
Wie von JOHNSON (1951) und LEFORT (1951) gezeigt worden ist, wird beim  $H_2O_2$ -Abbau durch Bestrahlung ohne Luftzutritt molekularer Wasserstoff gebildet, ähnlich wie bei anderen Reduktionen. Die Gegenwart von  $H_2$  *verstärkt* bei geringen  $H_2O_2$ -Konzentrationen dessen Abbau. Es ist deshalb nach ALLEN, HOCHANADEL, GHORMLEY und DAVIES (1952) und HOCHANADEL (1952) bei  $H_2$ -Überschuß die Reaktionskette (einfache Reduktion)



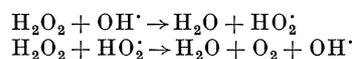
anzunehmen, bis der molekulare Wasserstoff verbraucht ist. Anschließend wird molekularer Sauerstoff freigesetzt nach



wobei ein Teil der  $HO_2\cdot$ -Radikale wieder zur Rückbildung von  $H_2O_2$  unter  $O_2$ -Austritt führen kann nach



Bei hohen  $H_2O_2$ -Konzentrationen soll nach JOHNSON (1951) aber auch noch die Kette



möglich sein, bis sie durch die vorstehende Dimerisation oder vielleicht durch die Dreikörperreaktion



unterbrochen wird.

Die Darstellung des Hydroperoxidabbaues ist somit neben der  $Ce^{4+}$ -Reduktion ein besonders schönes Beispiel für die relativ verwickelten Vorgänge bei scheinbar „einfachen“ Strahlenreduktionen und ein sicherer Beweis für die wesentliche Beteiligung der „oxydierenden“ Wasserspaltprodukte  $OH\cdot$  und  $HO_2\cdot$ .

Nach DAINTON und ROWBOTTOM (1952) und nach HART und MATHESON (1952) kann bei genügender Konzentration die obengenannte Kette bis zu 8 resp. 30 Gliedern aufweisen, bis sie durch eine der genannten Abschlußreaktionen unterbrochen wird.

### c) Wirkungen in Stoffgemischen

Strahlensätze bei Mehrkomponentensystemen in wäßriger Lösung bieten eine Möglichkeit, über den Reaktionsanteil resp. über die Ausbeute der Bildung der einzelnen Spaltprodukte des Wassers Aussagen zu machen.

Allgemein gesprochen gibt ja das quantitative Studium einer strahlenchemischen Reaktion nur Auskunft über die die beobachteten Umsätze verursachenden Strahlenprodukte des Wassers, sagt aber beispielsweise nichts aus über die *primären Radikal- ausbeuten*. Es ist ohne weiteres einleuchtend, daß deren Kenntnis die Voraussetzung zu einem tieferen Vordringen in das quantitative Reaktionsgeschehen darstellt. ALLEN (1954) hat unter Verwendung verschiedener Strahlenreaktionen in wäßriger Lösung, insbesondere der Eisen(II)-Oxydation und der Cer(IV)-Reduktion, die *G*-Werte der Primärprodukte berechnet und zusammengestellt. Dabei ergaben sich für neutrales Wasser und für die für dosimetrische Zwecke standardisierte verdünnte Schwefelsäure von 0,8 n  $\text{H}_2\text{SO}_4$  erhebliche Unterschiede, wie die folgende Tabelle zeigt:

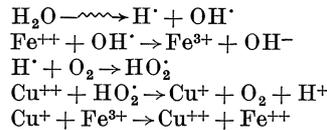
Tabelle 16. *Ausbeutewerte der Strahlenprodukte des Wassers*

Strahlung	<i>G</i> : 0,8 n $\text{H}_2\text{SO}_4$					<i>G</i> : $\text{H}_2\text{O}$				
	$\text{H}_2$	$\text{H}_2\text{O}_2$	$\text{OH}^\cdot$	$\text{H}^\cdot$	$-\text{H}_2\text{O}$	$\text{H}_2$	$\text{H}_2\text{O}_2$	$\text{OH}^\cdot$	$\text{H}^\cdot$	$-\text{H}_2\text{O}$
$\gamma$ - $^{60}\text{Co}$	0,48	0,87	2,86	3,64	4,60	0,6	1,05	1,7	2,6	3,8
Rö.-Strahlen 50 kV	0,5	0,96	2,58	3,52	4,52	0,56	1,43	0,9	2,64	3,76
$\alpha$ -Strahlen Po, Rn	1,57	1,87	0,2	0,8	3,94	1,8	1,9	0,1	0,3	3,9

Die früher von LEFORT und HAISSINSKY (1951) und von DAINTON ROWBOTTOM (1952) angegebenen Ausbeuten des Wasserverbrauches von 12,9 resp. 13,4 Molekülen  $\text{H}_2\text{O}$  pro 100 eV konnten schon von HART (1954) als mindestens um einen Faktor 2 zu hoch widerlegt werden. Seine eigenen, aus der Zersetzung von Ameisensäure abgeleiteten Ausbeutezahlen für  $\text{H}_2\text{O}_2$  sind aber erheblich höher als die in obenstehender Tabelle angegebenen.

Zur Lösung dieser grundsätzlichen Diskrepanz haben HART und WALSH (1954) belüftete wäßrige  $\text{FeSO}_4$ -Lösungen bestrahlt, welche neben  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0,8 n) gegenüber  $\text{FeSO}_4$  eine 10fache  $\text{CuSO}_4$ -Konzentration aufwiesen. Dabei soll die  $\text{Fe}^{++}$ -Oxydation durch die  $\text{OH}^\cdot$ -Radikale durch die reduzierende Wirkung der  $\text{Cu}^+$ -Ionen<sup>1</sup> wieder rückgängig gemacht werden. Es ist deshalb mit diesem System möglich, die  $\text{Fe}^{++}$ -Oxydation durch das bei der Bestrahlung gebildete *Hydroperoxid allein* zu bestimmen.

Die Reaktionen müssen dabei nach den folgenden Gleichungen ablaufen:



Ist die  $\text{Cu}^{++}$ -Konzentration hoch genug, so werden die  $\text{HO}_2^\cdot$ -Radikale vollständig abgefangen und tragen zur  $\text{Fe}^{++}$ -Oxydation nichts mehr bei. Liegt ferner zwischen den durch die Strahlung (primär) gebildeten  $\text{OH}^\cdot$ -Radikalen und den (sekundär durch Zusammentritt  $\text{H}^\cdot + \text{O}_2 \rightarrow \text{HO}_2^\cdot$  entstandenen)  $\text{HO}_2^\cdot$ -Radikalen Äquivalenz vor, so wird die  $\text{Fe}^{++}$ -Oxydation durch  $\text{OH}^\cdot$  vollständig rückgängig gemacht. Die Autoren verwendeten einerseits die  $\gamma$ -Strahlung von  $^{60}\text{Co}$  und andererseits die  $\alpha$ -Strahlung der Kernreaktion  $^{10}\text{B}(n, \alpha)^7\text{Li}$  mit einer Energie von 2,35 MeV. Die Ergebnisse sind höchst bedeutsam. Sie betragen:

Tabelle 17

	$^{60}\text{Co}-\gamma$	$^{10}\text{B}(n, \alpha)^7\text{Li}$
<i>G</i> ( $\text{Fe}^{3+}$ )	$15,6 \pm 0,3$	$4,2 \pm 0,4$
<i>G</i> ( $\text{Fe}^{3+}$ ), $\text{Cu}^{++}$	$0,66 \pm 0,02$	$2,0 \pm 0,2$

Während also der weitaus größte Teil der  $\text{Fe}^{++}$ -Oxydation bei Bestrahlung mit  $\gamma$ -Strahlen durch die Gegenwart von  $\text{Cu}^{++}$ -Ionen verhindert wird (Abfall von 15,6 auf 0,66), beträgt der Abfall der Eisen(II)-Oxydation bei Bestrahlung mit energiearmen  $\alpha$ -Strahlen durch

die Unterdrückung der OH·- und HO<sub>2</sub>·-Wirkungen durch Cu<sup>++</sup> nur etwa die Hälfte (Abfall von 4,2 auf 2,0). Bei Bestrahlung mit γ-Strahlen wird also nur ein geringer Teil der Fe<sup>++</sup>-Oxydation auf dem Umweg über eine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Bildung bewirkt, während dieser Vorgang bei α-Strahlen etwa die Hälfte der Reaktionsausbeute ausmacht. Es ist interessant, daß die durch HART und WALSH (1954) auf diese Weise bestimmten Ausbeuten für H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> recht gut mit den Zahlenwerten der vorstehenden Tabelle 16 übereinstimmen (0,66 gegen 0,87, resp. 2,0 gegen 1,87). Dabei darf noch erwähnt werden, daß die Übereinstimmung für α-Strahlen wohl noch besser ausfallen müßte, wenn die Energien der Strahlungen dieselben gewesen wären.

Die vier Ausbeutewerte für die Fe<sup>++</sup>-Oxydation sind wieder von sehr hohem dosimetrischem Interesse. Weder die Werte ohne Cu<sup>++</sup>-Beigabe von 15,6 resp. 4,2 Fe<sup>3+</sup> pro 100 eV, noch diejenigen mit (10fach höherer) Cu<sup>++</sup>-Beigabe von 0,66 resp. 2,0 sind über nicht allzu große Energiebereiche der Strahlung mit großen Variationen belastet. Sie könnten, wenn erforderlich, durch die von MINDER (1960, 1961) angegebenen Kurven korrigiert werden. Liegt demnach eine Mischstrahlung vor, die einerseits aus einer Photonen- oder (und) Elektronenstrahlung mit einer linearen Energieabgabe entsprechend ca. 20 Ip/μ, andererseits aus einer Corpuscularstrahlung mit ca. 4000 Ip/μ besteht, so sind deren Komponenten getrennt meßbar. Sind die Dosen (ausgedrückt in 100 eV/g) der beiden Komponenten D<sub>1</sub> (z. B. γ-Strahlung) und D<sub>2</sub> (Corpuscularstrahlung), so ist die Fe<sup>3+</sup>-Bildung ohne Cu<sup>++</sup>-Beigabe

$$M(\text{Fe}^{3+}) = 15,6 \cdot D_1 + 4,2 \cdot D_2 .$$

Mit Cu<sup>++</sup>-Zugabe wird sie jedoch

$$M(\text{Fe}^{3+})_{\text{Cu}^{++}} = 0,66 \cdot D_1 + 2,0 \cdot D_2 .$$

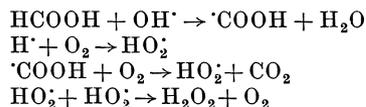
Löst man die beiden Gleichungen nach D<sub>1</sub> und D<sub>2</sub> auf, so ergeben sich die beiden Dosen zu

$$\begin{aligned} D_1 &= 0,070 M(\text{Fe}^{3+}) - 0,148 M(\text{Fe}^{3+})_{\text{Cu}^{++}} \\ D_2 &= 0,55 M(\text{Fe}^{3+})_{\text{Cu}^{++}} - 0,023 M(\text{Fe}^{3+}) . \end{aligned}$$

Leider sind bisher mit diesem Doppelsystem noch keine systematischen Dosismessungen durchgeführt worden. Es wäre aber ganz ohne Zweifel wert, z. B. an Reaktorgesamtstrahlungen (γ-Strahlen + Neutronen) sehr eingehend geprüft und verwendet zu werden, wobei getrennte Dosiswerte mit einer Genauigkeit erreicht werden könnten, wie sie bisher noch kein anderes Meßsystem bietet.

Mehrere und interessante Versuche sind dem Einfluß organischer Lösungsgenossen auf die Oxydation von Eisen(II)-Ion in wäßriger Lösung gewidmet worden. Davon soll hier auf zwei Untersuchungen, welche besonders zur Bestimmung der Ausbeutewerte der primären Strahlenprodukte des Wassers unternommen worden sind, näher eingegangen werden.

Wie erstmals von FRICKE und HART (1934) und später von HART (1954) gezeigt worden ist, wird das einfache organische Molekül der Ameisensäure HCOOH bei Bestrahlung in wäßriger Lösung in die „stabilen“ Endprodukte Wasser und Kohlendioxyd übergeführt. Die dabei in Frage stehenden Mechanismen werden heute allgemein nach



formuliert. Falls diese Formulierungen den wirklichen Verhältnissen entsprechen, müßte pro Radikalpaar je ein Molekül CO<sub>2</sub> gebildet und ein Molekül O<sub>2</sub> verbraucht werden; es müßten also die Gleichungen

$$G(\text{R}) = G(-\text{O}_2) = G(\text{CO}_2) \quad (\text{Radikalausbeute})$$

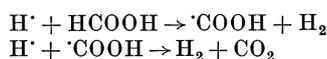
und

$$G(\text{F}) = 2 G(\text{H}_2) \quad (\text{Molekularproduktausbeute})$$

gelten. Der Verbrauch von  $O_2$  oder die Produktion von  $CO_2$  wären damit ein Maß für die Radikalausbeute, während die Bildung von molekularem Wasserstoff gestatten würde, die Ausbeute an primären Molekularprodukten zu bestimmen.

Die auf dieser Grundlage vorgenommenen Messungen sind für  $\gamma$ -Strahlen ( $^{60}Co$ ) und für verschiedene  $HCOOH$ -Konzentrationen in Tabelle 18 zusammengefaßt.

Aus den Zahlenwerten geht wohl eindeutig eine geringe Zunahme der Radikalbildung  $G(R)$  mit steigender Konzentration hervor, während die Produktion von molekularem Wasserstoff (Molekularproduktausbeute) etwas größere Schwankungen zeigt. Für die Zunahme von  $CO_2$  und  $H_2$  kann ohne Zweifel bei höheren Konzentrationen die Dehydrogenierung der Ameisensäure durch  $H\cdot$  nach dem Schema



verantwortlich gemacht werden, während der vermehrte  $O_2$ -Verbrauch dadurch natürlich keine Erklärung findet. Wenn man den wohl zu hohen Wert für  $G(H_2) = 0,56$  bei 0,1 mM außer Betracht läßt, so verhalten sich die relativen Zunahmen von  $G(H_2)$  zu  $G(CO_2)$  genau wie 2:1, wie dies durch die

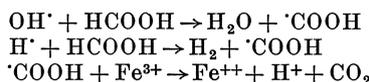
obigen Gleichungen gefordert wird. Die gegebene Darstellung der Reaktionsverhältnisse erhält damit einen hohen Grad an Wahrscheinlichkeit.

Interessant ist die Änderung der Ausbeute an molekularem Wasserstoff mit der Änderung der Strahlenqualität und damit der spezifischen Energieabgabe. In Tabelle 19 sind die von HART (1954) mitgeteilten Ausbeutewerte und die daraus berechneten Anteile der primären Bestrahlungsprodukte des Wassers enthalten.

Es ist, trotzdem eine genügend genaue Bestimmung der aufgenommenen Energie mit Ausnahme der  $\gamma$ -Strahlung mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden ist, aus der Tabelle 19 mit genügender Sicherheit das allgemeine Ergebnis zu entnehmen, daß die Summe der primären Reaktionsprodukte des Wassers, unabhängig von der Strahlenqualität, als *annähernd konstant* angesehen werden darf. Weiter fällt die Bildung von Radikalen  $G(R)$  mit zunehmender spez. Energieabgabe stetig ab, während die (primäre) Bildung der Molekularprodukte  $G(F)$  entsprechend stetig zunimmt, ein Verlauf, der aus theoretischen Überlegungen erwartet werden muß.

Nach den Untersuchungen von MAHLMAN und BOYLE (1958) scheint bei der Radiolyse des schweren Wassers ein Isotopieeffekt vorzuliegen, welcher zu geringen Abweichungen in den Ausbeuten der Primärprodukte führt. So haben die Autoren für die  $Fe^{++}$ -Oxydation in  $D_2O$  ein  $G(Fe^{3+}) = 16,7$  gegenüber 15,6 in gewöhnlichem Wasser gefunden.

Bei der Kombination der Strahlenreaktionen von  $HCOOH$  in wäßriger Lösung mit denjenigen von Eisen(II)-Ionen, wie sie von HART (1955) erstmals vorgenommen wurde, müssen die verschiedenen Vorgänge miteinander in Wechselwirkung treten. Dabei muß vor allen Dingen eine Reduktion von durch die Strahlung gebildetem  $Fe^{3+}$  durch  $\cdot COOH$ -Radikale, aber eventuell auch durch  $H\cdot$  erwartet werden nach



und eventuell

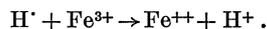


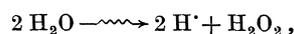
Tabelle 18. Ausbeuten der primären Strahlenprodukte des Wassers

Konzentrationen $HCOOH$ mM	$G(R)$		$G(H_2) = \frac{1}{2}G(F)$
	$G(-O_2)$	$G(CO_2)$	
0,1	2,77	2,77	0,56
1,0	2,81	2,62	0,44
10	3,09	2,92	0,44
100	3,35	3,17	0,59
1000	3,56	3,74	0,84

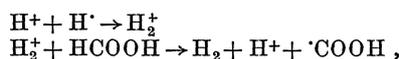
Tabelle 19. Reaktionsausbeuten in Wasser bei verschiedenen Strahlenqualitäten

Strahlung	$G(H_2)$	$G(R)$	$G(F)$	$G(-H_2O)$
$^{60}Co$ - $\gamma$	0,44	3,00	0,88	3,88
$^3H$ - $\beta$	0,51	2,35	1,02	3,37
Po- $\alpha$	1,57	0,43	3,14	3,57
$^{10}B(n, \alpha)^7Li$	1,47	0,26	2,94	3,20

Als Ausbeute der Eisen(II)-Oxydation bei Gegenwart von 0,01 M. Ameisensäure wurde auch nur ein Ausbeutewert von  $G(\text{Fe}^{3+}) = 6,33$  gefunden. Interessant ist dabei, daß HART (1955) neben den primären Reaktionen (Radikalbildung, Bildung der Molekularprodukte) zusätzlich in Übereinstimmung mit einem früher von ALLEN (1954) gemachten Vorschlag noch eine Art primärer „Zwischenreaktion“ annimmt (vgl. S. 94)



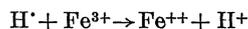
sowie das Wasserstoffmolekulation in die Formulierung des Reaktionsgeschehens einbezieht nach:



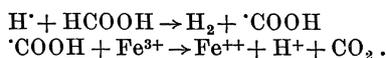
um den starken Abfall der  $\text{Fe}^{++}$ -Oxydation befriedigend formulieren zu können.

DONALDSON und MILLER (1958) haben diese Untersuchungen fortgesetzt und vervollständigt. Dabei waren die folgenden Voraussetzungen maßgebend:

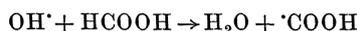
Von den Primärprodukten des Wassers  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{H}^\cdot$  und  $\text{OH}^\cdot$  ohne Gegenwart von Sauerstoff ist molekularer Wasserstoff ein relativ sehr reaktionsträger Körper. In einer Lösung von  $\text{Fe}^{3+}$ -Ionen und HCOOH sollen freie  $\text{H}^\cdot$ -Radikale Eisen(III)-Ionen reduzieren nach



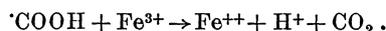
und



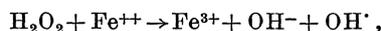
Hydroxylradikale reagieren mit Ameisensäure nach



gefolgt von



Demgegenüber oxydiert eventuell gebildetes Hydroperoxid  $\text{Fe}^{++}$  nach



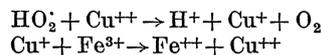
wobei aber diese Oxydation durch das dabei entstandene  $\text{OH}^\cdot$ -Radikal über die Ameisensäure nach den beiden vorstehenden Gleichungen wieder rückgängig gemacht wird. Der Hydroperoxideffekt ist also aufgehoben, wenn die HCOOH-Konzentration viel größer ist als die  $\text{Fe}^{++}$ -Konzentration.

Unter diesen Bedingungen muß die Beziehung

$$G(\text{Fe}^{++}) = k_1 G(\text{H}^\cdot) + k_2 G(\text{OH}^\cdot)$$

gelten.

Enthält die Lösung Sauerstoff, so sind neben den vorstehenden Reaktionen noch diejenigen des  $\text{HO}_2^\cdot$ -Radikals zu berücksichtigen. Wird dasselbe entfernt, oder aber über eine Reaktion in eine reduzierende Stoffeinheit umgewandelt, so müßte der Sauerstoffeinfluß wegfallen. Wie die Autoren gezeigt haben, kann dies durch Zusatz von  $\text{Cu}^{++}$ -Ionen nach den Reaktionen

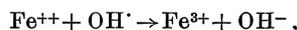


geschehen. Als Zahlenwerte der vorstehenden Ausbeutegleichung ergaben sich  $G(\text{Fe}^{++}) = 5,88$  und  $G(\text{H}) = 3,5$ , wenn die Lösung nicht weniger als 0,01 n Schwefelsäure enthielt. Die Änderungen der Ausbeutewerte bei geringerer Acidität werden dem Ausfall der Radikal-Ionen-Dimerisation  $\text{H}^\cdot + \text{H}^\cdot \rightarrow \text{H}_2^\cdot$  zugeschrieben.

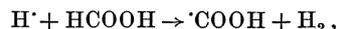
#### 4. Kritischer Ausblick

Die vorstehend besprochene und auf die Topologie der Strahlenchemie des Wassers und anorganischer wäßriger Lösungen angewandte Radikaltheorie gestattet, wie schon erwähnt, eine befriedigende Formulierung der meisten Strahlenreaktionen an einfachen

Systemen. Sie beherrscht deshalb heute das Feld der theoretischen Betrachtungen sicher zu Recht praktisch vollständig. Jede chemische Reaktion ist zum mindesten in ihren ersten einleitenden Zuständen mit irgendeiner Änderung des elektronischen Zustandes ihrer Partner verbunden. Handelt es sich dabei um eine *Ladungsübertragung* (Oxydation oder Reduktion), sei dieselbe nur die Vorstufe zu weiteren Reaktionsschritten oder aber das Endergebnis, so muß zum mindesten der eine Reaktionspartner entweder ein Ion oder ein Radikal sein. Im Falle der Ionen-Radikal-Reaktionen, wie z. B.

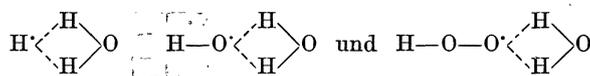


ist die Elektronenverschiebung als solche manifest, bei Radikal-Molekularreaktionen, wie etwa



ist ein Elektronenübertritt von Bindungspaar zu Bindungspaar natürlich ebenso erforderlich, kommt aber direkt nicht zum Ausdruck.

Die Hauptfrage im gegenwärtigen Zeitpunkt der strahlenchemischen Forschung ist deshalb die nach der tatsächlichen Natur der die Reaktion verursachenden Einheiten. Es ist schon darauf hingewiesen worden, daß die Basierung des ganzen Reaktionsgeschehens auf den Radikalen  $\text{H}^{\cdot}$  und  $\text{OH}^{\cdot}$  und bei  $\text{O}_2$ -Gegenwart  $\text{HO}_2^{\cdot}$  sicher eine sehr starke Simplifikation darstellt, besonders noch, wenn man dabei implicite annimmt, daß diese Einheiten in flüssigem Wasser tatsächlich in dieser einfachen Form existieren sollen. Das Auftreten der einfachen Dimerisate  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$  spricht keineswegs gegen erheblich komplexere Einheiten. Alle diese Produkte befinden sich im Moment ihrer Bildung in nächstem Kontakt mit den umgebenden Wassermolekülen, mit welchen sie durch Wasserstoffbrücken verbunden sein müssen. Es wäre nicht zu verstehen, daß unveränderte Wassermoleküle mit vollständig abgesättigten Elektronenspins untereinander sicher eine hohe Agglomerationstendenz haben und andererseits Einheiten mit ungepaarten Elektronen im so struierten Wasser gewissermaßen nackt herumschwimmen könnten. Die ungepaarten Elektronen der Wasserradikale werden eine mindestens ebensogroße Tendenz zur Brückenbildung aufweisen, wie die polarisierten Elektronen der beiden H-Atome im Wassermolekül. Das Orbital des  $\text{H}^{\cdot}$ -Radikals und damit die „Aufenthaltswahrscheinlichkeit“ des Elektrons sind kugelsymmetrisch. Dies ist für  $\text{OH}^{\cdot}$  und  $\text{HO}_2^{\cdot}$  nicht der Fall. Hier müssen bestimmte Richtungen elektronisch ausgezeichnet sein und damit zu einer *struierten* H-Bindung führen. Dabei sind mindestens einfachste Einheiten von der grundsätzlichen Form



anzunehmen.

Damit ergeben sich aber sofort einige der beobachteten Folgen. So könnte z. B. die „Dimerisierung“ des  $\text{OH}^{\cdot}$ -Radikals in einfacher Weise durch den Bruch seiner O—H-Bindung unter Übertritt des O-Atoms auf das Wassermolekül dargestellt werden



Dieser an sich endotherme Vorgang soll nicht im Gegensatz zur Dimerisierung sondern, als zusätzlich in Betracht zu ziehende Möglichkeit aufgefaßt werden. In noch wahrscheinlicherer Weise kann die Bildung von  $\text{H}_2\text{O}_2$  aus  $\text{HO}_2^{\cdot}$  durch Übertritt eines H-Atoms aus dem gebundenen Wasser oder durch Bruch der O—O-Bindung des  $\text{HO}_2^{\cdot}$  (wieder als zusätzlich denkbare Vorgänge) dargestellt werden.

Interessant erscheint besonders die Möglichkeit der Lösung einer H—O-Bindung des assoziierten Wassers am  $\text{H}^{\cdot}$ -Radikal. Diese muß nach



zu molekularem Wasserstoff  $\text{H}_2$  und einem  $\text{OH}^{\cdot}$ -Radikal führen und damit eine *oxydierende* Reaktionseinheit liefern.

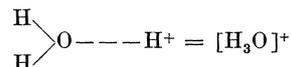
Alle die den skizzierten Vorgängen zugrunde liegenden Bindungsspaltungen sind nach Erfahrungen im Gaszustand nur unter äußerer Energiezufuhr möglich. In flüssiger Phase ist aber die Situation eine erheblich andere. Jede Wasserstoffbrücke ist mit einem Potentialinhalt von der Größenordnung von 0,25 eV verbunden. Das ist aber *10mal mehr* als die mittlere thermische Translationsenergie eines Moleküls unter normalen Temperaturbedingungen. Wie tief das Potential der Wasserstoffbrücke gegenüber dem ungepaarten Elektron eines Radikals angesetzt werden muß, ist bisher vollständig unbekannt. Sicher ist es hier nicht geringer. Damit müssen aber die „echten“ Atombindungen bei H<sub>2</sub>O-Anlagerung entsprechend aufgelockert (hybridisiert) werden (vgl. Verlängerung der OH-Bindung im Eis, S. 61 ff.). Es ist deshalb sehr wohl möglich, daß bei der Solvatisierung der Radikale (es ist keineswegs sicher, daß nur ein H<sub>2</sub>O-Molekül, wie angegeben, angelagert wird) die vorstehend angeführten Umlagerungen stattfinden.

Es sei in diesem Zusammenhang auf die Tatsache hingewiesen, daß Wasser unter Normalbedingungen mit einer Konzentration von ca. 10<sup>-7</sup> in seine Ionen



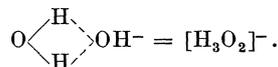
gespalten ist. Bekanntlich ist ihre Konzentration temperaturabhängig und folgt genau dem *van't Hoff'schen* Exponentialgesetz. Die hieraus berechnete Aktivierungsenergie der Dissoziation beträgt nur 0,6 eV, also 8mal weniger als die mittlere Bindungsenergie O—H im Wassermolekül. Diese sehr große Differenz kann nur durch entsprechende Lockerung der „echten“ Atombindungen durch Agglomerationseffekte in flüssiger Phase verstanden werden.

Das H<sup>+</sup>-Ion ist, wie schon erwähnt, in flüssigem Wasser sicher nicht als freies Proton, sondern in Form von



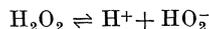
vorhanden, wobei das Proton ohne Zweifel in die Elektronenhülle des Sauerstoffs des H<sub>2</sub>O-Moleküls (in Richtung des Dipolmomentes den beiden H-Atomen gegenüber) eingetaucht ist.

Die auf fast die Hälfte reduzierte Beweglichkeit des OH<sup>-</sup>-Ions (vgl. Tabelle 9, S. 60) gegenüber H<sup>+</sup> erfordert ebenfalls eine H<sub>2</sub>O-Anlagerung

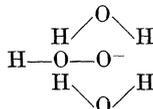


Selbstverständlich ist bei den Ionen, ihrer Ladung wegen, die Hydratationsbindung eine festere als diejenige bei Radikalen.

Eine weitere Ausdehnung der Betrachtung betrifft das bei der Bestrahlung gebildete Hydroperoxid. Auch dieser Stoff ist in wäßriger Lösung stets in geringem Maße elektrolitisch dissoziiert



und hat infolgedessen schwachen Säurecharakter. Der Dissoziationsgrad ist sehr erheblich höher als derjenige des Wassers. Über die Beweglichkeit des HO<sub>2</sub><sup>-</sup>-Ions ist nichts bekannt. Seine tatsächliche Natur kann also nur aus Analogie etwa zum HCO<sub>2</sub><sup>-</sup>-Ion abgeschätzt werden. Dessen Beweglichkeit ist nur so groß wie diejenige des F<sup>-</sup>-Ions mit 4 H<sub>2</sub>O-Molekülen. Es ist deshalb wahrscheinlich, daß an das HO<sub>2</sub><sup>-</sup>-Ion mindestens 2 H<sub>2</sub>O-Moleküle, etwa nach



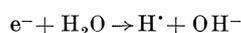
gebunden sind. Dabei sind eine Dissoziation in OH<sup>-</sup> + O<sup>-</sup>(2 H<sub>2</sub>O) oder eine H-Umlagerung unter Bildung von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + OH<sup>-</sup>(H<sub>2</sub>O) durchaus wahrscheinliche Prozesse, wenn man be-

denkt, wie hoch die Hydratationsenergien (ca. 1,3 eV pro  $\text{H}_2\text{O}$ -Molekül), aus den Lösungswärmen berechnet, anzusetzen sind. Grundsätzlich ähnliche Verhältnisse gelten auch für das  $\text{HO}_2$ -Radikal.

Dies führt weiter zu den wohl ebenso bedeutenden Fragen nach dem Wesen und der Rolle der *ionisierten Primärprodukte* in wäßrigen Systemen bei Bestrahlung. Die Gleichheit der Massenschwächung, unabhängig von der Phase des Systems, besonders aber die eindruckliche Ähnlichkeit der Blasen- und Nebelkammerbilder (trotz sehr verschiedener Topologie) zeigen, daß die primären Vorgänge der Energieabgabe in einer Flüssigkeit und in einem Gas nicht grundsätzlich verschiedener Natur sein können. Träger elektrischer Ladungen haben sicher (zum mindesten in hochisolierenden Stoffen) auch in Flüssigkeiten nach Sekunden messende Lebensdauern. Es sei in diesem Zusammenhang an die neueren umfassenden Messungen von ADAMCZEWSKI (1961) erinnert. Für Wasser ist die Leitfähigkeitsänderung während der Bestrahlung bisher noch nicht sehr gründlich geprüft worden. Vorversuche haben aber ergeben, daß es sich diesbezüglich grundsätzlich nicht anders verhält als einfache organische Flüssigkeiten.

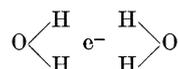
Die bei der Ionisierung durch Elektronenstoß im Massenspektrometer nachweisbaren Wasserionen sind in Tabelle 10, S. 66 aufgeführt worden. Es kann nicht entschieden werden, ob sie in dieser Mannigfaltigkeit der Zusammensetzung auch in flüssiger Phase vorkommen. Insbesondere ist ihre Lebensdauer bis zu ersten Umsätzen vollständig unbekannt. Es darf aber mit Sicherheit angenommen werden, daß die nach ihrer Bildung eintretende Hydratisierung ihre relative Stabilität sehr stark erhöhen muß. Es sind deshalb neben  $\text{H}_3\text{O}^+$  und  $\text{H}_3\text{O}_2^-$  zum mindesten kurzzeitig noch andere ionisierte Primärprodukte, wie etwa  $\text{H}_2\text{O}^+(\text{H}_2\text{O})$ ,  $\text{OH}^+(\text{H}_2\text{O})$ ,  $\text{H}_2^+(\text{H}_2\text{O})$ ,  $\text{O}^+(\text{H}_2\text{O})$ ,  $\text{H}^-(\text{H}_2\text{O})$ ,  $\text{O}^-(\text{H}_2\text{O})$  anzunehmen. Je nach der Art ihrer weiteren Stabilisierung können ihnen aber sowohl oxydierende wie reduzierende Eigenschaften zugeschrieben werden.

Eine sehr wichtige Frage ist die nach dem Schicksal des bei der Primäriionisierung abgetrennten Elektrons. Das Ionisationspotential des Wassers im Gaszustand von nur  $P_i = 12,56$  eV erlaubt primäre, sekundäre etc. Ionisierungen über ein fast beliebig weites Energiespektrum der ionisierenden Partikel. Die Elektronenaffinitäten von  $\text{H}^{\cdot}$  (0,754 eV),  $\text{O}^{\cdot}$  (1,47 eV),  $\text{O}_2$  (0,15 eV),  $\text{OH}^{\cdot}$  (2,3 eV) und  $\text{HO}_2^{\cdot}$  (3 eV) machen alle eine Bindung thermalisierter Elektronen zu exothermen Prozessen. Die Bildung der entsprechenden *negativen Ionen* ist demnach an sich wahrscheinlich. Weiter macht nach FIELD und FRANKLIN (1957) die hohe Hydratationsenergie des  $\text{OH}^-$ -Ions die Reaktion



möglich.

Eine andere Frage ist es aber, ob ein abgelöstes Elektron überhaupt eine endliche Wahrscheinlichkeit hat, bis an die entsprechenden Wasserfragmente hinzugelangen, bevor es durch Wassermoleküle (ohne eigentliche Ionenbildung) eingefangen („getrappt“) wird. Wie besonders ALLEN (1961) gefordert hat, müssen in flüssigem Wasser auch freie Elektronen hydratisiert werden und damit eine viel höhere Stabilität erlangen. Es ist leicht einzusehen, daß Bildungen etwa von der „Form“

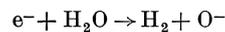


mit vier H-Atomen z.B. in den Ecken eines Tetraeders um das Elektron mindestens ebenso stabil sein müssen, als andere als solche bekannte Agglomerationen. Dabei ist allerdings in Betracht zu ziehen, daß die Zeit, während welcher ein Elektron den Durchmesser eines  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküls durchläuft, selbst bei nur 10 eV Energie noch in der Größenordnung 100fach kürzer ist, als die Relaxationszeit eines  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküls. Wassermoleküle können sich also *nur wirklich völlig thermalisierten* Elektronen im Sinne obiger Bildungen anlagern.

Durch die sinnvollen Versuche von HART (1964) und GORDON und HART (1964) ist die Existenz hydratisierter Elektronen in bestrahlten wäßrigen Lösungen sichergestellt worden. Ob es sich dabei aber, wie THOMAS und HART (1964) glauben, um die hauptsächlichste reduzierende Einheit handelt, muß wohl noch durch weitere Versuche erwiesen werden.

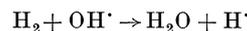
Dabei ist aber Elektroneneinfang ohne eigentliche negative Ionenbildung an sich nicht unbedingt viel wahrscheinlicher als diese. Beide Vorgänge stehen miteinander gewissermaßen in Konkurrenz, und es muß besonders auch vom O<sub>2</sub>-Gehalt des Systems abhängen, welcher Anteil der bei der Primärisierung frei gemachten Elektronen sich in negativen Ionen wiederfindet und welcher hydratisiert und damit stabilisiert wird. Es ist dies sicher ein wesentlicher zusätzlicher Gesichtspunkt zum Verständnis der Unterschiede der Strahlenwirkungen bei Gegenwart oder Abwesenheit von Sauerstoff.

Schon vor längerer Zeit haben HAISSINSKY und MAGAT (1951) die direkte Bildung des Ions O<sup>-</sup> durch einfache Anlagerung eines Elektrons an ein H<sub>2</sub>O-Molekül



in bestrahltem Wasser gefordert. Selbstverständlich müßte auch das auf diesem Wege entstandene O<sup>-</sup>-Ion hydratisiert und damit stabilisiert werden. Seine Existenz und seine Umsätze mit weiteren Wasserprodukten resp. mit gelösten Substanzen als sehr starkes Reduktionsmittel dürfen bei vertiefteren Betrachtungen strahlenchemischer Umsätze nicht außer acht gelassen werden.

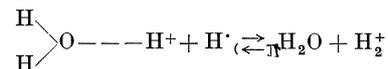
Die Tatsache schließlich, daß mehrere Strahlenreaktionen bekannt sind, bei denen dem nach der einfachen Radikaltheorie angenommenen H<sup>·</sup> *oxydierende*, also Elektronen entziehende Eigenschaften zugeschrieben werden müssen, macht die Überprüfung von dessen Natur zu einer hochwichtigen Aufgabe. Man könnte zunächst, wie dies neuerdings ALLEN (1961) getan hat, zwei verschiedene Arten von „H<sup>·</sup>-Radikalen“ unterscheiden, von denen das eine durch die primäre Radiolyse des Wassers, das andere durch Oxydation von molekularem Wasserstoff



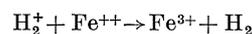
entstanden ist.

Eine solche, rein formalistische Unterscheidung stellt natürlich kaum einen Gewinn an Einsicht dar und kann deshalb nur als Anfang einer Betrachtung angesehen werden.

Unter Einbezug der ionisierten Primärprodukte und deren Hydratation kann der „oxydierende, atomare“ Wasserstoff unter Beteiligung von H<sup>+</sup> nach dem Umsatz



als positives Wasserstoffmolekulation, vielleicht sogar in Form eines Gleichgewichts, wie RIGG, STEIN und WEISS (1952) schon früher vorgeschlagen haben, gedacht werden. Das Ion H<sub>2</sub><sup>+</sup> ist ein starkes Oxydationsmittel und geht z.B. nach



im molekularen Wasserstoff über.

Bildung und Stabilität der die Ionenreaktionen verursachenden Einheiten müssen in hohem Maße pH-abhängig sein. Dies ist am letztgenannten Beispiel sofort ersichtlich. Das H<sub>2</sub><sup>+</sup>-Ion kann sich natürlich nur bei Anwesenheit von H<sup>+</sup>-Ionen bilden. Einflüsse der Wasserstoffionenkonzentration auf die Ausbeute strahlenchemischer Reaktionen wäßriger Systeme sind aber eine wohl allgemeine Erscheinung, und zwar fallen Oxydationen meist, wie dies der vorstehende Vorgang fordert, mit abnehmender H<sup>+</sup>-Konzentration stark ab. Die umgerechnete Tabelle 20 nach AMPHLETT (1952) zeigt z.B. den Verlauf des G-Wertes der Eisen(II)-Oxydation in Abhängigkeit vom pH.

Die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration muß aber bei  $O_2$ -Gegenwart noch mindestens eine weitere Konsequenz haben. Das unter seinen normalen Existenzbedingungen oxydierende Radikal  $HO_2$  befindet sich in einem Dissoziationsgleichgewicht



welches bei höheren pH-Werten nach der rechten Seite verschoben sein muß und zum Vorhandensein des  $O_2^-$ -Ions führt, dessen Dissoziation zu oxydierenden und reduzierenden Einheiten führen kann. Ob in basischem Milieu sogar das  $OH$ -Radikal teilweise in  $H^+ + O^-$  dissoziiert ist, wie dies von mehreren Autoren angenommen wird, kann aus den bis jetzt verfügbaren Angaben wohl noch nicht mit Sicherheit entschieden werden.

So bestrickend abgeschlossen die einfache Radikaltheorie der Strahlenwirkungen in wäßrigen Systemen auf den ersten Blick erscheint, so verwickelt und mannigfaltig sind die tatsächlichen Verhältnisse in Wirklichkeit. Es sollte mit den vorstehenden kritischen Bemerkungen dargetan werden, daß jede vertieftere Betrachtung strahlenchemischer Umsätze, selbst bei scheinbar ganz einfachen Systemen, neben den hauptsächlichsten Gesichtspunkten zahlreiche zusätzliche Hypothesen in Erwägung ziehen muß, um der wirklichen Komplexität der Möglichkeiten gerecht zu werden. Einige derartige elementare Möglichkeiten sind hier skizziert worden. Die zukünftige strahlenchemische Forschung wird besonders auch den ionisierten Strahlenfragmenten ein weit vermehrtes Interesse entgegenbringen müssen unter Einsatz aller zu ihrer Erfassung geeigneten Mittel. Sie wird sich aber ebenso den Besonderheiten des Wassers als flüssiges System, vor allem seinen energetischen und strukturellen Eigenarten, in weit höherem Maße zuwenden müssen, als dies bisher geschehen ist.

Tabelle 20.  $G(Fe^{3+})$  in Abhängigkeit vom pH modifiziert nach AMPHLETT (1952)

pH	$[H^+]$ in Mol/l	$G(Fe^{3+})^*$
0,39	$4,1 \cdot 10^{-1}$	16,0
1,21	$6,0 \cdot 10^{-2}$	16,0
1,60	$2,51 \cdot 10^{-2}$	16,0
2,65	$2,24 \cdot 10^{-3}$	12,6
3,10	$7,9 \cdot 10^{-4}$	10,8
3,58	$2,6 \cdot 10^{-4}$	8,0
3,80	$1,6 \cdot 10^{-4}$	6,5 (?)

\* Korrigierte Werte.

### III. Strahlenchemie einfacher organischer Verbindungen

#### 1. Abgrenzung des Gegenstandes

Neben all den mit der mengenmäßig weitaus vorherrschenden Zentralsubstanz lebender Objekte, dem Wasser, in Zusammenhang stehenden Zuständen, Erscheinungen und Vorgängen ist der Chemismus kompliziert gebauter organischer Moleküle eine der wesentlichsten Grundlagen des Lebens. Aufbau, Umbau und Abbau meist ketten- oder netzförmiger Makromoleküle sind so enge und unmittelbar mit allen Besonderheiten lebender Einheiten verbunden, daß man sie als einen ihrer materiellen Hauptinhalte betrachten darf. Eine sinnvolle, tiefere Betrachtung von Strahlenreaktionen an lebenden Objekten muß deshalb diesen Besonderheiten so weitgehend wie möglich Rechnung tragen. Daß die in Frage stehenden Stoffeinheiten sich dabei stets in irgendeiner Weise in „wäßrigem Milieu“ vorfinden, macht die Gesamtproblematik scheinbar relativ einfach, kompliziert sie aber in Wirklichkeit so stark, daß in jedem Falle eine Trennung der tatsächlichen Erscheinungen in solche mit und in solche ohne Beteiligung des Wassers vorgenommen werden müßte. Selbstverständlich ist eine derartige Unterteilung in sog. *indirekte* und *direkte Strahlenwirkungen* phänomenologisch an lebenden Systemen undurchführbar, trotzdem es schon vor längerer Zeit gelungen ist, quantitative Unterschiede der Strahlenwirkung in Abhängigkeit vom Wassergehalt (vgl. z.B. LEA 1946) biologischer Systeme nachzuweisen.

Wenn auch letztlich die Bedeutung der Strahlenchemie von Makromolekülen bei der tieferen Beurteilung von Strahlenwirkungen auf lebende Systeme sicher weitaus im Vordergrund steht, so ist es wegen der zahllosen Möglichkeiten des Reaktionsgeschehens schlechthin unmöglich, für dieselben eindeutige und widerspruchsfreie Anschauungen zu

entwickeln. Abstraktionen und Gesetzmäßigkeiten allgemeiner Natur und damit Einsichten grundsätzlichen Inhaltes sind nur auf Grund von Erfahrungen an „einfachen“ organischen Stoffen möglich. Deshalb sind Bestrahlungsversuche an solchen Systemen besonders wichtig.

Selbstverständlich muß jede Abgrenzung einer organischen Stoffgruppe, etwa nach dem Molekulargewicht, eine mehr oder weniger grobe Willkür darstellen. „Einfach“ und „kompliziert“ sind auch bei der Betrachtung molekularer Gegebenheiten relative Ordnungsprinzipien. Wenn die obere Grenze des Molekulargewichtes der hier in Betracht zu ziehenden organischen Stoffe etwa bei einem Zahlenwert von 200 angesetzt werden soll, so sind hierin sicher alle „einfachen“ Verbindungen eingeschlossen. Diese Grenze gestattet aber andererseits auch, die Baueinheiten der Makromoleküle zu berücksichtigen und damit den Anschluß an die Darstellung biologischer Strahlenwirkungen zu gewährleisten.

Neben dieser „stofflichen“ Abgrenzung ist aber im vorgegebenen Rahmen eine inhaltliche von höherer Bedeutung. Es scheint hier ohne Zweifel sinnvoller, aus dem gesamten Kenntnisgebiet der Strahlenchemie einfacher organischer Verbindungen eine beschränktere Auswahl zu treffen und diese mit einer gewissen Vollständigkeit darzustellen, als alle Kenntnisse gewissermaßen zu katalogisieren. Dies erlaubt auch eine Verknüpfung mit theoretischen Konzeptionen, ohne welche ein Verständnis ja niemals möglich ist. Nicht im einzelnen behandelten Strahlenreaktionen kann dann in diesem Rahmen stets der ihnen entsprechende Platz zugewiesen werden. Dabei soll aber die folgende Darstellung keineswegs so verstanden werden, daß die am eingehendsten erläuterten Reaktionen nun auch die bedeutendsten wären. Der Umfang der Einzeldarstellung ergibt sich in erster Linie aus der Verfügbarkeit und der *allgemeinen Information* des experimentellen Materials. Unter diesem Gesichtspunkt ist es offensichtlich, daß die Einsicht in die Einzelheiten des strahlenchemischen Reaktionsgeschehens um so tiefer sein kann, je einfacher das in Frage stehende Reaktionssystem ist. Aus diesen Gründen sollen im folgenden in erster Linie die strahlenchemischen Reaktionen an *möglichst einfachen organischen Stoffen* behandelt werden, auch wenn ein direkter Zusammenhang derselben mit üblichen strahlenbiologischen Fragestellungen häufig nicht unmittelbar ersichtlich scheint.

## 2. Die organische Molekülbindung

### a) Allgemeines

Unter den herrschenden Temperatur-Druckbedingungen kommen von allen Elementen des periodischen Systems nur die sechs Edelgase in der einfachst möglichen Form, nämlich als einatomige Gase, in der Natur vor. Alle übrigen Grundstoffe bilden „von selbst“ unter gleichartigen oder verschiedenartigen Atomen *chemische Verbindungen* als Ausdruck für deren erhöhte Beständigkeit. Offenbar ist dabei die „Konstitution der äußersten Elektronenschale“ als Ursache für das Eingehen oder Nichteingehen von Verbindungen anzusehen, wobei den „*Edelgaskonfigurationen*“ besonders hohe Stabilitäten zugeordnet werden dürfen. Die Edelgasschale ist dann vorhanden, wenn in derselben nur Elektronen vorhanden sind, deren Energiezustände durch die *Hauptquantenzahl*  $n$  einerseits und durch die *Azimutalquantenzahlen*  $l = 1$  und  $l = 0$  mit den dazugehörigen *Spinquantenzahlen*  $1/2$  und  $-1/2$  bestimmt werden. Die drei ersten, hier allein interessierenden, Edelgasschalen haben demnach die Elektronenverteilungen He:  $1s^2$ ; Ne:  $2s^2 2p_x^2 2p_y^2 2p_z^2$  und Ar:  $3s^2 3p_x^2 3p_y^2 3p_z^2$ . Wesentlich ist dabei, daß auf ein und demselben Niveau je *zwei Elektronen mit antiparallel gerichteten Spins* vorhanden sind. Die hohe äußere Stabilität der Edelgasverteilung und die Absättigung der Niveaus zu Spinpaaren sind nach KOSSEL und LEWIS als Ursache der chemischen Bindung anzusehen. Hierbei werden bekanntlich zwei Fälle unterschieden, nach welchen die Bindungskräfte zu betrachten sind.

Der Übertritt eines oder zweier Elektronen zwischen einem Atom und seinem Partner unter entsprechender *Ionenbildung mit Edelgasschale* führt zur *elektrovalenten* oder *heteropolaren Ionenbindung*. Das entstehende Molekül hat *Dipolcharakter* und wächst sich unter seinesgleichen infolge seines elektrostatischen Streufeldes zum allseitig „unendlich“ ausgedehnten *Ionenkristall* aus, welcher in polaren Lösungsmitteln, insbesondere in Wasser, unter *Elektrolytbildung* löslich ist, sofern die Feldabsättigung durch Moleküle des Dispersionsmittels (z. B. Hydratation) energetisch zur Dissoziation ausreicht. Heteropolare Moleküle sind deshalb nur in der Dampfphase als solche vorhanden und gegebenenfalls hier auch stabil.

Die *covalente* oder *homöopolare Atombindung* ist auf klassischer Grundlage nicht zu beschreiben. Man hat drei Fälle zu unterscheiden:

**1. Die Diamantbindung** mit tetraedrischer Anordnung gleichartiger (z. B. Diamant) oder verschiedenartiger (z. B. ZnS) Atome unter gegenseitiger Absättigung zur Edelgasschale. Die durch allseitiges Wachstum entstehenden Kristalle sind *schwer lösliche Nichtleiter*, enthalten aber häufig *unbesetzte Leitfähigkeitsbänder* (Photoleitfähigkeit).

**2. Die metallische Bindung**, bei welcher in den äußeren Elektronenniveaus so viele Elektronen fehlen, daß beim Zusammentritt von zwei Atomen noch keine Absättigung zur Edelgaskonfiguration erfolgen kann. Metalle sind deshalb im Dampfzustand einatomig. In fester Phase können die Valenzelektronen nicht mehr bestimmten Atomen zugeordnet werden, sondern sie bilden *besetzte Leitfähigkeitsbänder* (Ursache der metallischen Leitung), die im ausgedehnten Kristall gegenüber den (stark positiv geladenen) Metallatomresten (ohne Valenzelektronen) eine ähnliche bindende Funktion ausüben, wie die Anionen in heteropolaren Kristallen.

**3. Die Bindung zu Nichtmetallmolekülen** (permanente Gase, organische Verbindungen) unter *Elektronenpaarbildung* zwischen zwei benachbarten Atomen und gleichzeitigem „Anteilwerden“ des Elektronenpaares zur Edelgaskonfiguration beider Bindungspartner. Das bindende Element ist hier die *Symmetrie* der (z. B. Spin) energetischen Zustände des oder der (maximal drei) *Elektronenpaare*. Derartige Moleküle (Nichtleiter) sind sowohl im Kristall als auch in Lösung und als Dampf bindungsmäßig und auch bezüglich ihrer räumlichen Konfiguration weitgehend unverändert existenzfähig (Molekularkristalle, Molekularlösungen, Molekulardämpfe, vgl. Abb. 24, S. 119).

Es soll aber schon hier und mit Nachdruck hervorgehoben werden, daß die verschiedenen vorstehend skizzierten Bindungsarten keineswegs grundsätzlich voneinander verschieden sind, und daß diese „klassischen“ Verschiedenheiten bei einer korrekten wellenmechanischen Betrachtung weitgehend verschwinden. Genauso wie die Bindung durch Elektronenpaare nur mit Hilfe der Wellenmechanik dargestellt werden kann, ist auch der Elektronenübertritt als Voraussetzung der Ionenbindung grundsätzlich ein wellenmechanisches Problem. Daran ändert die Tatsache, daß die dabei in Frage stehenden Zahlenwerte (wie z. B. Ionisierungspotentiale und Ionenladungen) experimentell bestimmt werden können, nichts Prinzipielles. Bevor aber hierüber einige erforderlich scheinende Bemerkungen gemacht werden können, ist es notwendig, zunächst ein „grobes“ mechanisches Modell und dessen Aussagen kurz zu betrachten.

### b) Modellmäßige Darstellung der Molekülbindung

Die Bindungsverhältnisse zwischen Atomen können sowohl elementar wie wellenmechanisch nur für zweiatomige Moleküle dargestellt werden. Bei höheren Agglomerationen (Mehrkörperproblem) ist eine explizite rechnerische Verarbeitung der auftretenden gegenseitigen Abhängigkeiten nicht mehr möglich. Das Grundsätzliche der Molekülbindung kann aber auch am Zweikörpermodell studiert und auf Systeme höherer Komplexität übertragen werden.

Analytisch (vgl. Abb. 19) ist ein zweiatomiges Molekül zunächst als *anharmonischer Oszillator* zu betrachten, also als ein schwingendes System, bei welchem die beiden Massen-

zentren (Atomkerne) um eine Gleichgewichtslage oszillieren. Offensichtlich entspricht die Gleichgewichtslage dabei dem Atomkernabstand  $r_0$  des Moleküls im Minimum seiner potentiellen Energie. Bei sehr kleinen Elongationen darf die Schwingung der Massenzentren gegeneinander als *harmonisch* angesehen werden, und es gilt dann die Gleichung für einen harmonischen Oszillator, daß die rücktreibende Kraft  $K$  der Elongation  $x$  proportional ist, also

$$K = M \cdot \frac{\delta^2 x}{\delta t^2} = -f \cdot x.$$

Für größere Elongationen genügt dieser einfache Ansatz aber nicht mehr, sondern es müssen zusätzliche Glieder mit höheren Potenzen eingesetzt werden. Die Gleichung lautet also

$$K = M \cdot \frac{\delta^2 x}{\delta t^2} = -(f \cdot x + \alpha \cdot x^2 + \beta \cdot x^3 + \dots).$$

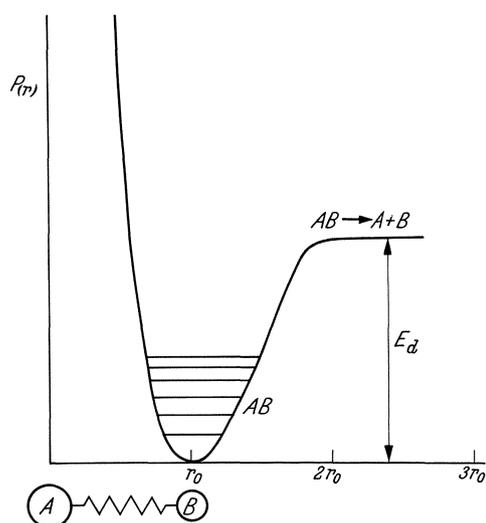


Abb. 19. Mechanisches Modell (zwei durch eine Feder verbundene Kugeln) des zweiatomigen Moleküls AB als anharmonischer Oszillator. Der Potentialverlauf  $P(r)$  ist in bezug auf das im Nullpunkt festgehaltene Atom A berechnet.  $E_d$  entspricht der Dissoziationsenergie,  $r$  dem Atomkernabstand

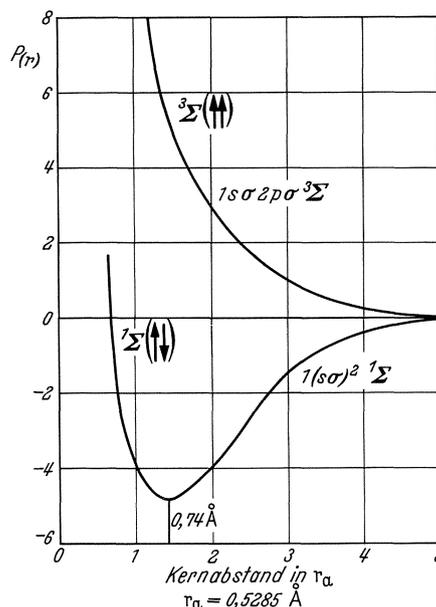


Abb. 20. Potentialverläufe bei der Annäherung zweier H-Atome mit parallelen (oben) und antiparallelen (unten) Spins der Elektronen. Die Einheit der Abszisse  $r_a$  entspricht der atomischen Einheitslänge, also dem 1s-„Bahnradius“ im H-Atom

Die potentielle Energie des Systems (Potentialverlauf) wird damit zu

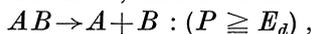
$$P(x) = \frac{f}{2} x^2 + \frac{\alpha}{3} x^3 + \frac{\beta}{4} x^4 + \dots$$

Es ist leicht einzusehen, daß damit die *Potentialmulde asymmetrisch* werden muß, da die Glieder mit ungeraden Exponenten sich auf die beiden Schenkel der Mulde außerhalb des Scheitels (für den  $x = 0$  gilt), je nachdem der Elongation  $x$  positive oder negative Werte zugeordnet werden müssen, verschieden auswirken.

Die Integration der Gleichung ist schwierig und führt zu einem System von Schwingungen mit Grundfrequenz und „verstimmt“ Oberfrequenzen, womit zum Ausdruck gebracht ist, daß für die Schwingungszustände der beiden (allein schweren) Atomkerne gegeneinander ein ganzes System von Anregungsniveaus (Molekularanregungen) möglich ist, deren Energiedifferenzen in der Größenordnung von  $10^{-1}$  eV liegen.

Die Potentialverhältnisse eines zweiatomigen Molekülmodells (im elektronischen *Grundzustand*) können deshalb grundsätzlich durch ein Schema nach Abb. 19 veranschau-

licht werden. Oberhalb eines Energiegehaltes  $E_d$ , der *Dissoziationsenergie*, muß das Molekül in seine Komponenten zerfallen, dissoziieren:



und es ist nur bei Potentialen  $P < E_d$  als Molekül  $AB$  existenzfähig.

Diese ganz einfachen Betrachtungen wären grundsätzlich auf 3-, 4- und mehratomige Moleküle übertragbar, wobei allerdings, entsprechend der Molekülzahl, mehrdimensionale Darstellungen angewendet werden müßten.

Für das einfachste Molekül, den *Wasserstoff*  $H_2$  sind die Bindungsverhältnisse von mehreren Autoren (HIRSCHFELDER, LONDON, HEITLER) berechnet worden und experimentell gut bekannt. Sie sind schematisch in Abb. 20 wiedergegeben und sollen als *Modell für kompliziertere Verhältnisse* kurz besprochen werden. Es sind dabei, wie die Abb. 20 veranschaulicht, grundsätzlich zwei Fälle möglich:

a) Die Elektronen der beiden zum Molekül zusammentretenden Atome haben *anti-parallel* gerichtete Spins; es entsteht die Konfiguration  $1(s\sigma)^2\ ^1\Sigma$  mit beiden Elektronen auf dem K-Niveau. Dieser Zusammentritt hat bei 0,74 Å Atomkernabstand ein ausgesprochenes Potentialminimum von  $-4,5\text{ eV}$  und ist als Verbindung stabil.

b) Bei *parallel* gerichteten Spins müßte das eine der beiden Elektronen wegen des Ausschlußprinzips von PAULI beim Zusammentritt auf das L-Niveau verschoben werden. Eine derartige Verbindung mit der Konfiguration  $1s\sigma\ 2p\sigma\ ^3\Sigma$  weist im ganzen in Frage kommenden Abstandsgebiet nur positive (abstoßende) Potentialwerte auf und ist deshalb nicht existenzfähig. Jede Anregung, die mit einer Spinänderung verbunden ist, muß deshalb zur Dissoziation des Moleküls in seine Bestandteile führen. Dasselbe gilt *nicht* für eine positive Ionisation des Moleküls (Elektronenabtrennung), deren Existenz auch durch zahlreiche Versuche erwiesen ist, da ja das  $H_2^+$ -Ion nur noch ein Elektron enthält und damit das Ausschlußprinzip nicht mehr zur Wirkung kommen kann.

Bei einfachen Molekülen, aus Atomen mit höherer Kernladungszahl bestehend, sind die Verhältnisse nicht grundsätzlich anderer Natur, aber im einzelnen doch sehr erheblich komplizierter. Zunächst nimmt mit der Elektronenzahl der aufbauenden Atome, besonders aber mit der Zahl der Atome im Molekül, die Anzahl der möglichen Elektronenzustände (Anregungen) und damit der Potentialverläufe sehr stark zu. (Diese Tatsache kommt bekanntlich in den Bandenspektren zum sichtbaren Ausdruck.) Eine Voraussage über den Eintritt eines bestimmten Zustandes bei äußerer Energiezufuhr ist deshalb nicht mehr möglich. Zusätzlich liegen die Einzelzustände oftmals so nahe beieinander, daß Übergänge fast ohne Energieänderungen möglich sind. Deshalb kann auch eine Voraussage über die Folgen einer Elektronenanregung (oder Ionisation) nur noch von qualitativer Natur sein, ohne eindeutigen Charakter zu haben.

Da die covalente Nichtmetallbindung, welche im hier gegebenen Aufgabenkreis allein interessiert, im wesentlichen auf der Spinsymmetrie des Bindungselektronenpaares beruht, so haben beständige homöopolare Verbindungen mit ganz wenigen Ausnahmen *gerade Elektronenzahlen*. Findet eine Spaltung eines solchen Moleküls in neutrale Produkte, *Radikale*, statt, so müssen dieselben ein *ungepaartes Elektron* aufweisen. Tabelle 21 soll diese Tatsachen an einigen einfachen Verbindungen und ihren Spaltprodukten erläutern.

In der dritten Kolonne sind die neutralen Spaltprodukte (*freie Radikale*) enthalten, in welche die angeführten Verbindungen zunächst übergeführt werden müssen, wenn sie mit anderen Systemen reagieren. Dabei besteht bei *exothermen Umsätzen* grundsätzlich die Möglichkeit von *Kettenreaktionen*, wenn die frei werdende Energie ausreicht, um

Tabelle 21

Verbindung	Elektronenzahl $Z$	Spaltung in Radikale
$H_2$	2	$H^\cdot + H^\cdot$
$N_2$	14	$N^\cdot + N^\cdot$
$O_2$	16	$O^\cdot + O^\cdot$
$Cl_2$	34	$Cl^\cdot + Cl^\cdot$
CO	14	$C^\cdot + O^\cdot$
$H_2O$	10	$H^\cdot + OH^\cdot$
$H_2S$	18	$H^\cdot + SH^\cdot$
$CO_2$	22	$CO + O^\cdot$
$NH_3$	10	$\cdot NH_2 + H^\cdot$
$CH_4$	10	$\cdot CH_3 + H^\cdot$
$C_2H_6$	18	$\left\{ \begin{array}{l} C_2H_5 + H^\cdot \\ \cdot CH_3 + \cdot CH_3 \end{array} \right.$
$CH_3OH$	18	$\left\{ \begin{array}{l} CH_3O^\cdot + H^\cdot \\ \cdot CH_3 + OH^\cdot \\ H_2COH + H^\cdot \end{array} \right.$

weitere Ausgangsmoleküle in freie Radikale zu spalten. Das bekannteste Beispiel einer derartigen Radikalkettenreaktion ist die Chlorwasserstoffbildung aus den molekularen Gasen der Ausgangsstoffe. Diese läuft explosionsartig ab, wenn das stöchiometrische

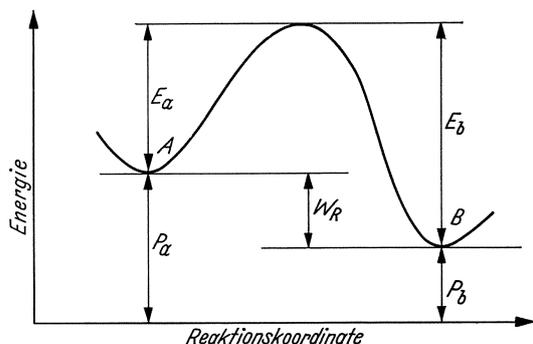


Abb. 21. Schematische Darstellung der Energieverhältnisse des Reaktionspaares  $A \rightleftharpoons B$  unter Aufteilung der dabei in Frage stehenden Potentiale in die Ausgangspotentiale ( $P$ ) und in die Aktivierungsenergien ( $E$ )

muß das Potential des Stoffes  $A$  zunächst um die *Aktivierungsenergie*  $E_a$  bis auf  $P_a + E_a$  (den Gipfel der Energieschwelle) erhöht werden. Dann „rollt“ das System von selbst unter Energieabgabe in die Potentialmulde von  $B$  mit dem Endpotential  $P_b$ . Für die

Tabelle 22. *Reaktionswärmen  $W_R$  und Aktivierungsenergien  $E_a$  einiger einfacher Radikalreaktionen in eV*

Reaktion	Reaktionswärme $W_R$ in eV	Aktivierungsenergie $E_a$ in eV
$H \cdot + H_2 \rightarrow H_2 + H \cdot$	0	0,27
$H \cdot + Cl_2 \rightarrow HCl + Cl \cdot$	1,96	0,09
$H \cdot + Br_2 \rightarrow HBr + Br \cdot$	1,74	0,05
$H \cdot + J_2 \rightarrow HJ + J \cdot$	1,52	0
$H \cdot + CH_4 \rightarrow H_2 + \cdot CH_3$	0,09	0,57
$H \cdot + C_2H_6 \rightarrow H_2 + \cdot CH_2CH_3$	0,22	0,41
$H \cdot + CCl_4 \rightarrow HCl + \cdot CCl_3$	1,46	0,15
$H \cdot + CHCl_3 \rightarrow HCl + \cdot CHCl_2$	1,22	0,21
$H \cdot + C_2H_5Cl \rightarrow HCl + \cdot CH_2CH_3$	0,96	0,35
$H \cdot + C_2H_5Br \rightarrow HBr + \cdot CH_2CH_3$	0,87	0,26
$OH \cdot + CH_4 \rightarrow H_2O + \cdot CH_3$	0,70	0,37
$OH \cdot + C_2H_6 \rightarrow H_2O + \cdot CH_2CH_3$	0,83	0,24
$OH \cdot + H_2CO \rightarrow H_2O + \cdot HCO$	1,61	0,02
$OH \cdot + CO \rightarrow CO_2 + H \cdot$	1,13	0,30
$\cdot CH_3 + CH_4 \rightarrow CH_4 + \cdot CH_3$	0	0,49
$\cdot CH_3 + C_2H_6 \rightarrow CH_4 + \cdot CH_2CH_3$	0,17	0,45
$\cdot CH_3 + CHCl_3 \rightarrow CH_4 + \cdot CCl_3$	0,52	0,25
$Br \cdot + H_2 \rightarrow HBr + H \cdot$	-1,91	0,33
$Cl \cdot + H_2 \rightarrow HCl + H \cdot$	-0,05	0,24
$Cl \cdot + CH_4 \rightarrow HCl + \cdot CH_3$	0,04	0,27
$Cl \cdot + CHCl_3 \rightarrow HCl + \cdot CCl_3$	0,57	0,35

Systems müssen aus weiteren Erfahrungen erschlossen werden. Dies geschieht meistens mit Hilfe von zusätzlichen Reaktionen, an denen die Systeme  $A$  oder  $B$  beteiligt sind. Eindeutige Ergebnisse liefern dabei „Kreisprozesse“ von der Form:



bei denen die Wärmetönungen von allen Schritten bekannt sind.

Gasgemisch z.B. mit Licht unter 5000 Å Wellenlänge belichtet wird, dessen Energie ausreicht (vgl. Tabelle 24, S. 120), um die Molekülsplaltung  $Cl_2 \rightarrow Cl \cdot + Cl \cdot$  zu bewirken. Dieser folgt dann die Reaktion  $Cl \cdot + H_2 \rightarrow HCl + H \cdot$ , welche ihrerseits wieder zur Spaltung des Chlormoleküls führt, usw.

Die Theorie der *Reaktionsaktivierung* kann auf relativ einfache Weise versinnbildlicht werden. In Abb. 21 soll die einfache Reaktion  $A \rightleftharpoons B$  dargestellt sein.  $A$  mit dem Molekülpotential  $P_a$  und  $B$  mit dem Molekülpotential  $P_b$  sollen zwei unter normalen Bedingungen stabile Moleküle sein, die durch die Reaktionsschritte  $A \rightarrow B$  resp.  $B \rightarrow A$  ineinander übergeführt werden können. Damit der Reaktionsschritt  $A \rightarrow B$  möglich wird, muß das Potential des Stoffes  $A$  zunächst um die *Aktivierungsenergie*  $E_a$  bis auf  $P_a + E_a$  (den Gipfel der Energieschwelle) erhöht werden. Dann „rollt“ das System von selbst unter Energieabgabe in die Potentialmulde von  $B$  mit dem Endpotential  $P_b$ . Für die umgekehrte Reaktion wäre die Aktivierungsenergie  $E_b$  für das System  $B$  und damit das Gesamtpotential  $P_b + E_b$  erforderlich.

Es kann der Abb. 21 leicht entnommen werden, daß die Energiebeziehung gelten muß:

$$P_a + E_a = P_b + E_b.$$

Die *Wärmetönung* der Reaktion  $A \rightarrow B$  wird damit zu

$$W_R = P_a - P_b = E_b - E_a.$$

Die Reaktion ist *exotherm* ( $A \rightarrow B$ ), wenn  $P_a > P_b$ , *endotherm* ( $B \rightarrow A$ ) bei  $P_b < P_a$ . Die relativ leicht meßbare Wärmetönung  $W_R$  bestimmt somit die Differenz der Potentiale zwischen Anfangs- und Endzustand, sagt aber über deren absolute Höhe nichts aus. Ebenso liefert sie die zur Reaktion erforderlichen Anregungsenergien ( $E_a$  resp.  $E_b$ ) nicht. Diese und damit verlässliche Voraussetzungen über die „Reaktivität“ des Sy-

Kürzlich sind von SEMENOW (1958) die Energiewerte von zahlreichen Radikalreaktionen in einem erweiterten Rahmen, die Reaktionskinetik betreffend, zusammengestellt worden. Die vorstehende Tabelle 22 gibt hieraus einen für die vorliegende Aufgabe stark gekürzten Auszug wieder.

### e) Verfeinertes wellenmechanisches Modell

So leistungsfähig das grobmechanische Modell des anharmonischen Oszillators des zweiatomigen Moleküls für unsere Anschauung sein mag, so nimmt es weder Rücksicht auf die Verteilung der Elektronen in den Atomhüllen, noch vermag es Aussagen über Ausmaß und Wesen der „Federkräfte“ und damit über die *Bindungsenergien* im Molekül zu machen. Diese sind ganz ohne Zweifel elektronischer Natur und können nur auf Grund tiefergreifender und gleichzeitig allgemeinerer und weniger konkreter Prämissen „erklärt“ werden. Es soll deshalb im folgenden versucht werden, einen einfachen Überblick über die wellenmechanischen Grundsätze und ihre Anwendung auf das Hauptproblem der Atombindung zu geben.

Als Folge der Unbestimmtheitsrelation von HEISENBERG

$$\Delta q \cdot \Delta p \hat{=} \hbar$$

ist es *grundsätzlich unmöglich*, Ortsänderungen ( $\Delta q$ ) und Impulsänderungen ( $\Delta p$ ) eines atomaren Systems unabhängig voneinander mit einer beliebigen Genauigkeit zu bestimmen. Ein Elektron ist demnach weder ein räumlich definiert umschriebenes Gebilde bestimmter Dimension, noch kann es zu einem bestimmten Zeitpunkt an einem genau definierbaren Ort lokalisiert gedacht werden. Konkretisierende Begriffe wie etwa „Elektronenbahn“ oder „Edelgasschale“ haben folglich nur Inhalte formaler Analogie. Die Berechtigung der beiden Anschauungen eines Lichtbündels als Wellenfront einerseits und als Photonenstrom andererseits oder derjenigen eines Elektrons als bewegte Korpuskel (im Nebelkammerbild) und als Welle (im Interferenzversuch), erweisen die *Dualität* atomarer oder subatomarer Gegebenheiten, wenn sie der Beobachtung zugänglich werden. Aufgabe einer möglichst sinnvollen Theorie muß es deshalb sein, unter möglichstem Verzicht auf konkretisierte Voraussetzungen ein System der Betrachtung zu entwickeln, in welches die experimentellen Erfahrungen widerspruchsfrei eingeordnet werden können. Dieses System ist die *Wellenmechanik*.

Die Wellenmechanik behandelt ein Elektron, als ein dreidimensionales, stationäres Wellensystem, welches durch die Funktion

$$\Delta \Psi + \frac{8 \pi^2 m}{h^2} (E - P) \Psi = 0,$$

die *Schrödinger-Gleichung*, beschrieben wird. Darin bedeuten  $m$  die Elektronenmasse,  $h$  die *Planksche Konstante*,  $E$  die Gesamtenergie,  $P$  die potentielle Energie und  $\Psi$  eine Funktion, deren Werte die Amplituden des Wellensystems im Raume bestimmen. Der Operator  $\Delta$  symbolisiert die zweiten partiellen Differentialquotienten nach den drei Raumkoordinaten.

Die Lösung der Wellenfunktion weist für bestimmte *Eigenwerte* Extremwerte („Schwingungsknoten“ und „Schwingungsbäuche“) auf, deren Koordinaten durch die „*Randbedingungen*“ bestimmt werden. Es soll dies kurz für den einfachsten Fall skizziert werden.

Für eine einzige Dimension (Analogie: schwingende Saite) hat die Wellengleichung die Form:

$$\frac{\delta^2 \Psi}{\delta x^2} + w \Psi = 0.$$

Es ist sofort einzusehen, daß dieselbe bis auf die Koeffizienten mit der vorstehenden Gleichung des linearen harmonischen Oszillators formal identisch ist. Ihre Lösungen lauten

$$\Psi(x) = a \cdot \begin{cases} \cos \sqrt{w} x \\ \sin \sqrt{w} x \end{cases}$$

Die Randbedingungen  $\Psi_{(0)} = 0$  und  $\Psi_{(s)} = 0$  (entsprechend den Enden  $x = 0$  und  $x = s$  der Saite von der Länge  $s$ ) lassen nur die zweite Lösung zu. Aber auch für diese muß bei  $\sqrt{w} \cdot s = \pi, 2\pi, 3\pi \dots \Psi(x) = 0$  sein. Es gilt also  $\sqrt{w} = \frac{n\pi}{s}$  und damit

$$\Psi(x) = \sin \frac{n\pi x}{s},$$

wobei  $n$  einer *ganzen Zahl* entspricht. Für  $n = 1$  stellt die Gleichung die Grundschiwingung dar,  $n = 2, 3, \dots$  ergeben die entsprechenden harmonischen Oberschwingungen (Oktaven). Die Zahl  $n$  stellt die Zahl der „Schwingungsbäuche“ dar,  $l = n-1$  (einschließlich 0) die Zahl der von den Randbedingungen (Fixation der Saite) unabhängigen „Schwingungsknoten“. Man braucht nun nur noch  $n$  mit der Hauptquantenzahl und  $l$  mit der Azimutalquantenzahl zu „konkretisieren“, um die Zusammenhänge mit dem *Bohrschen Atommodell* zu versinnbildlichen. Die Rechnung mit drei Dimensionen unter Einbezug des Ausschlußprinzips von PAULI ergibt diese Zusammenhänge auch mit den beiden restlichen *Nebenquantenzahlen*. Dabei wird die aus der ursprünglichen Quantentheorie stammende

Tabelle 23. *Elektronensystematik der ersten Elemente des periodischen Systems*

Hauptquantenzahl $n$	Azimutalquantenzahl $l = n-1$ bis 0	Magnetische Quantenzahl $m_l = +l$ bis $-l$	Spinquantenzahl, Symbol und Element	
			$m_s = +1/2$	$m_s = \pm 1/2$
1	0	0	1s ( <sub>1</sub> H)	1s <sup>2</sup> ( <sub>2</sub> He)
			2s ( <sub>3</sub> Li)	2s <sup>2</sup> ( <sub>4</sub> Be)
2	0	+1	2p <sub>x</sub> ( <sub>5</sub> B)	2p <sub>x</sub> <sup>2</sup> ( <sub>8</sub> O)
			2p <sub>y</sub> ( <sub>6</sub> C)	2p <sub>y</sub> <sup>2</sup> ( <sub>9</sub> F)
	1	0	2p <sub>y</sub> ( <sub>6</sub> C)	2p <sub>y</sub> <sup>2</sup> ( <sub>9</sub> F)
			-1	2p <sub>z</sub> ( <sub>7</sub> N)

Niveaubezeichnung, wie die nachfolgende Tabelle 23 für die ersten beiden Perioden zeigen soll, beibehalten.

Man bezeichnet den Raum, in welchem  $\Psi(x, y, z)$  von 0 erheblich verschieden ist, als das *Orbital*. Betrifft die Wellenfunktion ein Elektron in einem freien Atom, so heißt dieser Raum *Atomorbital*. Wenn die Atomorbitale verschiedener Atome sich bei genügender Annäherung gegenseitig „überlappen“, so wird sich durch Resonanz, ein System von *Molekularorbitalen* ausbilden, als Raum, welcher alle von 0 erheblich verschiedenen Werte von  $\Psi$  des Gesamtsystems umschließt.

Es ist nun nach dem Vorstehenden leicht zu verstehen, daß die Atomorbitale der *s*-Elektronen ( $l = 0$ ) kugelsymmetrisch sein müssen, wobei 2s-Elektronen einen „Schwingungsknoten“ aufweisen. Das Orbital besteht hier also aus zwei konzentrischen Kugelarrangements, zwischen welchen eine Kugelfläche mit  $\Psi = 0$  liegt. Orbitale des 2p-Elektronentypus haben die „Form“ von zwei kugelsymmetrischen Räumen, die sich am Orte des Atomkernes (Schwingungsknoten) berühren. Sie weisen deshalb eine ausgezeichnete Richtung (Achse der Rotationsymmetrie) auf und können durch Beifügen des Index für die Koordinatenrichtung auseinander gehalten werden (vgl. vorstehende Tabelle 23).

Wenn man nun das (z. B. durch Nebelkammerbilder sinnfällig gemachte) Konzept der Partikelnatur des Elektrons wieder in die Betrachtung einbezieht, so erlaubt die Unbestimmtheitsrelation keine gleichzeitigen Aussagen über dessen Ort und Geschwindigkeit. Nach dieser *statistischen Interpretation* der Wellenfunktion durch BORN ist deren Quadrat aber das Maß für die *Wahrscheinlichkeit*, daß sich ein („corpusculäres“) Elektron zu einem bestimmten Zeitpunkt an einem bestimmten Ort befindet. Der (etwas vereinfachte) Ausdruck  $|\Psi|^2 \cdot dV$  ist demnach die Wahrscheinlichkeit, mit welcher sich das Elektron im Volumen  $dV$  befindet und damit  $\int |\Psi|^2 dV$  die Wahrscheinlichkeitsverteilung der Elektronen oder die Funktion der *Dichteverteilung der Elektronenwolke*. Es ergibt sich von selbst, daß dieselbe mit der Form und Verteilung der Orbitale in engstem Zusammenhang stehen muß.

Für die Bindungselektronen  $e_1$  und  $e_2$  zwischen zwei Atomen *A* und *B* muß deshalb nicht nur dem Zustand  $Ae_1 - Be_2$ , sondern auch der Elektronenvertauschung  $Ae_2 - Be_1$ ,

aber auch allen Zwischenzuständen eine endliche Wahrscheinlichkeit zugeordnet werden. Ist die Wellenfunktion des ersten Zustandes  $\Psi_1$ , diejenige des zweiten  $\Psi_2$ , so lautet die Wellenfunktion des Gesamtsystems (Moleküls)

$$\Psi_m = k \cdot (\Psi_1 \pm \Psi_2) .$$

Dieselbe hat somit zwei Lösungen, je nachdem die Einzelfunktionen zu addieren oder zu subtrahieren sind. In Abb. 22 ist für das  $H_2$ -Molekül eine stark schematisierte Darstellung der resultierenden Molekularorbitale vorgenommen worden. Man sieht, daß in einem Fall (ausgezogene Kontur) zwischen den beiden Atomkernen ein Maximum, im anderen Fall (gestrichelte Kontur) ein Minimum entstehen muß. Dasselbe gilt natürlich auch für das Quadrat der Wellenfunktion, also für die Elektronenverteilung. Sind die Wellenfunktionen symmetrisch, was bei antiparallelen Spins der beiden Elektronen der Fall ist, so resultiert Addition der Orbitale und damit der untere Potentialverlauf der Abb. 20, S. 112. Bei antisymmetrischen Wellenfunktionen (parallelen Spins) tritt das Umgekehrte ein und damit der obere Potentialverlauf in Abb. 20.

Die Verhältnisse können durch ein elektrisches Modell versinnbildlicht werden. Wenn zwei elektrische Schwingungskreise mit der Frequenz  $\nu_0$  nahe zusammengebracht werden, so wird durch die *Koppelung* eine Aufspaltung der Frequenz in zwei leicht verstimmt Frequenzen  $\nu_0 + \nu_c$  und  $\nu_0 - \nu_c$  verursacht. Dasselbe gilt auch z. B. für die Frequenzen der Elektronenwellen zweier H-Atome. Da die Energie der Frequenz proportional ist ( $E_0 = h\nu_0$ ), so folgt bei der Koppelung auch eine Aufspaltung der Energie des Gesamtsystems nach

$$\begin{aligned} E_1 &= 2 E_0 + E'_1(r) \\ E_2 &= 2 E_0 - E'_2(r) \end{aligned}$$

wobei die *Koppelungsenergien*  $E'(r)$  vom gegenseitigen Abstand  $r$  abhängen und natürlich bei  $r \rightarrow \infty$  verschwinden müssen.

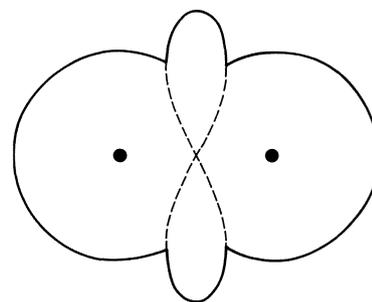


Abb. 22. Darstellung der Überlappung der Atomorbitale unter Bildung des Molekularorbitals des Wasserstoffmoleküls  $H_2$ . Die ausgezogene Kontur entspricht der antiparallelen Spinverteilung, die gestrichelte der parallelen für die Annäherung der beiden Atome auf den Abstand im Molekül von 0,74 Å; stark schematisiert

#### d) Die Bindungsverhältnisse des Kohlenstoffatoms

Der Kohlenstoff (vgl. Tabelle 23) hat im Grundzustand die Elektronenverteilung  $1s^2 2s^2 2p_x 2p_y$ . Es genügt aber schon eine geringe „Aktivierungsenergie“, um das Paar  $2s^2$  zu „entkoppeln“, wobei zunächst die Konfiguration  $1s^2 2s 2p_x 2p_y, 2p_z$  mit vier ungepaarten Elektronen entstehen würde. Die gegenseitige Beeinflussung (Coulomb-Kräfte) ihrer Orbitale, insbesondere gegenüber demjenigen des  $2s$ -Elektrons führt aber zur *tetraedrischen Hybridisierung*, bei welcher die vier gleichwertigen  $sp^3$ -Orbitale Winkel von  $109^\circ 28'$  (an Stelle von  $90^\circ$  für die drei  $2p$ -Elektronen) miteinander einschließen. Die *Vierwertigkeit des Kohlenstoffs* erfordert also eine *Anregung des Atoms mit Hybridisierung* (im Gegensatz zur *Zweiwertigkeit* im CO). Werden alle vier Orbitale durch ein zusätzliches Elektron abgesättigt, so resultiert die Edelgaskonfiguration (Ne)  $1s^2 2s^2 2p_x^2 2p_y^2 2p_z^2$ . Dies kann grundsätzlich durch alle Systeme geschehen, die ein ungepaartes Elektron aufweisen. Daher rührt die große Mannigfaltigkeit der organischen Verbindungen.

Von besonderem Interesse ist dabei die Möglichkeit der Bindung zwischen zwei und mehreren C-Atomen. Die  $sp^3$ -Orbitale des C-Atoms sind stark asymmetrisch. Dadurch ist in einer Richtung (vom Atomkern aus gesehen) die Überlappung mit dem Orbital des Bindungspartners viel größer und damit auch die resultierende Bindung in dieser Richtung entsprechend stärker.

Im Äthanmolekül überlappen drei der (bevorzugten) Orbitalanteile mit den Orbitalen von H-Atomen, das vierte mit dem entsprechenden des anderen C-Atoms. Dadurch entsteht ein Molekül, bei welchem die drei H-Atome gegenüber jedem C-Atom eine feste tetraedrische Anordnung haben, wobei das System  $-\text{CH}_3$  um die Verbindungsachse C—C selbst „frei drehbar“ bleibt.

Die tetraedrische  $sp^3$ -Hybridisierung der Orbitale der vier Außenelektronen des C-Atoms ( $2s^2 2p_x 2p_y \rightarrow 2sp^3$ ), bei welcher das nach der Anregung verbleibende 2s-Elektron mit allen drei 2p-Elektronen hybridisierte Orbitale bildet, stellt aber nicht die einzige Möglichkeit dar. Sie findet nur statt, wenn alle vier dabei entstehenden Orbitale durch Überlappung mit Orbitalen von Bindungspartnern „symmetrisch abgesättigt“ werden. Findet eine solche Absättigung nur bei drei Orbitalen statt, so tritt die Hybridisierung auch nur bei drei Orbitalen ein. Die Konfiguration wird dadurch zu  $2sp^2 2p_y$ . Die Symmetrieachsen der drei  $sp^2$ -Orbitale liegen dabei in einer Ebene und bilden miteinander Winkel von  $120^\circ$  (sog. *trigonale Hybridisierung*). Die Achse des verbleibenden p-Orbitals steht dazu normal. Deshalb überlappt dasselbe mit dem entsprechenden p-Orbital des Bindungspartners zu einer zweiten, aber etwas schwächeren  $\pi$ -Bindung. Eine *Doppelbindung*, wie z.B.  $\text{>C=C<}$ ,  $\text{>C=O}$ ,  $\text{>C=N}$ ,  $\text{>C=S}$ , besteht deshalb aus

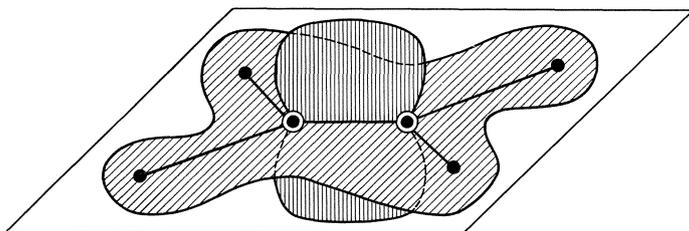
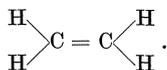


Abb. 23. Schematische Darstellung des Molekularorbitals von Äthylen



Die  $\sigma$ -Bindungen sind in die Horizontalebene, die  $\pi$ -Bindung in die Vertikalebene projiziert. In Wirklichkeit sind diese Projektionen räumlich zu denken

(*digonale Hybridisierung*). Die Achsen der verbleibenden p-Orbitale liegen in zwei Ebenen ( $x, y$ ), die normal aufeinander stehen. Die Dreifachbindung besteht also aus einer kollinearen  $\sigma$ -Bindung und zwei kollateralen, um  $90^\circ$  von einander abstehenden  $\pi$ -Bindungen. Doppel- und Dreifachbindungen weisen deshalb keine Drehbarkeit auf.

Seiner besonderen Bedeutung als Grundkörper der aromatischen Verbindungen wegen sind in diesem Zusammenhang noch einige Bemerkungen über die *Bindungsverhältnisse im Benzolmolekül* angebracht. Man darf Benzol als Trien auffassen, also als Stoff mit drei Gruppen „konjugierter“ Doppelbindungen. Jedes C-Atom ist bei dieser klassischen Betrachtung nach KÉKULÉ durch eine Einfachbindung mit Wasserstoff verbunden, ferner mit einer Einfachbindung mit dem einen benachbarten und mit einer Doppelbindung mit dem anderen benachbarten C-Atom. Bekanntlich widersprechen die chemischen Reaktionsverhältnisse diesem Modell; sie zeigen keine Unterschiede zwischen den Gruppen C—C und C=C. Ferner haben Strukturbestimmungen mit Röntgenstrahlen und Elektronen für alle Abstände zwischen C-Atomen den gleichen Wert von  $1,392 \text{ \AA}$  ergeben, im Gegensatz zu  $1,54 \text{ \AA}$  für die Einfachbindung und  $1,33 \text{ \AA}$  für die Doppelbindung in aliphatischen Stoffen. Der Benzolring ist ein vollkommen regelmäßiges Sechseck, und sowohl die C-Atome als auch die H-Atome liegen in derselben Ebene.

Die vier Valenzelektronen jedes (angeregten) C-Atoms mit trigonaler Hybridisierung und der Konfiguration  $2sp^2 2p_y$  bilden drei komplanare  $\sigma$ -Bindungen längs der Ach-

einer „kollinearen“ ( $\sigma$ -Bindung) Überlappung mit einem  $sp$ -Orbital des C-Atoms und zusätzlich einer „kollateralen“ Überlappung zwischen p-Orbitalen ( $\pi$ -Bindung). Die stark schematisierte Abb. 23 zeigt die entsprechenden Verhältnisse für das Äthylenmolekül.

Bei der *Dreifachbindung* findet die Hybridisierung des nach der Anregung verbleibenden 2s-Elektrons nur mit einem p-Orbital statt ( $2sp 2p_x 2p_y$ ). Die Achsen der beiden  $sp$ -Orbitale liegen in einer Geraden

sen der  $sp^2$ -Orbitale, zwei davon zu benachbarten C-Atomen, die dritte zum H-Atom. Die Achsen der Orbitale der sechs verbleibenden  $2p_y$ -Elektronen stehen normal auf der Ebene des so entstehenden Ringes. Ihre Orbitale überlappen sich mit den benachbarten nach beiden Seiten, so daß das entstehende Molekularorbital zwei zum Ring parallel verlaufende „Wülste“ bildet. Für jedes C—C-Paar steht somit eine „halbe“  $\pi$ -Bindung zur Verfügung. Die sechs  $\pi$ -Elektronen sind innerhalb des Molekularorbitals frei beweglich. Dies erklärt die *hohe Resonanzenergie* von 1,78 eV und damit die *hohe Stabilität* des Benzolmoleküls resp. des Benzolringes.

Zur Erläuterung diene die Abb. 24 nach NOWACKI und BÜRKI (1955), welche die durch Röntgeninterferenzuntersuchungen bestimmte Elektronendichteverteilung im Xanthazolmolekül wiedergibt. Dabei ist der Pyrimidinring sowohl nach seiner Form und Größe als auch nach seiner Elektronenverteilung sehr ähnlich gebaut wie der Benzolring. Von besonderer Bedeutung für diese Ähnlichkeit sind die drei konjugierten Doppelbindungen (vgl. Unterschrift der Abb. 24), also die drei  $\pi$ -Elektronenpaare, deren Orbitale die gleiche Form haben und die gleichen Funktionen ausüben wie im Benzolring. Die leichte Asymmetrie des Triazolringes hat ihre Ursache darin, daß sich die beiden  $\pi$ -Elektronenpaare hier nicht mehr völlig homogen auf alle Bindungen verteilen können.

### e) Bindungsenergien

Die Energie, welche bei der Bildung einer Bindung (*Bildungswärme*) zwischen zwei freien Atomen in der Gasphase freigesetzt wird, entspricht der *Bindungsenergie* zwischen den beiden Atomen. Da die Bindung zwischen zwei gleichartigen Atomen  $A-A$  oder  $B-B$  ihrem Charakter nach eine covalente Bindung sein muß (z. B. permanente Gase), so kann nach PAULING (1948) die *Energie* einer „reinen“ *covalenten Bindung*  $A-B$  aus dem arithmetischen Mittel der Bindungsenergien der beiden Partner berechnet werden

$$E'_{AB} = \frac{E_{AA} + E_{BB}}{2}.$$

Ist die Bildungswärme  $E_{AB}$  (bestimmt aus der atomaren Gasphase beider Partner) größer als nach der erwähnten Beziehung berechnet, so muß die Bindung  $A-B$  durch einen Energiezusatz

$$E_R = E_{AB} - E'_{AB},$$

welcher als *Resonanzenergie* bezeichnet wird, verstärkt sein. Die Bindungselektronen sind aber innerhalb ihres Molekularorbitals verschieblich, so daß neben dem Zustand  $A:B$  auch die Zustände  $A^+B^-$  und  $A^-B^+$  endliche Wahrscheinlichkeiten haben müssen. Die Wellenfunktion nimmt dann die Form

$$\Psi_{(AB)} = a \cdot \Psi_{(A:B)} + b \cdot \Psi_{(A^+B^-)} + c \cdot \Psi_{(A^-B^+)}$$

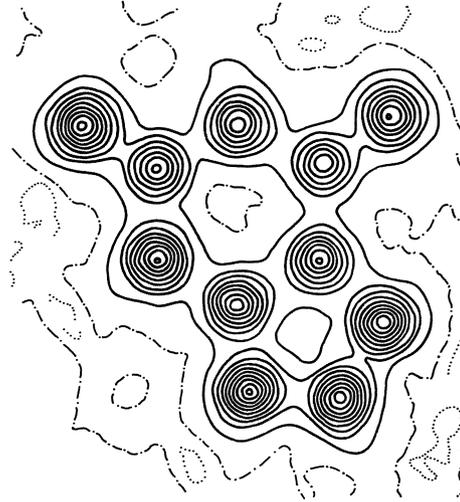
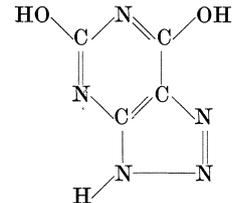


Abb. 24. Elektronendichteverteilung im Xanthazolmolekül  $C_4H_2N_5O_2$  bestimmt aus Röntgeninterferenzaufnahmen und auf die Ebene (001) projiziert nach NOWACKI und BÜRKI (1955). Die Strukturformel der Verbindung ist nach dem Bild bis auf die Lage des H-Atoms eindeutig:



Die Doppelbindungen sind in Wirklichkeit nicht an den angegebenen Stellen „lokalisiert“, sondern die  $\pi$ -Elektronen verteilen sich über das ganze Ringsystem. Man beachte besonders dessen Symmetrieeigenschaften

an, wobei die Einzelanteile verschiedene Beiträge zur Gesamtfunktion liefern. Die wirkliche Molekularstruktur ist ein *Resonanzhybrid* zwischen den einzelnen (kanonischen) Strukturen. Tatsächlich weist auch eine Verbindung *AA*, wie z.B.  $H_2$  einen wegen der Symmetrie allerdings geringen Resonanzanteil auf. „Reine covalente“ Bindung ist deshalb ebensowenig Wirklichkeit, wie „reine elektrovalente“. Wegen des geringen ionischen Anteils bezeichnet man aber trotzdem Bindungen vom Typus *AA* als „rein covalent“, und ihre Bindungsenergien bilden die wichtigste Grundlage der zuverlässigen Abgrenzung

Tabelle 24. *Covalente Bindungsenergien in eV des Typus A—A mit entsprechenden Bindungslängen in Å*

Bindung	Bindungsenergie in eV	Bindungslänge Å	Bindung	Bindungsenergie in eV	Bindungslänge Å
H—H	4,50	0,74	O—O	2,87	1,48
C—C	3,64	1,54	O=O	5,11	1,22
C=C	6,30	1,33	F—F	2,83	1,28
C≡C	8,25	1,25	Cl—Cl	2,49	1,98
N—N	2,87 (?)	1,48	Br—Br	1,98	2,28
N≡N	9,76	1,10	J—J	1,56	2,66

des Resonanzanteils. Es sind deshalb in Tabelle 24 einige solche Bindungsenergien mit den zugehörigen Bindungslängen zusammengestellt.

Es ist ohne Zweifel von erheblichem Interesse, diese „rein“ covalenten Bindungsenergien mit solchen des Typus *A—B* zu vergleichen. In Tabelle 25 sind die Dissoziationsenergien der hauptsächlichsten organischen, sowie

einiger wichtiger anorganischer Atombindungen nach verschiedenen Autoren, besonders nach SWALLOW (1960) und nach HART und PLATZMAN (1961) zusammengestellt. Dabei wurden die Zahlenwerte auf zwei Dezimalen normiert.

Die Anwendung der *Paulingschen* Formel auf die Halogenwasserstoffe ergibt die Resonanzenergien von 0,93 eV für HCl, 0,26 eV für HBr und 0,03 eV für HJ. Die Elek-

Tabelle 25. *Dissoziationsenergien einiger Atombindungen zwischen verschiedenen Atomen in eV*

Bindung	Dissoziationsenergie	Bindung	Dissoziationsenergie	Bindung	Dissoziationsenergie
H—Cl	4,43	H—C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	4,24	O—CO	5,43
H—Br	3,75	H—C <sub>2</sub> H <sub>3</sub>	4,50	O—C <sup>••</sup>	11,11
H—J	3,06	H—C <sub>2</sub> H	5,24	O—NO	3,11
H—OH	5,18	H—OCH <sub>3</sub>	4,33	O—N <sup>•</sup>	6,49
H—O <sup>•</sup>	4,40	H—SCH <sub>3</sub>	3,85	O—O <sub>2</sub>	1,00
H—O <sub>2</sub> H	3,90	Cl—CH <sub>3</sub>	3,50	HO—OH	2,30
H—O <sub>2</sub> <sup>•</sup>	2,00	Cl—C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	3,69	HO—CH <sub>3</sub>	3,90
H—NH <sub>2</sub>	4,51	Br—CH <sub>3</sub>	2,90	CH <sub>3</sub> O—CH <sub>3</sub>	3,30
H—SH	3,90	Br—C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	3,07	H <sub>2</sub> N—CH <sub>3</sub>	3,30
H—CH <sub>3</sub>	4,38	J—CH <sub>3</sub>	2,29	O <sub>2</sub> N—CH <sub>3</sub>	2,50
H—CH <sub>2</sub> OH	4,30	J—C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	2,47	HS—CH <sub>3</sub>	2,90
H—C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	4,41			CH <sub>3</sub> S—SCH <sub>3</sub>	3,20

tronenverschiebung im letzteren ist also nur noch gering. Für Wasser resultiert der Resonanzanteil von 1,1 eV pro H—O-Bindung oder 2,19 eV pro Molekül. Dieser ungewöhnlich hohe Zahlenwert bringt erneut die energetische Besonderheit dieses allgegenwärtigen Stoffes zum Ausdruck. Weiter kann der Tabelle 25 die allgemeine Gesetzmäßigkeit entnommen werden, daß die Bindung eines Atoms an ein C-Atom des Benzolringes um 0,1 bis 0,2 eV höher ist als an ein aliphatisches C-Atom. Die Ausnahme beim CH<sub>4</sub> ist in der hohen räumlichen Symmetrie (der Orbitale) dieses Moleküls begründet. Wasserstoff ist an doppelt oder dreifach gebundenen Kohlenstoff wegen des Übergreifens der  $\pi$ -Elektronen mit einem Energieüberschuß von ca. 0,25 eV resp. 1,0 eV gegenüber einfacher C-Bindung gebunden. Interessant ist schließlich auch noch die Tatsache, daß die „einfachen“ Bindungen C—O und C—N sehr erheblich von den anderen an das O resp. N-Atom gebundenen Partnern (durch zusätzliche Überlappung der Orbitale und Hybridisierung) beeinflusst werden.

### 3. Strahlenreaktionen in der Gasphase

Strahlenreaktionen in gasförmigen organischen Systemen sind bezüglich ihrer Stellung im „Phasenraum“ von biologischen Strahlenwirkungen sehr weit abgelegen. Trotzdem erscheint es aber höchst sinnvoll, eine etwas eingehendere Besprechung derselben an den Eingang der Darstellung strahlenchemischer Reaktionen an einfachen organischen Stoffen zu setzen. Dafür sind zwei Hauptgründe vorhanden. Einerseits sind Strahlenwirkungen an Gasen bezüglich der äußeren Umstände des Reaktionsgeschehens besonders einfach und damit viel weitgehender überblickbar, als in kondensierten Systemen, und andererseits ist das experimentelle Material an organischen Gasen sehr viel umfassender, sehr viel aufschlußreicher und meist auch sehr bedeutend präziser als dasjenige an anderen Systemen. Dieses höchst wertvolle Erfahrungsmaterial ist in den letzten 20 Jahren, gewissermaßen als Nebenprodukt, größtenteils von der *Massenspektrometrie* geliefert worden. Mit dem Ziel, organische Gasgemische mit dem Massenspektrometer quantitativ analysieren zu können (besonders in der Petrolchemie), sind systematische Untersuchungen der sog. *Eichspektren* an über 500 definierten, einfacheren organischen Verbindungen durchgeführt und in Form von Katalogen (1944, 1954) zusammengestellt worden. Es erscheint an der Zeit, dieses riesige, bisher fast völlig brachgelegene Feld an aufschlußreichsten Ergebnissen für die Betrachtung von Strahlenreaktionen an organischen (und biologischen) Materialien anzugehen. Die nachfolgenden Seiten mögen als ein bescheidener Anfang hierzu betrachtet werden.

Wie schon bei der Besprechung der Massenspektrometrie als Untersuchungsmethode erwähnt wurde (vgl. S. 55 ff.), ist dieselbe in der Lage, quantitative Ergebnisse sowohl über Zusammensetzung und Menge der geladenen Reaktionsprodukte, als auch über die bei deren Bildung in Frage stehenden Energien und Zeiten zu vermitteln. Eine derart vollständige und tiefe Einsicht kann mit keinem anderen Verfahren (auch bei weitgehender Kombination untereinander) gewonnen werden. Ein vollständiges „Eichspektrum“ einer chemischen Verbindung enthält alle im Massenspektrometer nachweisbaren geladenen Folgeprodukte der Ionisierung durch Elektronenstoß nach ihrer Massenzahl  $M/e$  (und damit ihrer chemischen Zusammensetzung), ferner die Linienunschärfen, der während des Fluges durch die Apparatur gebildeten Produkte, alle in ihrer quantitativen Ausbeute und zusätzlich die „*Appearance-Potentiale*“ aller Reaktionsprodukte. Leider liegen die meisten Eichspektren nicht in dieser Vollständigkeit vor. So ist ein Katalog der Appearance-Potentiale nur in Ausnahmefällen vorhanden, und häufig beschränkt sich das Spektrum auch auf ein bestimmtes Massenintervall. Nur selten werden auch die negativ geladenen Produkte registriert. Dadurch werden natürlich im Einzelfall die Einsichten in das Reaktionsgeschehen entsprechend eingeschränkt; bezüglich der allgemeinen Informationen sind diese Mängel aber nicht von erheblicher Bedeutung.

Es kann sich bei der folgenden Darstellung natürlich nur darum handeln, eine sehr beschränkte Auswahl aus dem experimentellen Material zu vermitteln. Dabei soll aber versucht werden, dieselbe mit einer gewissen Vollständigkeit zu analysieren, um dabei die allgemeinen Folgerungen ihrer Bedeutung nach berücksichtigen zu können.

#### a) Einfachste Kohlenstoffverbindungen

Es sollen in Tabelle 26 zunächst die Ergebnisse an einfachsten organischen Verbindungen nach KLOPFER und SCHMIDT (1960) in der Originalform (häufigstes Ion = 100 %) wiedergegeben werden.

Für die beiden *Oxide des Kohlenstoffs* sind die Reaktionsmöglichkeiten natürlich sehr beschränkt. Entsprechend ist die Zahl der Ionen klein. Sowohl bei CO wie bei CO<sub>2</sub> ist das bei weitem häufigste Ion das unveränderte Molekülion. Weniger als 5 % der CO-Ionen sind Spaltprodukte, wobei die Ladung ca. dreimal häufiger auf das C-Atom übergeht als auf das O-Atom. Ganz selten wird hier auch das Ion O<sub>2</sub><sup>+</sup> gebildet. Beim Kohlendioxid dissoziiert das Molekül in etwa 1/5 der Ionisationen in CO+O, wobei die Ladung

das CO etwas bevorzugt. In etwa 4% findet die Abspaltung beider O-Atome statt. Wegen der erforderlichen Dimerisation nach der Abspaltung ist das C<sup>+</sup>-Ion etwa 9mal häufiger als das O<sub>2</sub><sup>+</sup>-Ion.

Beim *Methan*, *Acetylen* und *Äthylen* treten die unveränderten Molekülonen ebenfalls mit der größten Häufigkeit auf. Die Stabilität der entsprechenden Moleküle wird beim Methan durch die Gleichwertigkeit der vier Orbitale 2sp<sup>3</sup> (im für die Bindung erforderlichen *angeregten* Zustand des C-Atoms) verursacht, bei Äthylen und Acetylen durch die π-Bindungen, deren Orbitale mit denen der H-Atome teilweise überlappen, und daher die C—H-Bindungen verfestigen. Die energetische Folge davon ist, daß die ionisierten Molekularfragmente mit höchsten Ausbeuten diejenigen mit Verlust eines, und in absteigender Reihe zweier H-Atome sein müssen. Dabei entsteht (beim Acetylen mit

Tabelle 26. Ionenhäufigkeiten im Omegatronmassenspektrometer bei einfachsten organischen Verbindungen

M/e	Ion	Substanz	CO	CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub>
12	C <sup>+</sup>		3,3	3,5	1,8	1,4	0,6	0,2	0,18
13	CH <sup>+</sup>				5,7	4,0	1,0	0,55	0,36
14	CH <sub>2</sub> <sup>+</sup>				12,5	0,3	2,3	2,0	1,13
15	CH <sub>3</sub> <sup>+</sup>				81		0,3	3,1	3,8
16	O <sup>+</sup> ; CH <sub>4</sub> <sup>+</sup>		1,3	7,7	100		0,4	0,15	0,12
17	CH <sub>5</sub> <sup>+</sup>				2,7				
24	C <sub>2</sub> <sup>+</sup>					5,1	2,0	0,5	0,13
25	C <sub>2</sub> H <sup>+</sup>					19	6,8	2,7	0,64
26	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> <sup>+</sup>					100	47	18,1	8,2
27	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> <sup>+</sup>					3,2	51,5	27,6	39,1
28	CO <sup>+</sup> ; C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> <sup>+</sup>		100	11,5			100	100	60,3
29	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup>				3,0		3,3	20,5	100
30	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> <sup>+</sup>							25,9	2,1
31	C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> <sup>+</sup>						0,54		
32	O <sub>2</sub> <sup>+</sup>		0,02	0,4					
36	C <sub>3</sub> <sup>+</sup>								0,64
37	C <sub>3</sub> H <sup>+</sup>								4,1
38	C <sub>3</sub> H <sub>2</sub> <sup>+</sup>								5,8
39	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> <sup>+</sup>								2,0
41	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup>								16
43	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> <sup>+</sup>								30,8
44	CO <sub>2</sub> <sup>+</sup> ; C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> <sup>+</sup>			100					44,9

5,1%) das ungewöhnliche Ion C<sub>2</sub><sup>+</sup>. Das σ-π- resp. σ-2π-Gerüst bleibt deshalb (wegen seiner erhöhten Festigkeit) bis zum Verlust aller H-Atome erhalten. Dies wird beim Äthylen noch zusätzlich durch die geringe Ausbeute des CH<sub>2</sub><sup>+</sup>-Ions erwiesen. Die Ionisierung kann eine σ-π-Bindung in den meisten Fällen nicht so stark beeinflussen, daß sie dabei gelöst wird.

Die um ein H-Atom höheren Ionen als das Ausgangsprodukt, C<sub>2</sub>H<sub>3</sub><sup>+</sup> beim Acetylen und C<sub>2</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup> beim Äthylen sind ohne weiteres (durch Verlust eines π-Elektrons und nachträglicher H-Anlagerung) verständlich, nicht dagegen beim Methan (Ion: CH<sub>5</sub><sup>+</sup>) und beim Äthan (Ion: C<sub>2</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>). Es erscheint unwahrscheinlich, daß bei deren Bildung das 1s<sup>2</sup>-Elektronenpaar beteiligt sein könnte. Ohne eine solche Beteiligung müßten aber die entsprechenden Ionen Atomkomplexe ohne „echte“ chemischen Bindung sein, und es fragt sich, ob sie dann die für den Nachweis im Massenspektrometer erforderliche Stabilität hätten. Zur Aufklärung dieser molekularphysikalisch interessanten Frage könnte das Appearance-Potential dienen, da die Bindungsverhältnisse der Elektronen im Atom ja berechenbar sind.

Interessant ist schließlich auch noch die Tatsache, daß das häufigste Ion des *Äthans* C<sub>2</sub>H<sub>4</sub><sup>+</sup>, also ein Äthylenmolekülon ist, gegenüber nur 3,1% für das Methylenion CH<sub>3</sub><sup>+</sup>. Die Summe der Ionen mit C—C-Bruch beträgt hier nur 6%, in sehr auffälligem Gegensatz

zu den Ionen des Propane, bei denen über  $\frac{2}{3}$  eine Spaltung der C-Kette zeigen. Eine gesättigte Kohlenstoffkette mit nur zwei Gliedern ist demnach energetisch wesentlich stabiler als eine solche mit drei und (wie nachstehend mit Eindrücklichkeit gezeigt werden wird) mehr Gliedern.

### b) Butane und ungesättigte C<sub>4</sub>-Kohlenwasserstoffe

Diese Gruppe von Verbindungen ist einerseits noch so einfach, daß die Zahl der Reaktionen im Einzelnen überblickt werden kann und andererseits doch schon so zu-

Tabelle 27. Charakteristische Spektren (Eichspektren) einiger Verbindungen

<i>M/e</i>	n-Butan	Isobutan	Buten-1	cis-Buten-2	trans-Buten-2	Isobuten	1,3-Butadien	1,2-Butadien	Dimethylacetylen
24	Spur	0	0,21	0,12	0,11	Spur	0,32	0,44	0,45
25	1,61	3,03	2,07	1,24	1,24	0,60	2,42	3,29	2,59
26	46,95	72,73	23,94	16,77	16,43	8,57	14,31	24,70	12,51
27	283,03	959,60	73,05	50,78	51,59	36,05	40,10	68,70	36,77
28	240,85	106,46	64,54	47,58	49,34	37,23	25,46	39,50	31,24
29	297,76	215,15	27,34	22,33	28,56	18,16	0,72	0,88	1,23
30	6,55	5,45	1,91	1,31	1,23	1,24	0,03		
31			0,04	0,04	0,04				
36	0,25	1,21	0,44	0,22	0,20	0,32	0,74	0,90	1,01
37	6,71	35,76	6,81	3,71	3,64	5,31	5,08	5,85	7,99
38	14,63	86,76	11,88	6,86	6,54	11,38	7,39	7,85	14,78
39	112,20	658,59	88,65	59,69	58,99	84,87	39,15	95,25	77,26
40	15,75	99,80	17,18	11,31	11,24	20,78	1,34	3,29	2,58
41	205,28	1444	228,19	162,21	166,01	187,23		0,13	0,03
42	92,53	1208	7,93	5,32	5,47	6,67			
43	734,76	3666	0,06	0,12	0,07	0,07			
44	24,14	118,79							
45	0,30	1,41							
48	0,15	Spur	0,44	0,29	Spur	0,22	1,12	1,22	1,13
49	1,78	4,04	2,89	2,21	2,25	1,82	6,24	6,99	6,49
50	7,62	22,22	10,59	9,16	9,44	8,33	21,56	23,31	20,68
51	7,52	23,03	9,84	8,98	9,30	7,91	19,82	21,21	18,30
52	2,08	5,45	3,35	3,07	3,14	2,22	10,60	10,77	7,91
53	6,66	20,00	12,84	12,59	13,65	9,49	37,91	55,52	41,67
54	1,98	3,23	6,63	6,72	6,29	4,52	100,00	100,00	100,00
55	7,42	16,57	40,69	37,31	38,76	31,28	4,30	4,30	4,30
56	6,20	13,94	100,00	100,00	100,00	100,00	0,07	0,07	0,07
57	19,21	110,30	4,31	4,31	4,31	4,31			
58	100,00	100,00	0,07	0,07	0,07	0,07			
59	4,35	4,35							
60	0,07	0,07							

sammengesetzt, daß aus der Gesamtheit der Reaktionsprodukte einige allgemeingültige Gesetzmäßigkeiten hervorgehen. Die Meßergebnisse sind, wie sie aus der Aufnahme der Spektren resultieren, in Tabelle 27 zusammengestellt. Die erste Kolonne enthält die Massenzahl der entsprechenden positiven Ionen, in den übrigen Kolonnen sind die relativen Häufigkeiten (Linienintensitäten) der einzelnen Ionenarten in Prozent der Häufigkeit des unveränderten Ions der Ausgangssubstanz (= 100 %) aufgeführt. In dieser Form kann die Tabelle 27 schon einige wichtige Informationen vermitteln, obschon leider die Spektren nur bis hinunter zu der Massenzahl 24 (C<sub>2</sub><sup>+</sup>) gemessen worden sind.

Als erste allgemeine Gesetzmäßigkeit folgt aus den Zahlenwerten, daß die Reaktionsprodukte der Ionisierung durch Elektronenstoß in der weit überwiegenden Zahl in Form von Spaltprodukten vorliegen. Bei Ionisierung durch Elektronenstoß werden größere, freie Moleküle in Übereinstimmung mit den Potentialbetrachtungen auf S. 111ff. in Bruchstücke gespalten. Bezüglich ihrer Zusammensetzung umfassen die Spaltprodukte

praktisch alle aus der Zusammensetzung der Ausgangssubstanz möglichen Atomkombinationen bis hinunter zu höchst ungewöhnlichen Stoffeinheiten, wie z. B.  $C_2^+$ ,  $C_3^+$ ,  $C_4^+$ ,  $C_2H^+$ ,  $C_3H^+$ ,  $C_4H^+$  usw. Dabei können dieselben wie z. B.  $C_3H^+$  (Massenzahl  $M/e = 37$ ) in sehr erheblichem Ausmaß gebildet werden. Allerdings muß die Möglichkeit der doppelten Ladung und damit der doppelten Masse, welche zur gleichen Lage der Linie führen müßte, zusätzlich in Betracht gezogen werden. Zweifache Ionisierung ist aber, wie auf Grund einfacherer Stoffe (z. B. Luft) angenommen wird, eine verhältnismäßig sehr seltene Erscheinung.

Als letzte allgemeine Regel geht aus Tabelle 27 hervor, daß die Zahl der Molekülsplattungen (entspricht der Summe der jeweiligen Zahlenwerte) um so kleiner wird, je höher der ungesättigte Charakter der Verbindung ist.

### α) Butane

Zur etwas tieferen Einsicht in die Reaktionsverhältnisse ist es erforderlich, die relativen Ausbeuten auf die Gesamtzahl der ionisierten Produkte umzurechnen und dabei

Tabelle 28. Prozentuale Ausbeuten der Reaktionsprodukte bei *n*-Butan  $C_4H_{10}$  und Isobutan im Massenspektrometer

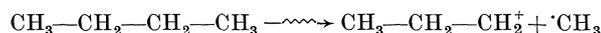
M/e	Formel	n-Butan	
		$H_3C-CH_2-CH_2-CH_3$	$H_3C \begin{array}{l} \diagup \\ \diagdown \end{array} CH-CH_3$
58	$C_4H_{10}^+$	4,53	1,00
57	$C_4H_9^+$	0,88	1,11
44	$C_3H_8^+$	1,10	1,23
43	$C_3H_7^+$	33,6	36,7
42	$C_3H_6^+$	4,22	12,0
41	$C_3H_5^+$	9,20	14,4
40	$C_3H_4^+$	0,07	1,00
39	$C_3H_3^+$	5,12	6,59
29	$C_2H_5^+$	13,50	2,15
28	$C_2H_4^+$	10,95	10,65
72	$C_2H_3^+$	11,90	9,60
26	$C_2H_2^+$	2,14	0,74

die wichtigsten herauszugreifen. Es ist dies in Tabelle 28 zunächst für *n*-Butan und Isobutan getan worden, wobei nur diejenigen Produkte in die Tabelle aufgenommen wurden, deren Anteile 1% an der Gesamtzahl überschreiten. Die Zahlen der Tabelle 28 geben also die Anteile wieder, unter welchen die in Frage stehenden Reaktionsprodukte unter 100 nachweisbaren positiven Ionen beteiligt sind.

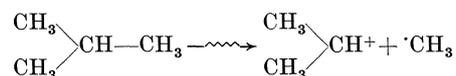
Zunächst muß auffallen, daß die Zahl der chemisch unveränderten Molekülonen  $C_4H_{10}^+$  beim *n*-Butan 4,5fach höher ist als beim Isobutan. Das einfach positive Butan-Ion ist also erheblich stabiler als das entsprechende Isobutanion. Weiter ist das nächst kleinere unveränderte Alkanion  $C_3H_8^+$  in beiden Fällen nur mit etwas über 1% vertreten,

während  $C_2H_6^+$  in der Tabelle schon nicht mehr auftritt. Chemisch unveränderte Molekülonen sind demnach bei gesättigten Kohlenwasserstoffen mit Ausnahme des Äthans und Methans nach Elektronenstoß in der verdünnten Gasphase relativ seltene Stoffpartikel.

Das mit über ein Drittel der Gesamtheit bei weitem häufigste Ion der Butane ist  $C_3H_7^+$ . Es wird ohne Zweifel über die Abspaltung einer Methylgruppe nach (*n*-Butan)



und bei Isobutan nach



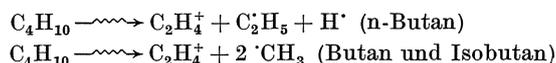
gebildet.

Die Tatsache, daß beim Isobutan drei Trennungsmöglichkeiten im obigen Sinne vorhanden sind, erklärt die hier größere Ausbeute und damit die etwas geringere Stabilität des unveränderten Isobutanions. Addiert man die Ausbeuten von  $C_4H_{10}^+$  und  $C_3H_7^+$ , so resultiert für beide Butane innerhalb 1% derselbe Zahlenwert.

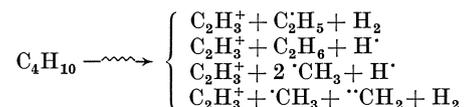
Recht ähnliche Ausbeuten sind bei beiden Isomeren auch vorhanden für die Ionen  $C_3H_3^+$ ,  $C_2H_4^+$  und  $C_2H_3^+$ .

Es darf für das erste Ion die Reaktion  $C_4H_{10} \rightsquigarrow C_3H_3^+ + \cdot CH_3 + 2 H_2$  angenommen werden.

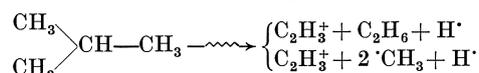
Für das zweite Ion sind die Reaktionen



als die einfachsten anzusehen. Dabei macht die Tatsache, daß die Ausbeuten für beide Isomere fast identisch sind, den für n-Butan allein möglichen ersten Reaktionsverlauf unwahrscheinlich. Trotzdem muß aber die gleichzeitig mit der Trennung einer C—C-Bindung erfolgende H·-Abspaltung ein sehr wahrscheinlicher Prozeß sein, wie neben andern noch zu besprechenden Reaktionen durch das  $\text{C}_2\text{H}_3^+$ -Ion erwiesen wird. Dieses kann bei n-Butan über die Reaktionen



gebildet werden, wobei neben und an Stelle von  $\text{H}_2$  auch  $2 \text{H} \cdot$  angenommen werden müssen. Eine Entscheidung hierüber wäre wohl anhand der entsprechenden Appearance-Potentiale möglich. Aus Isobutan kann das  $\text{C}_2\text{H}_3^+$ -Ion durch das Reaktionspaar



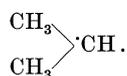
gebildet werden. Die nicht wesentlich verschiedene Ausbeute zeigt, daß die wichtigste Reaktionsgruppe in beiden Fällen offenbar in der Abspaltung von 2  $\text{CH}_3$ -Gruppen unter nachfolgendem H-Verlust bestehen muß.

Noch aufschlußreicher hinsichtlich der Reaktionsmechanismen sind offenbar diejenigen Ionen, bei denen bei den beiden Butanen ein erheblicher Unterschied in den Ausbeuten vorliegt. Es sind dies neben den unveränderten Molekülionen besonders die Spaltprodukte  $\text{C}_3\text{H}_6^+$ , weniger ausgesprochen  $\text{C}_3\text{H}_5^+$ , dann ganz besonders  $\text{C}_2\text{H}_5^+$  und bei nur geringem absolutem Ausbeutewert noch  $\text{C}_3\text{H}_4^+$ .

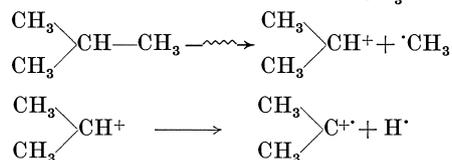
Das  $\text{C}_3\text{H}_6^+$ -Ion entsteht offensichtlich vorzugsweise durch den Vorgang



also durch Abspaltung einer Methylgruppe unter nachfolgendem H-Verlust. Dieser letztere ist bei der  $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\cdot\text{CH}_2$ -Gruppe etwa vierfach unwahrscheinlicher als bei der Gruppe

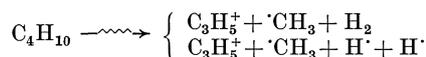


Das  $\text{C}_3\text{H}_6^+$ -Ion ist also beim Isobutan durch die Formel  $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{C}^+ \\ \diagup \\ \text{CH}_3 \end{array}$  nach der Reaktionsfolge



anzunehmen, während beim n-Butan die Lokalisation des H-Verlustes am  $\beta$ -C-Atom nicht mit gleicher Sicherheit angenommen werden darf, weil hier zwei gleichwertige Möglichkeiten der Struktur, sicher aber nicht des energetischen Zustandes (nach Abspaltung) vorliegen.

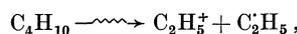
Ähnlich, wenn auch quantitativ viel weniger ausgesprochen, sind die Bildungsverhältnisse auch für das  $\text{C}_3\text{H}_5^+$ -Ion. Offenbar ist auch hierzu die Abspaltung einer  $\text{CH}_3$ -Gruppe und der nachträgliche Verlust von 2 H-Atomen nach der Gleichung



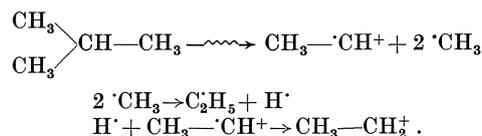
erforderlich. Die Ausbeuten verhalten sich zwischen Isobutan und n-Butan etwa wie 1,5:1. Daß der erste Reaktionsschritt bei Isobutan häufiger erfolgt, erscheint nicht weiter verwunderlich und damit findet auch die hier größere Ausbeute ihre Erklärung, weil ja der H-Verlust aus einer verbleibenden  $\text{CH}_3$ -Gruppe beim Isobutan größer sein muß als beim n-Butan.

Interessant ist für die Gruppe der Spaltprodukte mit 3 C-Atomen noch die sicher nicht zufällige Tatsache, daß deren Summen sich annähernd wie 3:2 verhalten, gleich wie die Zahl der  $\text{CH}_3$ -Gruppen. Für alle Spaltprodukte  $\text{C}_3\text{H}_n^+$  muß also die erste Reaktion in der Abtrennung einer Methylgruppe bestehen, und diese ist offensichtlich ihrer Zahl im Molekül sehr annähernd proportional, so lange jedenfalls, als deren Bindungsverhältnisse (wie im Isobutan = „Trimethylmethan“) gleich sind.

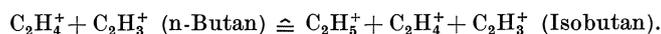
Zur Bildung des  $\text{C}_2\text{H}_5^+$ -Ions ist beim n-Butan ein einfacher Bruch des Moleküls in der Mitte erforderlich.



während beim Isobutan zur Bildung dieses Ions viel kompliziertere Vorgänge notwendig sind, wie z. B. etwa



Es ist also mindestens die Abspaltung von zwei Methylgruppen notwendig, von denen eine nachträglich das erforderliche H-Atom nachliefern muß. Daß die doppelte Methylabspaltung an sich kein unwahrscheinlicher Prozeß sein muß, zeigt die relativ hohe Ausbeute des Ions  $\text{C}_2\text{H}_4^+$ , sowie die Gleichheit der Summen



Schließlich erfordert auch die Bildung des  $\text{C}_2\text{H}_2^+$ -Ions aus Isobutan primär eine Doppelabspaltung von Methylgruppen unter nachträglichem Verlust von  $\text{H} + \text{H}$  (resp.  $\text{H}_2$ ), während beim n-Butan nur ein einfacher Kettenbruch, allerdings unter nachträglichem Verlust von 3 H-Atomen notwendig ist.

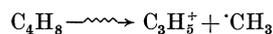
### *β) Butene*

Bei dieser Gruppe von Kohlenwasserstoffen mit einer Doppelbindung fällt zunächst bei der Betrachtung der auf Prozente der Gesamtionisierung umgerechneten Tabelle 29 auf, daß mit der einzigen Ausnahme des  $\text{C}_3\text{H}_5^+$ -Ions (Massenzahl 41) alle Spaltprodukte weniger zahlreich sind, als das chemisch unveränderte Molekülion, dies in sehr erheblichem Gegensatz zu den vorstehend besprochenen Butanen. Das mit einer Doppelbindung behaftete Molekül ist also gegen Zerfall bei Ionisierung durch Elektronenstoß *sehr wesentlich stabiler*.

Weiter ergibt sich als allgemeine Gesetzmäßigkeit, daß die Ausbeuten der einzelnen Ionen bei den verschiedenen Isomeren nur noch Unterschiede von 1,5:1 aufweisen. Dabei hat die Cis-trans-Isomerie des Butens(2)  $\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$  nur bei der Massenzahl 29 ( $\text{C}_2\text{H}_5^+$ ) einen sicher nachweisbaren Einfluß auf die Reaktion. Schließlich ist hier die H-Abspaltung (Ionen der Konstitution  $\text{C}_4\text{H}_n^+$ ) ein dagegen relativ viel häufiger in Erscheinung tretender Prozeß. Die sechs häufigsten Produkte aller Butene sind in der Reihenfolge ihrer Bedeutung  $\text{C}_3\text{H}_5^+$  (41),  $\text{C}_4\text{H}_8^+$  (56),  $\text{C}_3\text{H}_3^+$  (39),  $\text{C}_2\text{H}_3^+$  (27),  $\text{C}_2\text{H}_4^+$  (28) und  $\text{C}_4\text{H}_7^+$  (55).

In einem Siebentel bis einem Sechstel führt die Ionisierung (innerhalb der Zeit in der Ionenquelle) zu keiner chemischen Veränderung. In etwa 12% besteht die Reaktion im Verlust von 1–6 H-Atomen, davon etwa in der Hälfte in einem einzigen H-Verlust. Dabei ist das symmetrisch gebaute  $\text{C}-\text{C}=\text{C}-\text{C}$ -Gerüst am stabilsten, das  $\text{C}=\text{C}-\text{C}-\text{C}$ -Gerüst am instabilsten.

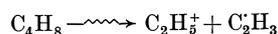
Grob gesprochen besteht in etwa der Hälfte der Ionisierungen die wichtigste Reaktion im Verlust einer  $\text{CH}_3$ -Gruppe, wobei nachträglich in etwa einem Drittel zusätzlich Wasserstoff abgespalten wird. Die einfache Reaktion



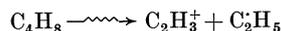
ist beim Isobuten („Dimethyläthylen“) am häufigsten beim symmetrisch gebauten Buten(2) am seltensten. Buten(1) steht in der Mitte. Die beiden  $\text{CH}_3$ -Gruppen des Butens(2) würden zunächst eine umgekehrte Reihenfolge nahelegen. Die  $\pi$ -Bindung, welche beim Buten(2) in der Mitte liegt, stabilisiert aber die beiden symmetrisch anschließenden C-Bindungen durch Überlappung so stark, daß deren Bruch erheblich unwahrscheinlicher wird, während dies beim asymmetrischen Buten(1) und beim Isobuten nicht in diesem Ausmaß möglich ist.

Interessant ist in diesem Zusammenhang der zusätzliche Verlust von H-Atomen. Dieser ist beim Isobuten erheblich größer als bei den beiden anderen Isomeren (21,1 gegen 15,9 resp. 13,6%). Er gibt ein zusätzliches Maß für die Bedeutung des  $\text{CH}_3$ -Verlustes für die Elektronenverhältnisse des restlichen Molekülkomplexes. Diese ist beim Isobuten am größten, beim Buten(2) am geringsten.

Die direkte Abspaltung einer Äthylgruppe wäre nur beim Buten(1) möglich. Die Ausbeute der einfachen Reaktion



ist hier aber nicht größer, als bei den anderen Isomeren. Dies hängt offenbar mit der Stabilität des Komplexes  $\text{C}_2\text{H}_3$  zusammen, denn auch die gleiche Spaltung unter anderer Ladungsverteilung



ist beim Buten(1) nicht sehr stark bevorzugt. Die Ähnlichkeiten der Ausbeuten aller  $\text{C}_2\text{H}_n^+$ -Ionen, insbesondere diejenige von Buten(1) und Buten(2) zeigt, daß auch bei der hier erforderlichen Primärreaktion der Einfluß auf das Gesamtmolekül stärker ist als bei gesättigten Kohlenstoffketten.

### $\gamma$ ) Butadiene

Bei diesen Verbindungen mit zwei Doppelbindungen (Butadiene), resp. mit einer Dreifachbindung (Dimethylacetylen) erscheint die *Molekülstabilität* gegenüber Ionisierung durch Elektronenstoß *nochmals erhöht*. Hier ist bei allen drei Verbindungen das undissoziierte Molekülion  $\text{C}_4\text{H}_6^+$  im Spektrum am häufigsten.

Wieder sind in der nachfolgenden Tabelle 30 die Spektrometerwerte der Tabelle 27, S. 123 auf Prozentzahlen umgerechnet worden, so daß die Ausbeuten der verschiedenen Verbindungen untereinander verglichen werden können.

Mit eigentlich nur zwei Ausnahmen, dem chemisch unveränderten Molekülion  $\text{C}_4\text{H}_6^+$  und dem  $\text{C}_3\text{H}_3^+$ -Ion sind die Ausbeuten aller Produkte aus Butadienen recht ähnlich. Das bezüglich der  $\sigma$ - $\pi$ -Bindungen symmetrisch gebaute Molekül  $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$  ist

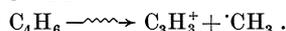
Tabelle 29. Ausbeuten in Prozent bei Ionisierung von Butenen  $\text{C}_4\text{H}_8$  durch Elektronenstoß im Massenspektrometer

M/e	Ion	Buten (1) $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	Buten (2) $\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$	Isobuten $\begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{C}=\text{CH}_2 \\ \diagup \\ \text{CH}_3 \end{array}$
56	$\text{C}_4\text{H}_8^+$	13,6	17,4	18,1
55	$\text{C}_4\text{H}_7^+$	5,5	6,6	5,6
54	$\text{C}_4\text{H}_6^+$	0,9	1,1	0,8
53	$\text{C}_4\text{H}_5^+$	1,7	2,3	1,7
51	$\text{C}_4\text{H}_3^+$	1,3	1,6	1,4
50	$\text{C}_4\text{H}_3^+$	1,4	1,6	1,5
42	$\text{C}_3\text{H}_4^+$	1,1	0,9	1,2
41	$\text{C}_3\text{H}_5^+$	30,9	28,5	33,7
40	$\text{C}_3\text{H}_4^+$	2,3	2,0	3,7
39	$\text{C}_3\text{H}_3^+$	12,0	10,4	15,3
38	$\text{C}_3\text{H}_2^+$	1,6	1,2	2,1
29	$\text{C}_2\text{H}_5^+$	3,7	3,9 c; 5,0 t*	3,3
28	$\text{C}_2\text{H}_4^+$	8,7	8,3	6,7
27	$\text{C}_2\text{H}_3^+$	9,9	8,9	6,5
26	$\text{C}_2\text{H}_2^+$	3,2	2,9	1,6

\* c: cis; t: trans.

gegen Kettenbruch beständiger, als seine Isomeren. Dies äußert sich auch im relativ tiefen Wert der Ausbeute des  $C_2H_3^+$ -Ions (12,2%) und zeigt, daß die  $\pi$ -Elektronen in der Kohlenstoffkette auch die daneben liegende  $\sigma$ -Bindung zu verstärken vermögen. Ohne eine derartige Überlappung der Orbitale müßte ein Kettenbruch in der Mitte des Moleküls bedeutend häufiger auftreten.

Das  $C_3H_3^+$ -Ion entsteht bei 1,2-Butadien und bei Dimethylacetylen natürlich durch einfache Abspaltung einer Methylgruppe

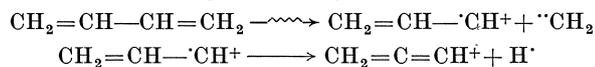


Da ein so einfacher Mechanismus beim 1,3-Butadien nicht möglich ist, muß hier die Ausbeute stark absinken. Offensichtlich ist der relativ hohe Wert für die Ausbeute des  $C_3H_2^+$ -Ions beim Dimethylacetylen darauf zurückzuführen, daß nach dem  $CH_3$ -Verlust der zusätzliche Verlust eines H-Atoms zum symmetrischen Ion  $HC \equiv C = CH^+$  führt.

Tabelle 30. Prozentuale Ausbeuten der ionisierten Reaktionsprodukte bei Butadienen  $C_4H_6$  im Massenspektrometer

M/e	Ion	1,3-Butadien $H_2C=CH-CH=CH_2$	1,2-Butadien $H_2C=C=CH-CH_3$	Dimethylacetylen $H_3C-C \equiv C-CH_3$
54	$C_4H_6^+$	30,6	21,5	25,6
53	$C_4H_5^+$	11,6	12,0	10,7
52	$C_4H_4^+$	3,2	2,3	2,0
51	$C_4H_3^+$	5,9	4,6	4,8
50	$C_4H_2^+$	6,6	5,0	5,3
49	$C_4H^+$	1,9	1,5	1,7
39	$C_3H_3^+$	12,0	20,5	19,8
38	$C_3H_2^+$	2,3	1,7	3,8
37	$C_3H^+$	1,6	1,3	2,0
28	$C_2H_4^+$	7,8	8,5	8,0
27	$C_2H_3^+$	12,2	13,7	9,4
26	$C_2H_2^+$	4,4	5,3	4,8

Beim 1,3-Butadien ist zur Bildung aller  $C_3H_n^+$ -Ionen der Bruch einer Doppelbindung notwendig. Deshalb sind dieselben hier um gut ein Drittel weniger häufig als bei den anderen Isomeren. Das auch hier häufigste Ion  $C_3H_3^+$  kann nach dem Schema



entstehen, wobei dasselbe aber auch eine andere Struktur aufweisen könnte.

Daß die Doppelbindung, respektive die Dreifachbindung nicht auf die beiden benachbarten C-Atome beschränkt ist, sondern die beteiligten  $\pi$ -Elektronen über die eigentliche Bindung hinaus wirksam sind, kommt besonders deutlich bei den  $C_2H_n^+$ -Ionen, welche ungefähr ein Viertel aller Produkte bei allen Butadienen ausmachen, zum Ausdruck. Eine Spaltung der viergliedrigen Kohlenstoffkette ist praktisch gleich wahrscheinlich, gleichgültig wo auf derselben die  $\pi$ -Elektronen „lokalisiert“ gedacht werden. Dabei muß im Einzelnen beim Spaltungsvorgang noch in Betracht gezogen werden, daß während desselben eine hohe Anlagerungstendenz für freie H·-Radikale (und eventuelle  $H^+$ -Ionen) für die restierenden Doppelbindungen besteht. Damit darf die bei allen Butadienen, insbesondere aber beim 1,2-Butadien relativ sehr hohe Ausbeute der Ionen  $C_2H_4^+$  (ca. 8%) in Zusammenhang gebracht werden.

Die Messung der Appearance-Potentiale der ionisierten Fragmente des 1,2-Butadiens durch BARKER, HAMILLE und WILLIAMS (1959) zeigt nur für die drei häufigsten Ionen den erwarteten Zusammenhang, daß ein Ion um so häufiger auftritt, je geringer der zu seiner Bildung erforderliche Energieaufwand ist. Diese Messungen erweisen auch, daß die Ionen  $C_4H_4^+$  und  $C_3H_2^+$  durch sekundären H-Verlust aus den um eine Einheit höher hydrogenierten Einheiten entstehen müssen.

Mit diesen Angaben soll die Diskussion über die Reaktionsprodukte an  $C_4H_n$ -Verbindungen im Massenspektrometer abgeschlossen werden. Sie ist in dieser Form keineswegs vollständig. Wie schon erwähnt, ist das aus vier C-Atomen bestehende, „gestreckte“ Molekül gegen Kettenbruch um so beständiger, je ungesättigter die Verbindung ist. Eine  $\sigma$ - $\pi$ -Bindung verstärkt die Kettenbeständigkeit um einen Faktor von ca. 5 bei Verbindungen ohne Seitengruppe und um einen Faktor von ca. 10—15 bei den Iso-Verbindungen (vgl. Tabelle 28 und 29), wie die Summen der  $C_4H_n^+$ -Produkte zeigen. In einem vergleichbaren Maß wird auch die Bindung des Wasserstoffs an die Kette stabilisiert. Eine weitere  $\pi$ -Bindung im Molekül, gleichgültig, ob sie an zwei Stellen, oder (als Dreifachbindung) nur an einer Stelle „lokalisiert“ ist, verstärkt die Stabilität der C-Kette nochmals um einen Faktor von ca. 2 und in etwa demselben Maße auch diejenige der C—H-Bindungen. Während bei den gesättigten Verbindungen das unveränderte Molekülion mit 4,5 resp. 1%, das Ion  $C_4H_9^+$  noch mit ca. 1% auftritt, betragen die Ausbeuten der unveränderten Molekülionen bei den Butenen 13,6 bis 18,1% und bei den Butadienen 21,5 bis 30,6%. Weiter sind die verschiedenen dehydrogenerierten Ionen von der Form  $C_4H_n^+$  bei den Butenen mit Ausbeuten zwischen 10,8 und 13,2%, bei den Butadienen aber mit Ausbeuten zwischen 24,5 und 29,2% vertreten, gegen nur etwa 1% bei den Butanen. Auch ist deren Mannigfaltigkeit mit ins Gewicht fallenden Ausbeuten eine viel größere.

Bei allen dargestellten Stoffen ist die Abspaltung einer  $CH_3$ -Gruppe, falls dieselbe durch den Aufbau des Moleküls möglich gemacht ist, die häufigste chemische Reaktion. Es darf als sicher angenommen werden, daß der abgespaltene Molekülteil in Form des Radikals  $\cdot CH_3$  vorliegt.

### c) Octane

Von den höher polymeren, einfachen Stoffen sollen hier abschließend die massenspektrometrischen Ergebnisse an den Octanen von BLOOM, MOHLER, LENGEL und WISE (1948) ihrer Vollständigkeit und ihrer relativ großen Zahl an Isomeren wegen noch in der Übersicht angeführt und besprochen werden. In Tabelle 31 sind die aus den Originalergebnissen auf Prozentzahlen umgerechneten Ionenausbeuten wiedergegeben, wobei diejenigen Produkte mit weniger als 5% Anteil weggelassen worden sind. Dabei wurden die Ausbeuten zwischen 4 und 5% auf 5,0 aufgerundet, um auch noch seltenere Ionenarten berücksichtigen zu können. Die Reihenfolge der Isomeren wurde nach sinkender Zahl der C-Atome in der Hauptkette, beginnend beim n-Octan und endigend beim 2,2—3,3-Methylbutan (= Hexamethyläthan), geordnet.

Zunächst geht aus der Tabelle 31 hervor, daß bei allen Octanen Ionen des unveränderten Moleküls sehr selten sind, so daß sie in der Zusammenstellung nicht in Erscheinung treten. Dasselbe gilt für Ionen mit 1 C-Atom. Die Ionisation eines Octans, gleichgültig mit welchem Molekülenbau, ohne Spaltung des Moleküls findet nur in höchstens 2% [bei n-Octan (1), 2-Methylheptan (2) und 2,5-Methylhexan (9)] statt. Eine abgespaltene und die Ladung tragende Methylgruppe (Massenzahl = 15) findet sich bei allen Stoffen, aber nirgends mit mehr als 2%. Dasselbe gilt auch für das Auftreten eines Ions  $C_7H_{15}^+$ , das sich nur bei 2-Methylheptan (2) und bei 2,5-Methylhexan (9) in einigen Prozenten vorfindet. Mit ähnlich durchgehender Konstanz treten die Ionen  $C_2H_3^+$  (4 bis 7,5%)  $C_2H_5^+$  (5—10,7%) und  $C_3H_5^+$  (8—13,1%) auf und zwar fast unabhängig davon, in welchem Maße die entsprechenden komplementären Fragmente (vom  $C_6$ - resp.  $C_5$ -Typus) als Ionen vorhanden sind. Beim 2,5-Methylhexan (9), 2,2,4-Methylpentan (15), 2,3,4-Methylpentan (17) und Hexamethyläthan (18) ist zur Bildung eines  $C_2H_n^+$ -Ions mindestens ein Doppelbruch des Moleküls erforderlich. Dasselbe gilt für 3,4-Methylhexan (11), 3-Methyl-3-Äthylpentan (13), 2,2,3-Methylpentan (14) und Hexamethyläthan (18) für die Bildung eines Ions von der Form  $C_3H_n^+$ . Eine auffallende Reduktion ihres Auftretens ist dabei aber nicht zu beobachten, ein sicherer Beweis dafür, daß diese einfachen Ionen bei den erwähnten Stoffen als Folge eines *weitgehenden Molekülzerfalls* entstehen müssen.

Tabelle 31. Nach Elektronenstoß mit Ausbeuten von über 5% gebildete Ionen aus Octanen  $C_8H_{18}$ 

Nr.	Formelgerüst	$C_6H_{13}^+$	$C_6H_{12}^+$	$C_5H_{11}^+$	$C_5H_{10}^+$	$C_4H_9^+$	$C_4H_8^+$	$C_4H_7^+$	$C_3H_7^+$	$C_3H_6^+$	$C_3H_5^+$	$C_2H_5^+$	$C_2H_4^+$
1	<chem>CCCCCCCC</chem>	8,7	—	6,3	—	9,7	5,1	—	28,4	—	11,0	9,8	7,4
2	<chem>CCCC(C)CC</chem>	—	—	—	5,0	19,8	—	—	27,1	11,3	10,3	7,5	6,8
3	<chem>CCCC(C)CC</chem>	11,2	6,4	—	—	16,0	9,0	—	23,6	—	10,8	9,6	6,6
4	<chem>CCCC(C)CC</chem>	—	—	16,4	14,4	5,0	—	5,0	31,2	—	8,3	7,1	7,0
5	<chem>CCCC(C)CC</chem>	10,1	8,0	5,0	5,0	—	—	5,0	35,6	—	8,1	7,0	6,8
6	<chem>CCCC(C)CC</chem>	—	—	—	—	45,5	14,6	—	7,2	—	11,9	8,3	5,2
7	<chem>CCCC(C)CC</chem>	—	—	13,7	17,2	5,0	—	5,8	29,6	5,5	8,4	5,6	6,4
8	<chem>CCCC(C)CC</chem>	11,2	—	5,0	—	17,6	7,2	—	24,2	5,0	10,5	7,7	5,9
9	<chem>CCCC(C)CC</chem>	—	—	5,0	—	21,4	—	—	26,8	9,1	10,2	5,6	6,2
10	<chem>CCCC(C)CC</chem>	9,8	—	12,7	5,0	11,0	—	—	27,1	—	8,0	6,2	5,6
11	<chem>CCCC(C)CC</chem>	8,5	—	—	—	17,8	22,4	—	15,2	—	12,6	10,7	5,5
12	<chem>CCCC(C)CC</chem>	5,7	—	7,8	15,7	5,0	—	5,6	31,4	—	8,5	5,9	6,0
13	<chem>CCCC(C)CC</chem>	23,3	5,8	—	—	9,8	—	—	36,2	—	9,1	7,7	6,4
14	<chem>CCCC(C)CC</chem>	—	—	—	—	37,4	21,5	—	8,6	—	12,5	8,6	5,0
15	<chem>CCCC(C)CC</chem>	—	—	—	—	44,5	14,5	—	10,3	—	12,2	6,8	5,0

Tabelle 31 (Fortsetzung)

Nr.	Formelgerüst	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> <sup>+</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> <sup>+</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> <sup>+</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> <sup>+</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> <sup>+</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> <sup>+</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> <sup>+</sup>	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> <sup>+</sup>	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> <sup>+</sup>	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> <sup>+</sup>
16	<pre>       C         C—C—C—C—C                   C   C </pre>	7,3	—	13,3	10,4	10,5	—	5,0	29,4	—	8,4	5,0	5,3
17	<pre> C—C—C—C—C               C   C   C </pre>	—	—	20,2	13,2	5,3	—	5,6	32,6	—	8,0	6,0	5,9
18	<pre>       C   C             C—C—C—C                   C   C </pre>	—	—	—	—	46,5	12,7	—	8,2	—	13,1	7,5	5,0

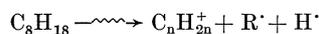
Dies wird auch durch das *durchgehende Fehlen* der Ionen der entsprechenden Komplementärfragmente erwiesen. Sicher ist aber ein wesentlicher Anteil dieser relativ einfachen Ionen auch bei anderen Isomeren nicht nur auf einen einfachen Kettenbruch zurückzuführen, da keine sichere Korrelation zu den entsprechenden schweren Fragmenten vorhanden ist.

Die beiden häufigsten Ionen sind entweder das Propylion C<sub>3</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup> oder das Butylion C<sub>4</sub>H<sub>9</sub><sup>+</sup>. Unter Verlust von 1 oder 2 H-Atomen treten auch gelegentlich die Ionen C<sub>4</sub>H<sub>8</sub><sup>+</sup>, C<sub>4</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup> und C<sub>3</sub>H<sub>6</sub><sup>+</sup> mit höheren Ausbeuten auf, stets findet sich C<sub>3</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>. In 70—85% (bei Berücksichtigung aller Spaltprodukte) der Ionisierung eines Octanmoleküls ist das gebildete Produkt ein Ion von der Form C<sub>3</sub>H<sub>n</sub><sup>+</sup> oder C<sub>4</sub>H<sub>n</sub><sup>+</sup> mit der einzigen Ausnahme des 3-Methyl-3-Äthylpentans (13). Hier beträgt die entsprechende Häufigkeit nur ca. 55%. Der leicht auffindbare Grund dazu liegt in der Tatsache daß für *beide* Ionenbildungen ein *Doppelbruch* bzw. *Dreifachbruch* des Moleküls notwendig ist. Deshalb ist hier die Äthylabspaltung unter Bildung des C<sub>6</sub>H<sub>13</sub><sup>+</sup>-Ions viel häufiger als bei allen anderen Isomeren. Bei diesen ist die Abspaltung einer Äthylgruppe unter Bildung eines C<sub>6</sub>H<sub>n</sub><sup>+</sup>-Ions der Anzahl der im Molekül enthaltenen Äthylgruppen annähernd proportional.

Eine Spaltung des Moleküls unter Bildung eines C<sub>4</sub>H<sub>n</sub><sup>+</sup>-Ions (Abtrennung der halben Molekülmasse) findet dann mit großer Häufigkeit statt, wenn das Molekül zur Mitte symmetrisch gebaut ist (Nr. 11, 18), oder wenn dasselbe eine Trimethylmethylgruppe (Nr. 6, 14, 15, 18) enthält.

Bei der Summenbildung zum ursprünglichen Molekül (also C<sub>7</sub>+C<sub>1</sub>, C<sub>6</sub>+C<sub>2</sub> und C<sub>5</sub>+C<sub>3</sub>) findet sich die *Ladung meist auf dem leichten Fragment*. Diese Regel gilt bei (C<sub>5</sub>+C<sub>3</sub>) ohne Ausnahme, bei (C<sub>6</sub>+C<sub>2</sub>) finden sich Ausnahmen nur bei Molekülen mit drei Äthylgruppen und bei (C<sub>7</sub>+C<sub>1</sub>) nur bei Molekülen mit mindestens zwei Methylgruppen am gleichen C-Atom. Offenbar ist der Verlust einer Methyl- oder Äthylgruppe in einem komplizierteren Molekül nach Ionisation ein Vorgang, welcher stattfinden kann, bevor ein Ladungs- und Potentialausgleich in der Elektronenwolke des betroffenen Moleküls stattgefunden hat, wenn die genannten Gruppen in größerer Anzahl vorhanden waren.

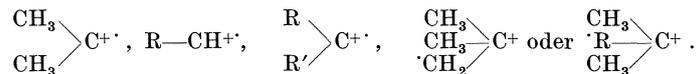
Ionen mit *ungeraden Elektronenzahlen* von der Zusammensetzung der einfachen Olefine, also C<sub>3</sub>H<sub>6</sub><sup>+</sup>, C<sub>4</sub>H<sub>8</sub><sup>+</sup>, C<sub>5</sub>H<sub>10</sub><sup>+</sup> und C<sub>6</sub>H<sub>12</sub><sup>+</sup> erfordern neben einem einfachen C-C-Brech noch mindestens die zusätzliche Abspaltung eines H-Atoms:



Das Ion C<sub>3</sub>H<sub>6</sub><sup>+</sup> tritt nur auf, wenn die Ausgangsverbindung eine  $\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{CH}_3 \end{matrix} > \text{CH}$ -Gruppe enthält. Dasselbe gilt für das C<sub>5</sub>H<sub>10</sub><sup>+</sup>-Ion. Zusätzlich kann dieses aber auch noch gebildet werden, wenn im Ausgangsmolekül eine n-Propylgruppe enthalten ist. Ionen von der Form C<sub>4</sub>H<sub>8</sub><sup>+</sup> entstehen in erheblichem Ausmaß beim Vorhandensein der drei möglichen Butylgruppen

und des Trimethylmethyls. Schließlich findet sich das Ion  $C_6H_{12}^+$  nur dann, wenn eine Äthylgruppe an ein C-Atom mit zusätzlicher Seitenkette gebunden war.

Diese Ionen mit ungerader Elektronenzahl sind demnach ausnahmslos *Radikationen* von der Form



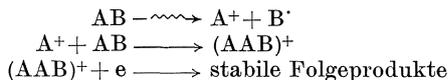
Sie tragen neben einer positiven Ladung ein ungepaartes Elektron und hätten ohne Elektronenverlust Biradikalcharakter. Ihre chemische Reaktivität muß demnach besonders hoch sein.

Die Besprechung massenspektrometrischer Ergebnisse soll hier abgeschlossen werden unter Hinweis auf die beim *Benzol* gefundenen Verhältnisse (vgl. Tabelle 7, S. 56), aus welchen hervorgeht, daß die Ionisierung dieses festgebauten Moleküls viel seltener zu dessen Bruch führt als bei entsprechenden aliphatischen Verbindungen. Gerade die Resultate an Benzol zeigen aber mit Eindringlichkeit, welche Mannigfaltigkeit an teilweise höchst ungewöhnlichen Atomkomplexen bei der Ionisierung eines Moleküls entstehen kann und geben zusammen mit den vorstehend erörterten Untersuchungen den unumstößlichen Beweis dafür, daß die Ionisierung eines Stoffes zu molekularen Verhältnissen führt, welche nicht voraussehbar sind, und in ihren Folgen nur in erster Näherung auf Grund einfacher Konzeptionen betrachtet werden dürfen. In diesem Sinne sollen auch die nachfolgenden Darstellungen verstanden werden.

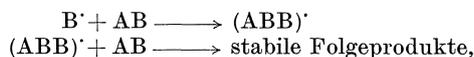
#### 4. Strahlenchemische Reaktionen in konventionellen Systemen

Die vorstehend eingehender besprochenen *Primärreaktionen* in der sehr verdünnten Gasphase des Massenspektrometers sind in drei grundsätzlichen Bedingungen von Strahlenreaktionen in konventionellen Systemen, d. h. in Gasen unter Normaldruck oder in kondensierten Körpern sehr wesentlich verschieden. Ihre Ergebnisse dürfen deshalb nur unter höchster Vorsicht auf konkrete Bestrahlungsversuche übertragen werden. Der erste fundamentale Unterschied besteht darin, daß die Wahrscheinlichkeit des Zusammentritts (Stoßzahl) zwischen Primärprodukten untereinander oder mit Molekülen des Ausgangsstoffes oder auch mit Produkten nicht feststellbarer Natur im Massenspektrometer absichtlich so stark reduziert ist, daß deren Folgen nicht von erheblicher Bedeutung sein können, besonders auch unter Berücksichtigung der sehr kurzen, zur Verfügung stehenden Zeit von der Größenordnung von  $10^{-6}$  s.

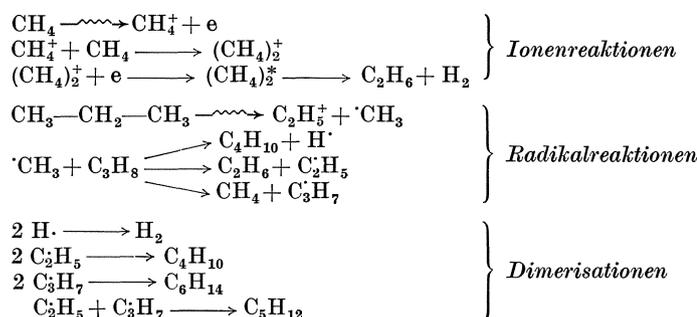
Der zweite Punkt betrifft den Nachweis im Massenspektrometer. Ist die Ionisierung durch Elektronenstoß von einer chemischen Änderung des Ausgangsmoleküls begleitet, so kann aus dem Spektrogramm über Natur und Zusammensetzung der *ungeladenen Primärprodukte* direkt nichts ausgesagt werden. Diese müssen auf Grund verlässlicher Hypothesen erschlossen werden. Wegen der Tatsache der gepaarten Elektronenspinverteilung aller einfachen organischen Verbindungen muß der *ungeladene Partner* bei allen einfachen Primärreaktionen ein *Radikal* sein. Dieses ist aber für die nachfolgenden Reaktionen in konventionellen Systemen von der *vergleichsweise gleichen Bedeutung* wie das Ion. Es sind deshalb grundsätzlich formal die Reaktionen



und



zu erwarten, wobei die Partner A und B alle durch das Molekül AB gegebenen Zusammensetzungen aufweisen können, wie die nachfolgenden einfachsten Beispiele an Kohlenwasserstoffen zeigen.



Wichtig sind ferner bei Ionenreaktionen die Erscheinungen des *Ladungstransportes* nach der grundsätzlichen Form



mit ihren Folgen etwa nach dem erstgenannten Schema.

Der letzte und bedeutendste Gegensatz zu den Primärreaktionen im Massenspektrometer besteht darin, daß die Beobachtung einer strahlenchemischen Reaktion in einem konventionellen System die *stabilen Endprodukte* derselben erfaßt. Die zu denselben führenden Einzelvorgänge müssen also grundsätzlich rückwärts erschlossen werden. Gerade deshalb sind massenspektrometrische Informationen so wichtig und wertvoll. Die qualitative und quantitative Analyse der stabilen Reaktionsprodukte ist aber wegen deren geringen Mengen und deren Mannigfaltigkeit eine häufig sehr schwierige Aufgabe. Sie wird zusätzlich bezüglich der Menge noch erschwert durch die Tatsache, daß bei fortgesetzter Bestrahlung weitere Strahlenreaktionen an den Reaktionsprodukten selbst eintreten müssen. Deshalb beschränkt sich der Großteil der bisher ausgeführten Bestrahlungsversuche an einfachen organischen Stoffen auf das quantitative Erfassen einfachster, insbesondere gasförmiger Reaktionsprodukte, während über die durch die Bestrahlung gebildeten Kondensate, das sog. „Polymerisat“, meist nur qualitative oder semiquantitative Angaben gemacht werden.

Die vorstehende Darstellung massenspektrometrischer Ergebnisse erlaubt für die nachfolgende Besprechung strahlenchemischer Reaktionen eine gewisse Schematisierung, da es nicht mehr notwendig sein wird, auf Einzelheiten des Reaktionsgeschehens in jedem Fall einzugehen. Damit kann auch der Umfang des Abschnittes auf ein angemessenes Maß reduziert werden. Am sinnvollsten erscheint ohne Zweifel eine Unterteilung des Gesamtstoffes nach der in der organischen Chemie üblichen Klassifikation.

#### a) Kohlenwasserstoffe

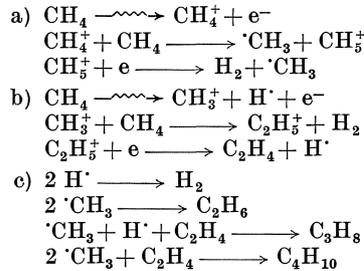
Bei allen *gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen* ist das Hauptprodukt der Strahlenreaktion, unabhängig davon, ob dieselben in der Gasphase oder als Flüssigkeiten oder Festkörper bestrahlt werden, stets molekularer Wasserstoff  $\text{H}_2$ . Seine Ausbeute ist weitgehend unabhängig von der Molekülgröße des bestrahlten Stoffes, ebenso weitgehend unabhängig von Natur und Energie der verwendeten Strahlung, und sie wird auch vom Phasenzustand in weit geringerem Maße beeinflußt als Strahlenausbeuten in wäßrigen anorganischen Systemen. Stets werden auch die einfachen Paraffine mit relativ hohen Ausbeuten gebildet, wobei ihr Polymerisationsgrad von der Zusammensetzung des Ausgangsproduktes vorgeschrieben wird und meist nicht über dessen Dimerisat hinausgeht. Soweit Verbrauchswerte der strahlenchemischen Umsätze bestimmt worden sind, zeigen sie eine bemerkenswerte Unabhängigkeit von der Molekülgröße der bestrahlten Substanz und betragen

$$G(-AP) \hat{=} 6 \div 8.$$

Ebenso ist bei gasförmigen Ausgangsstoffen die Zahl der Gasmoleküle (und damit der Gasdruck) vor und nach der Bestrahlung praktisch dieselbe. Das einfachste organische Zerfallsprodukt, Methan, ist stets mit erheblicher Ausbeute vorhanden.

*α) Methan*

Der Reaktionsablauf in bestrahltem Methan ist nach den Untersuchungen von LIND und BRADWELL (1926), LAMPE (1957) und MEISELS, HAMIL und WILLIAMS (1957) mit einer gewissen Vollständigkeit bekannt. Darnach handelt es sich (in der Gasphase) im wesentlichen um *Ionen-Molekularreaktionen* von der Form:



Die Ausbeuten bei Bestrahlung mit  $\alpha$ -Strahlen und schnellen Elektronen sind nach HONIG und SHEPPARD (1946) und LAMPE (1957) die folgenden:

Tabelle 32. *G-Werte bei Bestrahlung von Methan mit  $\alpha$ -Strahlen und Elektronen*

	H <sub>2</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub>	—CH <sub>4</sub>
$\alpha$ -Strahlen	4,8	—	1,9	0,35	—	—6,4
Elektronen	5,7	0,05	2,1	0,14	0,04	—7,6

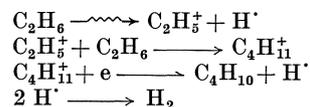
Es ist nun von erheblichem allgemeinem Interesse, diese Ausbeutezahlen mit den durch die Strahlung verursachten Ionisationen in Korrelation zu setzen. Zunächst ist hierzu zu bemerken, daß die Summe der angeführten Reaktionsprodukte mit der Verbrauchszahl nur approximativ übereinstimmt. Dies hat seinen Grund in der Schwierigkeit der Analyse. Dabei ist das auch bei der Bestrahlung von Methan in geringen Mengen auftretende, aus sicher teilweise ungesättigten Verbindungen bestehende, flüssige „Polymerisat“ nicht berücksichtigt worden. Die Verbrauchszahlen von  $G(-\text{CH}_4) = 7,6$  resp. 6,4 sind aber wohl verlässlich.

Die Arbeit zur Bildung eines Ionenpaares in Methan (vgl. Tabelle 1, S. 42) beträgt für Elektronen  $W \underline{\underline{=}} 27,0$  eV. Daraus berechnet sich die Zahl der Ionenpaare pro 100 eV zu 3,7. Nach den massenspektrometrischen Daten der Tabelle 26, S. 122 werden 48,3%  $\text{CH}_4^+$ , 39,1%  $\text{CH}_3^+$ , 6,0%  $\text{CH}_2^+$  und 2,75%  $\text{CH}^+$ -Ionen gebildet. Nach dem Reaktionstypus (a) entstehen pro  $\text{CH}_4^+$ -Ion ein  $\text{H}_2$ -Molekül und 2  $\cdot\text{CH}_3$ -Radikale. Das  $\text{CH}_3^+$ -Ion (b) bildet ein  $\text{H}_2$ -Molekül und 2  $\text{H} \cdot$ -Radikale. Pro Ionenpaar werden je 2  $\text{CH}_4$ -Moleküle verbraucht, also ist  $G(-\text{CH}_4) = 7,4$ , wenn man nur die zwei häufigsten Ionen berücksichtigt, in sehr guter bis befriedigender Übereinstimmung mit den gemessenen Werten. Die Molekular- resp. Radikalausbeuten sind mit den Faktoren 0,483 ( $\text{CH}_4^+$ ) resp. 0,391 ( $\text{CH}_3^+$ ) zu multiplizieren. Hieraus ergeben sich die Ausbeuten von  $G(\text{H}_2) = 4,7$  und  $G(\text{C}_2\text{H}_6) = 1,8$ , welche den von HONIG und SHEPPARD (1946) gemessenen Werten praktisch völlig gleich sind. Setzt man schließlich für die Bildung der höher polymeren Produkte die übrigen Ionen voraus, so findet sich ebenfalls ein befriedigender Zusammenhang. Die angegebenen Reaktionsschemata erlauben somit eine quantitativ weitgehend richtige Vorausberechnung der tatsächlich gefundenen Umsätze. Ihre grundsätzliche Richtigkeit ist damit erwiesen.

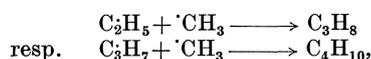
*β) Andere gasförmige Paraffine*

Unter normalen Bedingungen sind Äthan, Propan und die Butane gasförmig. Ihre Strahlenprodukte sind nach DAVISON (1958) und HONIG und SHEPPARD (1946) in Tabelle 33, nach steigenden Molekulargewichten geordnet, wiedergegeben.

Bei allen drei Alkanen ist molekularer Wasserstoff wieder das deutlich häufigste Bestrahlungsprodukt, und wieder sind die Verbrauchszahlen pro 100 eV  $G(-AP)$  unter sich recht ähnlich, wenn auch etwas tiefer als beim Methan. Hohe Ausbeuten finden sich beim Äthan und Propan auch für die Dimerisationsprodukte. Diese sind offenbar durch die Verbindung der nach  $H\cdot$ -Abspaltung entstandenen Alkylionen mit unverändertem Alkan entstanden nach (z. B. Äthan):



Die Hälfte der beim Äthan und beim Propan abgespaltenen  $CH_3$ -Gruppen lagert sich an die entsprechenden Alkylradikale an unter Bildung des nächst höheren Alkans nach dem Schema

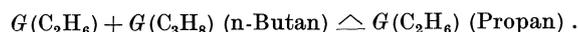


die andere Hälfte findet sich als Methan wieder. Dies wird beim Propan besonders noch durch die Gleichung



nahegelegt.

Beim Butan sind die höheren Alkanpolymerisate flüssig (im „Polymerisat“), so daß hier entsprechende Überlegungen nicht gemacht werden können. Immerhin ist interessant, daß die Spaltung in der Mitte des Moleküls zu derjenigen an der endständigen C-Bindung addiert den gleichen Ausbeutewert ergibt, wie die (einzige mögliche) einfache Spaltung der Kohlenstoffkette beim Propan. Es gilt also



Die Ausbeuten an  $H_2$  und  $CH_4$  sind sehr ähnlich denjenigen des Propans, was wegen des grundsätzlich gleichartigen Molekülsbaues auch erwartet werden darf.

### $\gamma$ ) Höhere Paraffine

Die Bestrahlungsprodukte *höherer Paraffine* sind weder nach ihrer Zusammensetzung noch nach ihrer Ausbeute von den bisher besprochenen einfachen Verbindungen wesentlich verschieden. Auch der Übergang zwischen Gasphase und Flüssigkeit (Pentan und höhere Paraffine) ändert die Ausbeuten nicht grundsätzlich, abgesehen davon, daß Dimerisate und Polymerisate zwischen primären Radikalen in flüssigen Paraffinen relativ häufiger sind als in gasförmigen. Weiter bildet sich bei sehr hohen Strahlendosen, wie von CHARLESBY (1954) gezeigt wurde, schließlich ein unlösliches, nicht schmelzendes Gel. Offensichtlich werden dabei unter Austritt von  $H_2$  die Paraffinketten gegenseitig miteinander verbunden (sog. „Vernetzung“), und dabei das Molekulargewicht entsprechend vergrößert. Bekanntlich ist diese letztgenannte Strahlenreaktion auch technisch zur Qualitätsverbesserung von Kunststoffpolymerisaten bedeutsam geworden (z. B. *Strahlenhärtung* von Polyäthylen).

Von den flüchtigen Reaktionsprodukten ist molekularer Wasserstoff auch bei flüssigen oder festen Paraffinen das bei weitem häufigste. Dies hängt wohl wesentlich damit zusammen, daß das  $H\cdot$ -Radikal so klein ist, daß es den „Käfig“ der umgebenden Moleküle

Tabelle 33. Ausbeuten ( $G$ -Werte) verschiedener Strahlenreaktionsprodukte aus Äthan, Propan und n-Butan

Produkte	$C_2H_6$	$C_3H_8$	n- $C_4H_{10}$ *
$H_2$	5,6	3,8	3,85
$CH_4$	0,56	1,25	1,50
$C_2H_4$	—	0,1	—
$C_2H_6$	—	2,20	1,0
$C_3H_8$	0,56	—	1,1
$C_4H_{10}$	1,12	1,33	—
$C_5H_{12}$	—	0,44	—
$C_6H_{14}$	—	1,34	—
$G(-AP)$ *	6,5	6,5	5,8

\* Mit  $\alpha$ -Strahlen;  $G(-AP)$ : Verbrauch der Ausgangssubstanz pro 100 eV.

verlassen kann. Auch Methan als einfachstes Reaktionsprodukt der Spaltung der Kohlenstoffkette kann stets gefunden werden. Allerdings muß dessen relative Ausbeute mit der Kettenlänge abfallen.

In der Abb. 25 sind die Mittelwerte der  $H_2$ - und  $CH_4$ -Bildung ( $G$ -Werte) bei Bestrahlung von Paraffinen nach SCHOEPFLE und FELLOWS (1931), KRENZ (1955), DEWHURST (1957) und DAVISON (1957) in Abhängigkeit von der Zahl der C-Atome in der Paraffinkette dargestellt worden. Trotzdem die analytischen Bestimmungen sicher von unterschiedlicher Genauigkeit sind, ist die aus der Darstellung resultierende Gesetzmäßigkeit in die Augen springend. Die Bildung von  $H_2$  ist von der Kettenlänge weitgehend unabhängig und beträgt  $G(H_2) = 4 \div 5$ . Der Anstieg zwischen Propan und Heptan von 3,8 auf 4,9 darf als reell angesehen werden und ist auf den an sich geringen H-Gehalt der Verbindungen und wohl teilweise auch auf den Übergang Gas—Flüssigkeit zurückzuführen. Demgegenüber kann der geringe Abfall zwischen  $C_9H_{20}$  und  $C_{18}H_{38}$  nur vorgetäuscht sein. Auffallend ist dagegen der sehr starke und gesetzmäßige Abfall der

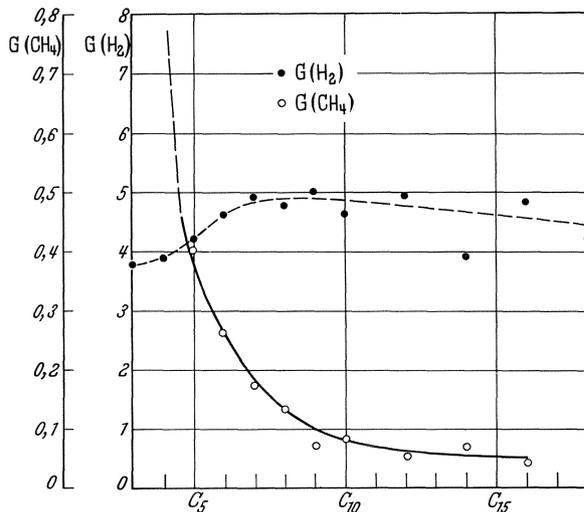


Abb. 25. Abhängigkeit der Ausbeuten von  $H_2$  (Punkte, Ordinate rechts) und  $CH_4$  (Kreise, Ordinate links) von der Zahl der C-Atome bei der Bestrahlung von n-Paraffinen in flüssigem Zustand

diejenige der C—C-Bindungen  $n - 1$ . Die gesamte in einem Paraffinmolekül von  $n$  C-Atomen aufgespeicherte Bindungsenergie beläuft sich somit auf  $4,4 \cdot (2n + 2) + 3,6 \cdot (n - 1) \cong (12,4n + 5,2)$  eV. Die Energie von 100 eV, auf welche der  $G$ -Wert bezogen wird, würde demnach bei voller Ausnützung zu Bindungsbrüchen noch ausreichen, um das  $C_7H_{16}$ -Molekül in seine Bestandteile zu zerlegen, für  $C_8H_{18}$  würde sie gerade nicht mehr genügen. Je länger also das Molekül wird, desto geringer ist pro aufgenommene Energieeinheit (z. B. ca. 25 eV für eine Ionisation) seine „relative Zerstörung“. Da pro Molekül 2  $CH_3$ -Gruppen vorhanden sind, beträgt die Wahrscheinlichkeit einer  $\cdot CH_3$ -Abspaltung in erster Näherung

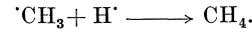
$$W_{\cdot CH_3} = k_1 \frac{2}{n-1}.$$

Falls der Energiebetrag von 3,6 eV einer  $CH_3$ -C-Bindung zugeführt wird, kann sie gespalten werden, unabhängig davon, wie lang die Kette ist. Für die C—H-Bindungen ist die Sachlage anders. Hier könnten durch die obige Arbeit pro Ionenpaar von 25 eV nur maximal 5 C—H-Bindungen gelöst werden. Die Wahrscheinlichkeit einer H—Ablösung beträgt also

$$W_H = k_2 \frac{2s}{2n+2}.$$

Methanbildung mit steigender Kettenlänge von 1,2 beim Propan auf 0,04 beim Hexadecan. Die Abspaltung einer Methylgruppe unter nachfolgendem H—Einfang zum Methan wird offensichtlich um so unwahrscheinlicher, je länger die Paraffinkette ist. Es lohnt sich, dieser Tatsache einige theoretische Überlegungen zu widmen.

Zunächst muß offenbar zur Bildung eines  $CH_4$ -Moleküls eine Vereinigung zwischen einem  $\cdot CH_3$ -Radikal und einem H stattfinden



Für die Bindungsenergien im Paraffinmolekül werden heute C—H  $\cong$  4,4 eV und C—C  $\cong$  3,6 eV als begründete Mittelwerte angenommen, wobei die endständigen C-Atome wahrscheinlich etwas stärker gebunden sind als die im Innern der Kette. Die Zahl der C—H-Bindungen beträgt  $2n + 2$  ( $n$  = Zahl der C-Atome im Molekül),

Da als Voraussetzung zur Bildung eines  $\text{CH}_4$ -Moleküls *beide Spaltungen* erforderlich sind, so wird die Wahrscheinlichkeit zu

$$W_{\text{CH}_4} = W_{\cdot\text{CH}_3} \cdot W_{\text{H}\cdot} = k_1 \cdot k_2 \cdot \frac{2s}{n^2 - 1}.$$

Die  $\text{CH}_4$ -Ausbeute müßte also *quadratisch* mit zunehmender C-Zahl abfallen. Das ist aber gerade die Gesetzmäßigkeit, wie sie aus der Kurve der Abb. 25 entnommen werden kann. Mit den Zahlenwerten  $k_1 \cdot k_2 \cdot s = 4,8$  kann der Verlauf von  $G(\text{CH}_4)$  sehr befriedigend dargestellt werden, also

$$G(\text{CH}_4) \hat{=} \frac{9,2}{n^2 - 1}.$$

Mit der gefundenen Beziehung lassen sich die  $\text{CH}_4$ -Ausbeuten von Butan zu 0,62 (experimentelle Werte: 0,89, 1,5 und 0,30) und Propan zu 1,15 (experimentelle Werte: 1,2 und 1,25), welche in der Darstellung nicht enthalten sind, mit guter Näherung voraussagen.

Es ist schließlich interessant und sicher nicht Zufall, daß das Produkt der verwendeten Koeffizienten, also  $k_1 \cdot k_2 \cdot s = 4,8$  genau dem Durchschnitt der  $G(\text{H}_2)$ -Werte entspricht. Die endgültige Bezeichnung lautet somit

$$\frac{G(\text{CH}_4)}{G(\text{H}_2)} \hat{=} \frac{2}{n^2 - 1},$$

welche den grundsätzlichen Verlauf der Ausbeuten auch quantitativ zufriedenstellend wiedergibt.

Dieser Zusammenhang läßt vermuten, daß der Hauptanteil des Wasserstoffs durch *einmolekularen*

Umsatz produziert wird. Untersuchungen von SCHUBERT und SCHULER (1952) mit Hilfe von starken Radikalfängern wie Jod ergaben keine wesentliche Reduktion der  $\text{H}_2$ -Ausbeute. Ebenso ist die Ausbeute an  $\text{HD}$  wesentlich geringer als diejenige von  $\text{H}_2$  oder  $\text{D}_2$ , wenn, wie dies DORFMAN (1958) getan hat, Gemische von  $\text{C}_2\text{H}_6$  und  $\text{C}_2\text{D}_6$  bestrahlt werden. Die Ionisierung oder Elektronenanregung eines Moleküls durch Strahlung löst also *mehrere Atombindungen gleichzeitig*, deren Fragmente sich z.T. sofort anschließend wieder zu stabilen Produkten zusammenschließen. Damit erhält die vorstehende theoretische Skizze eine entsprechend höhere Bedeutung.

Enthält die Verbindung aber weitere  $\text{CH}_3$ -Gruppen in Seitenketten, so ist die  $\text{CH}_4$ -Ausbeute höher, bei gleichzeitigem Abfall der  $\text{H}_2$ -Bildung. Dies geht sinnfällig aus dem Vergleich der drei in Tabelle 34 angeführten *Oktanisomeren* hervor.

Diese Zahlenwerte zeigen deutlich die *stärkere Bindung der endständigen  $\text{CH}_3$ -Gruppen*. Subtrahiert man nämlich die durch sie bewirkte Ausbeute (0,17) vom totalen  $G(\text{CH}_4)$ -Wert, so resultiert sehr angenäherte Proportionalität zur restlichen  $\text{CH}_3$ -Anzahl:

$$G(\text{CH}_4) = 0,17 + 0,26 \cdot (k - 2).$$

In diesem Zusammenhang sind neueste Bestrahlungsversuche an flüssigem Hexan von GÄUMANN (1964) von höchstem Interesse. Die Analyse der Reaktionsprodukte und eingehende Überlegungen über die Rekombinationsmöglichkeiten der gebildeten Molekularfragmente erlaubten eine zuverlässige Festlegung der einzelnen Spaltungswahrscheinlichkeiten des Moleküls  $\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ . Danach entfallen 17% der Spaltungen auf C—C-Bindungen, davon 2,4% auf Abspaltung der  $\text{CH}_3$ -Gruppe und 5% auf die Spaltung in der Molekülmitte. Die restlichen 83% der Spaltungen betreffen C—H-Bindungen und zwar total 19% H-Atome der  $\text{CH}_3$ -Gruppen, 35% solche der 2. und 29% solche der 3. C-Atome. Die  $2n + 2 = 14$  C—H-Bindungen machen total 74%,

Tabelle 34. *Einfluß der Molekülstruktur auf die Strahlenausbeute*

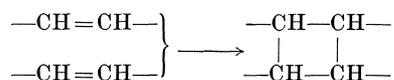
Verbindung	Zahl der $\text{CH}_3$ -Gruppen (k)	$G(\text{CH}_4)$	$G(\text{H}_2)$
n-Octan	2	0,17	4,75
2,5-Dimethylhexan	4	0,71	2,6
2,2,4-Trimethylpentan	5	0,94	2,2

die  $n-1 = 5$  C—C-Bindungen 26% der Gesamtzahl der Bindungen aus. Trotz der erhöhten Energie der C—H-Bindung gegenüber C—C- ist die Spaltung der ersteren deutlich bevorzugt.

Sehr interessant ist schließlich die Tatsache, daß die Molekülsplattungen in flüssiger Phase, zum mindesten was die Bildung der niederpolymeren Fragmente anbetrifft, mit denjenigen im Massenspektrometer in auffälliger Weise übereinstimmen.

#### δ) Ungesättigte Kohlenwasserstoffe

Verglichen mit den Reaktionsverhältnissen an Paraffinen zeigen alle *ungesättigten Kohlenwasserstoffe* (ihr grundsätzlicher Unterschied zu gesättigten Stoffen liegt im Vorhandensein einer oder mehrerer  $\sigma$ - $\pi$ -Bindungen = Doppel- oder Dreifachbindungen) einen absolut größeren Verbrauch, eine relativ erheblich geringere  $H_2$ -Bildung und eine bedeutend größere Polymerisation. Die letztgenannte Tatsache ist unmittelbar verständlich. Doppel- oder Dreifachbindungen sind ja ganz allgemein chemisch (z. B. Bromierung) viel aktiver als gewöhnliche C—C-Bindungen. Das  $\pi$ -Elektronenpaar stabilisiert die C—C-Kette über seine unmittelbare Lokalisation hinaus in hohem Maße (vgl. S. 123 und ff.), hat aber andererseits stets die Tendenz, zu einem Reaktionspartner ein  $\sigma$ -Paar, und damit eine gewöhnliche Bindung zu bilden. Es sind deshalb *intermolekulare Reaktionen* von der grundsätzlichen Form

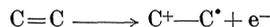


bei ungesättigten Stoffen ohne oder mit nur geringen Stoffveränderungen möglich. Dies erklärt auch teilweise die geringere  $H_2$ -Bildung. Zusätzlich führt auch der Reaktionstypus



welcher wiederum nur bei ungesättigten Stoffen möglich ist, zu einer Reduktion des molekularen Wasserstoffs.

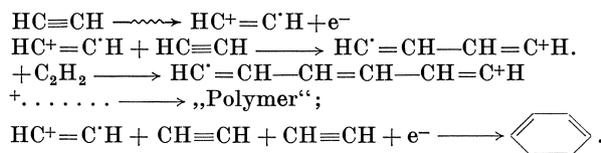
Das Anwachsen des Gesamtumsatzes, also die scheinbar „geringere Strahlenresistenz“ ungesättigter Verbindungen kann schließlich ebenfalls durch das Vorhandensein von  $\pi$ -Elektronen verstanden werden. Wenn dieselben das Molekül als ganzes bei Anregung oder Ionisation gegen Zerfall stabilisieren, so müssen die energetisch erhöhten Zustände desselben eine entsprechend größere Lebensdauer haben. Zusätzlich führt die Ionisierung einer  $\sigma$ - $\pi$ -Bindung zu einem *Radikalion*, welches als solches ohne Dissoziation bestehen bleiben kann. Der dabei in Frage stehende Mechanismus hat die allgemeine Form



und führt damit zu besonders bindungsfähigen Einheiten ohne gleichzeitigen Abbau der ursprünglichen Struktur. Reaktionen mit Nachbarmolekülen unter Bildung von „Polymerisaten“ sind deshalb bei Stoffen mit Doppelbindungen eher die Regel als die Ausnahme.

Von allen ungesättigten Kohlenwasserstoffen ist das *Acetylen* strahlenchemisch am besten untersucht. Dabei verhindert aber die schon hier vorhandene Komplexität des nur teilweise löslichen „Polymerisates“ eine detaillierte Analyse der Folgeprodukte. MUND und KOCH (1925) haben die Polymerisation durch  $\alpha$ -Strahlen erstmals nachgewiesen, und später haben LIND, BRADWELL und PERRY (1926), LIND, JUNGERS und SCHIFFLETT (1935) und MUND und ROSENBLUM (1937) die Benzolbildung bei Bestrahlung mit  $\alpha$ -Strahlen und Elektronen quantitativ zu erfassen gesucht. Zwischen 15 und 20% des Polymerisates entfallen auf Benzol. Dabei ist die Ausbeute relativ sehr hoch. Das Acetylen wird mit einem  $G$ -Wert von  $G(-C_2H_2) \hat{=} 75$  verbraucht, wobei praktisch keine leichtflüchtigen Produkte entstehen. Von hohem Interesse war die Beobachtung von LIND und BRADWELL (1926), daß der Zusatz von Edelgasen und  $N_2$  die Ausbeute nicht verminderte. Diese erwies sich als proportional mit der im Gesamtsystem absorbierten

Strahlenenergie. Die von den inerten Gasmolekülen aufgenommene Energie muß demnach auf  $C_2H_2$ -Moleküle (durch Stöße II. Art) übertragen werden. Da die Ionisationspotentiale all dieser Gase höher liegen als dasjenige des Acetylens mit 12,8 eV, besteht die Energieübertragung mit Sicherheit zu einem wesentlichen Anteil, wenn nicht ganz, in Ladungsübertragung. Damit ist erwiesen, daß die Polymerisationsreaktionen in bestrahltem Acetylen ganz oder zum mindesten in erheblichem Maße *Ionen-Molekularreaktionen* oder *Ionen-Radikalreaktionen* sein müssen. Der hohe Verbrauch von  $C_2H_2$  erfordert einen mehrgliedrigen Kettenreaktionstypus. Seine wahrscheinlichste Form ist



Die Kette setzt sich also so lange fort, bis sie durch Elektroneneinfang unter Ringbildung, wie beim Benzol, oder durch Radikalanlagerung und Neutralisation unterbrochen wird.

*Höhere ungesättigte Kohlenwasserstoffe* verhalten sich grundsätzlich ähnlich wie Acetylen. Hauptprodukte der Bestrahlung sind Polymerisate. Wasserstoff wird stets in geringer Menge gebildet, andere gasförmige Produkte sind noch seltener. Ausgedehnte und vollständige Analysen fehlen. Interessant ist der Befund von CHARLESBY (1955), daß Doppelbindungen langer Kettenmoleküle für die Polymerisation um so wirksamer werden, je näher sie dem Molekülende angeordnet sind.

#### ε) Cyclische Kohlenwasserstoffe

*Benzol* ist auch bezüglich seiner strahlenchemischen Umsätze eine sehr stabile Verbindung. Die drei  $\pi$ -Elektronenpaare des Ringes stabilisieren denselben gegen ein Aufbrechen so stark, daß er auch bei Ionisation, selbst unter nachfolgender teilweiser Dehydrogenierung, erhalten bleiben (vgl. Tabelle 7, S. 56) kann. Weiter begünstigt das regelmäßige und geschlossene Ringsystem ein Überreten von Energie vom Ring auf eventuell vorhandene Seitenketten, nicht aber umgekehrte Vorgänge. *Substituierte Benzolverbindungen* sind deshalb durch Strahlung erheblich *stärker angreifbar* als Benzol selbst. Bekanntlich hat diese Tatsache in letzter Zeit auch technisch eine sehr hohe Bedeutung erlangt. Als organische Moderatoren in Reaktoren eignen sich am besten Polyphenyle (insbesondere Terphenyl) wegen ihrer hohen Fähigkeit, aufgenommene Strahlenenergie ohne molekulare Änderungen auf die Ringsysteme zu verteilen und größtenteils in Form von Fluoreszenzlicht wieder abzustrahlen.

In scharfem Gegensatz zu ungesättigten aliphatischen Verbindungen mit hohen Strahlenausbeuten reduziert der symmetrische Ringschluß im Benzol die *G*-Werte nachweisbarer Reaktionsprodukte um Faktoren von der Größenordnung 20—100. Daß dabei die  $\pi$ -Elektronenpaare die wesentliche Ursache der hohen Stabilität sein müssen, folgt aus dem Vergleich der Ausbeuten von Benzol mit Cyclohexan. Wie BURTON (1947) schon vor längerer Zeit gezeigt hat, sind sowohl die Ausbeuten an flüchtigen Produkten, wie diejenigen an Polymerisaten sehr verschieden. Einzelheiten sind in der vorstehenden Tabelle 35 enthalten.

Neuere Untersuchungen haben sowohl die Natur der gasförmigen Reaktionsprodukte des Benzols als auch teilweise diejenige der Polymerisate aufgeklärt. So haben GORDON und BURTON (1952) nachgewiesen, daß die gasförmigen Reaktionsprodukte des Benzols zum weitaus größten Teil nur aus den beiden Stoffen  $H_2$  und  $C_2H_2$  bestehen. Dabei

Tabelle 35. Ausbeuten an gasförmigen Produkten *G*(g) und an Polymerisaten *G*(p) bei verschiedenen cyclischen Verbindungen nach BURTON (1947)

Verbindung	<i>G</i> (g)	<i>G</i> (p)
Benzol	0,04	0,5
Toluol	0,09	0,7
Cyclohexan	4,0	1,2
Methylecyclohexan	4,5	4,2
Cyclohexen	1,0	4,2

wurde das hochinteressante Resultat gefunden, daß *Deutero*benzol von beiden Gasen, gegenüber gewöhnlichem Benzol, nur etwa die halben Ausbeuten liefert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 36 wiedergegeben.

Weiter haben die genannten Autoren bei Bestrahlung von Gemischen der beiden Benzole sowohl für  $H_2 + D_2 + HD$  als auch für  $C_2H_2 + C_2D_2 + C_2HD$  geringere Ausbeuten gefunden, als dies durch einfache Summenbildung zu erwarten war. Die Substanz mit der höheren Strahlenresistenz  $C_6D_6$  schützt also diejenige mit geringerer gegen Molekülveränderungen. Dies kann nur durch einen *Energieübertragungsmechanismus*  $C_6H_6 \xrightarrow{E} C_6D_6$  (Stöße II. Art) verstanden werden, wobei sowohl Anregungs- als auch Ladungsübertragungen in Betracht gezogen werden müssen.

Bei einem Vergleich der Ausbeuten an Wasserstoff und Methan bei der Bestrahlung von *Alkyl-substituierten Benzolen* fanden SWORSKY und BURTON (1951) erhebliche Unterschiede zwischen Elektronen- und Reaktortotalstrahlungen. Ähnliche Ergebnisse er-

Tabelle 36. Ausbeuten an  $H_2$  und  $C_2H_2$  resp.  $D_2$  und  $C_2D_2$  bei Bestrahlung von Benzol mit 1,5 MeV-Elektronen; nach GORDON und BURTON (1952)

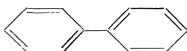
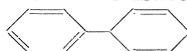
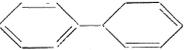
Verbindung	$G(H_2)$	$G(D_2)$	$G(C_2H_2)$	$G(C_2D_2)$
$C_6H_6$	0,036	—	0,020	—
$C_6D_6$	—	0,0117	—	0,0133

Während die Ausbeuten mit  $^{60}Co-\gamma$ -Strahlen mit denen von GORDON und BURTON (1952) sehr gut übereinstimmen, sind diejenigen mit Deuteronen deutlich höher, diejenigen mit  $\alpha$ -Strahlen ziemlich genau doppelt so hoch. Dabei steigen beide Ausbeuten in demselben Verhältnis an (letzte Kolonne). Demgegenüber war aber die Ausbeute an

Tabelle 37.  $G(H_2)$  und  $G(C_2H_2)$  bei Bestrahlung von Benzol mit verschiedenen Strahlungen; modifiziert nach GÄUMANN und SCHULER (1961)

Strahlung	$G(H_2)$	$G(C_2H_2)$	$G(C_2H_2)/G(H_2)$
$^{60}Co-\gamma$ -Strahlen	0,0378	0,020	0,52
Deuteronen 18 MeV	0,0475	0,025	0,52
$\alpha$ -Strahlen 31 MeV	0,078	0,041	0,53

Durchgang eines Elektrons. Eine weitergehende Molekülzerstörung durch schwere Partikel würde auch den geringeren Anfall an Ringkondensaten verständlich machen.

Die (gaschromatographischen und massenspektroskopischen) Analysen der Polymerisate von GÄUMANN (1961) ergaben sowohl Dimerisate als auch in etwas geringerer Ausbeute Trimerisate. Die letzteren sind bisher nicht analysiert worden. Die Dimerisate umfassen Biphenyl  ( $G = 0,062$ ), Phenylcyclohexadien-2,5  ( $G = 0,041$ ), Phenylcyclohexadien-2,4  ( $G = 0,029$ ) und zwei Dimerisate mit nicht sicher eruierbarer Konstitution mit Ausbeuten von 0,005 oder weniger.

Sind an den Benzolkern *Seitenketten* gebunden, so werden solche Moleküle in viel höherem Maße durch Strahlung verändert, wobei besonders die Seitenketten strahlenlabil sind. Tabelle 38 gibt einen durch Daten über Benzol ergänzten Auszug aus der schon zitierten Untersuchung von SWORSKI und BURTON (1951) und HENTZ und BURTON (1951) wieder.

Die Zahlenwerte der Tabelle 38 sind in mehrfacher Hinsicht interessant. Zunächst steigt die Ausbeute an  $H_2$  von Benzol auf Toluol und weiter auf Äthylbenzol stark an, um dann beim t-Butylbenzol wieder abzufallen. Dies zeigt, daß die erhöhte  $H_2$ -Ausbeute der substituierten Stoffe größtenteils aus der Seitenkette stammen muß, beim Toluol also aus der  $CH_3$ -Gruppe, beim Äthylbenzol zu einem wesentlichen Anteil auch aus der

hielten auch BURNS, WILD und WILLIAMS (1958) an *Polyphenylen* mit Elektronen und Neutronen. Um die Frage des LET gründlicher abzuklären, haben GÄUMANN und SCHULER (1961) Benzol mit  $^{60}Co-\gamma$ -Strahlen, 18 MeV-Deuteronen und 31 MeV- $\alpha$ -Strahlen bestrahlt und die nachfolgenden Mittelwerte an  $H_2$  und  $C_2H_2$  gefunden.

„Polymerisaten“ sehr bedeutend geringer.

Diese Ergebnisse sind nicht leicht quantitativ zu interpretieren. Die Zunahme der Ausbeuten bei schweren Partikeln kann nur so verstanden werden, daß bei deren Durchgang viel tiefgreifende Veränderungen des Benzolmoleküls eintreten müssen, als beim

Tabelle 38. *G*-Werte verschieden substituierter Benzolverbindungen bei Bestrahlung mit Elektronen

Verbindung	<i>G</i> (H <sub>2</sub> )	<i>G</i> (CH <sub>4</sub> )	<i>G</i> (C <sub>2</sub> H <sub>n</sub> )*	<i>G</i> (C <sub>2</sub> H <sub>n</sub> )/ <i>G</i> (CH <sub>4</sub> )
Benzol C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	0,036	0,001	0,020	(20)
Toluol C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> —CH <sub>3</sub>	0,13	0,008	0,001	0,125
Äthylbenzol C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> —CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	0,18	0,030	0,004	0,133
Isopropylbenzol C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> —CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,17	0,073	0,009	0,123
t-Butylbenzol C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> —C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	0,11	0,070	0,009	0,128

\* Bei Benzol fast ausschließlich C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>.

CH<sub>2</sub>-Gruppe des Äthyls. Sobald aber hier der Wasserstoffgehalt zurückgeht, erfolgt wieder ein Abfall. Gleichzeitig findet beim Übergang vom Benzol zum Toluol ein ganz scharfer Abfall an Acetylen statt, offensichtlich als Ausdruck für den *Übergang der Energie aus dem Ring in die Substitutionsgruppe*. Ist eine solche vorhanden, so wird der Benzolkern praktisch überhaupt nicht mehr aufgebrochen. Die C<sub>2</sub>H<sub>n</sub>-Produkte stammen fast ausschließlich aus der Seitenkette, wie durch die imponierende Konstanz des Verhältnisses *G*(C<sub>2</sub>H<sub>n</sub>)/*G*(CH<sub>4</sub>) erwiesen ist. Schließlich ist für die substituierten Stoffe mit Ausnahme des Toluols das Verhältnis *G*(CH<sub>4</sub>)/*G*(H<sub>2</sub>) der Zahl der Methylgruppen im Molekül annähernd proportional. Die H<sub>2</sub>-Bildung (größtenteils ebenfalls aus der Substitutionsgruppe stammend) sinkt relativ um so stärker ab, je mehr CH<sub>3</sub>-Gruppen als solche abgespalten werden können.

Die Substitution von Jod findet beim Hexan und Cyclohexan nach MESHITSUKA und BURTON (1959) mit Ausbeuten der entsprechenden Jodide von 2,5 resp. 2,1 (*G*-Werte) statt, beim Benzol aber nur mit *G*(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>J) = 0,9. Auch die primäre Radikalbildung unter H-Verlust ist deshalb beim Benzol entsprechend unwahrscheinlicher.

#### ξ) Gemische zwischen Benzol und anderen Stoffen

Wie MANION und BURTON (1952) eindrücklich dargetan haben, findet zwischen den verschiedenen Molekülen eines organischen Stoffgemisches ein *Energie-transport* statt. Die Ausbeute an Strahlenreaktionsprodukten kann deshalb eine ganz andere sein, als dies durch das Mittel der *G*-Werte multipliziert mit den entsprechenden Prozentzahlen der Bindungselektronen der beiden Stoffe des Gemisches erwartet wird. Die Beziehung

$$G(M) = G(A) \cdot n_a + G(B) \cdot n_b$$

gilt deshalb meist nicht. Darin bedeuten *G*(M) die Ausbeute eines bestimmten Reaktionsproduktes bei Bestrahlung der Mischung, *G*(A) und *G*(B) die Ausbeuten desselben Reaktionsproduktes der reinen Stoffe A und B und *n<sub>a</sub>* und *n<sub>b</sub>* die Zahlen der für die Bildung des Reaktionsproduktes in Betracht fallenden Bindungselektronen der beiden Stoffe.

In Abb. 26 sind die von den genannten Autoren an Gemischen von Cyclohexan mit Benzol gefundenen Ausbeuten an Wasserstoff dargestellt. Schon geringe Benzolmengen verursachen einen sehr scharfen Abfall der H<sub>2</sub>-Ausbeute aus Cyclohexan, offenbar als Ausdruck dafür, daß die Anregungsenergie oder Ionisation des C<sub>6</sub>H<sub>12</sub> mit hoher Wahrscheinlichkeit auf Benzol übertragen werden kann. Damit findet beim Ersteren keine H<sup>·</sup>-Abspaltung mehr statt.

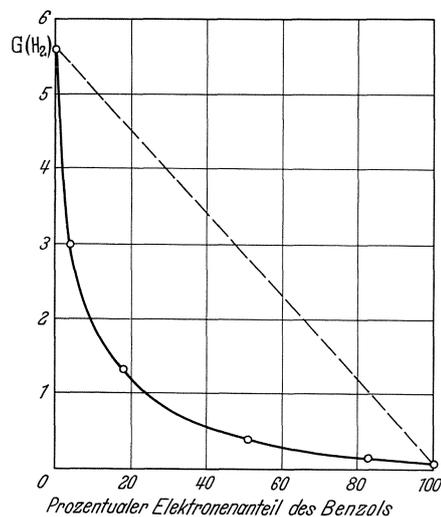
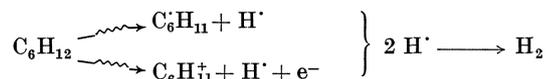
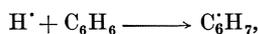


Abb. 26. „Schutzwirkung“ zwischen Benzol und Cyclohexan auf die H<sub>2</sub>-Ausbeute bei Bestrahlung von Gemischen mit 1,5 MeV-Elektronen. Ausgezogene Kurve: tatsächliche Ausbeute; gestrichelte Gerade: zu erwartende Ausbeute ohne gegenseitige Beeinflussung (nach MANION und BURTON 1952)

Wenn in reinem Cyclohexan die Reaktionen



mit hoher Ausbeute zur  $\text{H}_2$ -Bildung führen, so ist die Anlagerung von  $\text{H} \cdot$  an Benzol



welche nach den Versuchen von GÄUMANN (1961) durch Bindung mit dem in einem ersten Reaktionsschritt entstandenen Phenylradikal  $\text{C}_6\text{H}_5 \cdot$  ohne Zweifel zu den Cyclohexadienverbindungen im Strahlenpolymerisat des Benzols führt, doch viel zu unwahrscheinlich, um dem Ausfall an  $\text{H}_2$  bei Benzolzugabe nach Abb. 26 genügen zu können. Im übrigen müßte dabei eine der  $\text{H}_2$ -Verminderung entsprechende Vermehrung des „Polymerisates“ auftreten, was den Autoren wohl sicher nicht entgangen wäre. Der Abfall der  $\text{H}_2$ -Bildung bei Benzolzugabe muß also andere und zwar elektronische Ursachen haben.

Zunächst liegt das Ionisationspotential des Cyclohexans mit 11 eV wesentlich höher als dasjenige des Benzols mit 9,2 eV. Ein Ladungstransport (Elektronenübertritt)



ist also ein „exothermer“ und damit sicher möglicher Vorgang. Die sechs  $\pi$ -Elektronen im Benzolring begünstigen denselben in hohem Maße, ohne daß dabei die H-Bindungen sehr wesentlich beeinflußt werden. Weiter sind zwischen den zahlreichen Anregungsstufen beider Moleküle auch Übergänge von der Form



mit hoher Wahrscheinlichkeit möglich. Einzige Voraussetzung dazu ist eine genügend lange „Lebensdauer“ der ionisierten oder angeregten Zustände des Cyclohexans.

Daß der „Schutz“ des Cyclohexans durch Benzol eintreten muß, bevor Radikalreaktionen vor sich gehen können, ist von WEBER, FORSYTH und SCHULER (1955) durch Jodzugabe zum System Cyclohexan—Benzol gezeigt worden. Der Jodverbrauch durch Radikalreaktionen von der Form



fällt mit zunehmender Benzolkonzentration mit der gleichen Gesetzmäßigkeit ab wie die  $\text{H}_2$ -Bildung nach Abb. 26.

Energieübertragungen sind auch zwischen Benzol und anderen Stoffen in entsprechenden Gemischen nachgewiesen worden. Dabei ist die Wechselwirkung zwischen den beiden Partnern eines Stoffgemisches sicher eine gegenseitige, da auch Verstärkungen der Ausbeute möglich sind. Als Hauptergebnis mit allgemeiner Bedeutung der etwas eingehender besprochenen Versuche ergibt sich, daß neben Diffusionserscheinungen für die Energieübertragung in *flüssigen Systemen auch elektronische Vorgänge* von wesentlicher Bedeutung werden können.

### b) Organische Halogenverbindungen

Halogenhaltige Stoffe stellen strahlenchemisch insofern einen Sonderfall dar, als die Bindungsenergien aller Halogene mit Ausnahme des Fluors an Kohlenstoff tiefer liegen als die C—C- oder C—H-Bindungen. Sie betragen in aliphatischen Stoffen 3,5 eV für C—Cl, 2,9 eV für C—Br und 2,3 eV für C—J. In aromatischer Bindung sind sie ca. 0,2 eV höher. Die *Dehalogenierung* bei Bestrahlung erfordert also weniger Energie als die bisher behandelten chemischen Spaltungsprozesse. Weiter verursacht die Halogenanlagerung an ein organisches Molekül an der Bindung eine Ladungsverschiebung, so daß alle nicht symmetrisch gebauten organischen Halogenverbindungen starken Dipolcharakter mit den sich daraus ergebenden Folgen zeigen. Schließlich sind alle Halogene für Elektronen affine Stoffe und im atomaren Zustand starke Radikalfänger. Alle diese

Tatsachen sind bei der Betrachtung von Strahlenwirkungen auf organische Halogenverbindungen zu berücksichtigen.

Die erste etwas eingehendere Untersuchung der Strahlenwirkung auf eine organische Halogenverbindung wurde von GÜNTHER, v. D. HORST und CRONHEIM (1928) am *Chloroform* vorgenommen. Die Autoren stellten eine mit der Bestrahlungszeit zunehmende Bildung von Chlorwasserstoff fest, wobei aber das Anwachsen des Reaktionsproduktes, wie Abb. 27 zeigt, erst oberhalb einer bestimmten Strahlendosis einen linearen Verlauf ergab. Es ist dies, wie später von MINDER (1946, 1947) im Zusammenhang mit zahlreichen ähnlich verlaufenden Reaktionen dargetan wurde, der Ausdruck dafür, daß an der HCl-Bildung zwei getrennte Vorgänge beteiligt sein müssen, von denen der eine durch die Strahlung verursacht wird, während der andere „von selbst“ vor sich geht. Die vereinfachte Gleichung der Reaktionskinetik lautet für das Reaktionsprodukt X (HCl)

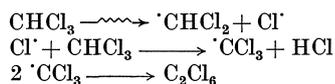
$$A \xrightarrow{\text{Strahlung}} B \longrightarrow X$$

$$\frac{dX}{dt} = k_1 J t - k_2 X$$

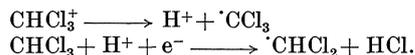
$$X = \frac{k_1}{k_2} J [k_2 t - (1 - e^{-k_2 t})],$$

wobei  $J$  die Strahlendosisleistung und  $t$  die Zeit bedeuten.

Die Interpretation der HCl-Bildung im Sinne der Reaktionsgleichung ergibt sich grundsätzlich zu



Dieser Mechanismus ist durch die von SCHULTE, SUTTLE und WILHELM (1953) nachgewiesene Bildung von Hexachloräthan bei Bestrahlung von Chloroform zum mindesten als einer der wichtigsten erwiesen worden. Daneben entstehen aber offenbar aus dem  $\cdot\text{CHCl}_2$ -Radikal noch weitere Reaktionsprodukte mit zwei C-Atomen. Daß neben den erwähnten Radikalreaktionen auch Ionenreaktionen ablaufen müssen, ist als sicher anzunehmen. Dabei wird bei Moleküldissoziation nach Ionisierung die Ladung vom H-Atom mitgeführt werden nach dem Schema



Die Radiolyse von  $\text{H}_2\text{O}$ - und  $\text{O}_2$ -freiem Chloroform hat in neuester Zeit durch OTTOLENGHI und STEIN (1961) eine neue Bearbeitung erfahren. Als Hauptprodukt haben auch diese Autoren HCl mit einer zwischen 5 und 6,3 ansteigenden Ausbeute ( $G$ -Wert) nachgewiesen. Ein ähnlicher Anstieg zwischen 0,57 und 1,2 fand sich ebenfalls für das unter Cl-Abspaltung entstandene Dimerisat Trichloräthan, während für die Bildung des Dichloräthylens ein Abfall  $G(\text{C}_2\text{H}_2\text{Cl}_2)$  von 0,9 auf 0,45 beobachtet wurde. Demgegenüber ändern sich die  $G$ -Werte von  $\text{C}_2\text{Cl}_6$  (3,2),  $\text{C}_2\text{H}_2\text{Cl}_4$  (1,1),  $\text{C}_2\text{HCl}_5$  (1,2) und  $\text{C}_2\text{Cl}_4$  (0,15) über das Dosisgebiet zwischen  $10^6$  und  $2 \cdot 10^6$  rad nicht. Die Änderungen der Ausbeute betreffen damit in Übereinstimmung mit der erwähnten Theorie offenbar nur diejenigen Umwandlungsprodukte, welche nicht durch einfache Radikalreaktionen entstehen können.

Für die allgemeine Einsicht in die Reaktionen bei *höher homologen Halogenkohlenwasserstoffen* ist die Beobachtung von WILEY u. Mitarb. (1960) von hohem Interesse, wonach bei Bestrahlung von *n*-Propylchlorid neben HCl ( $G = 4,3$ ) mit der sehr hohen Ausbeute von  $G = 56$  Isopropylchlorid gebildet werden soll. Dieser *intramolekulare Platzwechsel* zwischen dem endständigen Cl-Atom und einem H-Atom der in der Mitte des Moleküls

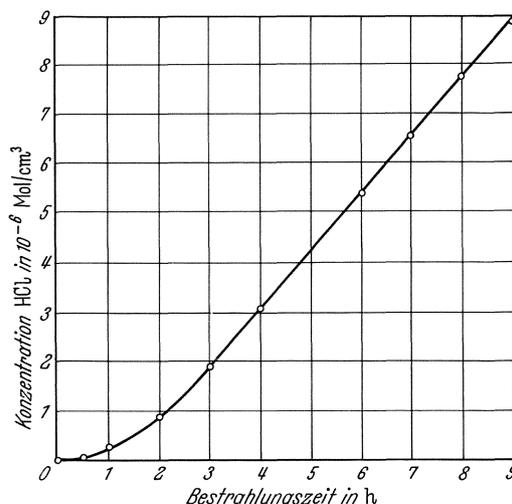


Abb. 27. Bildung freier Salzsäure bei der Bestrahlung von Chloroform (nach GÜNTHER, v. D. HORST und CRONHEIM 1928)

gelegenen  $\text{CH}_2$ -Gruppe muß deshalb schon bei relativ sehr geringen Energiezufuhren vor sich gehen. Er kann damit kaum das Ergebnis einer tatsächlichen Abtrennung und nachfolgenden Anlagerung der beiden in Frage stehenden Partner unter tatsächlicher Bildung der Zwischenradikale sein.

Die erste strahlenchemische Reaktion, welche als Dosimeterreaktion von FREUND (1904) in Vorschlag gebracht wurde, ist die Freisetzung von molekularem Jod aus einer Lösung von *Jodoform* in Chloroform. Sie hat leider neben einer mehr nur summarischen Prüfung durch BAUMEISTER und GLOCKER (1921) in der Folge keine eingehendere Bearbeitung mehr erfahren. Ihr Ablauf muß grundsätzlich nach dem Schema

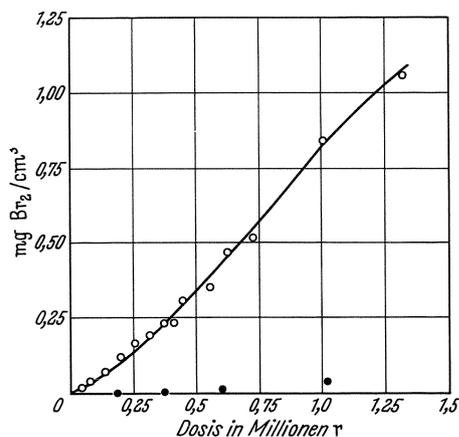
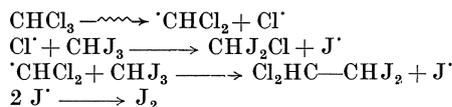


Abb. 28. Abspaltung von Brom aus Bromoform durch Röntgenstrahlen in wasserfreier Substanz. Punkte unten: Bestrahlung in fester Phase (nach MINDER 1956)

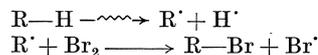


erfolgen und zeigt eine so hohe Ausbeute, daß schon relativ keine Strahlendosen eine Rotfärbung der bestrahlten Lösung bewirken.

Bekanntlich sind sowohl reines Chloroform, wie auch Jodoform in Chloroformlösung auch photochemisch zersetzbar, so daß verlässliche strahlenchemische Untersuchungen unter Lichtausschluß durchgeführt werden müssen. Die durch Lichteinfluß bei  $\text{O}_2$ -Gegenwart auftretende Phosgenbildung wird in der Zubereitung von Narkosechloroform wirksam durch Zusatz von 3% Äthylalkohol unterdrückt.

Die hohe Reaktionsausbeute, wie sie bei einfachen aliphatischen Halogenverbindungen bei Bestrahlung auftritt, kann nur durch einen *Kettenmechanismus* verstanden werden, bei dem Radikalrekombinationen unter Bildung stabiler Kohlenstoff-Halogenverbindungen eine nur untergeordnete Rolle spielen. Bei Bestrahlung von Bromoform wird neben HBr mit erheblicher Ausbeute [ $G(\text{Br}_2) = 1,6$ ] auch elementares Brom gebildet. Dazu ist es aber, wie die Abb. 28 nach MINDER (1956) zeigt, erforderlich, daß die Bestrahlung in flüssiger Phase erfolgt. In festem Bromoform ist die  $\text{Br}_2$ -Bildung um einen Faktor von der Größenordnung 20 geringer. Die beiden Br-Atome die zur Molekülbildung erforderlich sind, stammen deshalb zum weitaus größten Teil nicht aus demselben Bromoformmolekül.

Das Abfangen organischer Radikale durch Jod bei Bestrahlung wurde schon in Zusammenhang mit den Strahlenreaktionen des Benzols besprochen. In gleicher Weise, wenn auch wohl mit anderer Ausbeute ist auch Brom, wie von MINDER (1955) gezeigt worden ist, wirksam. Die Reaktion hat die grundsätzliche Form



und ergibt z.B. für die Bestrahlung einer Bromlösung in Benzol eine Ausbeute von  $G(-\text{Br}_2) = 0,03$ , in guter Übereinstimmung mit der  $\text{H}_2$ -Ausbeute aus Benzol (vgl. Tabelle 36, S. 140).

Findet die Bestrahlung organischer Halogenverbindungen in *Gegenwart von Sauerstoff* statt, so bilden sich Peroxide und anschließend einfachere  $\text{O}_2$ -Verbindungen. So haben die schon erwähnten Autoren SCHULTE, SUTTLE und WILHELM (1953) aus bestrahltem Chloroform  $\text{CCl}_3\text{OOH}$  und Phosgen  $\text{COCl}_2$  isoliert.

In teilweisem Gegensatz zu den Chlorverbindungen scheint bei Bestrahlung von *bromierten Kohlenwasserstoffen* HBr nur noch ein untergeordnetes Reaktionsprodukt zu sein. So wurde von WILCOX (1959) bei allen vier Isomeren des *Butylbromids* nur ein

$G(\text{HBr}) < 0,2$  gefunden. Die Ausbeuten der Br-freien Reaktionsprodukte geben aber überall ein Br-Defizit von fast  $\frac{2}{3}$  der total abgespaltenen Br-Menge, so daß neben den nachgewiesenen noch weitere Br-haltige Reaktionsprodukte haben gebildet werden müssen. Hauptprodukte sind in allen Fällen Br-freie Kohlenwasserstoffe und zwar bei n-Butylbromid und sek. Butylbromid n-Butan und beim Isobutylbromid und beim tert. Butylbromid Isobutylen. Bei den ersten beiden Substanzen muß demnach ein Ersatz des abgespaltenen Br-Atoms durch ein H-Atom stattfinden, bei den beiden letzteren aber eine Abspaltung des Br-Atoms und eine gleichzeitige Abspaltung eines H-Atoms am benachbarten C-Atom unter Bildung einer Doppelbindung. Beim Isobutylbromid findet mit hoher Ausbeute eine Isomerisierung (Umlagerung zwischen Br und H) zu tert. Butylbromid statt. Dibromverbindungen sind bei verzweigten Ausgangssubstanzen etwa doppelt so häufig wie bei gestreckten. Ihre gegenüber den Br-freien Produkten geringen Ausbeuten verunmöglichen aber die Aufstellung sinnvoller Reaktionsmechanismen.

Tabelle 39.  $G$ -Werte verschiedener Reaktionsprodukte bei Bestrahlung einfacher Alkyljodide nach SCHULER und PETRY (1956)

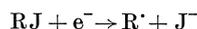
Verbindung	H <sub>2</sub>	J <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub>
CH <sub>3</sub> J	0,08	1,20	0,57	1,05	0,08	0,03	0,005	0,001
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> J	0,20	2,03	0,007	1,12	2,00	0,11	0,007	—
n-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> J	0,26	1,44	0,015	0,005	0,13	0,04	1,03	1,27

Welche Reaktionen wegen der geringen Bindungsenergie des J-Atoms an einfache Alkylgruppen mit und als Folge der *Jodabspaltung* bei Bestrahlung ablaufen, geht aus den ausführlichen Resultaten von SCHULER und PETRY (1956), welche in Tabelle 39 auszugsweise wiedergegeben sind, hervor.

Die stoechiometrische Bilanz zwischen der J<sub>2</sub>-Bildung und den übrigen Reaktionsprodukten zeigt beim Methyljodid ein Joddefizit, bei den beiden anderen Verbindungen einen Jodüberschuß.

Ohne Zweifel müssen beim Methyljodid in geringem Maße Verbindungen mit mehreren Jodatomen oder Jodwasserstoff entstehen, bei den beiden anderen Alkyljodiden aber Polymerisate, welche durch die Analyse nicht erfaßt worden sind. Die Zahlenwerte der Tabelle 39 beweisen das Vorherrschen der molekularenergetisch wahrscheinlichsten Reaktion, zeigen aber gleichzeitig auch die Komplexität der tatsächlichen Vorgänge.

Dabei sind wegen der Elektronenaffinität des J-Atoms, welche die Bindungsenergie C—J übertrifft, in erheblichem Maße auch Reaktionen von der Form



und deren Folgen in Betracht zu ziehen.

### e) Sauerstoffhaltige Verbindungen

Bei der Betrachtung strahlenchemischer Reaktionen an sauerstoffhaltigen Verbindungen ist eine Unterteilung in solche mit Einfachbindungen zwischen Kohlenstoff und Sauerstoff und solche mit  $\sigma$ - $\pi$ -Bindungen sinnvoll. Die erstere Gruppe, umfassend Alkohole und Äther, zeigen kein grundsätzlich neues Verhalten. Die Anwesenheit von Sauerstoff im Molekül als bindendes Element zwischen Wasserstoff und Alkyl (einfach substituiertes Wasser = *Alkohol*) resp. zwischen zwei Alkylen (zweifach substituiertes Wasser = *Äther*) ändern das Reaktionsgeschehen nicht. Demgegenüber bewirkt die Doppelbindung C=O bei den *Aldehyden* und *Ketonen* und die hybridisierte Doppelbindung in der Karboxylgruppe der *Säuren* eine starke Änderung der Bindungsverhältnisse des endständigen C-Atoms. Bei diesen Stoffen sind deshalb in vermehrtem Maße O-haltige Reaktionsprodukte zu erwarten.

*α) Alkohole*

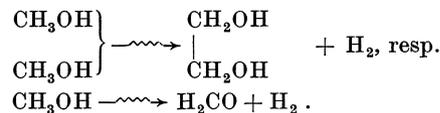
Die hauptsächlichsten Reaktionsprodukte der Bestrahlung von n-Alkoholen sind nach McDONELL und NEWTON (1954) in der nachstehenden Tabelle 40 zusammengestellt.

Zusätzlich werden je nach Zusammensetzung der Ausgangssubstanz die um ein C-Atom ärmeren Kohlenwasserstoffe gebildet, wobei auch ungesättigte Verbindungen entstehen können.

Das auffälligste Ergebnis ist ohne Zweifel die Konstanz der  $H_2$ -Bildung, welche mit Ausnahme des n-Propylalkohols innerhalb weniger Prozente überall dieselbe ist. Weiter besteht zum mindesten für die drei ersten Glieder der Reihe die angenäherte Äquivalenz

$$G(H_2) \cong G(\text{Glyc}) + G(\text{Ald}).$$

Die hauptsächlichsten Reaktionen müssen demnach die seitliche Verkettung resp. der einfache  $H_2$ -Verlust sein (Methyl-):



Die Ausbeuten beider Reaktionen fallen ziemlich systematisch mit steigender Moleküllänge ab. Dasselbe ist auch der Fall für die Abspaltung der OH-Gruppe, welche unter nachträglichem H-Einfang zu Wasser führt. Spezifische Reaktionen unter Bildung bestimmter Produkte werden allgemein um so unwahrscheinlicher, je mehr Reaktionsmöglichkeiten das bestrahlte Molekül erlaubt.

Tabelle 40. *G*-Werte der hauptsächlichsten Reaktionsprodukte bei Bestrahlung von n-Alkoholen mit 28 MeV- $\alpha$ -Strahlen nach McDONELL und NEWTON (1954)

Produkt	Methyl-	Äthyl-	n-Propyl-	n-Butyl-	n-Oktyl-	n-Decyl-
$H_2$	3,46	3,46	2,80	3,59	3,48	3,47
Glycol	1,75	1,05	0,85	0,92	0,56	0,51
Aldehyd	1,4	2,2	2,14	1,5	0,7	1,0
$H_2O$	0,93	0,81	0,93	0,63	0,43	0,31

Alkohole mit mehreren Methylgruppen ergeben geringere Ausbeuten an  $H_2$ , dafür aber größere an Methan. Eine quantitative gegenseitige Korrelation besteht aber nicht. Es braucht wohl nicht noch im Einzelnen dargetan zu werden, daß die oben formulierten Reaktionen natürlich über Zwischenradikale (und -Ionen) ablaufen. In diesem Zusammenhang sind daher die Befunde von BURR (1957) von Interesse, daß das häufigste Ion von Äthanol im Massenspektrogramm  $CH_3C^+HOH$  ist und daß bei der Radiolyse von deuteriertem Alkohol die Bildung von molekularem Wasserstoff zum Hauptteil aus der Methylengruppe erfolgt. Die primären Radikale des Äthanol sind in absteigender Bedeutung  $CH_3\cdot CHO$ , dann  $CH_3CH_2O\cdot$  und  $CH_3\cdot CH_2$ .

Eine erneute Untersuchung der Radiolyse des einfachsten Alkohols Methanol mit  $\gamma$ -Strahlen durch MESHITSUKA und BURTON (1958) ergab für die fünf bestimmten Reaktionsprodukte die Ausbeuten  $G(H_2) = 5,39$ ,  $G([CH_2OH]_2) = 3,63$ ,  $G(H_2CO) = 1,84$ ,  $G(CH_4) = 0,54$  und  $G(CO) = 0,12$ . Mit denselben ist der Stoechiometrie der Umsätze ebenfalls weitgehend Genüge getan, wie die angenäherte Äquivalenz

$$G(H_2) = G([CH_2OH]_2) + G(H_2CO) - \frac{1}{2}G(CH_4)$$

zeigt. Die gegenüber der Tabelle 40 wesentlich höheren Ausbeuten sind auf Grund der verschiedenen spezifischen Energieabgaben der verwendeten Strahlungen zwanglos verständlich. Schließlich haben neueste Arbeiten von THEARD und BURTON (1963) gezeigt, daß die (von den oben genannten leicht abweichenden) Ausbeutewerte über einen Dosisbereich von 0,5—5 Mrad konstant sind, und daß Radikalfänger, wie  $J^-$ , die Glykolyse stark reduzieren, dagegen die Formaldehydausbeute ansteigen lassen.

$\beta$ ) Äther

Die Grundvorgänge bei Bestrahlung von Äthern sind denjenigen an Alkoholen sehr ähnlich. Eine systematische Untersuchung von NEWTON (1957) hat gezeigt, daß die Bildung von  $H_2$  wieder der vorherrschende Vorgang ist. Wichtigste Reaktionsprodukte sind daneben hydroxylhaltige Stoffe, Carbonylverbindungen und „Polymerisate“, die letzteren offenbar durch Vereinigung der Restmoleküle nach  $H\cdot$ -Abspaltung entstanden.

 $\gamma$ ) Aldehyde und Ketone

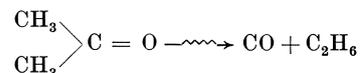
Wie eingangs erwähnt, ist die  $\sigma$ - $\pi$ -Bindung der Carbonylgruppe in Aldehyden und Ketonen das für die Strahlenreaktionen bestimmende Moment. Der hauptsächlichste Vorgang besteht in der Ablösung der an diese Gruppe gebundenen Alkylradikale unter Vereinigung zu stabilen Kohlenwasserstoffen. Dies wird durch die in Tabelle 41 dargestellten Versuchsergebnisse von AUSLOOS und PAULSON (1958) an einfachen Ketonen überzeugend dargetan.

Zunächst ist die Bildung von Kohlenwasserstoffen bei allen drei Substanzen eine höhere als diejenige von CO. Es gilt also

$$G(C_nH_m) > 2G(CO).$$

Dies bedeutet, daß die Lösung beider Alkylbindungen der Carbonylgruppe nur in etwa  $\frac{1}{3}$  der Fälle erfolgt. Es müssen demnach zu den in Tabelle 41 angegebenen Reaktionsprodukten noch O-haltige Stoffe gebildet werden, die durch den Versuch nicht erfaßt worden sind. Die CO-Bildung ist beim Diäthylketon fast doppelt so hoch, wie bei den

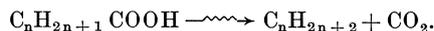
beiden anderen. Die Bindung an Methylen ist also bedeutend schwächer als diejenige an Methyl. Gleichzeitig wird durch die Anwesenheit der  $-CH_2-$ -Gruppe auch die Wasserstoffbildung wesentlich erhöht, sowie die Dimerisierung zu Äthylen ermöglicht. Interessant ist schließlich die Tatsache, daß die Dimerisierung der beiden an die Carbonylgruppe gebundenen Radikale, welche beim Aceton zu Äthan, beim Methyläthylketon zum Propan und beim Diäthylketon zum Butan führt, bei allen Stoffen mit der fast gleichen Wahrscheinlichkeit erfolgt. Offenbar werden diese stabilen Dimerisate größtenteils aus Bestandteilen des gleichen Moleküls, also durch sofortige Vereinigung der beiden Alkylradikale nach Abspaltung der Carbonylgruppe gebildet. Wie der Vergleich der Ausbeuten der übrigen Kohlenwasserstoffe zeigt, macht diese „Sofortreaktion“ (z.B. Aceton)



etwa  $\frac{1}{10}$  aller Reaktionen aus, und sie liefert bei den beiden leichteren Ketonen etwa die Hälfte, beim Diäthylketon etwa einen Viertel des Kohlenmonoxids.

 $\delta$ ) Säuren

Wie SHEPPARD und BURTON (1946) gefunden haben, besteht die hauptsächlichste Reaktion bei Bestrahlung von Fettsäuren mit  $\alpha$ -Strahlen in der Abspaltung der Carboxylgruppe unter Bildung von  $CO_2$  und dem der Säure entsprechenden restlichen Paraffin



Da aber neben  $CO_2$  und gesättigten Paraffinen, wie später NEWTON (1957) nachgewiesen hat, auch noch größere Mengen Wasser, sowie CO und ungesättigte Kohlenwasserstoffe

Tabelle 41.  $G$ -Werte der Reaktionsprodukte von einfachen Ketonen bei Bestrahlung mit  $\gamma$ -Strahlen nach AUSLOOS und PAULSON (1958)

Produkt	Aceton (Dimethyl- Keton)	Methyl- Äthyl- Keton	Diaethyl- Keton
CO	0,83	0,83	1,52
$H_2$	0,87	1,2	1,22
$CH_4$	2,6	0,85	0,12
$C_2H_4$	—	0,47	0,53
$C_3H_6$	0,48	2,77	3,95
$C_3H_8$	—	0,42	—
$C_4H_{10}$	—	0,17	0,34

Tabelle 42. *G*-Werte der Reaktionsprodukte einfacher Fettsäuren nach Bestrahlung mit 32 MeV- $\alpha$ -Strahlen nach NEWTON (1957)

Ausg. Produkte	H <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	CO	H <sub>2</sub> O	CH <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub>
Essigsäure	0,52	4,04	0,38	2,15	1,38	—	—	0,85	—
Propionsäure	0,79	3,97	0,28	1,58	0,53	0,33	0,64	1,07	0,69

entstehen, muß das Reaktionsgeschehen im Einzelnen erheblich komplizierter sein, als dies durch die obige Gleichung versinnbildlicht wird. Es sollen deshalb in Tabelle 42 zunächst die Ergebnisse an Essigsäure und Propionsäure im Auszug wiedergegeben werden.

Bei der Essigsäure können nur  $\frac{3}{4}$  des gebildeten CO<sub>2</sub> durch die vorstehende einfache Reaktionsgleichung dargestellt werden. Der Rest muß durch andere Vorgänge entstehen.

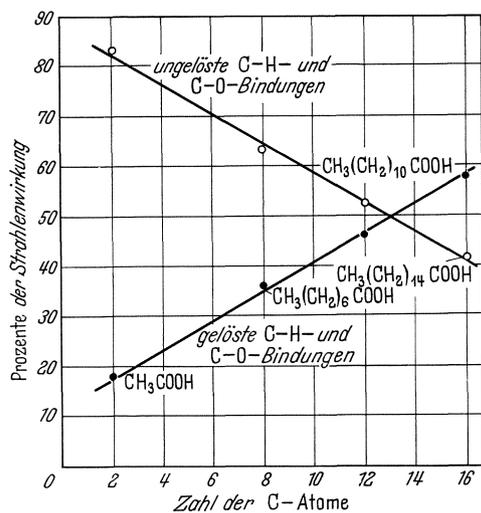


Abb. 29. Verlauf der relativen Anteile der Spaltprodukte bei der Bestrahlung von Fettsäuren in Abhängigkeit von der Zahl der C-Atome (nach SHEPPARD und BURTON 1946). Die Zahl der ungelösten C—H- und C—O-Bindungen entspricht der Zahl der Spaltungen der Kohlenstoffkette

nachgewiesen worden. Dasselbe könnte nach dem Schema

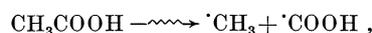


unter nachträglicher H<sub>2</sub>O-Bildung nach



entstehen.

Die dabei ablaufende Kette würde die erheblichen CO<sub>2</sub>- und H<sub>2</sub>O-Überschüsse verständlich machen. Sicher ist die bei weitem wichtigste Primärreaktion bei Bestrahlung von einfachen Fettsäuren die Abspaltung der Carboxylgruppe (z. B. Essigsäure):



wobei die weiteren Reaktionen dieser (ungeladenen oder geladenen) Spaltstücke zum Hauptteil der stabilen Produkte führen.

Je länger aber die Paraffinkette der Fettsäure wird, desto mehr nähern sich die strahlenchemischen Reaktionen denen von Paraffinen. Die relative Bedeutung der Ab-

Bei der Propionsäure ist wegen der relativ hohen Mengen an Acetylen, Äthylen und Methan eine entsprechende Interpretation nicht möglich. In beiden Fällen ist die Bildung von Wasser relativ sehr hoch und diejenige von H<sub>2</sub> tief. Sicher entsteht ein Teil des Wassers aus der primär abgespaltenen OH-Gruppe, was durch die Bildung von CO erwiesen ist. Wie BURR (1957) gefunden hat, ist das wichtigste Ion der Essigsäure im Massenspektrometer COOH<sup>+</sup>. Weiter hat derselbe Autor mit isotopisch markierter Essigsäure nachgewiesen, daß das Methan hauptsächlich durch den Vorgang



gebildet wird. Ähnlich kann auch die Äthanbildung bei der Propionsäure vor sich gehen. Dabei muß das Restradikal durch weitere Reaktionen abgebaut werden, beispielsweise unter Bildung des entsprechenden Ketons. So ist von BACH (1956) bei Bestrahlung von Essigsäure Aceton mit einer Ausbeute von  $G(\text{Ac}) = 0,45$

spaltung der Carboxylgruppe wird mit steigender Kettenlänge geringer, die Bildung von Wasserstoff entsprechend höher. Diese Tatsache ist nach den Versuchsergebnissen von SHEPPARD und BURTON (1946) in der von MEISTER und MINDER (1950) berechneten Darstellung der Abb. 29 sehr eindrücklich. Die beiden Geraden entsprechen den relativen Anteilen der gelösten CH- und CO-Bindungen einerseits (Reaktionsprodukte:  $H_2$ ,  $H_2O$ ,  $O_2$ ) und andererseits dem relativen Anteil der gespaltenen C—C-Bindungen (Reaktionsprodukte:  $CO$ ,  $CO_2$ ,  $C_nH_m$ ); beide zusammen ergeben 100%. Der Kettenbruch, insbesondere in Form der Carboxylabspaltung fällt proportional mit der Länge der Kohlenstoffkette der Fettsäure ab. Entsprechend steigt die Abspaltung von an Kohlenstoff gebundenen Atomen, insbesondere von Wasserstoff proportional mit steigender Kettenlänge an. Ein grundsätzlich gleichartiger Verlauf, zum mindesten bis hinauf zur Palmitinsäure, würde auch resultieren, wenn nur die  $G(H_2)$ - und die  $G(CO_2)$ -Werte in derselben Weise zur Darstellung gebracht würden.

#### d) Stickstoff- und schwefelhaltige Verbindungen

Ähnlich wie bei den halogenhaltigen organischen Stoffen ist die einfache Bindung C—N in stickstoffhaltigen Substanzen erheblich schwächer als diejenigen des Kohlenstoff-Wasserstoffgerüsts. Ihre Energie beträgt nur 3,3 eV. Es ist deshalb bei Bestrahlung N-haltiger Verbindungen stets eine Abtrennung des N-Atoms resp. der N-haltigen Gruppe zu erwarten. Daneben ist aber die Abspaltung von Wasserstoff, sowohl von den C-Atomen als auch bei Aminen vom N-Atom die vorherrschende Reaktion.

Das experimentelle Material an reinen N-haltigen Substanzen ist leider so spärlich, daß daraus noch keine grundsätzlichen Gesetzmäßigkeiten entnommen werden können. Eine gewisse Ausnahme stellen die Elektronenspinresonanzuntersuchungen an Aminosäuren und deren Polymerisaten dar, auf welche schon (S. 54 ff.) hingewiesen worden ist. Aus den dort erwähnten und weiteren Untersuchungen von SHIELDS und GORDY (1958) und RANDOLPH und PARRISH (1958) geht hervor, daß die in festen Aminosäuren durch Bestrahlung gebildeten Radikale mit der Zahl der quantenhaften Primärphänomene (Ionisationen und Elektronenanregungen) größenordnungsmäßig übereinstimmen. Die Radikale sind ihrer Zahl nach über lange Zeiten beständig. Dagegen scheinen sie bezüglich ihrer chemischen Natur Änderungen unterworfen zu sein, so daß langsam ablaufende Reaktionen angenommen werden müssen.

In die gleiche Richtung weisen auch die neueren Elektronenspinresonanzuntersuchungen von PATTEN und GORDY (1961) an verschiedenen bestrahlten Aminosäuren bei der Temperatur der flüssigen Luft. Diese ergaben andere und zwar meist einfachere Feinstrukturen der Spektren, als bei Normaltemperatur. Die unter normalen Verhältnissen erfaßbaren Radikale sind deshalb wohl schon das Ergebnis von Folgeprozessen (Wanderung des ungepaarten Elektrons unter entsprechender Strukturänderung resp. Reaktionen, wie Isomerisationen und ähnliche).

Für die einfachste Aminosäure Glycin ist das primär in fester Phase gebildete Bestrahlungsprodukt zum größten Teil das Zwitter-Ion  $NH_3^+CH_2COO^-$ , aus welchem Methylamin, Essigsäure und  $CO_2$  entstehen. Dabei ist aber die Stoechiometrie der Reaktionsprodukte keine einfache. Immerhin zeigt dieses Beispiel, daß selbst in fester Phase Atomübertritte in bestrahlten Molekülen möglich sind. Bei höher polymeren Gliedern ist aber bei Bestrahlung von Einkristallen als hauptsächliche Primärreaktion nach SCHOFFA (1964) die Abspaltung der Aminogruppe unter Bildung des entsprechenden Radikals anzusehen.

Bei schwefelhaltigen Verbindungen ist das Versuchsmaterial noch spärlicher. Sicher ist bei SH-haltigen Stoffen, wie z.B. einfachen Mercaptanen, ein Wasserstoffverlust, wahrscheinlich unter Dimerisierung vorhanden. Zusätzlich ist aber auch die Lösung der C—S-Bindung unter Bildung von Schwefelwasserstoff qualitativ nachgewiesen. Bei Cystein entsteht aus der Carboxylgruppe auch  $CO_2$ .

Die Kenntnisse der Strahlenchemie dieser biologisch wichtigen Stoffgruppen sind noch sehr rudimentär. Hier ist für die weitere Forschung noch ein weites und dankbares Arbeitsgebiet vorhanden.

### e) Organische Lösungen

Lösungen von Fluorkohlenwasserstoffen in Benzol wurden von FENG (1958) bestrahlt und die Radikalbildung mit Diphenylpicrylhydrazyl bestimmt. Die so erhaltenen Ausbeutewerte erwiesen sich als wenig von der Zusammensetzung des Ausgangsmaterials abhängig und betragen bei aliphatischen Verbindungen 0,7—0,9 (für  $\text{CHF}_3$  resp.  $\text{CF}_4$ ) und bei aromatischen 0,9—1,1 (für  $\text{C}_6\text{H}_5\text{F}$  resp.  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CF}_3$ ).

Die bisher wohl umfassendste systematische Untersuchung über die Strahlenreaktionen organischer Stoffe in organischen Lösungsmitteln betrifft die Chlorabspaltung von Chlor-kohlenwasserstoffen in Äthanol und Aceton. Wie dabei von MINDER (1950, 1951) gezeigt worden ist, erleiden sowohl DDT-Stoffe [z. B. bis-(p-Methylphenyl)trichloräthan] wie auch Hexachlorcyclohexan, aber auch einfacher gebaute Chlorverbindungen eine Cl-Ab-spaltung, welche der Strahlendosis in weiten Grenzen streng proportional verläuft. In Abb. 30 sind die Ergebnisse für verschiedene Konzentrationen eines gelösten Stoffes dargestellt. Dabei wurde schon in diesem ersten Versuch das bemerkenswerte Resultat gefunden, daß eine Wasserzugabe bis zu 25 Vol.-% die Ausbeute an nachweisbarer Salzsäure (im wäßrigen Auszug) *nicht* meßbar vergrößert. Auf diese Tatsache soll später noch einmal im Sinne eines Erklärungsversuches eingegangen werden.

In einer etwas größeren Versuchsreihe von MINDER und HEYDRICH (1952) wurden insgesamt sieben verschiedene Halogenkohlenwasserstoffe in alkoholischer Lösung bei verschiedenen Konzentrationen bestrahlt. Es betraf dies die drei DDT-Homologen bis-(p-Methylphenyl)-trichloräthan, bis-(3,4-Dimethylphenyl)-trichloräthan und bis-(p-Chlorphenyl)-chloräthylen und die vier einfacheren Stoffe, Chloroform, Hexachloräthan, p-Dichlorbenzol und  $\gamma$ -Hexachlorcyclohexan.

Die Variation des Ausbeutewertes an freier Salzsäure (im wäßrigen Auszug nach Bestrahlung) mit der Konzentration ist in Abb. 31 wiedergegeben. Zunächst geht aus der Darstellung hervor, daß aliphatisch gebundenes Chlor (Verb. 1, 2, 3, 4) mit viel höherer Ausbeute abgespalten wird, als aromatisch gebundenes (Verb. 6 und 7). Weiter zeigen alle Konzentrationsverläufe der Ausbeuten die grundsätzlich gleiche Gesetzmäßigkeit. Sie können durch die Funktion

$$G_{(c)} = G_i (1 - e^{-\sigma c}) + kc$$

dargestellt werden, worin  $c$  die Konzentration und  $\sigma$  und  $k$  Konstanten bedeuten. Der Konzentrationsverlauf der Ausbeute zerfällt in einen exponentiellen und einen linearen Anteil. Wie durch eingehende Analysen gezeigt werden konnte, entspricht das erste Glied der Wirkung über das Dispersionsmittel Alkohol (also der „indirekten“ Wirkung), während das lineare Glied durch den Angriff der Strahlung auf das gelöste Molekül direkt verursacht wird. Der Grenzwert  $G_i$  (der „indirekten“ Wirkung) bei großen Konzentrationen ist dann erreicht, wenn der im Dispersionsmittel für die beobachtete Reaktion verfügbare Energieanteil vollständig für die Reaktion verwendet wird. Der „Einwirkungskoeffizient“  $\sigma$  hat deshalb die Dimension einer reziproken Konzentration  $\left[ \frac{\text{cm}^3}{\text{Molekül}} \right]$  und gibt den Raum im bestrahlten System an, innerhalb welchem die für die Reaktion erforderliche Energie verlustlos für den beobachteten Umsatz verbraucht wird. Diese Volumina sind bezogen auf die Ionisationsenergie der Luft ( $W = 34$  eV) von der Größenordnung zwischen  $5 \cdot 10^{-20} \div 25 \cdot 10^{-20} \text{ cm}^3$ . Die Energie kann also in Alkohol über Distanzen zwischen etwa 25 und 40 Å verlustlos übertragen werden. Es ist in diesem Zusammenhang interessant zu erwähnen (vgl. S. 83), daß die entsprechenden Distanzen in Wasser 2—4mal größer sind, was mit der im Mittel verschiedenen Größe der entsprechenden Teilchen (Radikale, Ionen) aber auch mit der Struktur des Systems in Zusammenhang gebracht werden darf.

Die Tatsache, daß die HCl-Ausbeute alkoholischer Lösungen von Chlorkohlenwasserstoffen durch Zugabe großer H<sub>2</sub>O-Mengen (bis zur Verdoppelung der OH-Gruppen pro Volumeneinheit) nicht meßbar verändert wird, erfordert eine sinnvolle Erklärung. Diese könnte in der vorwiegenden direkten Reduktion der Cl-Atome der Halogenverbindungen

durch H<sup>•</sup>-Radikale gefunden werden. Die Konzentrationen an H-Atomen im Äthylalkohol (130 mMol/g) und Wasser (111 mMol/g) sind voneinander nur wenig verschieden. Die H<sub>2</sub>O-Zugabe ändert demnach die Wahrscheinlichkeit der primären H<sup>•</sup>-Bildung nur

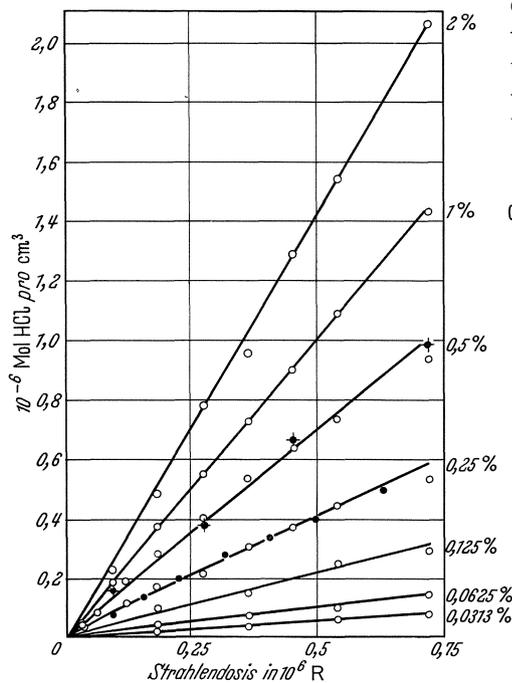


Abb. 30

Abb. 30. Bildung von HCl bei Bestrahlung alkoholischer Lösungen von bis-(p-Methylphenyl)-trichloräthan (Abb. 31.2) bei verschiedenen Konzentrationen (nach MINDER 1950). Die ausgefüllten Signaturen entsprechen H<sub>2</sub>O-Gehalten von 12,5 resp. 25 Vol.-%

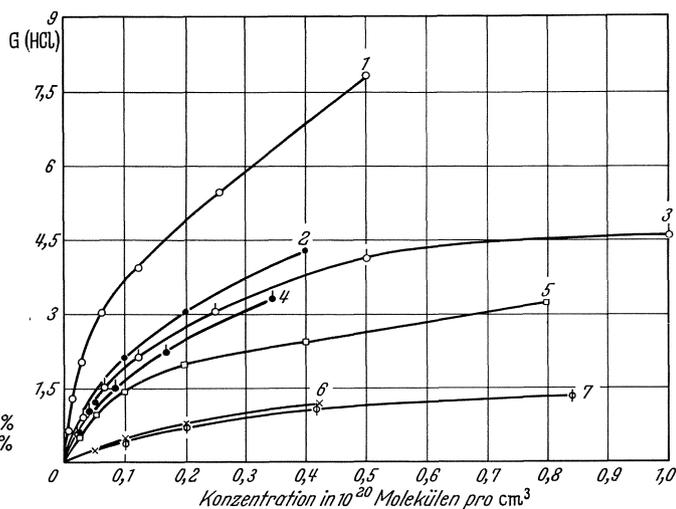
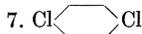
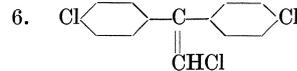
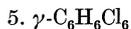
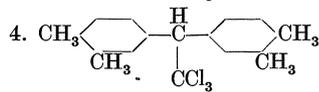
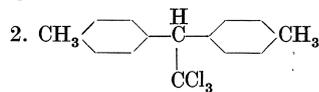


Abb. 31

Abb. 31. Konzentrationsabhängigkeit der Ausbeute  $G(\text{HCl})$  bei der Bestrahlung verschiedener Chlorkohlenwasserstoffe in alkoholischer Lösung (nach MINDER und HEYDRICH 1952)



unwesentlich. Ebenso sind die  $G(\text{H})$ -Werte bei Wasser und Äthylalkohol von vergleichbarer Größe. Unter der Voraussetzung des Reaktionsschemas

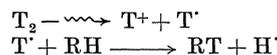


als bei weitem wichtigstem Vorgang wären die gleichen Ausbeuten mit und ohne Wasserzugabe verständlich. Welche quantitative Bedeutung dabei den übrigen Primärprodukten zugeschrieben werden muß, kann aus dem bisherigen Versuchsmaterial nicht entschieden werden.

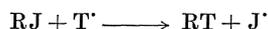
Von wesentlicher Bedeutung ist auch die Bildung höher molekularer Produkte bei der Bestrahlung von Gemischen wie MELLOWS und BURTON (1962) an Äthylen in Chloro-

form gezeigt haben. Dabei lagert sich sowohl das primär gebildete  $\cdot\text{CCl}_3$ -Radikal als auch das  $\text{H}\cdot$ -Radikal an Äthylenmoleküle an unter Bildung von Trichlorpropan, Trichlorpentan oder Trichlorheptan. Die Ausbeute dieser Polymerisate ist sehr hoch und wesentlich von der Bestrahlungstemperatur abhängig.

Strahlenreaktionen unspezifischer Natur an organischen Lösungen stellen schließlich auch die nach WILZBACH (1958) benannten Austausch- resp. Anlagerungsreaktionen von Tritium mit organischen Stoffen dar. Die dabei in Frage stehenden Vorgänge können grundsätzlich durch das Schema



dargestellt werden. Von erheblichem praktischen Interesse ist die sehr wesentlich erhöhte Spezifität der Reaktionsprodukte, wenn dem Einfluß von  $\text{T}_2$  jodierte Verbindungen ausgesetzt werden. Die Reaktionen laufen dann bevorzugt nach



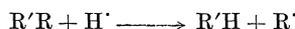
unter Bildung von an Stelle des Jods tritiierten Verbindungen ab. Ist der organische Stoff gasförmig, so wären nach den Untersuchungen von SCHAEFFER und THOMSON (1959) an  $\text{H}_2$  und  $\text{T}_2$  als Folge von Kettenmechanismen relativ sehr hohe Ausbeuten zu erwarten.

## IV. Strahlenchemie wäßriger Lösungen einfacher organischer Stoffe

### 1. Allgemeines

Solange Lösungen organischer Substanzen im Wasser als „verdünnt“ angesprochen werden dürfen, sind die durch Bestrahlung des Wassers gebildeten Primärprodukte die für die verursachten Reaktionen bestimmenden Faktoren. Insofern besteht vollkommene Analogie zum Reaktionsgeschehen in verdünnten Lösungen anorganischer Stoffe. Trotzdem sind aber einige Unterschiede von erheblicher Bedeutung vorhanden. Da organische Stoffe in wäßriger Lösung meist nicht elektrolytisch in Ionen gespalten sind und auch meist nicht in mehreren Oxydationsstufen vorkommen, sind die Bestrahlungsprodukte in Lösungen organischer Verbindungen ganz allgemein, sowohl ihrer Zahl als auch ihrer chemischen Natur nach, mannigfaltiger. In Zusammenhang damit muß auch das Fehlen eigentlicher Hydratationen (abgesehen von dissoziierten Säuren und Basen) Unterschiede bei den Einzelphänomenen verursachen. Trotzdem sind aber auch in Lösungen organischer Stoffe *Wasserstoffbrückenbindungen* zwischen *polaren Gruppen* des gelösten Stoffes und dem Dispersionsmittel ohne Zweifel eine sehr wichtige Voraussetzung der Bildung bestimmter Reaktionsprodukte.

Die Bindungsenergien zwischen Wasserstoff und Sauerstoff in Wasser von 5,2 eV für die Abtrennung des ersten H-Atoms und 4,4 eV für die Abtrennung des zweiten (Mittel: 4,8 eV) liegen wesentlich höher, als diejenigen aller organischen Bindungen mit einfachem  $\sigma$ -Charakter. Die primären Spaltprodukte des Wassers  $\text{H}\cdot$  und  $\text{OH}\cdot$  sind deshalb befähigt, grundsätzlich alle organischen Bindungen mit Energien unter etwa 4,5 eV zu lösen, unter entsprechender Abtrennung von Atomen oder Radikalen und Bildung stabiler einfacher Stoffe, wie z. B.  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{CO}_2$ . Welche Reaktionen dabei hauptsächlich vor sich gehen, hängt selbstverständlich zusätzlich vom Bau des gelösten Moleküls und damit von seinen internen Energieverhältnissen ab. Allgemein sind aber Vorgänge der Typen

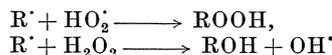


und



die bei weitem häufigsten und bei der Allgegenwart von Wasserstoff in organischen Verbindungen ist in sehr zahlreichen Reaktionen die Konkretisierung von  $\text{R}' = \text{H}$  unter Bildung von molekularem Wasserstoff einerseits und Wasser andererseits zu erwarten.

Ist die wäßrige Lösung sauerstoffhaltig, so müssen zusätzlich die durch das Radikal  $\text{HO}_2^\cdot$  und durch  $\text{H}_2\text{O}_2$  verursachten Reaktionen auftreten. Weiter sind auch durch das  $\text{O}_2^-$ -Ion (Elektroneneinfang durch  $\text{O}_2$ ) bewirkte Umsätze zu berücksichtigen. Als grundsätzliche Vorgänge dürfen dabei



und zusätzlich



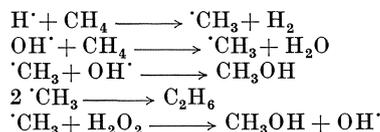
angenommen werden. Organische Radikale können aber auch mit (dem Biradikal) ungeladenem  $\text{O}_2$  direkt reagieren. Die Produkte sind demnach organische Hydroperoxide, Peroxide und hydroxylhaltige Stoffe, wobei das beim Umsatz mit  $\text{H}_2\text{O}_2$  gebildete  $\text{OH}^\cdot$ -Radikal natürlich zu weiteren Reaktionen befähigt ist.

Auf Grund der angeführten, allgemeinen Gesetzmäßigkeiten und im Zusammenhang mit der Darstellung der strahlenchemischen Verhältnisse des Wassers und anorganischer wäßriger Lösungen, darf sich die nachfolgende Einzeldarstellung wiederum auf die hauptsächlichsten Reaktionen und auf die (z.T. auch biologisch) wichtigsten Stoffgruppen beschränken. Nicht im Einzelnen angeführte Stoffe und Umsätze können dann per analogiam trotzdem in ihrem grundsätzlichen Reaktionsverhalten verstanden werden.

## 2. Aliphatische Kohlenwasserstoffe

Über das strahlenchemische Verhalten *gesättigter* Kohlenwasserstoffe in wäßriger Lösung bestehen bisher praktisch keine experimentellen Erfahrungen. HART und PLATZMANN (1961) diskutierten die Möglichkeiten der Strahlenreaktionen in wäßriger Lösung. Darnach sind die folgenden einfachen

Umsätze (*Methan*)



unter Bildung von Methanol und Äthan als hauptsächlichsten organischen Reaktionsprodukten zu erwarten.

Bei  $\text{O}_2$ -Gegenwart müßten höchstwahrscheinlich zusätzlich auch Methylhydroperoxid und Formaldehyd gebildet werden, ersteres sicher zum mindesten als Zwischenprodukt



Unter Normaldruck mit der *ungesättigten* einfachen Verbindung Äthylen versetztes Wasser ergibt bei Bestrahlung bei Gegenwart von  $\text{O}_2$  Formaldehyd, Acetaldehyd, Glycolaldehyd und Hydroperoxid. Ohne Sauerstoff sind die Produkte praktisch dieselben, allerdings mit wesentlich kleineren Ausbeuten, wie Tabelle 43 zeigt.

Die Reaktionsmechanismen sind im Einzelnen noch keineswegs aufgeklärt. Die relativ hohe Ausbeute an Aldehyden muß ohne Sauerstoff sicher über die Reaktion



und bei  $\text{O}_2$ -Gegenwart zusätzlich über



erfolgen.

Die einfache  $\text{H}^\cdot$ -Anlagerung ist wegen der Doppelbindung ein sehr wahrscheinlicher Prozeß. Sie führt zum Äthylradikal

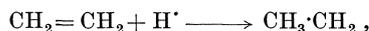


Tabelle 43. *G*-Werte der Reaktionsprodukte bei Bestrahlung wäßriger Lösungen von Äthylen

Reaktionsprodukt	$\text{H}_2\text{O}_2$	$\text{H}_2\text{CO} + \text{CH}_3\text{CHO}$	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{COH} \\   \\ \text{HCO} \end{array}$	$G(-\text{O}_2)$
Ohne $\text{O}_2$	0,40	0,24		—
Mit $\text{O}_2$	2,5	3,0	2,45	6,0

welches unter Weiterreaktion mit  $\text{OH}^\cdot$  Acetaldehyd bilden könnte,



weil die Bindungsenergie des Wassers eine wesentlich höhere ist, als die  $-\text{CH}_2-\text{OH}$ -Bindung. Dies dürfte der Grund dazu sein, daß nicht Äthanol entsteht.

An wäßrigen Lösungen komplizierter gebauter aliphatischer Kohlenwasserstoffe sind bisher keine Bestrahlungsversuche durchgeführt worden. Dies hängt sicher mit der sehr geringen Löslichkeit dieser Substanzen und den damit verbundenen technischen Schwierigkeiten der Untersuchung zusammen.

### 3. Benzol

Auch für aromatische Kohlenwasserstoffe in wäßriger Lösung beschränken sich die genaueren Kenntnisse auf das Benzol. Nachdem von DAY und STEIN (1948) schon früh

Tabelle 44. *G*-Werte der Reaktionsprodukte bei Bestrahlung wäßriger Lösungen von Benzol mit Röntgenstrahlen

Reaktionsprodukt	$\text{H}_2$	$\text{H}_2\text{O}_2$	$\text{HO}$ 	
Ohne $\text{O}_2$	0,60	0,58*	0,35	0,96
Mit $\text{O}_2$	0,42	2,88	2,64	—

\* In saurer Lösung.

die Phenolbildung nachgewiesen und sogar als Dosimeterreaktion in Vorschlag gebracht worden war, haben besonders STEIN und WEISS (1949), SWORSKI (1954) und später PHUNG und BURTON (1957) und BAXENDALE und SMITHIES (1959) genauere Ergebnisse beigebracht. Dieselben sind auszugsweise in Tabelle 44 zusammengestellt.

Bei Gegenwart von Sauerstoff hat das pH praktisch keinen Einfluß auf die Ausbeute, während in entlüfteten sauren Lösungen die Bildung von  $\text{H}_2\text{O}_2$  und Biphenyl etwas höher, diejenige von  $\text{H}_2$  etwas geringer zu sein scheint. Bei Gegenwart von  $\text{O}_2$  wird die Biphenylbildung vollständig unterdrückt. Es ist deshalb nach der Reaktion



die  $\text{O}_2$ -Anlagerung



und weiter der Umsatz



unter weiterer Bildung von Hydroperoxid aus  $\text{HO}_2^\cdot$  anzunehmen.

Daß die Phenolbildung aus wäßriger mit  $\text{O}_2$  gesättigter Benzollösung bei Bestrahlung das Ergebnis einer längeren Reaktionskette ist, konnte durch PROSKUNIN und KOLOTYRKIN (1958) durch die bei hoher Temperatur auftretende Autokatalyse bewiesen werden, wobei die Ausbeute auf mehr als das 10fache (im Autoklaven) erhöht wird.

Bei Sauerstoffabwesenheit führt der Radikalumsatz



direkt zu Phenol und die Dimerisierung von  $\text{C}_6\text{H}_5$  zu Biphenyl. Zusätzlich ist hier eine Polymerisierung über den Weg



anzunehmen, ähnlich wie bei Bestrahlungen ohne Gegenwart von Wasser (vgl. S. 140).

Interessant ist ferner, wie LOEBL, STEIN und WEISS (1951) und JOHNSON, STEIN und WEISS (1951) gefunden haben, die Tatsache, daß die Hydroxylierung von Nitrobenzol und Chlorbenzol in der Metastellung bei Bestrahlung in Wasser mit erheblich geringerer Ausbeute erfolgt als in der Orthostellung und diese, wenn auch pH-abhängig, geringer zu sein scheint als diejenige in der Parastellung. Auf diese Tatsache soll später noch einmal eingegangen werden.

Das Ringsystem bleibt, ähnlich wie beim Benzol, auch weitgehend erhalten, wenn die Oxoverbindung des Cyclohexans, das *Cyclohexanon*, in  $\text{O}_2$ -haltiger wäßriger Lösung be-

strahlt wird. Nach SERAT und MEAD (1959) sind dabei die hauptsächlichsten Reaktionsprodukte 1,2- und 1,3-Cyclohexandion mit je zwei O-Atomen am Ringsystem. Die weniger hoch oxydierten, offenen Reaktionsprodukte Hydroxycaprinsäure  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CHOHCOOH}$  und Adipinsäure  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_4-\text{COOH}$  entstehen dabei mit erheblich geringerer Ausbeute.

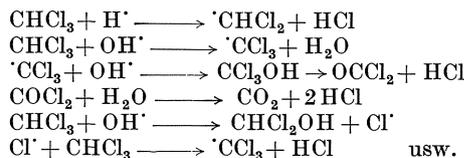
#### 4. Halogenverbindungen

In einer ersten Untersuchung hat WEGMÜLLER (1942) gezeigt, daß bei Bestrahlung einer wäßrigen Lösung von Äthylbromid schon bei relativ geringen Strahlendosen mit Hilfe der pH-Messung quantitativ nachweisbare Mengen von Bromwasserstoffsäure gebildet werden. Als Ausbeute wurde ein Wert von  $G(\text{HBr}) \underline{\underline{=}} 3,0$  gefunden. Die Reaktion wurde als „Strahlenhydrolyse“ bezeichnet. In mehreren Untersuchungen von LIECHTI, MINDER und WEGMÜLLER (1945), MULIS, MINDER LIECHTI und WEGMÜLLER (1946), MINDER (1946), FELLER, MINDER und LIECHTI (1948) und MINDER, MINDER und LIECHTI (1949) wurden zunächst die einfachen Chlorverbindungen des Benzols auf die Salzsäurebildung bei Bestrahlung wäßriger Lösungen systematisch geprüft. Dabei und in weiteren Versuchen von MINDER, KNUCHEL und GURTNER (1948) und MEISTER und MINDER (1950) wurden auch aliphatische Halogenverbindungen einbezogen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 45 zusammengestellt.

Tabelle 45. *G*-Werte der Halogenwasserstoffbildung verschiedener Stoffe bei Bestrahlung in wäßriger Lösung nach MINDER u. Mitarb. (1945—1950)

Substanz	<i>G</i> (HCl) resp. HBr	Substanz	<i>G</i> (HCl) resp. HBr
$\text{CHCl}_3$	~35	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{Br}$	0,25
$\text{CHBr}_3$	3,3	$\text{C}_8\text{H}_{17}\text{Br}$	0,058
$\text{CCl}_4$	3,3	$\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}$	0,49
$\text{C}_2\text{H}_2\text{Br}_2$	3,0	$\text{C}_6\text{H}_5\text{Br}$	0,83
$\text{C}_2\text{H}_5\text{Br}$	1,5	o- $\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$	1,10
$\text{C}_3\text{H}_7\text{Br}$	0,77	p- $\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$	0,78
$\text{C}_4\text{H}_9\text{Br}$	0,52	$\text{C}_6\text{Cl}_6$	0,043

Auffällig ist bei der Betrachtung der angeführten Zahlenwerte die sehr viel höhere Ausbeute an HCl bei Chloroform als bei den anderen untersuchten Stoffen. Diese ist ohne Zweifel das Ergebnis eines längeren Kettenmechanismus von der grundsätzlichen Form



Die Kette wird dann beendet, wenn eine Radikalkombination zu Wasser oder einem anderen stabilen Produkt stattfindet. Ihre Länge ist infolgedessen in sehr hohem Maße von Beimengungen, welche zusätzlich Radikale produzieren oder abfangen können, abhängig. Aus diesem Grunde sind reproduzierbare Ausbeutewerte nur unter Einhaltung sehr strikter Versuchsbedingungen erhältlich. Diese Umstände verhindern leider die Verwendung der Chloroform-Wassergemische als weitgehend verwendbare Dosimetersysteme für verhältnismäßig kleine Strahlendosen. Dafür können nur, wie MINDER (1946) gezeigt hat, stets frisch bereitete gesättigte Lösungen reiner Ausgangssubstanz in reinem Wasser verwendet werden, oder aber nach TAPLIN und DOUGLAS (1951) mit Äthylalkohol bestimmter Konzentration stabilisierte Lösungen. Nach den letztgenannten Autoren weist das System Trichloräthylen-Wasser eine wesentlich höhere Stabilität bei allerdings erheblich geringerer Ausbeute auf (1958).

TEPLY und BEDNAR (1958) haben die Salzsäurebildung bei Bestrahlung wäßriger Lösungen von Chloroform erneut untersucht. Dabei sind die vorstehend erwähnten Ergebnisse und die daran geknüpften theoretischen Überlegungen hinsichtlich des Dosisverlaufes in allen wesentlichen Punkten bestätigt worden. Interessant ist der neue Befund der beiden Autoren, daß der Ausbeutewert von belüfteten Lösungen von  $G(\text{HCl}) = 26,6$  auf  $G(\text{HCl}) = 6,3$  abfällt, wenn die Bestrahlung in  $\text{N}_2$ -Atmosphäre durchgeführt

wird. Der Kettenmechanismus ist demnach bei Abwesenheit von  $O_2$  4—6mal kürzer, muß also viel früher, höchstwahrscheinlich durch Dimerisierung der Radikale  $\cdot CHCl_2$  und  $\cdot CCl_3$ , welche als wichtigste primäre Zwischenprodukte anzusehen sind, unterbrochen werden. Zu den vorstehend angeführten Vorgängen müssen bei  $O_2$ -Gegenwart auch noch die Reaktionsmöglichkeiten des Peroxids  $Cl_3CO_2$ , welches in Phosgen und  $ClO\cdot$  gespalten wird, in Erwägung gezogen werden.

Die Tabelle 45 zeigt weiter, daß aromatische Halogenverbindungen allgemein geringere Ausbeuten an Halogenwasserstoff ergeben als aliphatische, in Übereinstimmung mit der etwas festeren Bindung des Halogenatoms in den ersteren. Interessant ist dabei die ungewöhnlich geringe Ausbeute an HCl beim Hexachlorbenzol. Diese steht offensichtlich mit der symmetrischen Struktur des Moleküls und der dadurch verursachten erhöhten Stabilität desselben in Zusammenhang.

Die systematischen Untersuchungen an endständig einfach bromierten Paraffinen verdienen eine etwas eingehendere Besprechung. Die Ergebnisse sind in Abb. 32 dargestellt.

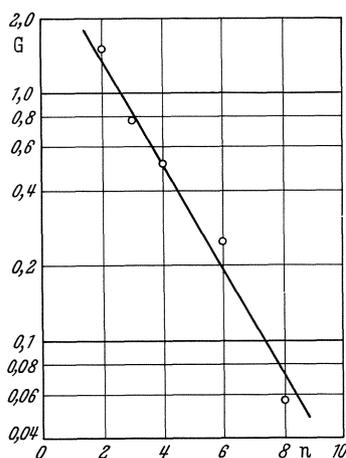


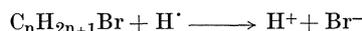
Abb. 32. Verlauf des  $G$ -Wertes von Bromwasserstoff in Abhängigkeit von der Zahl  $n$  der C-Atome bei Bestrahlung endständig einfach bromierter Paraffine in wäßriger Lösung nach MEISTER und MINDER (1950)

nismismus (Dauer  $\sim 0,1$  s) verursachte sehr hohe Ausbeute, von  $G(HCl) \hat{=} 600$  bei  $O_2$ -Gegenwart, sinkt bei Entgasung auf etwa 20 % ab; die Kettenreaktion wird also erheblich früher unterbrochen. Im ersteren Fall ist die Bildung von Peroxiden und Hydroperoxiden als hauptsächlichste Ausgangsprodukte der Reaktionsketten anzusehen, im letzteren ähnliche Mechanismen, wie sie vorstehend für Chloroform angegeben worden sind.

Der auffällige Unterschied zwischen den Ausbeuten bei Chloroform und Bromoform ist wohl darauf zurückzuführen, daß das  $Br\cdot$ -Radikal unverändertes Bromoform nicht zu zersetzen vermag.

Wie schon erwähnt, werden aromatische Chlorverbindungen neben der Chlorwasserstoffabspaltung auch hydroxyliert, also zu Chlorphenolen umgewandelt, wobei p-Chlorphenol das häufigste, m-Chlorphenol das deutlich seltenste Reaktionsprodukt darstellt. Diese Tatsache erfordert eine Interpretation. Das hohe Dipolmoment des Chlorbenzols von 1,55 D zeigt, daß die Chlorierung im Benzolring eine starke Ladungsverschiebung verursacht. Diese ist ihrer geometrischen Richtung nach natürlich in der zum Cl-Atom in Parastellung gelegenen H-Atom am größten. Die Richtung des Dipols verursacht demnach die Bildung von orientierten H-Brücken zu Wassermolekülen. Die Strahlen-

Es zeigt sich, daß der  $G(HBr)$ -Wert mit zunehmender Zahl der C-Atome in der Paraffinkette gesetzmäßig und zwar sehr annähernd exponentiell abfällt. Die Reaktion



wird also um so unwahrscheinlicher, je länger das Molekül ist. Daraus folgt die Beziehung:

$$G(HBr) = A \cdot e^{-\sigma(n-1)}$$

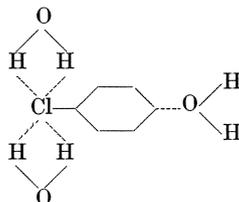
und

$$\frac{dG}{dn} = -\sigma \cdot G,$$

mit den approximativen Zahlenwerten von  $A \hat{=} 2,3$  und  $\sigma \hat{=} 0,50$ . Die in der graphischen Darstellung gezeichnete Gerade wurde mit den angegebenen Zahlenwerten berechnet und gibt den Verlauf sehr befriedigend wieder.

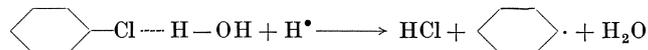
Allgemein sind die Ausbeuten an Halogenwasserstoff-säure bei Bestrahlung in Gegenwart von  $O_2$  erheblich höher als in entgasten Lösungen. Wie die Versuche von FREEMAN, VAN CLEVE und SPINKS (1953) gezeigt haben, ist dieser Unterschied besonders bei wäßrigen Lösungen von *Chloralhydrat* ausgeprägt. Die durch einen langen Kettenmecha-

reaktionen auf Chlorbenzol in wäßriger Lösung erfolgen deshalb an einem Komplex etwa von der Form



Es ist nun sehr leicht einzusehen, daß nach der Spaltung des in der Parastellung gelegenen  $\text{H}_2\text{O}$ -Moleküls eine OH-Anlagerung hier mit größerer Wahrscheinlichkeit stattfinden muß, als an anderen Bindungsorten des Moleküls. Ähnlich sind aber die Verhältnisse auch für die Orthostellung. Die an das Cl-Atom durch H-Brücken gebundenen Wassermoleküle liegen der Orthostellung so nahe, daß nach ihrer Spaltung ein Übertritt des restierenden  $\text{OH}^\cdot$  auf dieselbe viel wahrscheinlicher ist als auf die Metastellung.

Schließlich wird sicher auch die Halogenabspaltung durch die Wasserstoffbrückenbildung stark begünstigt. Durch dieselbe wird einerseits die Bindung des Halogens an den organischen Rest gelockert, andererseits aber auch die O—H-Bindung am angelegerten  $\text{H}_2\text{O}$ -Molekül. Die Reaktion z.B. von der Form



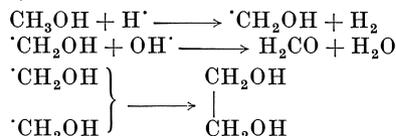
muß damit wahrscheinlicher werden. Der Dipolcharakter und die dadurch verursachte Bindung des Lösungsmittels liefert schließlich auch eine Erklärung für die höhere HCl-Ausbeute (vgl. Tabelle 45) beim o-Dichlorbenzol (1,1) gegenüber dem p-Dichlorbenzol (0,78).

## 5. Sauerstoffhaltige Verbindungen

Sauerstoffhaltige organische Verbindungen sind wegen ihrer Eigenschaft zur Wasserstoffbrückenbildung zum Lösungsmittel im allgemeinen in Wasser viel besser löslich als die bisher besprochenen Stoffe. So besteht vor allem bei den niedermolekularen Gliedern vielfach Mischbarkeit mit Wasser in jedem Verhältnis. Das Vorhandensein von Wasserstoffbrücken ist auch eines der bestimmenden Momente des strahlenchemischen Verhaltens in wäßriger Lösung. Weiter verhindert die Festigkeit der Bindungen zwischen C und O (5,43 eV im  $\text{CO}_2$  und 11,11 eV im CO) eine primäre Dissoziation dieser Bindungen. Kohlenoxid und besonders Kohlendioxid sind deshalb stets als stabile Endprodukte des Reaktionsgeschehens zu erwarten. Damit werden die allgemeinen Reaktionsverhältnisse grundsätzlich vereinfacht.

### a) Alkohole

Wie schon sehr früh von FRICKE, HART und SMITH (1938) gezeigt worden ist, sind die beiden Hauptprodukte der Bestrahlung von einfachsten Alkoholen in Wasser Aldehyde und Glykole, gemäß (Methanol):

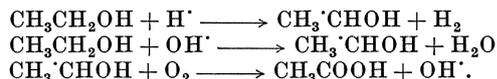


Dabei kann die Bildung des Radikals  $\cdot\text{CH}_2\text{OH}$  auch durch  $\text{OH}^\cdot$  verursacht werden nach

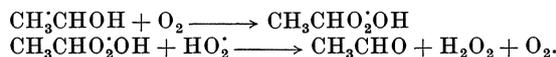


Nach McDONELL (1955) und JAYSON, WEISS und SCHOLES (1957) betragen die Ausbeuten bei Bestrahlung von Äthanol in Wasser in Abwesenheit von Sauerstoff  $G(\text{CH}_3\text{CHO}) = 1,9$ ,  $G([\text{CH}_3\text{CHOH}]_2) = 1,6$  und  $G(\text{H}_2) = 4,2$ . Die letztgenannte Ausbeute ist von Methanol bis Butanol fast konstant. Die Bestrahlung von wäßrigen Lösungen von Äthanol führt

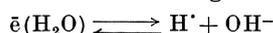
aber auch, wie MINDER und HEYDRICH (1952) gefunden haben, in geringem Maße zur Bildung von Essigsäure nach



Die hierzu erforderliche Gegenwart von Sauerstoff verhindert die Dimerisierung der  $\text{CH}_3\text{CHOH}$ -Radikale zu Glycol und begünstigt neben der Säurebildung auch das Entstehen von Aldehyd nach



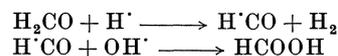
Die starke Abhängigkeit der primären Dissoziation des „negativen Wasserions“ von der Konzentration der Hydroxylionen, also vom pH-Wert, sei das Wasserion nun als  $\text{H}_2\text{O}^-$  oder wahrscheinlicher als hydratisiertes Elektron  $e^-(\text{H}_2\text{O})_n$  in der Lösung vorhanden, verursacht auch eine starke Abhängigkeit des  $G(\text{H}_2)$  vom pH-Wert. Bei stark basischen Lösungen, in denen das Dissoziationsgleichgewicht



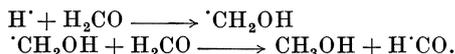
sicher stark nach links verschoben sein muß, finden deshalb alle durch das  $\text{H}^\cdot$ -Radikal verursachten Reaktionen in stark vermindertem Maße statt. Tatsächlich haben die vorstehend genannten Autoren einen sehr starken Abfall des  $G(\text{H}_2)$ -Wertes mit steigendem pH bei Bestrahlung wäßriger Lösungen von einfachen Alkoholen gefunden.

### b) Aldehyde

Neben den schon erwähnten Untersuchungen von FRICKE, HART und SMITH (1938) liegen über die Strahlenprodukte von Aldehyden in wäßriger Lösung keine experimentellen Ergebnisse vor. Die vorherrschenden Produkte der Bestrahlung sind  $\text{H}_2$  und Fettsäuren. Als untergeordnetes Reaktionsprodukt wurde in Lösungen von Formaldehyd auch Methanol gefunden. Die Reaktionsmechanismen sind (für Formaldehyd formuliert) die folgenden:



und untergeordnet

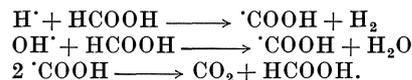


Grundsätzlich gleich verlaufende Vorgänge sind auch bei Acetaldehyd und Propionaldehyd unter Bildung von  $\text{H}_2$  und der entsprechenden Fettsäuren anzunehmen.

### c) Säuren

Wäßrige Lösungen einfacher Fettsäuren gehören zu den Systemen, welche schon früh und relativ gründlich auf Strahlenwirkungen hin untersucht worden sind. Die dabei gefundenen Ergebnisse sind deshalb auch zur Aufklärung grundsätzlicher Fragestellungen, wie z. B. derjenigen nach den Ausbeutewerten der primären Strahlenprodukte des Wassers mit Erfolg herangezogen worden. Die ausgedehnten Versuche von KILIAN (1920), FRICKE und HART (1934), FRICKE, HART und SMITH (1938), HART (1951, 1952, 1954), GARRISON u. Mitarb. (1952, 1953, 1954, 1955, 1958, 1959), BAXENDALE und SMITHIES (1956) haben aber gezeigt, daß die tatsächlichen Reaktionsverhältnisse auch bei einem so einfachen System, wie demjenigen einer wäßrigen Lösung einer niedermolekularen organischen Säure im Einzelnen sehr verwickelt sind und nicht durch einige elementare Formulierungen in ihrer Vollständigkeit dargestellt werden dürfen. So treten beispielsweise bei der Erhöhung der Säurekonzentration schon bei der Ameisensäure mehrere neue Reaktionsprodukte auf, deren Bildung verwickelte Umsätze erfordert. Eine weitere Komplikation, auf die wohl noch nicht gebührend Rücksicht genommen worden ist, wird durch die elektrolytische Dissoziation verursacht. So stellt z. B. das hydratisierte Ion  $\text{HCOO}^-$  strahlenchemisch sicher eine andere Reaktionseinheit dar, als das undissoziierte Molekül  $\text{HCOOH}$ .

*Ameisensäure* wird in verdünnter und entgaster wäßriger Lösung bei Bestrahlung in  $H_2$  und  $CO_2$  gespalten. Die dabei wirksamen Radikalreaktionen sind



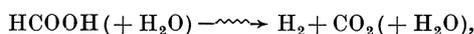
Die Radikalbildung  $\cdot COOH$  konnte durch die Beobachtung bewiesen werden, daß am C-Atom deuterierte Ameisensäure HD bildet nach



Der Ausbeutewert der beiden gasförmigen Endprodukte der Strahlenreaktion beträgt

$$G(H_2) = G(CO_2) = 3,3$$

und liegt nahe beim Verbrauchswert zur Bildung (vgl. S. 70ff.) der primären Wasserprodukte. Es besteht demnach die Approximation

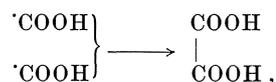


als Beweis für die grundsätzliche Gültigkeit der vorstehend angeführten Vorgänge. Diese einfache Darstellung würde aber gleiche Ausbeuten für  $H\cdot$  und  $OH\cdot$  erfordern, was sicher nicht der Fall ist (vgl. Tabelle 16, S. 101). Der geringere  $G(OH\cdot)$ -Wert muß also z. B. durch die Reaktion des  $\cdot COOH$ -Radikals mit  $H_2O_2$  nach



kompensiert werden.

Bei Bestrahlung von verdünnten Ameisensäurelösungen mit schweren Partikelstrahlungen tritt zu dem angeführten Reaktionsschema, wie GARRISON, MORRISON, HAYMOND und HAMILTON (1952) gezeigt haben, die Dimerisation der  $\cdot COOH$ -Radikale zu Oxalsäure



sowie eine geringe Formaldehydbildung hinzu.

Die Gegenwart von Hydroperoxid, auch wenn dasselbe durch Dimerisation von  $OH\cdot$  entstanden ist, verstärkt die Zersetzung von Ameisensäure in sehr hohem Maße, wobei  $H_2$  nicht mehr ein Hauptprodukt darstellt. Offensichtlich muß dabei ein Kettenmechanismus mit der Stoechiometrie



vorliegen, dessen bedeutendstes Glied die Oxydation



ist und solange weitergeht, als  $H_2O_2$  vorhanden ist.

Die Interpretation der Reaktionsvorgänge bei Bestrahlung konzentrierter Lösungen von Ameisensäure bietet erhebliche Schwierigkeiten. Neben den vorerwähnten Produkten sind in der Lösung nach Bestrahlung mit 35 MeV- $\alpha$ -Strahlen nach HART und PLATZMAN (1961) noch die in Tabelle 46 angeführten Reaktionsprodukte nachgewiesen worden:

Tabelle 46. *Zusätzliche Reaktionsprodukte mit approximativen G-Werten bei Bestrahlung konzentrierter wäßriger Lösungen von Ameisensäure*

Reaktionsprodukt	Formel	G-Wert	Bildung, hypothetisch
Glyoxylsäure	HOC—COOH	0,30	$H\cdot CO + \cdot COOH$
Mesoxalsäure	HOOC—CO—COOH	0,20	$\cdot COOH + \cdot CO—COOH$
Oxalsäure	HOOC—COOH	0,13	$\cdot COOH + \cdot COOH$
Glycoxal	HOC—COH	0,12	$H\cdot CO + H\cdot CO$
Tatronsäure	HOOC—CHOH—COOH	0,06	(?)
Gycolsäure	CH <sub>2</sub> OH—COOH	0,03	$CHO—COOH + HCOOH$
Weinsäure	HOOC—(CHOH) <sub>2</sub> —COOH	0,006	(?)
Formaldehyd	H <sub>2</sub> CO	0,002	$H\cdot CO + HCOOH$

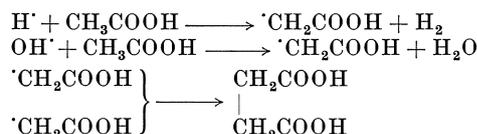
Diese Verbindungen sind (wohl nur mit Ausnahme der Glykolsäure und des Formaldehyds) Produkte von Radikal-Radikalreaktionen, wobei aber, wie bei der Mesoxalsäure, der Tatronsäure und der Weinsäure, auch schon die zum Endprodukt führenden Radikale teilweise durch Radikal-Radikalreaktionen haben entstanden sein müssen. Die Stoffe der Tabelle 46 zeigen besonders eindringlich die Komplexität der tatsächlich gleichzeitig und nebeneinander ablaufenden Vorgänge, selbst bei Bestrahlung einfachster Systeme.

In diesem Sinne sind sicher auch die erheblichen Abweichungen des grundsätzlichen Reaktionsschemas zu interpretieren, wenn an Stelle der Säure ihr Natriumsalz in  $O_2$ -freier Lösung bestrahlt wird. Nach Versuchen von HARDWICK (1960) ist das dabei auftretende Hauptprodukt Oxalsäure, resp. ihr Natriumsalz. Die Stoechiometrie gegenüber molekularem Wasserstoff, Glyoxylat und Formaldehyd zeigt die angenäherte Äquivalenz



Das Wasserstoffdefizit muß also durch eine gleichzeitige Wasserbildung bei der Bildung von Formaldehyd und Glyoxylat kompensiert werden.

Bei Abwesenheit von Sauerstoff liefert die Bestrahlung von *Essigsäure* in wäßriger Lösung molekularen Wasserstoff und Bernsteinsäure nach dem Reaktionsschema



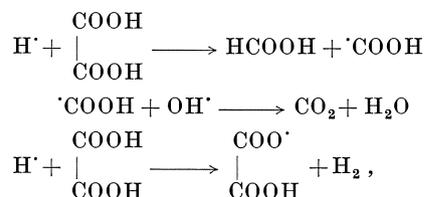
Der Ausbeutewert für Wasserstoff beträgt  $G(H_2) = 2,7$  und sollte gleich hoch sein wie derjenige der Bernsteinsäure.

Diese von FRICKE, HART und SMITH (1938) angegebenen, einfachen Reaktionsvorgänge müssen aber nach neueren Untersuchungen von GARRISON, HAYMOND, MORRISON und WEEKS (1953) und GARRISON, HAYMOND und WEEKS (1954) vervollständigt werden. Längere Bestrahlung führt zu höhermolekularen Produkten unter denen Carbonsäuren die wichtigsten sind. Bei hoher Konzentration der bestrahlten Lösung und Bestrahlung mit schweren Partikeln findet auch eine Spaltung des Essigsäuremoleküls unter Bildung von  $CO_2$ ,  $CH_4$  und  $CO$  statt. Zusätzlich führt die Gegenwart von Sauerstoff zu Oxysäuren. So wurden Glykolsäure ( $G \underline{\underline{=}} 0,1$ ) und Glyoxylsäure ( $G \underline{\underline{=}} 0,5$ ) nachgewiesen. Als weiteres Reaktionsprodukt wurde Oxalsäure ( $G \underline{\underline{=}} 0,15$ ) gefunden. All diese Stoffe werden nebeneinander gebildet und sind wahrscheinlich als Folgeprodukte der Oxydation

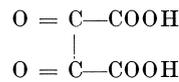


bei Sauerstoffgegenwart anzusehen. Die Einzelheiten der Reaktionen sind aber noch nicht aufgeklärt.

Die Versuche von KILIAN (1922), FRICKE, HART und SMITH (1938) und später von DRAGANIC (1955) haben ergeben, daß *Oxalsäure* bei Bestrahlung in wäßriger Lösung eine Spaltung unter Bildung von  $CO_2$ ,  $HCOOH$  und  $H_2$  erleidet. Der Oxalsäureverbrauch  $G(-[COOH]_2)$  ist für Neutronen (5,2) und  $\gamma$ -Strahlen (4,9) fast derselbe. Er ist ferner in sehr weiten Grenzen der Dosis proportional, so daß der letztgenannte Autor dieses System als Dosimeterreaktion, verwendbar bis zu sehr hohen Dosen, vorgeschlagen hat. Mögliche Mechanismen, die zu den genannten Produkten führen sind:

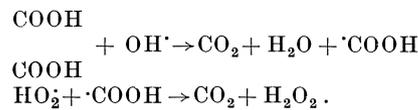


wobei aber zusätzlich die elektrolytische Dissoziation berücksichtigt werden müßte, da neben den oben genannten Produkten nach neueren Untersuchungen von DRAGANIC (1963) noch  $H_2CO$ , Glyoxal, CO und die Säuren  $CO(COOH)_2$  und



gebildet werden.

Bei Gegenwart von  $O_2$  verlaufen die hauptsächlichsten Reaktionen nach



Hauptprodukte der Bestrahlung von *Benzoesäure* in Wasser sind nach LOEBL, STEIN und WEISS (1951) hydroxylierte Isomere der Zusammensetzung  $C_6H_4OH-COOH$ . Dabei ist wieder und sicher aus denselben Gründen wie beim Chlorbenzol (vgl. S. 157) die Hydroxylierung in der Parastellung die bevorzugteste, diejenige in der Metastellung die seltenste.

Zum Abschluß der Besprechung sollen in Tabelle 47 die Ausbeuten an  $H_2$  und  $CO_2$  nach FRICKE, HART und SMITH (1938) für einige organische Säuren wiedergegeben werden.

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Ausbeute an  $CO_2$  grob mit steigendem Sauerstoffgehalt der Säure anwächst. Ferner ergibt sich die Gesetzmäßigkeit, daß Säuren mit der Bindung der Carboxylgruppe an eine Methyl- oder Methylengruppe kein Kohlendioxid bilden. Der primäre Radikalangriff muß also besonders an dieser Gruppe stattfinden.

Während die Bildung von  $CO_2$  je nach dem Molekülbau großen Unterschieden unterliegt, ist die Ausbeute  $G(H_2)$  von einer bemerkenswerten Konstanz. Einzig bei der Oxalsäure, welche Wasserstoff nur in der Carboxylgruppe enthält, entsteht bei Bestrahlung viel weniger  $H_2$ . Die Carboxylgruppe liefert also nur einen geringen Anteil des molekularen Wasserstoffs. Was den Hauptteil anbetrifft, so ist hierfür der Bau des Moleküls nur von untergeordneter Bedeutung.

## 6. Stickstoffhaltige Verbindungen

Davon sollen hier nur die Aminverbindungen besprochen werden, weil über Nitroverbindungen bisher nur ganz spärliche Versuchsergebnisse vorliegen.

### a) Amine

Die hauptsächlichste Reaktion bei Bestrahlung aliphatischer Amine ist nach JAYSON, SCHOLDS und WEISS (1955) der Verlust der Aminogruppe unter Bildung von Ammoniak und Aldehyd. Die relativ geringe Bindungsenergie  $C-NH_2$  von nur 3,3 eV begünstigt natürlich diese Spaltung in hohem Maße.

Die Reaktion folgt dem Schema (Äthylamin)

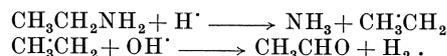
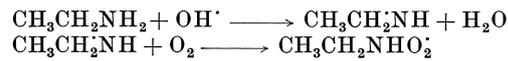


Tabelle 47. Ausbeuten an  $H_2$  und  $CO_2$  bei Bestrahlung organischer Säuren mit Röntgenstrahlen in verdünnter wäßriger Lösung nach FRICKE, HART und SMITH (1938)

Säure	Formel	$G(H_2)$	$G(CO_2)$
Ameisensäure	HCOOH	3,3	3,3
Essigsäure	$CH_3COOH$	2,7	0
Propion- bis Capronsäure	$CH_3(CH_2)_nCOOH$ n = 1—4	2,7	0
Oxalsäure	$COOH$   $COOH$	0,6	6,4
Bernsteinsäure	$H_2C$ $COOH$   $H_2C$ $COOH$	2,6	0
Milchsäure	$CH_3CHOH$   $COOH$	3,8	0,34
Weinsäure	$COOH$   $(CHOH)_2$   $COOH$	2,7	1,3

Daneben entstehen aber bei Gegenwart von Sauerstoff auch andere Oxydationsprodukte, wie Oxime und Nitroparaffine. Hierbei sind die Zwischenstufen



anzunehmen, deren weitere Reaktionen zu den genannten Produkten führen.

### b) Aminosäuren

Auch bei dieser biologisch hochwertigen Stoffgruppe besteht die bevorzugte Strahlenreaktion in wäßriger Lösung (und damit sicher auch in lebenden Systemen) in einer Desaminierung und einer gleichzeitigen Oxydation des Restes zu der entsprechenden Oxosäure. Die hauptsächlichste Stoechiometrie kann durch die Gleichung



dargestellt werden. Im Einzelnen sind aber die Reaktionsverhältnisse recht kompliziert, wie die große Zahl der Produkte schon bei Bestrahlung von Glycin und Alanin in Tabelle 48

Tabelle 48. *G*-Werte der Reaktionsprodukte bei Bestrahlung wäßriger Lösungen von Glycin und Alanin mit Röntgenstrahlen

Reaktionsprodukt	Glycin ohne O <sub>2</sub>	Glycin mit O <sub>2</sub>	Alanin ohne O <sub>2</sub>
H <sub>2</sub>	2,02	0,45	1,10
NH <sub>3</sub>	3,97	4,01	4,48
CO <sub>2</sub>	0,90	—	0,59
CH <sub>2</sub> O	0,53	—	—
CH <sub>3</sub> CHO	—	0	0,59
CH <sub>3</sub> COOH	1,4	0	—
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> COOH	—	?	1,04
CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub>	2,1	—	—
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NH <sub>2</sub>	—	—	0,17
HCOCOOH	2,1	4,5	—
CH <sub>3</sub> COCOOH	—	?	1,92

nach MAXWELL, PETERSON und SHARPLESS (1954) und SHARPLESS, BLAIR und MAXWELL (1955) zeigt.

Eine kurze Analyse der Zahlenwerte der Tabelle 48 erscheint aufschlußreich. Zunächst ist, wie schon erwähnt, NH<sub>3</sub> das hauptsächlichste Reaktionsprodukt. Seine Ausbeute ist bei beiden Stoffen von ähnlichem Ausmaß und beim Glycin von der O<sub>2</sub>-Gegenwart unabhängig. Der fast doppelt so hohe Wert für *G*(H<sub>2</sub>) beim Glycin gegenüber dem Alanin steht wohl mit dem Ersatz des einen H-Atoms durch eine Methylgruppe im letzteren im Zusammenhang. Allerdings wurde Methan als Reaktionsprodukt beim Alanin nicht nachgewiesen. Das Kohlendioxid ist sicher auf die Abspaltung der Carboxylgruppe und ihre nach-

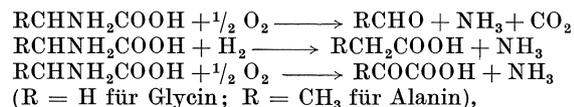
trägliche Oxydation zurückzuführen. Die Bildung der einfachen Fettsäure erfordert nur den Ersatz der Aminogruppe durch Wasserstoff. Für die Aldehyde müssen die Bindungen zum Amin und zur Carboxylgruppe gegen Sauerstoff ersetzt werden, und schließlich können die Oxosäuren durch Oxydation aus der desaminierten Aminosäure gebildet werden.

Es ist nun sehr eindrucksvoll, daß für Glycin die Beziehung

$$G(\text{NH}_3) = G(\text{CH}_2\text{O}) + G(\text{CH}_3\text{COOH}) + G(\text{HCOCOOH})$$

innerhalb der Genauigkeitsgrenzen der Bestimmungsmöglichkeiten exakt und auch für Alanin (mit den entsprechenden Stoffen, also Aldehyd + Säure + Oxosäure) angenähert erfüllt ist. Die Gleichheit *G*(CO<sub>2</sub>) = *G*(CH<sub>3</sub>CHO) für Alanin und die Ähnlichkeit der entsprechenden Ausbeutewerte beim Glycin weisen nach denselben grundsätzlichen Reaktionsverläufen.

Es gelten demnach zunächst exakt oder angenähert die folgenden stoechiometrischen Gleichungen:



und es ist zu überlegen, welche Zwischenschritte zu dieser Stoechiometrie führen. Dafür gibt zunächst die Ausbeute an Wasserstoff  $G(\text{H}_2)$  einen Hinweis. Seine Bildung erfolgt ziemlich sicher nach



Weiter ist durch  $\text{H}\cdot$  die Reaktion



anzunehmen, welche direkt etwa zu einem Viertel (Alanin) bis zu einem Drittel (Glycin) des Ammoniaks führt.

Die Oxydation



führt zum  $\text{CO}_2$ , zum Aldehyd und etwa zu einem Sechstel des Ammoniaks; diejenige nach



liefert die Oxosäure und den restlichen Ammoniak. Schließlich kann die Reduktion

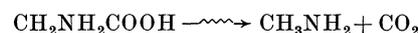


zur Fettsäure führen.

Diese der Stoechiometrie entsprechenden Radikal-Radikalumsätze laufen aber sicher nur teilweise in dieser einfachen Form ab. Reaktionen mit unveränderten Ausgangsmolekülen sind ja schon rein konzentrationsmäßig wahrscheinlicher und weitere unbekannte Vorgänge sind deshalb wohl von ebenso hoher Bedeutung. So werden wahrscheinlich erhebliche Anteile des  $\text{NH}_3$  und der Oxosäuren durch die Hydrolyse der Iminosäuren



welche durch Radikalverbindung entstehen, gebildet. Auch die hohe Ausbeute von Methylamin gegen nur  $G(\text{CO}_2) = 0,90$  beim Glycin beweist, daß der einfache Umsatz



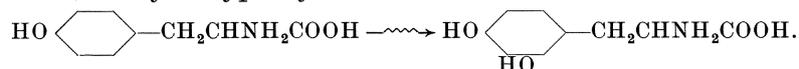
nur von untergeordneter Bedeutung sein kann. Es zeigen also auch diese relativ gut bekannten Umsätze wieder, wie komplex die tatsächlichen Reaktionsverhältnisse in ihren Einzelheiten sind.

Daß die spezifische Energieabgabe und die damit in Zusammenhang stehenden Unterschiede in den Primärprodukten des Wassers sich auch auf die Ausbeuten organischer Strahlenprodukte auswirken müssen, ist selbstverständlich. So haben WEEKS und GARRISON (1958) bei Bestrahlung von  $\text{N}_2$ -gesättigten Glycinlösungen mit 30 MeV- $\alpha$ -Strahlen sowohl für Ammoniak als auch für Methylamin und Asparaginsäure gegenüber  $\gamma$ -Strahlen überall ziemlich genau dreifach geringere Ausbeuten, aber kein  $\text{CO}_2$  gefunden.

Weniger eingehende Untersuchungen wurden von LOISELEUR (1933), BECKER (1934), STEIN und WEISS (1948), DALE, DAVIES und GILBERT (1949) und PROCTOR und BHATIA (1953) auch an mehreren komplizierter gebauten *aliphatischen Aminosäuren* vorgenommen. Mit Ausnahme von Cystein und Prolin wird in allen Fällen durch Strahlung eine Abspaltung der Aminogruppe unter Ammoniakbildung bewirkt. Die besonderen Verhältnisse beim Cystein sollen später noch eingehender besprochen werden. Beim Prolin verhindert offenbar der Ringschluß und damit die Bindung des N-Atoms an zwei C-Atome dessen Abtrennung.

*Aromatische Aminosäuren* ergeben die für Aminosäuren und für aromatische Verbindungen typischen Reaktionen. Wie die erste an einer Aminosäure vorgenommene strahlenchemische Untersuchung von STENSTRÖM und LOHMANN (1931) gezeigt hat, findet auch beim Tyrosin eine Abtrennung der Aminogruppe statt. Die Ausbeute an Ammoniak ist hier aber erheblich geringer als bei rein aliphatischen Aminosäuren. Nach BARRON, AMBROSE und JOHNSON (1955) beträgt dieselbe  $G(\text{NH}_3) = 0,6$ . Der aromatische

Charakter kommt, wie ROWBOTTOM (1955) nachgewiesen hat, dadurch zum Ausdruck, daß an der Phenolgruppe eine Anlagerung von zusätzlichen Hydroxylgruppen stattfindet. Die mit der  $\text{NH}_2$ -Abspaltung in Konkurrenz stehende Reaktion ist deshalb besonders die Bildung von 3,4-Dihydroxyphenylalanin



Das letztere bildet bei weiterer Bestrahlung ein „Polymerisat“ von bisher unbekannter Zusammensetzung. Bei Bestrahlung von Dijodtyrosin entstehen nach Versuchen von MINDER (1955) neben Ammoniak noch mindestens zwei stabile Reaktionsprodukte, von denen das eine jodhaltig ist und höchst wahrscheinlich eine Jodkresolverbindung darstellt während das andere niedermolekularen Charakter hat. Zusätzlich findet nach neueren Untersuchungen von YALOW (1959) und YALOW und BERSON (1960) sowohl bei Mono- und Dijodtyrosin bei den Reinsubstanzen und in wäßriger Lösung auch eine einfache Jodabtrennung unter Bildung des jodfreien Tyrosins mit hoher Ausbeute statt.

## 7. Schwefelhaltige Verbindungen

Die Strahlenwirkungen auf Thiole haben in letzter Zeit eine hohe Bedeutung erlangt, weil diese Stoffe einen wirksamen Schutz gegen die Bestrahlungsfolgen bei lebenden Objekten darstellen. Diese Schutzwirkung ist mit einer Oxydation in Zusammenhang gebracht worden unter entsprechender Verminderung der oxydativen Wirkung auf lebenswichtige Stoffsysteme und Vorgänge. So haben BARRON und FLOOD (1950) einen mit der Strahlendosis proportionalen Abfall der Zahl der SH-Gruppen bei bestrahlten *Cysteinlösungen* nachgewiesen, ein Verlauf, der später von BARRON, AMBROSE und JOHNSON (1955) und ANDERSON und JOSEPH (1959) bestätigt worden ist. Wenn deshalb feststeht, daß Thiole unter Bildung der Disulfide nach



oxydiert werden, und wenn diese in neuerer Zeit auch von SHAPIRO und DICKENS (1960) unter Verwendung des radioaktiven  $^{35}\text{S}$  isoliert wurden, so ist dieser einfache Vorgang bei Bestrahlung in wäßriger Lösung sicher nicht der einzige und auch keineswegs der wichtigste. So haben schon DALE und DAVIES (1951) gezeigt, daß Cystein bei Bestrahlung in wäßriger Lösung vor allem Schwefelwasserstoff bildet. Die Ausbeute ist sowohl von der Konzentration als auch vom pH abhängig und beträgt z. B. für neutrale Lösungen geringer Konzentration (0,1 %)  $G(\text{H}_2\text{S}) \underline{\underline{=}} 2,3$ . In saurer und alkalischer Lösung fällt die Ausbeute ab, kann aber bei höheren Konzentrationen bis auf den doppelten Wert ansteigen. Ähnlich sind die Verhältnisse auch beim cysteinhaltigen Tripeptid Glutathion. Die Bestrahlungsversuche an zehnfach höher konzentrierten Lösungen von Cystein-Hydrochlorid und  $\beta$ -Merkaptoäthylamin (Cysteamin) von MINDER (1955) haben Ausbeuten von  $G(\text{H}_2\text{S}) = 3,6$  für die erstere und 7,5 für die letztere Substanz ergeben. Es ist deshalb für die vier erwähnten, sulfhydrylhaltigen Stoffe ein Reaktionstypus von der vereinfachten Form



anzunehmen, welcher neben der oben erwähnten Dehydrogenierung mit anschließender Disulfidbildung abläuft. Zusätzlich finden aber bei Bestrahlung von Cystein in wäßriger Lösung noch weitere Reaktionen statt, welche neben  $\text{H}_2\text{S}$  und Disulfid, wie durch Papierchromatogramme gezeigt werden konnte, noch zu mindestens drei weiteren stabilen Reaktionsprodukten führen.

Disulfide werden durch hohe Strahlendosen teilweise weiter zu Sulfoxiden oxydiert. Sie erleiden aber auch, unter entsprechenden Voraussetzungen, in geringem Maße eine Reduktion unter Spaltung der S—S-Bindung zu den entsprechenden Thiolen. Dies haben SWALLOW (1952) und SHAPIRO und ELDJARN (1955) am Cystin und am Cystamin nachgewiesen.

Wenn auch die vorstehend erwähnten Untersuchungen die einfache Theorie der Schutzwirkung SH-haltiger Stoffe als Abfänger der oxydierenden Radikale (des Wassers) als unhaltbar erwiesen haben, so sind dadurch die Einsichten in den Schutzmechanismus selbst zunächst nicht gefördert worden. Dieser ist ohne Zweifel sehr erheblich verwickelter als ursprünglich angenommen wurde.

Einiges Licht in die Mechanismen des Schutzes kann vielleicht durch die Ergebnisse der Untersuchungen von SHIELD und GORDY (1958) einerseits und GORDY und MIYAGAWA (1960) andererseits gebracht werden.

Die Mikrowellenspektroskopie von bestrahltem *Cystein* und des entsprechenden Disulfids *Cystin* gibt für beide Stoffe sehr ähnliche Feinstrukturen, also *weitgehend* die *gleichen* Strahlenprodukte. Die Schutzwirkung des Sulfhydryls kann also sicher nicht mit einer direkten Strahlenoxydation zum Disulfid in Zusammenhang gebracht werden, auch wenn eine solche in wäßriger Lösung mit hoher Ausbeute stattfindet. Werden aber Cystein, Cysteamin und *Glutathion*, aber auch  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  mit Proteinen in eine feste Lösung gebracht, so ist das Mikrowellenspektrum derselben nach Bestrahlung völlig von demjenigen ohne Zugabe der „Schutzstoffe“ verschieden. Die Schutzwirkung muß demnach offenbar durch eine Art „Komplexbildung“ zwischen Matrix und Schutzstoff verursacht werden, wobei Einzelheiten aber noch der näheren Aufklärung harren.

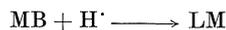
In Zusammenhang mit der besonderen Strahlenchemie stickstoff- und schwefelhaltiger Verbindungen in wäßrigem Milieu ist schließlich der Nachweis von DURAN und TAPPEL (1958) von sehr wesentlichem technischen Interesse, daß die bei der Strahlenkonservierung von eiweißhaltigen Lebensmitteln (besonders Fleischwaren) auftretenden unangenehmen Geruchsstoffe neben  $\text{NH}_3$  vorwiegend auf die Freisetzung von Carbonylverbindungen,  $\text{H}_2\text{S}$  und Merkaptanen zurückzuführen sind.

## 8. Farbstoffe

Der leichte und quantitativ saubere Nachweis der Änderung von Farbstoffmolekülen in wäßriger Lösung hat schon früh zu entsprechenden strahlenchemischen Untersuchungen geführt. Dabei sind aber, wegen der erheblichen Komplexität der Vorgänge, die Ergebnisse teilweise bis in die Gegenwart recht widerspruchsvoll geblieben, und die ursprüngliche Hoffnung, wäßrige Farbstofflösungen als einfach zu handhabende Dosimetersysteme verwenden zu können, hat sich keineswegs erfüllt.

Nach den ersten Untersuchungen von CLARK und FITSCH (1931) über die Strahlenentfärbung von *Methylenblau* (MB) hat diese Strahlenreaktion in der Folge ausgedehnte weitere Bearbeitungen erfahren. Dabei stellte sich heraus, daß reproduzierbare Ergebnisse nur unter vollständigem Ausschluß von Sauerstoff erhalten werden können. Die Ausbeute der Entfärbung beträgt nach DAY und STEIN (1957)  $G(-\text{MB}) = 1,3$  und HAYON, SCHOLÉS und WEISS (1957)  $G(-\text{MB}) = 1,8$ . Neuere Versuche von SWALLOW (1960) haben den letztgenannten Wert bestätigt.

Wenn von STEIN (1952) die Entfärbung von MB unter Ausschluß von Sauerstoff als Reduktion in die Leukoform (LM) nach



betrachtet wurde, so ergaben nachträgliche Oxydationen nur eine unvollständige Reversibilität der Strahlenentfärbung. Ein Teil derselben ist also auf einen viel tieferen Eingriff in das Farbstoffmolekül zurückzuführen. Dieser irreversible Anteil beträgt annähernd 30 % der Gesamtentfärbung.

Nach den obengenannten Autoren findet die Entfärbung bei  $\text{O}_2$ -Ausschluß mit befriedigend reproduzierbaren Ausbeuten von  $G(-\text{MB}) = 2,8-3,4$  auch statt, wenn der Farbstoff in 0,1—0,4-molaren Lösungen von verschiedenen organischen Stoffen, wie z. B. Äthanol, bestrahlt wird und zwar weitgehend unabhängig von deren Zusammensetzung.

Die erhöhte Ausbeute der Entfärbung wird auf eine Erhöhung der Reduktion durch organische Radikale zurückgeführt. Ist der organische Zusatz genügend konzentriert, so reagieren alle Wasserradikale mit demselben nach



unter Bildung der reduzierenden organischen Radikale  $\text{AH}\cdot$ , welche auf MB weiter nach dem Schema



einwirken.

Ganz anders sind die Reaktionsverhältnisse bei reinen  $\text{O}_2$ -haltigen Methyleneblau-lösungen. Zunächst sind reproduzierbare Ergebnisse nur unter ganz strengen Versuchsbedingungen zu erhalten. Weiter sind die Ausbeuten sehr erheblich geringer als bei entgasen Lösungen. Der bedeutungsvollste Unterschied besteht aber wohl in der vollständigen Unterdrückung oder weitgehenden Verminderung der Entfärbungsreaktion durch zusätzliche organische Stoffe. So haben ZIMMER (1944) und später GALLICO und CAMERINO (1948) gefunden, daß Lösungen von MB in Äthylalkohol bei Bestrahlung überhaupt nicht entfärbt werden, wogegen solche in Glykol und Glycerin eine Entfärbung zeigen. Die Entfärbung in wäßriger Lösung wird durch Zusätze organischer Stoffe unterdrückt oder sehr stark gehemmt. Diese Hemmung ist von MINDER und SCHOEN (1953) im Rahmen einer erweiterten Untersuchung quantitativ geprüft worden. Die Entfärbung durch Bestrahlung wird solange praktisch vollständig unterdrückt als die Konzentration der zugesetzten organischen Stoffe größer ist als diejenige des Farbstoffes. Im Gebiet vergleichbarer Konzentrationen nimmt die Ausbeute der Entfärbung mit zunehmender Konzentration des zugesetzten Stoffes exponentiell ab. Die Entfärbungshemmung ist also ein Wahrscheinlichkeitsphänomen, bei welchem die Moleküle des zugesetzten Stoffes mit den Farbstoffmolekülen um die reaktionsfähigen Produkte (z.B. Radikale) des Lösungsmittels in Konkurrenz treten. Dabei sind aber Zwischenprodukte des zugesetzten Stoffes nicht befähigt, Farbstoffmoleküle

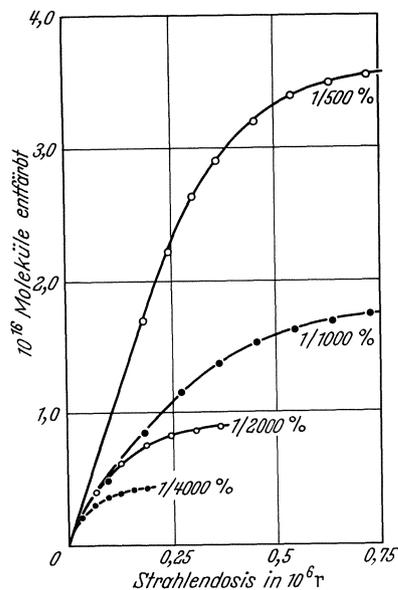


Abb. 33. Verlauf der Strahlenentfärbung von Methyleneblau in belüfteter wäßriger Lösung bei verschiedenen Konzentrationen des Farbstoffes (Gew.-%)

zu entfärben. In Übereinstimmung mit anderen Erfahrungen allgemeinerer Natur sind ungesättigte organische Stoffe als „Radikalfänger“ bedeutend wirksamer als gesättigte.

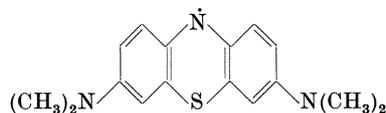
Der Verlauf der Entfärbungswirkung mit steigender Strahlendosis in reinen, belüfteten MB-Lösungen verschiedener Konzentration ist in Abb. 33 dargestellt. Als wichtigstes Ergebnis kann der Darstellung entnommen werden, daß die Neigung der Entfärbungsreaktion  $\frac{dW}{dD}$  bei  $D \rightarrow 0$  bei allen Konzentrationen dieselbe ist. Sie entspricht bei  $D \rightarrow 0$  einer Ausbeute von  $G(-\text{MB}) = 0,23$ .

Durch Strahlung unter Luftzutritt entfärbte MB-Lösungen können durch Oxydation nicht mehr in den Ausgangszustand zurückgeführt werden. Die Entfärbung ist hier also höchstens zu einem ganz geringen Anteil eine Überführung in die Leukoform LM. Die Bildung eines dunklen Niederschlages bei höheren Strahlendosen beweist einen tiefgreifenden chemischen Umsatz des an sich relativ sehr instabilen MB-Moleküls.

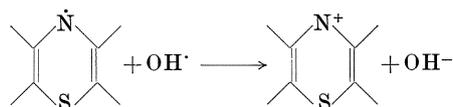
Die gründliche Prüfung des Einflusses von Hydroperoxid auf die Strahlenentfärbung von MB durch ILG (1961) ergab zunächst, daß  $\text{H}_2\text{O}_2$  auf den Farbstoff selber nicht im

Sinne einer Farbänderung einwirkt. Werden  $\text{H}_2\text{O}_2$ -haltige MB-Lösungen bestrahlt, so wird die Entfärbung bei geringen  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentrationen verstärkt, bei sehr hohen bis höchstens auf die Hälfte geschwächt. Die Entfärbungsreaktion muß deshalb eine Oxydation unter nachträglichem Molekülzerfall sein.

Die vereinfachten Strukturformeln des MB-Moleküls, z. B.



geben über den Ort des ungepaarten Elektrons keine sicheren Anhaltspunkte. Die *Lanth'sche* Synthese des Farbstoffes aus zwei Dimethylaminoparaphenylamin-Molekülen beweist aber die Symmetrie des Methyleneblau-Moleküls. Das ungepaarte Elektron ist deshalb am N-Atom des Thiazinringes liegend anzunehmen. Unter dieser Voraussetzung ist die Oxydation der Substanz leicht verständlich. Sie läuft grundsätzlich nach dem Schema



ab, nach welcher die (ähnlich dem Benzolring) durch die  $\pi$ -Elektronen verursachte Stabilität des Thiazinringes dahinfällt. Derselbe wird unter  $\text{O}_2$ -Anlagerung unter Bildung einer entsprechenden Nitroverbindung aufgebrochen. Die Zugabe von  $\text{H}_2\text{O}_2 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HO}_2^-$  verstärkt bei geringen Konzentrationen diesen Bruch durch Anlagerung des  $\text{HO}_2^-$ -Ions, während bei hohen  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentrationen die  $\text{OH}^\cdot$ -Radikale mit demselben nach



reagieren und damit für den Angriff auf das Methyleneblau-Molekül unwirksam werden.

Mit dieser Hypothese steht die zweite wichtige Beobachtung von ILG (1961) völlig im Einklang, daß vorbestrahlte Methyleneblau-Lösungen nach Zugabe von  $\text{H}_2\text{O}_2$  bei weiterer Bestrahlung viel stärker entfärbt werden. Durch das Hydroperoxid wird das Molekül nach Ringbruch auch am S-Atom oxydiert und damit für weitere, ausbeutemäßig ins Gewicht fallende Radikalreaktionen unwirksam. Die mit der Zerstörung des Zwischenmoleküls der Strahlenreaktion durch  $\text{H}_2\text{O}_2$  theoretisch zu erwartende Änderung der Dosis-Wirkungskurve vom exponentiellen zum proportionalen Typus konnte ebenfalls beobachtet werden.

Neben der gründlich untersuchten und hier eingehender dargestellten Strahlenentfärbung von Methyleneblau ist von WEBER und SCHULER (1953) auch diejenige von *Phenolrot* und von MINDER (1955) diejenige von *Eosin* und von ANTA, RODA SANTOS und PALAS (1958) diejenige von *Indigocarmin* in wäßriger Lösung nachgewiesen worden. Besonders interessant sind aber in diesen Zusammenhang zwei neuere Untersuchungen. *Triarylmethanverbindungen* sind in der Leukoform in wäßriger Lösung praktisch farblos und werden bei Bestrahlung durch Oxydation gefärbt. ARMSTRONG und GRANT (1958) haben gezeigt, daß die Oxydationsfärbung schon bei Dosen von ca. 250 rad nachweisbar ist, so daß diese Strahlenreaktion schon für Dosisbereiche unter etwa 2000 rad als Dosimeterreaktion verwendet werden könnte. Ein gründliches Studium derselben wäre deshalb von großem Interesse.

Bekanntlich weist eine wäßrige *Chininsulfatlösung* schon bei geringen Konzentrationen von z. B.  $10^{-6}$  eine starke blaue Fluoreszenz unter Einfluß von Ultraviolett auf. Diese Fluoreszenzfähigkeit verschwindet nach BARR und STARK (1960) durch Bestrahlung mit einem Verbrauch von  $G(-\text{Ch}) = 2,3$ . Dabei muß offenbar das Grundgerüst des Moleküls, das Chinuclidinringsystem, höchstwahrscheinlich durch Oxydation, zerstört werden.

### 9. Stoffe verschiedener Zusammensetzung

Von den in der vorstehenden Darstellung nicht behandelten Stoffen sollen hier auch noch einige von hoher biologischer Bedeutung im Überblick angefügt werden. Vollständigkeit ist aber weder in stofflicher Hinsicht noch bezüglich der Einzelheiten der Reaktionen angestrebt.

*Sterine* werden, soweit sie in Wasser löslich sind, durch Bestrahlung bei Gegenwart von Sauerstoff oxydiert. Die Anlagerung von Sauerstoff resp. OH $\cdot$  findet am 3., 4., 5. und 6. C-Atom, vorzugsweise aber an der Doppelbindung zwischen 5. und 6. C-Atom statt. Bei Bestrahlung in Lösung ohne Sauerstoff entstehen Reduktionsprodukte, wobei die Reduktion besonders die an das 17. C-Atom gebundenen Seitenketten, aber auch das 5. C-Atom betrifft. Der Strahlenangriff erfolgt also an den reaktionsfähigen Stellen des Moleküls und die Reaktionsprodukte sind grundsätzlich von derselben Natur, wie sie auch bei biochemischen Prozessen beobachtet werden.

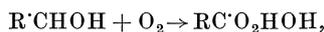
Wie von ALLSOPP und WILSON (1952) gezeigt wurde, soll eine nachweisbare Strahlenoxydation von *Indol* in belüfteter wäßriger Lösung schon bei sehr kleinen Strahlendosen von 20 r (!) stattfinden. Dies wird mit den zahlreichen Möglichkeiten der Oxydation, sowohl am Benzolring als auch am Pyrrolring in Zusammenhang gebracht.

Das Indolderivat *Heteroauxin* ( $\beta$ -Indolylessigsäure) soll nach SHOOG (1935) ebenfalls sehr leicht durch Strahlung inaktiviert werden, wobei wohl neben der Oxydation des Indolkernes, ähnlich wie JAYSON, SCHOLDS und WEISS (1954) am *Tryptophan* ( $\beta$ -Indolylalanin) nachgewiesen haben, der Pyrrolring am N-Atom unter Bildung des entsprechenden Aldehyds aufgebrochen werden kann.

Die Änderung des spez. Drehvermögens von bestrahlten *Rohrzuckerlösungen*, welche KILLIAN (1913) beobachtet hat, zeigte, daß auch in *Kohlenhydraten* in wäßriger Lösung strahlenchemische Reaktionen bewirkt werden. Neuere Untersuchungen haben ergeben, daß die hauptsächlichsten Umsätze zu Oxydationsprodukten führen. Wie besonders PHILIPS, MATTOK und MOODY (1958) nachgewiesen haben, entstehen bei Bestrahlung von *Sorbitol* durch Oxydation der endständigen CH<sub>2</sub>OH-Gruppen die entsprechenden Aldehyde Glucose und Gulose, aber auch in erheblichen Mengen die Pentosen Xylose und Arbinose. Das Produkt der C—C-Spaltung ist vorzugsweise Formaldehyd. Die Bestrahlung von *Glucose* führt neben der Bildung von Aldehyden durch stärkere Oxydation zu Säuren, besonders zu Glucuronsäure. Der hauptsächlichste Reaktionstyp hat deshalb die Form



und bei Gegenwart von Sauerstoff zusätzlich

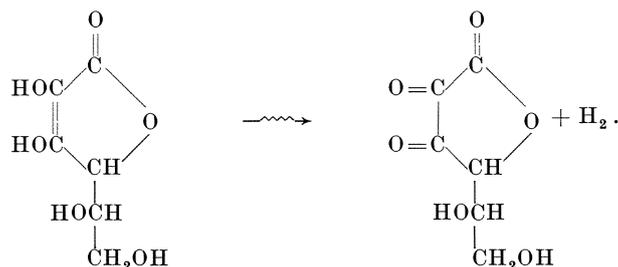


wobei die entstandenen Radikale, das erstere durch weitere Oxydation, das letztere wohl durch Reduktion in Aldehyde resp. Säuren übergeführt werden.

Grundsätzlich gleiche Mechanismen nehmen WOLFROM u. Mitarb. (1959) auch für die Vorgänge bei der Bestrahlung von *Maltose* an. Die Reaktionen in fester Phase sind Dehydrogenierungen und Oxydationen, in flüssiger Phase hauptsächlich Hydroxylierungen. Die hohe Ausbeute der letzteren erfordert aber neben Reaktionen an besonderen Stellen des Moleküls auch unspezifische Umsätze. Der Molekülabbau, gemessen an der Abnahme der optischen Drehung, verläuft der Strahlung bei sehr großen Dosen so streng proportional, daß kürzlich GLASS (1962) eine wäßrige Maltoselösung als Dosimeterreaktion für sehr hohe Dosen (Megaradbereich) vorgeschlagen hat.

Als erstes Beispiel der Wirkung auf *Vitamine* wurde von ANDERSON und HARRISON (1943) die Strahlenoxydation von *Ascorbinsäure* in wäßriger Lösung untersucht und dabei ein proportionaler Zusammenhang zwischen Strahlendosis und umgesetzter Menge nachgewiesen. Die Oxydation erfolgt, wie zu erwarten ist, besonders an der Doppelbindung

zwischen den beiden Enolgruppen und führt zur Dehydroascorbinsäure nach der einfachen Gleichung



Es ist leicht einzusehen, daß dieser erste, reversible Reaktionsschritt sowohl durch  $\text{OH}^\cdot$ - als auch durch  $\text{H}^\cdot$ -Radikale verursacht werden kann, was die hohe Ausbeute erklärt. Die Reaktion verläuft, wie Abb. 34 nach PROCTOR und GOLDBLITH (1949) zeigt, mit der Dosis streng proportional. Für die in der Darstellung gewählte Konzentration von 50 mg/l berechnet sich ein Verbrauch von  $G(-\text{AS}) = 3,6$ , welcher bei höheren Konzentrationen bis auf den doppelten Wert ansteigen kann. Ascorbinsäure gehört also (unter Ausschluß von Kettenmechanismen) zu den strahlenlabilsten organischen Substanzen. Diese Tatsache ist ohne Zweifel von erheblicher biologischer Bedeutung.

Einzelheiten über die Strahleninaktivierung der *Vitamine der B-Gruppe* sind bis heute noch unvollständig aufgeklärt. Dies ist wegen des komplizierten Baues der entsprechenden Moleküle auch nicht verwunderlich. Sicher ist jedoch, daß sowohl *Aneurin* (Vit. B<sub>1</sub>) als auch *Riboflavin* (Vit. B<sub>2</sub>) in wäßriger Lösung durch Bestrahlung zerstört werden. Dies wurde für die erstere Substanz durch die Änderung des Absorptionsspektrums von KARCZAG und HANAK (1936) und von MAURER und DITTMAYER (1957) nachgewiesen.

Riboflavin wird bekanntlich schon photochemisch in Ribose und Lumichrom gespalten, wobei in alkalischer Lösung auch die Methylverbindung Lumiflavin entsteht. MAURER (1958, 1959) hat in bestrahlten wäßrigen Riboflavinlösungen chromatographisch zwei weitere Abbauprodukte nachgewiesen, die höchstwahrscheinlich auf einen symmetrischen Bruch des Ringsystems unter Bildung von Homologen der Substanzen, aus denen Riboflavin synthetisiert werden kann, zurückzuführen sind.

Strahlenwirkungen an *Baueinheiten der Nucleinsäuren* sind im Gegensatz zu solchen an denjenigen der Proteine bis jetzt nur sehr spärlich untersucht worden. Mit Gewißheit könnten aber dabei Ergebnisse von höchstem allgemeinem biologischen Interesse gewonnen werden. Wie kürzlich HEMS und EIDINOFF (1958) gezeigt haben, werden bei Bestrahlung von Lösungen von *Adenosindiphosphat* mindestens sieben verschiedenen Reaktionsprodukte gebildet, von denen Adenin identifiziert worden ist. Der Angriff der Wasserradikale, insbesondere der oxydierenden Einheiten, unter Spaltung des Moleküls, findet deshalb, wie vorausszusehen war (MINDER 1955), an denjenigen Stellen eines Nucleotids statt, an welchen dasselbe auch durch Hydrolyse gespalten wird. Grundsätzlich gleichartige Spaltvorgänge sind auch bei Polykondensaten anzunehmen, wie durch die starke Viscositätsverminderung bestrahlter Lösungen von *Desoxyribosenucleinsäure* von WEGMÜLLER (1942) und SPARROW und ROSENFELD (1946) schon vor langer Zeit nachgewiesen wurde. Daß daneben aber auch Oxydationen am stickstoffhaltigen

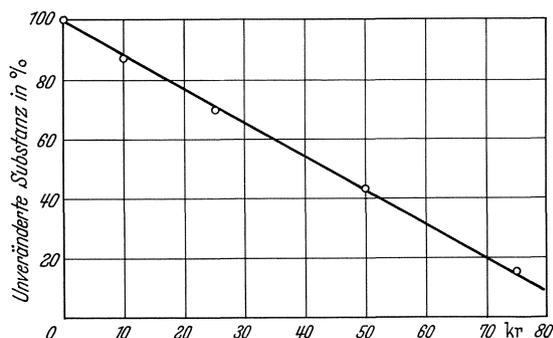


Abb. 34. Inaktivierung (Oxydation) von Vitamin C durch Röntgenstrahlen in wäßriger, belüfteter Lösung. Konzentration 50 mg pro Liter (nach PROCTOR und GOLDBLITH (1949))

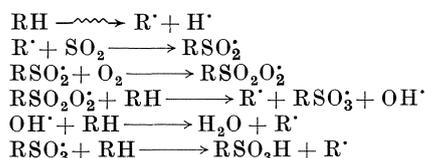
Ringsystem, etwa die Oxydation von Adenin zu Oxypurin, wie sie bei Lebensvorgängen stattfindet, und solche am Zuckeranteil (z. B. Übergang Desoxyribose  $\rightarrow$  Ribose) ablaufen müssen, ist als sicher anzunehmen.

### 10. Einige organische Synthesen

Der Vollständigkeit halber seien hier zum Schluß auch noch einige Strahlensynthesen aus einfachen Ausgangsstoffen angeführt, welche zum Teil auch technisches Interesse beanspruchen. Dabei soll von der ganzen Strahlenchemie der Kunststoffpolymerisate abgesehen werden.

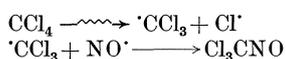
Schon auf S. 154 wurde erwähnt, daß die Anlagerung des OH $\cdot$ -Radikals an Benzol bei Bestrahlung in wäßriger Lösung durch Erhöhung der Temperatur um einen Faktor von mehr als zehn gesteigert werden kann. Auch wenn diese Tatsache vielleicht heute noch kein besonderes Interesse verdient, so zeigt sich doch, daß durch Variationen der Bestrahlungsbedingungen sicher sehr zahlreiche heute noch unbekannte Reaktionsmöglichkeiten bei Bestrahlung erwartet werden dürfen.

Eine größere Untersuchung von BLACK und BAXTER (1958) betrifft die Sulfoxydation von Paraffinen durch Bestrahlung in Gegenwart von SO $_2$  und O $_2$ . Die Vorgänge, welche zu den Endprodukten führen, sind



Durch diesen Kettenprozeß werden Ausbeuten  $G(\text{RSO}_3\text{H})$  von der Größenordnung 5000 erreicht. Die Kettenlängen von etwa 1000 Gliedern werden bei ungesättigten Kohlenwasserstoffen und bei solchen mit zusätzlichen Methylgruppen auf einige wenige reduziert. Diese Tatsache ist vorläufig nicht verständlich, und auch die übrigen strahlenchemischen Ergebnisse geben dafür keine zufriedenstellende Erklärungsmöglichkeit. Es kann sich dabei wohl nur um einen Effekt der räumlichen Molekülform handeln.

Grundsätzlich gleich verläuft die Herstellung von Nitrosoverbindungen und die Addition von PCl $_3$  an Benzol nach HEGLEIN (1960). Bei der ersten wird z. B. Tetrachlorkohlenstoff zusammen mit dem Radikalfänger (Radikal) NO $\cdot$  bestrahlt, wobei die Reaktionen

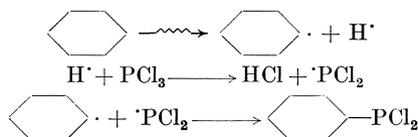


und weiter



ablaufen. Damit das Cl $\cdot$ -Radikal den erwünschten Reaktionsschritt nicht unterdrückt, muß CCl $_4$  in hohem Überschuß vorhanden sein.

Die Addition von  $\cdot\text{PCl}_2$  an Benzol geht grundsätzlich nach



vonstatten.

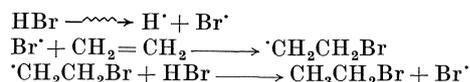
Wichtiger ist die Chlorierung von Benzol zu Hexachlorcyclohexan



durch Strahlung. Sie ist wegen der Verwendung des  $\gamma$ -Isomers als Insektizid von hohem praktischen Interesse. So wurde schon vor längerer Zeit [vgl. MOHLER (1958) S. 241 ff.] in den USA eine halbtechnische Versuchsanlage in Betrieb genommen, in welcher ein

kontinuierlicher Benzolstrom zusammen mit Chlor durch ein möglichst homogenes Strahlenfeld geschickt wird. Dabei werden alle sechs Stereoisomere des Hexachlorcyclohexans gebildet, von denen die  $\gamma$ -Form etwa 12% ausmacht. Dies ist aber kein Nachteil der Strahlentechnik, da dasselbe Isomerenverhältnis auch bei der konventionellen Herstellungsart (mit Katalysatoren) resultiert.

Wesentlich einfacher, aber grundsätzlich gleicher Natur ist auch der sog. „Dow Prozeß“ zur industriellen Herstellung von Äthylbromid aus Bromwasserstoff und Äthylen, der über eine lange Kette mit einer Ausbeute von  $G \simeq 5 \cdot 10^5$  verläuft.

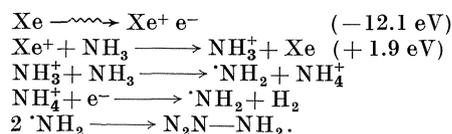


Dabei wird aber auch das Wasserstoffradikal in den Mechanismus eingreifen und zwar wohl besonders nach



wobei sich das Äthylradikal sofort mit  $\text{Br}^\cdot$  verbinden muß. Nach diesem Verfahren werden in einer einzigen kleinen Anlage jährlich einige hundert Tonnen Äthylbromid erzeugt.

Die ebenfalls schon industriell ins Auge gefaßte Hydrazinsynthese erfolgt nach LAMPE u. Mitarb. (1963) auf Grund eines Ladungstransportes von Xenon auf Ammoniak:



Das gegenüber  $\text{NH}_3$  nur wenig höhere Ionisationspotential des Xe verhindert bei der Ladungsübertragung die Spaltung des Ammoniaks und damit die Bildung von  $\text{H}^\cdot$ -Radikalen die das gebildete Hydrazin wieder zersetzen würden. Deshalb ist z. B. Neon als primärer Ladungsträger ( $P_i = 21 \text{ eV}$ ) nicht brauchbar.

Diese wenigen Beispiele mögen gezeigt haben, daß die Strahlenchemie einfacher Verbindungen langsam aber sicher aus einfachen Laboruntersuchungen zu einem Teil des Wirtschaftslebens vorzudringen beginnt.

## Literatur

- A. Bücher und zusammenfassende Abhandlungen**
- ALLEN, A. O.: The radiation chemistry of water and aqueous solutions. Princeton: D. van Nostrand Co. 1961.
- Americ. Inst. Petroleum Research: Project 44; Catalogue of mass spectral data. Washington, D. C.: Nat. Bureau of Standards 1944/1954.
- BACQ, Z. M., and P. ALEXANDER: Fundamentals of radiobiology. London: Butterworths Publ. 1955.
- BOLT, R. O., and J. G. CARROLL: Radiation effects in organic materials. New York and London: Academic Press 1963.
- BRIEGLEB, G., TH. FÖRSTER, H. FRIEDRICH, P. JORDAN, G. KORTÜM, A. MÜNSTER, G. SCHEIBE u. K. WIRTZ: Zwischenmolekulare Kräfte. Karlsruhe: G. Braun 1949.
- CHARLESBY, A.: Atomic radiation and polymers. London: Pergamon Press 1960.
- CLARK, G. L.: Applied X-rays. New York: McGraw Hill Book Co. 1955.
- CLAUS, W. D. (Editor): Radiation biology and medicine. Reading: Addison-Wesley Publ. Co. 1958.
- DARMOIS, E.: L'état liquide de la matière. Paris: Alb. Michel 1943.
- DAVIES, K. S., u. J. A. DAY: Das Wasser, der Spiegel der Wissenschaft. München: Kurt Oesch 1961.
- DESSAUER, F.: Quantenbiologie. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954.
- EBERT, M., and A. HOWARD (Editors): Radiation effects in physics, chemistry and biology. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- ERRERA, M., and A. FORSSBERG (Editors): Mechanisms in radiobiology, 2 vol. New York and London: Academic Press 1961.
- FIELD, F. H., and J. L. FRANKLIN: Electron impact phenomena. New York: Academic Press Inc. 1957.
- FILINOWSKYI, V. J., u. J. A. CHIZMADZCEW (Herausgeber): Primärvorgänge bei strahlenchemischen Reaktionen. [Russisch.] I. Ge-

- samtrussische Konferenz über Strahlenchemie. Moskau 1957.
- GLOCKLER, G., and S. C. LIND: The electrochemistry of gases and other dielectrics. New York: John Wiley & Sons 1939.
- GREEN, H. S.: Molecular theory of fluids. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1952.
- HAISSINSKY, M.: La chimie nucléaire et ses applications. Paris: Masson & Cie. 1957.
- (Editeur): Actions chimiques et biologiques des radiations, vol. 1—8. Paris: Masson & Cie. 1955—1965.
- HANNAN, R. S. (Editor): Scientific and technical problems involved in using ionizing radiations for preservation of food. London: Her Majesty Stationary Office 1955.
- HART, E. J., and R. L. PLATZMAN: Radiation chemistry: Mechanisms in radiobiology, vol. I. New York: Academic Press 1961.
- HEYS, H. L.: An introduction to electronic theory of organic compounds. London: G. G. Harrap & Co. 1960.
- HINE, G. J., and G. L. BROWNELL (Editors): Radiation dosimetry. New York: Academic Press 1956.
- HINE, J.: Reaktivität und Mechanismus der organischen Chemie. Stuttgart: Georg Thieme 1960.
- HIRSCHFELDER, J. O., C. F. CURTISS, and R. BIRD: Molecular theory of gases and liquids. New York: John Wiley & Sons 1954.
- HOLLÄNDER, A. (Editor): Radiation biology, 2 vol. New York: McGraw-Hill Book Co. 1955.
- IAEA: Large radiation sources in industry. Vienna 1960.
- Proceedings of a conference on industrial uses of large radiation sources. Vienna 1963.
- INGRAM, D. J. E.: Free radicals as studied by electron spin resonance. London: Butterworths Publ. 1958.
- LATARJET, R. (Editeur): Les peroxydes organiques en radiobiologie. Paris: Masson & Cie. 1958.
- LEA, D. E.: Action of radiations on living cells. Cambridge: Cambridge University Press 1946.
- LIND, S. C.: The chemical effects of alpha-particles and electrons. New York: The Chemical Catalog Co. Inc. 1928.
- C. J. HOCHANADEL, and J. A. GHORMLEY: Radiation chemistry of gases. New York: Reinhold Publ. Corp. 1961.
- MASSEY, H. S. W., and E. H. S. BURHOP: Electronic and ionic impact phenomena. Oxford: Clarendon Press 1952.
- MOHLER, H. (Herausgeber): Chemische Reaktionen ionisierender Strahlen. Aarau u. Frankfurt: Sauerländer & Co. 1958.
- NICKSON, J. J. (Editor): Symposium on radiobiology. New York: John Wiley & Sons 1952.
- PAULING, L.: The nature of chemical bonds, 2nd ed. Oxford: University Press 1948.
- REID, C.: Excited states in chemistry and biology. London: Butterworths Publ. 1957.
- ROLLEFSON, G. K., and M. BURTON: Photochemistry and the mechanism of chemical reactions. New York: Prentice Hall 1938.
- SCHOFFA, G.: Elektronenspinresonanz in der Biologie. Frankfurt: Braun-Verlag 1963.
- SEMENOW, N. N.: Some problems in chemical kinetics and reactivity. Princeton: University Press 1958.
- SOMMERMEYER, K.: Quantenphysik der Strahlungswirkung in Biologie und Medizin. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft 1952.
- SPINKS, J. W. T., and R. J. WOODS: An introduction to radiation chemistry. New York: John Wiley & Sons 1964.
- SWALLOW, A. J.: Radiation chemistry of organic compounds. London: Pergamon Press 1960.
- WEISSBERGER, A. (Editor): Physical methods of organic chemistry, 2 vol. New York: Interscience Publ. 1945.
- ZIMMER, K. G.: Studien zur quantitativen Strahlenbiologie. Wiesbaden: Verl. Akad. Wiss. und Lit. 1960.

### B. Originalarbeiten

- ADAMCZEWSKI, I.: Ionization chambers with liquids and their practical application. Selected topics in radiation dosimetry. IAEA 1961, p. 191—201.
- ALLEN, A. O.: Radiation chemistry of aqueous solutions. *J. phys. coll. Chem.* **52**, 479—490 (1948).
- Mechanism of decomposition of water by ionizing radiations. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 79—87 (1952).
- The yields of free H and OH in the irradiation of water. *Radiat. Res.* **1**, 85—96 (1954).
- A survey of recent American research in the radiation chemistry of aqueous solutions. *Geneva Conf. Proc.* **7**, 513—520 (1956).
- V. D. HOGAN, and W. G. ROTHSCHILD: Studies in the radiolysis of ferrous sulfate solutions; effect of acid concentration in solutions containing oxygen. *Radiat. Res.* **7**, 603—608 (1957).
- , and W. G. ROTHSCHILD: Studies in the radiolysis of ferrous sulfate solutions; effect of oxygen concentration in 0.8 N sulfuric acid. *Radiat. Res.* **7**, 591—602 (1957).
- , and H. A. SCHWARZ: Decomposition of water under high energy radiation. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 30—37 (1958).
- ALLSOPP, C. B.: Radiochemistry; a review of recent progress. *Trans. Faraday Soc.* **40**, 79—87 (1944).
- Radiation chemistry in relation to radiobiology. *Brit. J. Radiol.* **24**, 413—416 (1951).
- , and J. WILSON: Effect of radiation on aqueous solutions of indole. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 299—305 (1952).
- AMPHLETT, C. B.: Radiation chemistry of the ferrous — ferric system. *Nature (Lond.)* **165**, 977—978 (1950).
- The radiation chemistry of the ferrous — ferric systems. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 144—155 (1952).
- Reduction of ferric ion in aqueous solution by  $\gamma$ -radiation. *Nature (Lond.)* **171**, 690—693 (1953).

- ANBAR, M., and J. K. THOMAS: Pulse radiolysis studies of aqueous sodiumchloride solutions. *J. phys. Chem.* **68**, 3829—3835 (1964).
- ANDERSON, A. R., and E. J. HART: Molecular product and free radical yields in the decomposition of water by protons, deuterons and helium ions. *Radiat. Res.* **14**, 689—704 (1961).
- — Radiation chemistry of water with pulsed high intensity electron beams. *J. phys. Chem.* **66**, 70—75 (1962).
- ANDERSON, D. R., and B. J. JOSEPH: Radiation effects on aqueous solutions of S-(2-aminoethyl) thiuronium salts. *Radiat. Res.* **10**, 507—514 (1959).
- ANDERSON, R. S., and B. HARRISON: The quantitative effect of X-rays on ascorbic acid in simple solution and in mixtures of naturally occurring compounds. *J. gen. Physiol.* **27**, 69—75 (1943).
- ANTA, M. C., et M. LEFORT: Décomposition de l'eau par les rayons alpha du polonium. *J. Chim. phys.* **51**, 29—32 (1954).
- M. L. RODA SANTOS, and M. A. PAIAS: The action of ionizing radiations on aqueous solutions of indigocarmine. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 99—106 (1958).
- ARMSTRONG, D., E. COLLINSON, F. S. DAINTON, D. M. DONALDSON, E. HAYON, N. MILLER, and J. WEISS: Primary products in the irradiation of aqueous solutions with X- and gamma rays. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 80—91 (1958).
- ARMSTRONG, W. A., and G. A. GRANT: The use of triarylmethane compounds for chemistry dosimetry. *Radiat. Res.* **8**, 375—387 (1958).
- AUSLOOS, P., and J. F. PAULSON: Radiolysis of simple ketones. *J. Amer. chem. Soc.* **80**, 5117—5121 (1958).
- BACH, N.: Radiolytic oxidation of organic compounds. *Geneva Conf. Proc.* **7**, 538—545 (1956).
- BACK, R. A., E. A. CHERNIAK, E. COLLINSON, W. COOPER, F. S. DAINTON, G. M. MEABURN, N. MILLER, W. H. STAFFORD, G. A. SWAN, P. S. TIMMONS, D. C. WALKER, and D. WRIGHT: Chemical changes induced in organic systems by ionizing radiations. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 115—127 (1958).
- BAKH, N. A., V. I. MEDWEDOWSKY, and V. V. SARAEVA: Radiolysis and radiation induced oxidation of organic substances. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 128—134 (1958).
- BARKER, R., W. H. HAMILLE, and R. R. WILLIAMS: Ion-molecule reactions of 1,3-butadiene, of acetylene and of acetylene-methane mixtures. *J. phys. Chem.* **63**, 825—828 (1959).
- BARR, N. F., and M. B. STARK: The destruction of the fluorescence of quinine by gamma rays. *Radiat. Res.* **12**, 1—4 (1960).
- BARRON, E. S. G., J. AMBROSE, and P. JOHNSON: The effect of X-irradiation on some physico-chemical properties of amino acids and proteins. *Radiat. Res.* **2**, 145—158 (1955).
- , and V. FLOOD: The oxidation of thiols by ionizing radiations. *J. gen. Physiol.* **33**, 229—241 (1950).
- BAUMEISTER, L., u. R. GLOCKER: Beitrag zur Kenntnis der Wirkung der Röntgenstrahlen auf Jodoform-Chloroformlösungen. *Z. phys. Chem.* **97**, 368—375 (1921).
- BAXENDALE, J. H., and D. H. SMITHIES: The radiation chemistry of organic compounds in aqueous solution. *Z. phys. Chem.* **7**, 242—264 (1956).
- — X-irradiation of aqueous benzene solutions. *J. chem. Soc.* **1959**, 779—783 (1959).
- BECKER, J. P.: Photochemische Änderung von l-Asparaginsäure, l-Asparagin und chemisch verwandten Stoffen durch Röntgenstrahlen und Ultraviolett. *Strahlentherapie* **50**, 357—363 (1934).
- BELL, R. P.: Über die Hydratation von Ionen in wäßrigen Lösungen. *Endeavour* **17**, 31—35 (1958).
- BERNHARDT, H. A., W. DAWIS, and C. H. SHIFFLETT: Radiation effects of alpha particles on Uranium hexafluoride. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 62—70 (1958).
- BLACK, J. F., and E. F. BAXTER: Radiation initiated sulfoxidation of hydrocarbons. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 162—165 (1958).
- BOAG, J. W., and A. MÜLLER: Electron spin resonance in irradiated desoxyribonucleic acid. *Nature (Lond.)* **183**, 831 (1959).
- BONET-MAURY, P.: Hydrogen peroxide formation in water exposed to ionizing radiations. *Brit. J. Radiol.* **24**, 422—428 (1951).
- Chemical phenomena in irradiated pure water. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 72—79 (1952).
- BOTHNER-BY, C. T., and E. A. BALAZS: Effect of ionizing radiations on glucose solutions. *Radiat. Res.* **6**, 302—317 (1957).
- BOX, H. C., and H. G. FREUND: Paramagnetic resonance shows radiation effects. *Nucleonics* **17** (1), 66—70 (1959).
- BREGER, I. A.: Transformation of organic substances by alpha particles and deuterons. *J. phys. coll. Chem.* **52**, 551—563 (1948).
- BROIDA, H. P.: Fixierte Radikale. *Endeavour* **17**, 208—215 (1958).
- BURCH, P. R. J.: Calculations of energy dissipation characteristics in water for various radiations. *Radiat. Res.* **6**, 289—301 (1957).
- — A theoretical interpretation of the effect of radiation quality on yields of the ferrous and ceric sulfate dosimeters. *Radiat. Res.* **11**, 481—497 (1959).
- BURNS, W. G., W. WILD, and T. F. WILLIAMS: The effect of fast electrons and fast neutrons on polyphenyls at high temperatures. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 266—275 (1958).
- BURR, J. G.: A comparison of the radiolysis and mass spectrometry of several deuterated ethanols. *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 751—752 (1957).
- The radiolysis of deuterated and tritiated acetic acid. *J. phys. Chem.* **61**, 1481—1483 (1957).
- BURTON, M.: Radiation chemistry. *J. phys. coll. Chem.* **51**, 611—625 (1947).

- BURTON, M.: An interpretation of the effect of state on the behaviour of some organic compounds and solutions. *J. phys. coll. Chem.* **52**, 564—578 (1948).
- Radiation chemistry. *Ann. Rev. phys. Chem.* **1950**, 113—132 (1950).
- Elementary processes in the radiation chemistry of water and implications for radiobiology. *Brit. J. Radiol.* **24**, 416—422 (1951).
- J. CHANG, S. LIPSKY, and M. P. REDDY: Radiation protection in cyclohexane. *Radiat. Res.* **8**, 203—213 (1958).
- , and J. L. MAGEE: Charge transfer in radiation chemistry of gases. *J. phys. Chem.* **56**, 842—845 (1952).
- — Einige chemische Aspekte der Strahlenbiologie. *Naturwissenschaften* **43**, 433—442 (1956).
- , and W. N. PATRICK: Radiation chemistry of mixtures of cyclohexane and benzene-D<sub>6</sub>. *J. phys. Chem.* **58**, 421—423 (1954).
- BURTT, B. P., and J. F. KIRCHER: The X-ray decomposition of nitrous oxide. *Radiat. Res.* **9**, 1—12 (1958).
- CHAPIRO, A.: Chemical evidence of track effects in radiolysis of liquids. *Radiat. Res.* **6**, 11—26 (1957).
- CHARLESBY, A.: The cross-linking and degradation of paraffin chains by high energy radiation. *Proc. Roy. Soc. A* **222**, 60—74 (1954).
- Effect of ionizing radiation on long chain olefines and acethylenes. *Radiat. Res.* **2**, 96—107 (1955).
- CLARK, G. L., and W. S. COE: Photochemical reduction with X-rays and effects of additional agents. *J. chem. Phys.* **5**, 97—105 (1937).
- , and K. R. FITSCH: Chemical effects of X-rays upon some aromatic colours and dyes. *Radiology* **17**, 285—293 (1931).
- , and L. W. PICKETT: Some new experiments on the chemical effects of X-rays and the energy relations involved. *J. Amer. chem. Soc.* **52**, 465—479 (1930).
- CLAY, P. G., G. R. A. JOHNSON, and J. WEISS: The action of ionizing radiations on aqueous solutions of ethylene and acethylene in the presence of oxygen. *Proc. chem. Soc.* **1957**, 96—97 (1957).
- COTTIN, M., M. HAISSINSKY et C. VERMEIL: Oxydation radiochimique du sulfate ferreux en présence d'hydrocarbures et d'alcools. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **235**, 542—544 (1952).
- CRONHEIM, G., u. P. GÜNTHER: Die Energieausbeute bei der Zersetzung von Chloroform durch Röntgenstrahlen und der Mechanismus solcher Reaktionen. *Z. phys. Chem. B* **9**, 201—228 (1930).
- DAINTON, F. S.: Effect of gamma- and X-rays on dilute aqueous solutions of acrylonitrile. *Nature (Lond.)* **160**, 268—269 (1947).
- On the existence of free atoms and radicals in water and aqueous solutions subjected to ionizing radiation. *J. phys. coll. Chem.* **52**, 490—517 (1948).
- , and H. C. SUTTON: Hydrogen-peroxide formation in the oxidation of dilute aqueous solutions of ferrous sulphate by ionizing radiations. *Trans. Faraday Soc.* **49**, 1011—1025 (1953).
- DALE, W. M.: Actions of radiation on aqueous solutions; experimental work with enzymes in solution. *Brit. J. Radiol., Suppl.* **1**, 46—50 (1947).
- Protection effect and its specificity in irradiated aqueous solutions. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 293—299 (1952).
- , and J. V. DAVIES: The deamination of aqueous solutions of L-serine by X-radiation. *Nature (Lond.)* **166**, 1121 (1950).
- — The liberation of hydrogen sulphide by X-radiation in cysteine and glutathione. *Biochem. J.* **48**, 129—132 (1951).
- — Radiation effects on aqueous thiourea solutions. *Radiat. Res.* **7**, 34—46 (1957).
- — and G. W. GILBERT: The kinetics of deamination of nitrogenous compounds by X-radiation. *Biochem. J.* **45**, 93—99 (1949 a).
- — — The deamination of glycine by  $\alpha$ -radiation from desintegration of Boron in a nuclear reactor. *Biochem. J.* **45**, 543—546 (1949 b).
- — and J. P. KEENE: The oxidation of ferrous sulphate solution. *Brit. J. Radiol.* **30**, 340—342 (1957).
- — and W. J. MEREDITH: Further observations on the protection effect in radiation chemistry. *Brit. J. Cancer* **3**, 31—41 (1949).
- L. H. GRAY, and W. J. MEREDITH: The inactivation of an enzyme (carboxypeptidase) by X- and  $\alpha$ -radiation. *Phil. Trans.* **242**, 33—62 (1949).
- W. J. MEREDITH, and M. C. K. TWEEDIE: Mode of action of ionizing radiation on aqueous solutions. *Nature (Lond.)* **151**, 280—281 (1943).
- DAVISON, H. W. T.: The radiolysis of liquid paraffins. *Chem. and Ind.* **57**, 662—663 (1957).
- DAY, M. J., and G. STEIN: Chemical measurements of ionizing radiations. *Nature (Lond.)* **164**, 671—672 (1949).
- — The action of ionizing radiations on aqueous solutions of methylene blue. *Radiat. Res.* **6**, 666—679 (1957).
- DEBIERNE, A.: Recherches sur les gaz produits par les substances radioactives; décomposition de l'eau. *Ann. de Phys.* **2** (9), 97—127 (1914).
- DEWHURST, H. A.: Effect of organic substances on the  $\gamma$ -ray oxidation of ferrous sulphate. *J. chem. Phys.* **19**, 1329 (1951).
- Radiation chemistry of organic compounds. *J. phys. Chem.* **61**, 1466—1471 (1957).
- , and M. BURTON: Radiolysis of aqueous solutions of hydracine. *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 5781—5785 (1955).
- A. H. SAMUEL, and J. L. MAGEE: A theoretical survey of the radiation chemistry of water and aqueous solutions. *Radiat. Res.* **1**, 62—84 (1954).
- DISMUKES, E. B., and W. S. WILCOX: The gamma radiolysis of butyl chloride. *Radiat. Res.* **11**, 754—760 (1959).
- DONALDSON, D. M., and N. MILLER: Radical yield measurements in irradiated aqueous solutions. *Radiat. Res.* **9**, 487—497 (1958).

- DONDES, S.: Dosimètre à haut rendement pour la détection des rayons bêta et gamma et des neutrons thermiques. Geneva Conf. Proc. **14**, 196—198 (1956).
- DORFMAN, L. M.: Radiolysis of ethane; isotopic and scavenger studies. J. phys. Chem. **62**, 29—33 (1958).
- The radiation chemistry of gases. Radiat. Res. **10**, 607—609 (1959).
- , and A. C. WAHL: The radiation chemistry of acetylene. Radiat. Res. **10**, 680—690 (1959).
- DRAGANIC, I.: L'action des rayons ionisants sur des solutions aqueuses de l'acide oxalique. J. Chim. phys. **52**, 595—598 (1955).
- Oxalic acid; the only aqueous dosimeter for pile use. Nucleonics **21** (2), 33—35 (1963).
- DRIMUS, I., G. IOANID, A. DRAGUT, P. VASILECO, and V. DUMITRESCO: Oxidation of technical quality Romanian paraffin under the action of radiation of  $^{60}\text{Co}$ . Sec. Geneva Conf. **29**, 152—161 (1958).
- DUANE, W., et O. SCHEUER: Recherches sur la décomposition de l'eau par les rayons  $\alpha$ . Le Radium **10**, 33—46 (1913).
- DURAN, L., and A. L. TAPPEL: Production of carbonyl compounds and sulfur compounds on irradiation of amino acids. Radiat. Res. **9**, 489—501 (1958).
- DURUP, M., J. DURUP, F. KUFFER, and M. MAGAT: Peroxidation of organic compounds induced by ionizing radiations. Sec. Geneva Conf. **29**, 143—151 (1958).
- EBERT, M., and J. W. BOAG: The formation and decomposition of  $\text{H}_2\text{O}_2$  in aqueous solutions by the action of high energy electrons and X-radiation. Disc. Faraday Soc. **12**, 189—203 (1952).
- P. HOWARD-FLANDERS, and D. MOORE: The effect of oxygen on neutron yield of hydrogen peroxide in neutral water. Radiat. Res. **4**, 110—116 (1956).
- EHRENBERG, A., L. EHRENBERG, and K. G. ZIMMER: On production of magnetic centres in glycine. Acta chem. scand. **11**, 199—203 (1957).
- EHRENBERG, L., and E. SÆLAND: Chemical dosimetry of radiations giving different ion densities. An experimental determination of G-values for  $\text{Fe}^{2+}$ -oxidation. Jener Publ. **8**, 1—37 (1954).
- ELIEZER, I., H. G. J. HAYMAN, and G. STEIN: The radiation chemistry of unsaturated hydrocarbons in chloroform. Sec. Geneva Conf. **29**, 113—114 (1958).
- ELTENTON, G. C.: The mass spectrometric detection of free radicals. J. phys. coll. Chem. **52**, 463—469 (1948).
- EYRING, H., J. O. HIRSCHFELDER, and H. S. TAYLOR: The theoretical treatment of chemical reactions produced by ionization processes. J. chem. Phys. **4**, 479—491 (1936).
- FASSBENDER, R. W., and R. H. SCHULER: On the use of iodine as a radical detector in hydrocarbon radiolysis. J. Amer. chem. Soc. **79**, 273—276 (1957).
- FELLER, R., W. MINDER u. A. LIECHTI: Untersuchungen über die Strahlenhydrolyse einfacher Halogenverbindungen des Benzols unter besonderer Berücksichtigung der Temperatur. Radiol. clin. (Basel) **17**, 156—173 (1948).
- FENG, P. Y.: The radiation chemistry of fluorinated organic compounds. Sec. Geneva Conf. **29**, 166—170 (1958).
- FLEISCHER, E.: Beiträge zur Bestrahlung von Thiamin. Diss. med. Fak. Erlangen 1957.
- FONER, S. N.: Free radicals and unstable molecules. Science **143**, 441—450 (1964).
- FREEMAN, G. R., A. B. VAN CLEVE, and J. W. T. SPINKS: Irradiation of one molar aqueous solutions of chloralhydrate with  $\gamma$ -rays and betatron X-rays. Canad. J. Chem. **31**, 1164—1172 (1953).
- FREUND, W.: Eine neue Methode zur Strahlendosismessung. Wiener Klin. Wschr. **17**, 417—418 (1904).
- FRICKE, H.: Reduction of  $\text{O}_2$  to  $\text{H}_2\text{O}_2$  by the irradiation of its aqueous solution with X-rays. J. chem. Phys. **2**, 556—557 (1934).
- Track effect on ion chemistry of aqueous solutions. Ann. N. Y. Acad. Sci. **59**, 567—573 (1955).
- , and E. J. HART: The transformation of formic acid by irradiation of its aqueous solution with X-rays. J. chem. Phys. **2**, 824 (1934).
- — The oxidation of ferrous, ferrocyanide, arsenite and selenite ions by the irradiation of their aqueous solutions with X-rays. J. chem. Phys. **3**, 60—61 (1935).
- — and H. P. SMITH: Chemical reactions of organic compounds with X-ray activated water. J. chem. Phys. **6**, 229—240 (1938).
- , and S. MORSE: The action of Roentgen rays on solutions of ferrosulphate in water. Amer. J. Roentgenol. **18**, 426—430 (1927).
- — The action of X-rays on ferrous sulphate in solution. Phil. Mag. **7**, 129—141 (1929).
- FRILLEY, M.: The radiochemistry of aqueous solutions; a survey of recent French work. Brit. J. Radiol., Suppl. **1**, 50—55 (1947).
- GÄUMANN, T.: Strahlenchemie der Kohlenwasserstoffe; Benzol-Cyclohexan. Helv. chim. Acta **44**, 1337—1349 (1961).
- Die Radiolyse flüssigen Hexans. Chimia **18**, 345—349 (1964).
- , and R. H. SCHULER: The radiolysis of benzene by densely ionizing radiations. J. phys. Chem. **65**, 703—704 (1961).
- GALLICO, E., u. B. CAMERINO: Reduzierende Wirkung von Röntgenstrahlen auf Lösungen von Methylenblau. Experienta (Basel) **4**, 109—110 (1948).
- GARRISON, W. M., W. BENNETT, and S. COLE: Synthesis of higher molecular weight products in the radiolysis of aqueous solutions of formic acid. Radiat. Res. **9**, 647—659 (1958).
- — — H. R. HAYMOND, and B. M. WEEKS: Indirect and direct action of heavy-particle radiation on acetic acid in aqueous solution. J. Amer. chem. Soc. **77**, 2720—2727 (1955).

- GARRISON, H. M., H. R. HAYMOND, W. BENNETT, and S. COLE: Radiation induced oxidation of aqueous acetic acid-oxygen solutions. *Radiat. Res.* **10**, 273—282 (1959).
- — D. C. MORRISON, B. M. WEEKS, and J. GILE-MELCHERT: High energy helium-ion irradiation of aqueous acetic acid solutions. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 2459—2464 (1953).
- — and B. M. WEEKS: Some effects of heavy particle irradiation of aqueous acetic acid. *Radiat. Res.* **1**, 97—108 (1954).
- D. C. MORRISON, H. R. HAYMOND, and J. G. HAMILTON: High energy helium-ion irradiation of formic acid in aqueous solution. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 4216 (1952).
- , and G. K. ROLLEFSON: Radiation chemistry of aqueous solutions containing both ferrous ion and carbondioxide. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 155—161 (1952).
- GHORMLEY, J. A.: Lifetime of intermediates in water subjected to electron irradiation. *Radiat. Res.* **5**, 247—251 (1956).
- , and A. G. STEWART: Fluorescence phenomena in irradiated ice. *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 2934—2939 (1956).
- GIESEL, F.: Über Radium und radioaktive Stoffe. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **35**, 3608—3611 (1902).
- GILAT, Y., and G. STEIN: On the mechanism of oxidation of aerated ferrous sulphate solutions by gamma rays. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 43 (1958).
- GLASS, A. L.: Optical rotation dosimetry for  $^{60}\text{Co}$  gamma facilities. *Nucleonics* **20** (12), 66—70 (1962).
- GLOCKER, R., u. O. RIESE: Über die photochemische Wirkung von Röntgenstrahlen verschiedener Wellenlänge. *Z. Physik* **48**, 845—851 (1928).
- GLOCKLER, G.: Controlled electron reactions. *J. phys. coll. Chem.* **52**, 451—456 (1948).
- , and F. W. MARTIN: Polymerization of acetylene by slow electrons. *Trans. electrochem. Soc.* **74**, 67—81 (1938).
- GORDON, S., and M. BURTON: Radiation sensitivity of benzene- $\text{D}_6$ . *Science* **115**, 406 (1952).
- — Radiation chemistry of pure organic compounds. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 88—98 (1952).
- , and E. J. HART: Radiation decomposition of water under static and bubbling conditions. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 13—18 (1958).
- — Spectrometric detection of hydrated electrons in  $\text{Co}^{60}$ - $\gamma$ -ray irradiated solutions. *J. Amer. Chem. Soc.* **86**, 5343. (1964).
- GORDY, W., W. B. ARD, and H. SHIELDS: Paramagnetic resonance in X-irradiated carboxylic and hydroxy acids. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **41**, 996—1004 (1955).
- , and I. MIYAGAWA: Electron spin resonance studies for chemical protection from ionizing radiations. *Radiat. Res.* **12**, 211—229 (1960).
- GREINACHER, H.: Über die Erhöhung der Leitfähigkeit flüssiger Dielektrica durch  $\alpha$ -Strahlen. *Phys. Z.* **10**, 986—997 (1909).
- GROSSWEINER, L. I., and M. S. MATHESON: Fluorescence and thermoluminescence in ice. *J. chem. Phys.* **22**, 1514—1526 (1954).
- GÜNTHER, P., u. L. HOLZAPFEL: Die Zersetzung von Wasserdampf durch Röntgenstrahlen. *Z. phys. Chem. B* **42**, 346—358 (1939).
- H. D. VON DER HORST u. G. CRONHEIM: Die Einwirkung von Röntgenstrahlen auf Chloroform und ähnliche Verbindungen. *Z. Elektrochem.* **34**, 616—625 (1928).
- HAISSINSKY, M.: Mechanism of radiochemical transformations in aqueous dilute solutions. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 133—143 (1952).
- , and M. DUFLO: Heterogenous catalysis in radiation chemistry. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 47—51 (1958).
- , et M. LEFORT: Rôle des radicaux oxygènes dans les oxydations et réductions produites par des rayonnements ionisants. *J. Chimie phys.* **48**, 429—437 (1951).
- , et M. MAGAT: Sur les réactions primaires produites par des radiations ionisantes dans l'eau. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **233**, 954—956 (1951).
- HAMASHIMA, M., M. P. REDDY, and M. BURTON: Radiolysis of neopentane and cyclohexane by  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ -radiation. *J. phys. Chem.* **62**, 246—247 (1958).
- HARDWICK, T. J.: The effect of the energy of ionizing electrons on the yield in irradiated aqueous systems. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 203—211 (1952).
- On the radiolysis of aqueous sodium formiate solutions. *Radiat. Res.* **12**, 5—12 (1960).
- HARDY, W. B., and E. G. WILLCOCK: On the oxidizing action of the rays from radium bromide as shown by the decomposition of iodoform. *Proc. Roy. Soc.* **72**, 200—204 (1903).
- HARKER, G.: The decomposition of chloroform by the radiations of radon. *J. Roy. Soc. N.S. Wales* **67**, 96—117 (1933).
- The influence of sensitizers on chemical reactions produced by gamma-radiation. *Nature (Lond.)* **133**, 378—379 (1934).
- HART, E. J.: Mechanism of  $\gamma$ -ray-induced oxidation of formic acid in aqueous solution. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 68—73 (1951).
- The radical pair yield of ionizing radiation in aqueous solutions of formic acid. *J. phys. Chem.* **56**, 594—599 (1952).
- Gamma-ray induced oxidation of aqueous formic acid solutions. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 4174—4178/4198—4201 (1954).
- Gamma ray induced oxidation of aqueous formic acid-oxygen solutions. *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 4312—4315 (1954a).
- Molecular product and free radical yields of ionizing radiations in aqueous solutions. *Radiat. Res.* **1**, 53—61 (1954b).
- Radiation chemistry of the aqueous formic acid-feric sulfate system. *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 5786—5788 (1955).
- Chemical effects of ionizing radiations on aqueous inorganic solutions. *J. chem. Educ.* **34**, 586—593 (1957).

- HART, E. J.: Recent studies on reactions in irradiated water. Sec. Geneva Conf. **29**, 5—12 (1958).
- The hydrated electron. *Science* **146**, 19—25 (1964).
- , and S. GORDON: Gas evolution for dosimetry of high gamma-neutron fluxes. *Nucleonics* **12** (4), 40—43 (1954).
- , and M. S. MATHESON: Mechanism and rate constants of the  $\gamma$ -ray induced decomposition of hydrogen peroxide in aqueous solutions. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 169—188 (1952).
- W. J. RAMLER, and S. R. ROCKLIN: Chemical yields of ionizing particles in aqueous solutions; effect of energy of protons and deuterons. *Radiat. Res.* **4**, 378—393 (1956).
- HAYBITTLE, J. L., R. D. SAUNDERS, and A. J. SWALLOW: X- and  $\gamma$ -irradiation of ferrous sulphate in dilute aqueous solution. *J. chem. Phys.* **25**, 1213—1217 (1956).
- HAYON, E., G. SCHOLES, and J. WEISS: Some aspects of the reduction of methylene blue by X-rays in aqueous systems. *J. chem. Soc.* **1957**, 301—311 (1957).
- HEGLEIN, A.: Large radiation sources in industry. IAEA Wien 1960, p. 139—147.
- HEMLIN, W.: Über den Einfluß von Lösungsgenossen bei der Strahlenoxydation von Ferrosulfat in wäßriger Lösung. *Diss. med. Fak. Bern* 1961.
- HEMS, G., and M. L. EIDINOFF: Effect of X-radiation on aqueous solutions of adenosine diphosphate. *Radiat. Res.* **9**, 305—311 (1958).
- HENGLEIN, A., and CH. SCHNEIDER: Degradation and crosslinking of polystyrene in solution by  $\gamma$ -radiation. *Radiat. Res.* **9**, 128—136 (1958).
- HENRIKSEN, T., and A. PIHL: Electron paramagnetic resonance. *Nature (Lond.)* **185**, 307 (1960).
- HENTZ, R. R., and M. BURTON: Studies in photochemistry and radiation chemistry of toluene, mesitylene and ethylbenzene. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 532—536 (1951).
- HIPPLE, J. A.: Spontaneous dissociation of ions. *J. phys. coll. Chem.* **52**, 456—462 (1948).
- HIRSCHFELDER, J. O.: Chemical reactions produced by ionizing processes. *J. phys. coll. Chem.* **52**, 447—450 (1948).
- HOCHANADEL, C. J., and S. C. LIND: Radiation chemistry. *Ann. Rev. phys. Chem.* **7**, 83—106 (1956).
- HOIGNÉ, J.: Anwendung hochenergetischer Strahlung zur chemischen Produktenbildung. *Chimia* **19**, 18—21 (1965).
- HONIG, R. E., and C. W. SHEPPARD: An experimental comparison of the effects of deuterons and alpha-particles on methane and n-butane. *J. phys. Chem.* **50**, 119—143 (1946).
- HUBER, W.: High energy radiation for research in biochemistry and microbiology. *Nucl. Instr. and Methods* **11**, 210—226 (1961).
- HUMMEL, R. W., and J. W. T. SPINKS: Irradiation of ferrous sulphate solutions with different radiations. *Canad. J. Chem.* **31**, 250—262 (1953).
- HUNT, J. W., L. H. GRAY, and J. W. BOAG: The effect of paramagnetic gases on the electron spin resonance signal from activated charcoal. *Radiat. Res.* **12**, 319—324 (1960).
- HUTCHINSON, F.: The distance that a radical formed by ionization can diffuse in a yeast cell. *Radiat. Res.* **7**, 473—483 (1957).
- Reduced yield in dilute solutions at very high dose rates. *Radiat. Res.* **9**, 13—23 (1958).
- , and D. A. ROSS: Some kinetics of the indirect effect of ionizing radiation in aqueous solutions. *Radiat. Res.* **10**, 477—489 (1959).
- ILG, E.: Untersuchungen über den Strahleneffekt an Methylenblau. *Diss. med. Fak. Bern* 1961.
- JAFFÉ, G.: Über die spezifische Geschwindigkeit und Wiedervereinigung von Ionen in Hexan. *Ann. Phys.* **32**, 148—178 (1910).
- Zur Theorie der Ionisation in Kolonnen. *Ann. Phys.* **42**, 303—344 (1913).
- JAYKO, M. E., and W. M. GARRISON: Formation of C=O bonds in the radiation induced oxidation of proteins in aqueous systems. *Nature (Lond.)* **181**, 413—414 (1958).
- JAYSON, G. G., G. SCHOLES, and J. WEISS: Formation of formylkynureine by the action of X-rays on tryptophan in aqueous solution. *Biochem. J.* **57**, 386—390 (1954).
- — — Action of X-rays (200 kV) on ethanol in aqueous solution. *J. chem. Soc.* **1957**, 1358—1368 (1957).
- JOHNSON, G. R. A., G. STEIN, and J. WEISS: Some free radical reactions of chlorobenzene. *J. chem. Soc.* **1951**, 3275—3278 (1951).
- JONES, A. R.: Radiation induced reactions in the  $N_2-O_2-H_2O$  system. *Radiat. Res.* **10**, 655—663 (1959).
- KARCZAG, L., u. M. HANAK: Spektroskopische Studien über die Röntgenstrahlenempfindlichkeit des Magensaftes und einiger wasserlöslicher Vitamine. *Z. klin. Med.* **130**, 310—312 (1936).
- KEENE, J. P.: The oxidation of ferrous ammonium sulfate solutions by electron irradiation at high dose rates. *Radiat. Res.* **6**, 424—429 (1957).
- KHENOKH, M. A.: Die Wirkung der  $\gamma$ -Strahlung von  $^{60}Co$  auf Kohlehydrate. *Dokl. Akad. Nauk. USSR* **104**, 746—749 (1955).
- KILIAN, A.: Der Einfluß durchdringender Strahlen auf sterile wäßrige Lösungen von Rohrzucker. *Mh. Chem.* **34**, 359—364 (1913).
- Über Reaktionen von durchdringenden Radiumstrahlen und von Quarz-Ultraviolett. *Z. phys. Chem.* **95**, 125—246 (1920).
- Die Wirkung der durchdringenden Radiumstrahlung auf Oxalsäure, Kaliumoxalat und Kaliumchlorate. *Mh. Chem.* **43**, 1—12 (1922).
- KIRCHER, J. F., J. S. MCNULTY, J. L. MCFARLING, and A. LEVY: Irradiation of gaseous and liquid oxygen. *Radiat. Res.* **13**, 452—465 (1960).
- KLOPFER, A., and W. SCHMIDT: An omegatron mass spectrometer and its characteristics. *Vacuum* **10**, 363—372 (1960).

- KRENZ, F. H.: The effects of high energy radiation on water and aqueous systems. *Canad. J. Res. B* **26**, 647—656 (1948).
- Radiolysis of liquid n-hexane and solutions of anthracene in n-hexane. *Nature (Lond.)* **176**, 1113—1114 (1955).
- , and H. A. DEWHURST: Mechanism of oxidation of ferrous sulfate by  $\gamma$ -rays in aerated water. *J. chem. Phys.* **17**, 1337 (1949).
- KURIEN, K. C., P. V. PHUNG, and M. BURTON: Radiolysis of aqueous solutions of benzene and phenol. *Radiat. Res.* **11**, 283—290 (1959).
- LAMPE, F. W.: The direct radiolysis and the radiation-sensitized hydrogenation of ethylene. *Radiat. Res.* **10**, 691—702 (1959).
- W. S. KOSKI, E. R. WERNER, and W. H. JOHNSON: Industrial uses of large radiation sources. IAEA, Wien, 1963, p. 225—230.
- LEA, D. E.: The actions of radiations on dilute aqueous solutions; the spatial distribution of H and OH. *Brit. J. Radiol., Suppl.* **1**, 59—63 (1947).
- LEFORT, M.: Actions des rayonnements ionisants sur l'eau et les solutions aqueuses. *J. Chim. phys.* **47**, 624—643, 776—794 (1950).
- LEMMON, R. M.: Radiation decomposition of carbon-14-labelled compounds. *Nucleonics* **10** (11), 44—45 (1953).
- LIEBENTHAL, J. L., F. L. ALBRIGHT, and A. SESONSKE: The effect of gamma radiations on the low temperature oxidation of propane. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 107—112 (1958).
- LIECHTI, A., W. MINDER u. F. WEGMÜLLER: Über einige chemische Strahlenreaktionen. *Radiol. clin. (Basel)* **14**, 167—176 (1945).
- LIND, S. C., and D. C. BRADWELL: The chemical action of gaseous ions produced by  $\alpha$ -particles; the catalytic influence of ions of inert gases. *J. Amer. chem. Soc.* **48**, 1575—1584 (1926).
- Chemical action of gaseous ions produced by alpha-particles; saturated hydrocarbons. *J. Amer. chem. Soc.* **48**, 2335—2351 (1926).
- and J. H. PERRY: The chemical action of gaseous ions produced by  $\alpha$ -particles; unsaturated carbon compounds. *J. Amer. chem. Soc.* **48**, 1556—1575 (1926).
- J. C. JUNGERS, and C. H. SCHIFFLETT: The polymerization of deuterio-acetylene by  $\alpha$ -rays. *J. Amer. chem. Soc.* **57**, 1032—1034 (1935).
- LITTMAN, F. E., E. M. CARR, and A. P. BRADY: The action of atomic hydrogen on aqueous solutions. *Radiat. Res.* **7**, 107—119 (1957).
- LOEBL, H., G. STEIN, and J. WEISS: Chemical actions of ionizing radiations on aqueous solutions. *J. chem. Soc.* **1951**, 405—407 (1951).
- LOISELEUR, J.: L'action du radon sur les amino-acids. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **114**, 589—591 (1933).
- LOTZ, A.: Reaktionskinetische Untersuchungen an strahlenchemischen Systemen mit Hilfe impulsmodulierter Röntgenstrahlen. *Festschr. 25 Jahre Max Planck Inst. Biophysik 1962*, 123—134.
- LUCK, C. F., and W. GORDY: Effects of X-irradiation upon some organic substances in the solid state; simple alcohols, amines, amides and mercaptans. *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 3240—3243 (1956).
- LUNZ, J. D.: Tritium tracing, a rediscovery. *Nucleonics* **16** (3), 62—67 (1958).
- MAGEE, J. L.: Charge neutralisation by reaction between positive and negative ions. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 33—44 (1952).
- Radiation chemistry. *Ann. Rev. phys. Chem.* **12**, 389—410 (1961).
- , and K. FUNABASHI: The clustering of ions in irradiated gases. *Radiat. Res.* **10**, 622—635 (1959).
- MAHLMAN, H. A., and J. W. BOYLE: Primary cobalt-60 radiolysis of heavy water. *J. Amer. chem. Soc.* **80**, 773—774 (1958).
- MANION, J. P., and M. BURTON: Radiolysis of hydrocarbon mixtures. *J. phys. Chem.* **56**, 560—569 (1952).
- MASSEY, H. S. W.: Gaseous ions and their reactions. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 24—33 (1952).
- MATHESON, M. S.: Radiation chemistry in rigid organic materials; the detection of intermediates. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 217—227 (1958).
- Radiation chemistry. *Ann. Rev. phys. Chem.* **13**, 77—106 (1962).
- , and B. SMALLER: Paramagnetic resonance in irradiated ice. *J. chem. Phys.* **23**, 521—529 (1955).
- MAURER, H. J.: Beiträge zur Wirkung ionisierender Strahlen auf Vitamine; Riboflavin. *Strahlentherapie* **106**, 294—299 (1958).
- Zum Reaktionsmechanismus der Radiolyse wäßrig löslicher Vitamine. *Fortschr. Röntgenstr.* **91**, 799—803 (1959).
- , u. R. DITTMAYER: Beiträge zur Wirkung ionisierender Strahlungen auf Vitamine. *Vorläufige Mitteilung. Strahlentherapie* **102**, 531—534 (1957).
- MAXWELL, C. R., D. C. PETERSON, and N. E. SHARPLESS: The effect of ionizing radiation on amino acids. *Radiat. Res.* **1**, 530—545 (1954).
- MCDONELL, W. R.: Decomposition of methyl alcohol-water solutions by  $^{60}\text{Co}$  gamma radiation. *J. chem. Phys.* **23**, 208—209 (1955).
- , and E. J. HART: Oxidation of aqueous ferrous sulphate solutions by charged particle radiations. *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 2121—2124 (1954).
- , and A. S. NEWTON: The radiation chemistry of aliphatic alcohols. *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 4651—4658 (1954).
- MEISELS, G. G., W. H. HAMIL, and R. R. WILLIAMS: The radiation chemistry of methane. *Z. phys. Chem.* **61**, 1456—1461 (1957).
- MEISTER, A., u. W. MINDER: Über die Wirkung von Röntgenstrahlen auf einige einfache aliphatische Bromverbindungen. *Radiol. clin. (Basel)* **19**, 238—257 (1950).
- MELLOWS, F. W., and M. BURTON: A kinetic study of telomer production from chloroform ethylene-mixtures initiated by Cobalt-60  $\gamma$ -radiation. *J. phys. Chem.* **66**, 2164—2168 (1962).

- MELVILLE, H. W.: Die Reaktionsfähigkeit freier Radikale in Lösung. *Endeavour* **9**, 98—101 (1950).
- MESHITSUKA, G., and M. BURTON: Radiolysis of liquid methanol by gamma radiation. *Radiat. Res.* **8**, 285—297 (1958).
- Hydrogen iodide production in radiolysis of organic liquids containing dissolved iodine; cyclohexane, n-hexane benzene. *Radiat. Res.* **10**, 499—506 (1959).
- K. OUCHI, K. HIROTA, and G. KUSUMOTO: Decomposition of methyl alcohol by cobalt- $\gamma$ -radiation. *J. chem. Soc. Japan* **78**, 129—131 (1957).
- MILLER, N.: Effects of ionizing radiation on aqueous media. *Rev. pure appl. Chem.* **7**, 123—154 (1957).
- Radical yield measurements on irradiated aqueous solutions. *Radiat. Res.* **9**, 633—646 (1958).
- , and J. WILKINSON: Actinometry of ionizing radiation. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 50—60 (1952).
- MINDER, H., W. MINDER u. A. LIECHTI: Über den Verlauf der Strahlenhydrolyse von einfachen Halogenbenzolverbindungen. *Radiol. clin. (Basel)* **18**, 108—126 (1949).
- MINDER, W.: Versuch einer reaktionskinetischen Deutung der biologischen Strahlenwirkung. *Radiol. clin. (Basel)* **15**, 30—35 (1946a).
- Über das Problem der Energiewanderung bei der biologischen Strahlenwirkung. *Radiol. clin. (Basel)* **15**, 81—85 (1946b).
- Chemische Modellversuche zum Primäreffekt der biologischen Strahlenwirkung. *Schweiz. med. Wschr.* **77**, 194—196 (1947a).
- Versuch einer neuen Theorie der Strahlenwirkung. *Radiol. clin. (Basel)* **16**, 73—81 (1947b).
- Bestrahlungsergebnisse an organischen Lösungen. *Radiol. clin. (Basel)* **19**, 277—283 (1950).
- Über chemische Dosismessung. *Radiol. clin. (Basel)* **20**, 286—295 (1951a).
- Radiation chemistry of organic halogen compounds. *Brit. J. Radiol.* **24**, 435—440 (1951b).
- Irradiation de solutions alcooliques aux rayons X. *J. Chim. phys.* **48**, 423—428 (1951c).
- Bemerkungen zu den Primäreffekten biologischer Strahlenwirkungen. *Bull. schweiz. Akad. med. Wiss.* **11**, 290—302 (1955).
- Über einige definierte Strahlenreaktionen. *Bull. schweiz. Akad. med. Wiss.* **12**, 353—363 (1956a).
- Chemical dosimetry. *Sem. ICRUM* 54—60 (1956b).
- Progress in chemical dosimetry. *Verh. IX. Int. Kongr. Radiol.* **2**, 1186—1193 (1960).
- Chemical dose measurements of high energy photons and electrons. *Proc. Symp. on selected topics of radiation dosimetry (IAEA)* 1961, p. 315—323.
- , and E. HEYDRICH: Radiation chemistry of organic solutions. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 305—312 (1952).
- MINDER, M., H. KNUCHEL u. P. GURTNER: Über die Änderung der Hydrolyse von Tetrachlorkohlenstoff durch Röntgenstrahlen bei Zugabe von Alkohol. *Experientia (Basel)* **4**, 219—220 (1948).
- , u. A. LIECHTI: Über den Temperatureinfluss bei der Strahlenoxydation von Ferrosulfat. *Experientia (Basel)* **2**, 410—411 (1946).
- , u. D. SCHOEN: Vergleichende Untersuchungen über den Schutzeffekt bei der Bestrahlung definierter Systeme. *Strahlentherapie* **91**, 126—134 (1953).
- MITTL, R. L., and M. H. THEYS:  $^{16}\text{N}$  concentration in EBWR. *Nucleonics* **19** (3), 81—83 (1961).
- MOHLER, F. L., and L. S. TAYLOR: The ionization of liquid carbon disulphide by Roentgen rays. *Amer. J. Roentgenol.* **34**, 84—88 (1934).
- MÜLLER, A., u. K. G. ZIMMER: Einige Anwendungsmöglichkeiten der Mikrowellenspektroskopie in der quantitativen Strahlenbiologie. *Strahlentherapie* **109**, 192—206 (1959).
- MÜNDEL, H., u. O. AERNE: Strahlendosimetrie mit Hilfe von radioaktiv markiertem Eisensulfat. *Interner Untersuchungsrapport* 1960.
- MULLIS, A., W. MINDER, A. LIECHTI u. F. WEGMÜLLER: Über die Wirkungen der Röntgenstrahlen auf einige Halogenverbindungen des Benzols. *Radiol. clin. (Basel)* **15**, 295—312 (1946).
- MUND, W., et W. KOCH: La polymérisation de l'acétylène sous l'action des particules  $\alpha$ . *Bull. Soc. chim. Belg.* **34**, 241—255 (1925).
- , and C. ROSENBLUM: The formation of benzene in the radiochemical polymerization of acetylene. *J. phys. Chem.* **41**, 469—475 (1937).
- NEWTON, A. S.: A survey of the radiation chemistry of some aliphatic ethers. *J. phys. Chem.* **61**, 1485—1490 (1957a).
- Note on the helium ion radiolysis produced in liquid acetic and propionic acids. *J. chem. Phys.* **26**, 1746—1747 (1957b).
- NOWACKI, W., u. H. BÜRKI: Die Kristallstruktur der purinanalogen Verbindung Xanthazol. *Z. Kristallogr.* **106**, 339—387 (1955).
- OTTOLEGGI, M., and G. STEIN: The radiation chemistry of chloroform. *Radiat. Res.* **14**, 281—290 (1961).
- PAGÈS, M., and M. HAISSINKY: Action of gamma and alpha rays on plutonium solutions. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 44—46 (1958).
- PATRICK, W. N., and M. BURTON: Polymer production in radiolysis of benzene. *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 2626—2629 (1954).
- PATTEN, F., and W. GORDY: Temperature effects on the formation of free radicals in amino acids. *Radiat. Res.* **14**, 573—589 (1961).
- PHILIPS, G. O.: Action of ionizing radiations on aqueous solutions of carbohydrates. *Nature (Lond.)* **173**, 1044—1045 (1954).
- G. L. MATOK, and G. J. MOODY: Action of ionizing radiations on aqueous solutions of carbohydrates. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 92—98 (1958).

- PHUNG, P. V., and M. BURTON: Radiolysis of aqueous solutions of hydrocarbons, benzene, benzene-d<sub>6</sub>, cyclohexane. *Radiat. Res.* **7**, 199—216 (1957).
- POLAK, L. S., A. V. TOPKIEW, and N. Y. CHERNYAK: Radiolysis of alkanes. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 135—142 (1958).
- POTTIE, R. F., R. BARKER, and W. H. HAMILL: Ion-molecule reactions of methyl and ethyl iodides. *Radiat. Res.* **10**, 664—670 (1959).
- PRÉVOST-BERNAS, A., A. CHAPIRO, C. COUSIN, Y. LANDLER, and M. MAGAT: The radiolysis of some organic liquids. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 98—109 (1952).
- PROCTOR, B. E., and D. S. BHATIA: Mode of action of high voltage cathode rays on aqueous solutions of amino acids. *Biochem. J.* **53**, 1—3 (1953).
- , and S. E. GOLDBLITH: Effect of soft X-rays on vitamins. *Nucleonics* **5** (3), 56—62 (1949).
- PROSKURNIN, M. A., and Y. M. KOLOTYRKIN: Studies in the radiation chemistry of aqueous solutions. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 52—61 (1958).
- PUCHEAULT, J., and C. FERRADINI: Determination of yields from the radiolysis of water by alpha rays. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 24—29 (1958).
- PUTNEY, F. K., and A. W. PRATT: X-irradiation of l-maleic acid in aqueous solution. *Radiat. Res.* **5**, 134—145 (1956).
- RAMSAY, W. A., and A. T. CAMERON: The chemical action of radium emanation. *J. chem. Soc.* **91**, 1593—1606 (1907).
- RANDOLPH, M. L., and D. L. PARRISH: Measurements of electron spin resonances induced in amino acids by irradiation. *Radiat. Res.* **9**, 170—171 (1958).
- READ, J.: The lateral distribution of ions across the track of an ionizing particle. *Brit. J. Radiol.* **22**, 366—374 (1949).
- REINHARD, M. C., and K. L. TUCKER: The effects of X-radiation on crystalline and dissolved sucrose. *Radiology* **12**, 151—153 (1929).
- RICHARDS, E. W. T.: Radiations from water under alpha particle bombardment. *Proc. phys. Soc. A* **67**, 922—926 (1954).
- RICHARDS, E. E.: Kernmagnetische Resonanz. *Endeavour* **16**, 185—192 (1957).
- RIEHL, N.: Die Energiewanderung in Kristallen und Molekülkomplexen. *Naturwissenschaften* **28**, 601—607 (1940).
- RIGG, T., G. STEIN, and J. WEISS: The action of X-rays on ferrous and ferric salts in aqueous solutions. *Proc. Roy. Soc. A* **211**, 375—398 (1952).
- RISSE, O.: Einige Bemerkungen zum Mechanismus chemischer Röntgenreaktionen in wässrigen Lösungen. *Strahlentherapie* **34**, 578—581 (1929).
- Über die Röntgenphotolyse des Hydroperoxyds. *Z. phys. Chem. A* **140**, 133—157 (1929).
- ROCHERS, T. H.: A high intensity source of long wave-length X-rays. *Machlett news* 1947.
- ROSENBLUM, C.: The formation of benzene in the radiochemical polymerization of acetylene. *J. phys. Chem.* **41**, 651—660 (1937).
- Benzene formation in the radiochemical polymerization of acetylene. *J. phys. coll. Chem.* **52**, 474—478 (1948).
- ROTHSCHILD, W. G., and A. O. ALLEN: Studies in the radiolysis of ferrous sulfate solutions; air free solutions at higher pH. *Radiat. Res.* **8**, 101—110 (1958).
- ROWBOTTOM, J.: The radiolysis of aqueous solutions of tyrosine. *J. biol. Chem.* **212**, 877—885 (1955).
- RÜFER, A.: Beiträge zur Bestrahlung von Riboflavin. *Diss. med. Fak. Erlangen* 1956.
- SCHAEFFER, O. A., and S. O. THOMSON: The exchange of hydrogen and deuterium in the presence of electrons and ultraviolet radiation. *Radiat. Res.* **10**, 671—679 (1959).
- SCHMIDT, K.: Anwendung elektrischer Leitfähigkeitsmessungen zum Studium der Radiolyse des Wassers. *Z. Naturforsch.* **16b**, 260—210 (1961).
- SCHOEFFLE, C. S., and C. H. FELLOWS: Gaseous products from actions of cathode rays on hydrocarbons. *Ind. Eng. Chem.* **23**, 1396—1398 (1931).
- SCHOFFA, G.: ESR-Untersuchungen an bestrahlten Aminosäuren. *Biophysik* **1**, 297—298 (1964).
- SCHOLLES, G., J. WEISS, and C. M. WHELLER: Formation of hydroperoxides from nucleic acid by irradiation with X-rays in aqueous systems. *Nature (Lond.)* **178**, 157 (1956).
- SCHUBERT, C. S., and R. H. SCHULER: On the effect of iodine in the radiolysis of hydrocarbons. *J. chem. Phys.* **20**, 518—519 (1952).
- SCHULER, R. H.: The effect of ferrous sulfate concentration on the yield of oxidation of ferrous ion by radiations of high LET. *Radiat. Res.* **8**, 388—391 (1958).
- , and A. O. ALLEN: Yield of the ferrous sulphate dosimeter; an improved cathode ray determination. *J. chem. Phys.* **24**, 56—59 (1956).
- , and R. C. PETRY: Decomposition of liquid alkyl iodides by 120 kv X-radiation. *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 3954—3958 (1956).
- SCHULTE, J. W., J. S. SUTTLE, and R. WILHELM: Chemical effects produced in chloroform by  $\gamma$ -rays. *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 2222—2227 (1953).
- SCHWARZ, H. A.: The effects of solutes on the molecular yields in radiolysis of aqueous solutions. *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 4960—4964 (1955).
- , and A. J. SALZMAN: The radiation chemistry of aqueous nitrite solutions; the hydrogen peroxide yield. *Radiat. Res.* **9**, 502—508 (1958).
- SCHWIBACH, J.: Strahlenchemie wässriger Lösungen aliphatischer Chlorverbindungen. *Diss. phil. nat. Fak. München* 1961.
- SENVAR, C. B., and E. J. HART: Decomposition of aqueous solutions by alpha particles. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 19—23 (1958).

- SERAT, W. F., and J. F. MEAD: The irradiation chemistry of dilute aqueous solutions of cyclohexane. *Radiat. Res.* **11**, 370—382 (1959).
- SHALEK, R. J., and T. W. BONNER: Formation of hydrogen peroxid in water by 1 mev protons. *Nature (Lond.)* **172**, 259 (1953).
- SHAPIRO, B., and E. A. DICKENS: The radiation chemistry of 2-mercaptoethylguanidine and bis(2-guanidoethyl)-disulphide in aqueous buffered solutions. *Radiat. Res.* **13**, 857—870 (1960).
- , and L. ELDJARN: The effects of ionizing radiations on aqueous solutions of cysteamine and cystamine. *Radiat. Res.* **3**, 255—266 (1955).
- SHARPLESS, N. E., A. E. BLAIR, and C. R. MAXWELL: The effect of X-rays on aqueous solutions of alanine. *Radiat. Res.* **2**, 135—144 (1955).
- SHEPPARD, C. W., and V. L. BURTON: The effects of radioactivity on fatty acids. *J. Amer. chem. Soc.* **68**, 1636—1639 (1946).
- , and W. L. WITHEHEAD: Formation of hydrocarbons by alpha-particle bombardment of fatty acids. *Bull. Amer. Ass. Petrol. Geol.* **30**, 32—51 (1946).
- SHIELDS, H., and W. GORDY: Electron spin resonance studies of radiation damage to amino acids. *J. phys. Chem.* **62**, 789—798 (1958).
- SKOOG, F.: The effect of X-irradiation on auxin and plant growth. *J. cell. comp. Physiol.* **7**, 227—270 (1935).
- SMALLER, B., and M. S. MATHESON: Paramagnetic species produced by irradiation of organic compounds. *J. chem. Phys.* **28**, 1169—1178 (1958).
- SPARROW, A. H., and F. M. ROSENFELD: X-ray induced depolymerisation of thymonucleohistone and sodium thymonucleate. *Science* **104**, 245—246 (1946).
- STAHEL, E.: Eine Mikroionisationskammer für Röntgen- und Radiumstrahlen. *Strahlentherapie* **31**, 582—595 (1929).
- STEACIE, E. W. R.: The relation of radiation chemistry to photochemistry. *J. phys. coll. Chem.* **52**, 441—446 (1948).
- STEIN, G.: Some aspects of the radiation chemistry of organic solutes. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 227—234 (1952).
- , and J. WEISS: Deamination of aminoacids by X-rays. *Nature (Lond.)* **162**, 184 (1948).
- — The action of X-rays on benzene and benzoic acid. *J. chem. Soc.* **1949**, 3245—3254 (1949).
- STENSTRÖM, W., and A. LOHMANN: Effect of Roentgen radiation on solutions of tyrosine, phenol and tryptophan. *Radiology* **17**, 432—434 (1931).
- STEVENSON, D. P.: On the average energies of molecular ions. *Radiat. Res.* **10**, 610—621 (1959).
- SWALLOW, A. J.: The action of  $\gamma$ -radiation on aqueous solutions of cysteine. *J. chem. Soc.* **1952**, 1334—1339 (1952).
- The reducing action of X-rays. *Radiat. Res.* **1**, 570 (1954).
- SWALLOW, A. J.: Reduction of riboflavin to a stable free radical using X-rays. *Nature (Lond.)* **176**, 793—794 (1955).
- SWORSKI, T. J.: Some effects of cobalt gamma radiation on aqueous benzene solutions. *Radiat. Res.* **1**, 231 (1954).
- Mechanism for the reduction of ceric ion by tallous ion induced by cobalt-60 gamma radiation. *Radiat. Res.* **4**, 483—492 (1956).
- Mechanism for the reduction of ceric ion by formic acid induced by cobalt-60 gamma radiation. *Radiat. Res.* **6**, 645—652 (1957).
- , and M. BURTON: A study of effect of impingement particle velocity in radiolysis of aromatic hydrocarbons. *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 1998—2001, 3890—3892 (1951).
- TAPLIN, G. V.: New techniques for the precision measurement of gamma rays and fast neutrons with chemical dosimeters. *Radioisotopes in sci. Res.* **2**, 401—418 (1958).
- TAPLIN, G. V., and C. H. DOUGLAS: Colorimetric dosimeter for penetrating radiation. *Nucleonics* **6** (6), 66—70 (1950).
- — A colorimetric dosimeter for quantitative measurement of penetrating radiation. *Radiology* **56**, 577—591 (1951).
- TEPLY, J., and J. BEDNAR: Radiation chemistry of aqueous chloroform solutions. *Sec. Geneva Conf.* **29**, 71—79 (1958).
- THEARD, M., and M. BURTON: Radiolysis of liquid methanol and some methanolic salt solution. *J. phys. Chem.* **67**, 59—66 (1963).
- THOMAS, J. K., and E. J. HART: Photolysis and radiolysis of aqueous solution at high radiation intensities. *J. phys. Chem.* **68**, 2414—2418 (1964).
- THOMSON, J. J.: Recombination of gaseous ions, the chemical combination and monomolecular reactions. *Phil. Mag.* **47**, 337—378 (1928).
- TOLBERT, B. E.: Self-destruction of radioactive compounds. *Nucleonics* **18** (8), 74—75 (1960).
- TSCHICHOLD, P.: *Chemische Dosimetrie und Strahlenempfindlichkeit von gechlorten Kohlenwasserstoffen in wäßriger Lösung.* Diss. phil. nat. Basel 1961.
- VERMEIL, C.: Effet renforçant ou réduisant par des hydrocarbures de l'oxydation de  $\text{FeSO}_4$  en solution aqueuses par des rayons ionisants. *J. Chim. phys.* **52**, 587—593 (1955).
- VERWEY, E. I. W.: Elektronenleitung in nicht-metallischen Stoffen. *Philips techn. Rdsh.* **9**, 46—54 (1947).
- WASSMER, E.: Quelques observations sur l'emanation du radium. *Arch. Sci. phys. nat.* **42**, 331—332 (1916).
- WATSON, J. H. L.: Electron microscopy of radiation polymerization products. *J. phys. coll. Chem.* **52**, 470—474 (1948).
- WEBER, E. N., P. F. FORSYTH, and R. H. SCHULER: Radical production in the radiolysis of hydrocarbons. *Radiat. Res.* **3**, 68—76 (1955).
- , and R. H. SCHULER: The radiation decoloration of dilute dye solutions. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 4415—4418 (1953).

- WEEKS, B. M., and W. M. GARRISON: Radiolysis of aqueous solutions of glycine. *Radiat. Res.* **9**, 291—304 (1958).
- WEGMÜLLER, F.: Die Wirkung von Röntgenstrahlen auf einige organische Verbindungen. *Diss. phil. II.* Bern 1942.
- WEISS, J.: Radiochemistry of aqueous solutions. *Nature (Lond.)* **153**, 748—750 (1944).
- Some aspects of the action of radiations on aqueous solutions. *Brit. J. Radiol., Suppl.* **1**, 56—59 (1947).
- Chemical dosimetry using ferrous and ceric sulphates. *Nucleonics* **10** (7), 28—31 (1952a).
- The decomposition of hydrogen peroxide by ionizing radiations and related problems. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 161—169 (1952b).
- WHRIGHT, J.: The problem of dosimetry in the pile. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 60—72 (1952).
- WIELAND, H.: Zur Frage nach dem intermediären Auftreten freier Radikale bei chemischen Reaktionen. *Chem. Ber.* **48**, 1098—1112 (1915).
- WIERINGEN, J. S. VAN: Paramagnetische Resonanz. *Philips techn. Rdsch.* **19**, 341—354 (1958).
- WILCOX, W. S.: The gamma radiolysis of butyl bromides. *Radiat. Res.* **10**, 112—117 (1959).
- WILEY, R. H., W. MILLER, C. H. JARBOE, J. R. HARRELL, and D. J. PARISH: Gamma radiation induced isomerization of n-propylchloride. *Radiat. Res.* **13**, 479—488 (1960).
- WILLIAMS, R. R.: The Szillard-Chalmers reaction in the chain reacting pile. *J. phys. coll. Chem.* **52**, 603—611 (1948).
- WILZBACH, K. E.: Tritium labelling by exposure of organic compounds to tritium gas. *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 1013—1015 (1958).
- WOLFROM, M. L., W. W. BINKLEY, L. J. McCABE, T. M. SHEN HAN, and A. M. MICHELAKIS: The effect of ionizing radiations on carbohydrates. *Radiat. Res.* **10**, 37—47 (1959).
- YALOW, R. S.: The effects of alpha particle irradiation on <sup>131</sup>I-labelled iodotyrosins. *Radiat. Res.* **11**, 30—37 (1959).
- , and S. A. BERSON: The effect of X-irradiation on <sup>131</sup>I-labelled iodotyrosins in solutions. *Radiat. Res.* **14**, 590—604 (1961).
- ZAVOISKY, E.: Paramagnetische Relaxation flüssiger Lösungen bei senkrecht stehenden Feldern. *Phys. Z. USSR* **9**, 211—224 (1945).
- ZIMMER, K. G.: Mechanismus der Wirkung ionisierender Strahlen auf Lösungen. *Naturwissenschaften* **32**, 375—376 (1944).
- L. EHRENBERG u. A. EHRENBERG: Nachweis langlebiger magnetischer Zentren in bestrahlten biologischen Medien und deren Bedeutung für die Strahlenbiologie. *Strahlentherapie* **103**, 282—306 (1953).
- ZINN, W. H., H. LICHTENBERGER, M. NORVICK, G. H. WHITMAN, C. J. B. ZITEK, J. G. FELDES, V. C. HALL, and R. O. HAROLDSON: Operational experiments with the borax power plant. *Nucl. Sci. and Eng.* **1**, 420—437 (1956).
- ZSULA, J., A. LIUZZI, and J. S. LAUGHLIN: Oxidation of ferrous sulfate by high energy electrons and the influence of the polarization effect. *Radiat. Res.* **6**, 661—665 (1957).
- ZUBLER, E., W. H. HAMIL, and R. R. WILLIAMS: Ion pair yield in the X-ray decomposition of hydrogen bromide in rare gas atmospheres. *J. chem. Phys.* **23**, 1263—1267 (1955).

## C. Changes in macromolecules produced by ionizing radiations

By

**P. Alexander**<sup>1</sup>

With 32 Figures

### I. Macromolecules as the site for the initial chemical lesion

Radiation induced chemical changes constitute the starting point for the chain of events that leads to biological injury. These initial chemical lesions are acted upon by metabolism and after a time biochemical lesions and later still anatomical lesions (pyknosis, chromosome abnormalities etc.) are seen. The nature of the initial lesion is still somewhat uncertain and this problem is in the forefront of radiobiological research. Several international symposia have in the last three or four years been entirely devoted to this subject. The considerations involved deciding which of the many chemical reactions, that are produced by radiation, are of biological significance has recently been discussed by BACQ and ALEXANDER (1961) and will be referred to again briefly at the end of this chapter.

Since only very small doses of radiation are needed to injure mammalian cells, damage to low molecular weight compounds are unlikely be biologically significant, since the fraction of the total number of molecules of any one compound, that is changed by a lethal dose, is minute. For this reason radiation induced chemical changes occurring in macromolecules or macromolecular structures are the probable site for the primary chemical lesion since a few radiation events can inactivate a substantial fraction of biologically active macromolecules<sup>2</sup>.

Damage to macromolecules will occur both when the action of radiation is direct (i.e. atoms forming part of the molecules of the macromolecule become ionized) and when the action occurs indirectly, as a result of radiation produced radicals and activated molecules formed in the solvent in which the macromolecule is dissolved or suspended. From a biological point of view water is the only solvent that need to be considered and indirect action can therefore be defined as processes brought about by  $H^{\cdot}$ ,  $OH^{\cdot}$  and  $OH_2^{\cdot}$  radicals and by hydrogen peroxide (see another chapter in this treatise). ALEXANDER and ROSEN (1960) have shown that a more reactive, or activated form, of hydrogen peroxide is formed by  $\alpha$ -particles and may have to be considered.

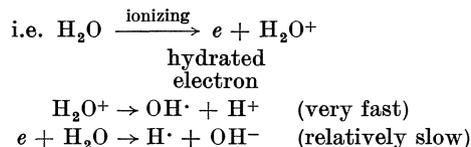
Recently, (HART and BOAG 1962) the new technique of flash photolysis has shown that the electron which is ejected from a water molecule on ionization has a longer lifetime than had previously been thought to be the case in aqueous solution at neutral ph. In the presence of oxygen this hydrated electron instantly combines to give  $O_2^{\cdot-}$  which is in equilibrium with  $HO_2^{\cdot}$  ( $HO_2^{\cdot} \rightleftharpoons O_2^{\cdot-} + H^+$ ) and the introduction of this new concept does not therefore alter our ideas of what occurs in aerated water. In the absence of oxygen however

---

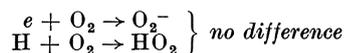
<sup>1</sup> Head, Radiobiology Department Chester Beatty Research Institute; Institute of Cancer Research: Royal Cancer Hospital, London S.W. 3.

<sup>2</sup> Reaction with low molecular weight compounds may be important when the radiochemical product is a toxic substance. It has been suggested by PHILPOT et al (1958) that peroxides produced in this way contribute to the death of animals following doses of several hundred r and this hypothesis has been supported in more recent work by TARUSOFF (1961).

its role is more important and the hydrated electron may well take the place of the H<sup>·</sup> atom as the "partner" of the OH<sup>·</sup> radical.



in the presence of oxygen



## II. The different types of effects produced in macromolecules

Radiation damage to macromolecules can be considered in two ways:

Attention may be focussed on the chemical changes occurring in one or more of the constituent groups, or alternatively changes in the macromolecular properties of the molecules can be studied. The majority of the experimental work done up to now has been concerned with reactions that change the physical properties of the macromolecule since

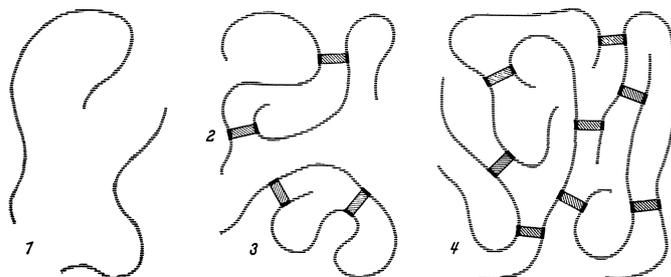


Fig. 1a. Crosslinking of a flexible molecule. 1. before reaction, 2. intermolecular, 3. intramolecular, 4. formation of an insoluble gel network

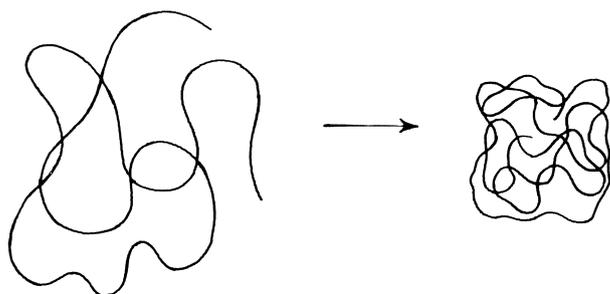


Fig. 1b. "Coiling" of stiff molecule. Length (and molecular weight) unaltered, but because of greater flexibility it occupies a smaller volume in solution and therefore has a lower viscosity

modification of these is more likely to lead to inactivation than a process which only produces a chemical change in one of the side groups. For biological activity in proteins, eg. enzymes, many of the side groups are unimportant and changes in them would only occasionally lead to loss of activity. Yet in many cases proteins are inactivated by a single primary ionization occurring anywhere within the macromolecule, and the same probably applies to the nucleic acids of viruses. While it is possible that energy transfer processes can cause chemical changes to occur preferentially in the biologically important part of a macromolecule, this is unlikely to apply generally since energy transfer processes are relatively non specific. Probably the loss of biological activity is associated with one of the macromolecular changes to be discussed below.

The type of changes in molecular properties that are seen, are the following. The first three have been experimentally observed both when the action has been direct and indirect. The last is only observed when the action is direct.

a) *Main chain scission* resulting in a fall in molecular weight of the macromolecule.

b) *Crosslinking* (see Fig. 1a). This can be inter-molecular when it leads eventually to the production of a large network of linked molecules which are no longer soluble, but only swell. When the macromolecules are far apart (i.e. in dilute solution) and the molecule is flexible, as is the case for synthetic polymers in good solvents, then the links may be formed between different parts within the same molecule. This is known as intra-molecular cross-

linking and causes the molecule to take up a smaller volume in solution so that the viscosity falls. Intra-molecular cross-linking has frequently been confused with main-chain scission which also lowers the viscosity of solutions because the actual length of the molecule is reduced.

c) *Disruption of the secondary structure* which is responsible for maintaining the steric configuration (e.g. hydrogen bonds restraining the polypeptide chains of proteins) in fixed configurations (see Fig. 2). This effect is not seen in synthetic polymers since these do not take up in solution a specific structure in the same way as do many biosynthetic materials.

Disorganisation of a protein molecule frequently causes aggregation because some of the hydrogen bonds which were required to maintain the structure become available for forming bonds between different disorganized (i.e. denatured) molecules. An increase in the average molecular weight of proteins following irradiations may be a consequence of disorganization and need not mean that true covalent crosslinks had been formed. To distinguish between these two possibilities hydrogen bond breaking solvents must be used.

d) *Trapped radicals*. These are almost invariably found when solid dry (i.e. not swollen) organic materials are irradiated and their existence was demonstrated more than twenty years ago by the fact that irradiated substances could initiate polymerization, a process known to require radicals. The modern techniques of electron spin resonance has made the detection of these radicals much simpler.

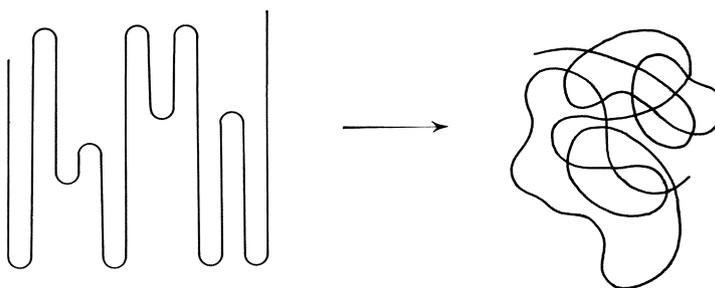


Fig. 2. Diagrammatic representation of denaturation of a protein by disruption of hydrogen bonds that maintain the native configuration

It is commonly accepted that within an extremely short time interval (circa  $10^{-9}$  secs.) many of the ionized molecules turn into free radicals. These are chemical entities characterised by extremely high reactivity. If radicals can move, they interact with one another and disappear as radicals. In the solid state however steric factors may trap certain radicals and these remain behind until either the polymer is swollen by a suitable solvent, so that the molecules can move, or until oxygen or other reactive substances diffuse in and combine with the radicals.

Radiation induced radicals are not trapped in mammalian cells or vegetative micro-organisms because all the constituents are in a swollen state in which molecular movement can take place. In biological systems long lived free radicals are only seen following irradiation in relatively dry materials, such as seed or spores.

In vegetative cells radicals can only be detected if e.s.r. measurements are made during irradiation. If cells or tissues are dried, free radicals can be detected in them by e.s.r. already before irradiation and these arise principally from

1) Melanin or related pigment granules which are synthesised by a radical type of polymerisation and in which radicals that do not interact with oxygen are trapped.

2) From oxido-reductive enzymes which act through an intermediate radical often of the semiquinone type. A fraction of the enzymes is usually in the radical form and thus causes an e.s.r. signal.

3) On drying, some macromolecules are disrupted and this gives rise to radicals.

### 1. Influence of external factors on radiation effects in macromolecules

All the radiochemical changes described above can be influenced by external factors. Lowering the temperature lowers the effectiveness of the direct action of ionizing radiations in producing main-chain scission and crosslinking in polymers (see Fig. 3) and or

inactivating bacterial spore (see Fig. 4). This extremely unexpected temperature dependence of radiochemical processes found by ALEXANDER, BLACK and CHARLESBY (1955), has not been explained theoretically. The effect of temperature on indirect action is complex since freezing the solution must stop indirect action as the radicals are then prevented

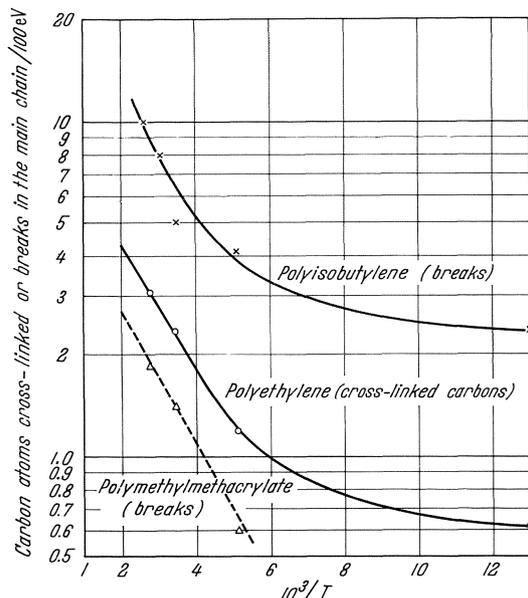


Fig. 3. Influence of temperature of irradiation on the effectiveness of  $\gamma$  (or  $\beta$ ) irradiation in cross-linking polyethylene and degrading polymethyl methacrylate and polyisobutylene. (Effectiveness expressed as G value; i.e. number of crosslink or main-chain breaks produced by 100 eV of absorbed energy)

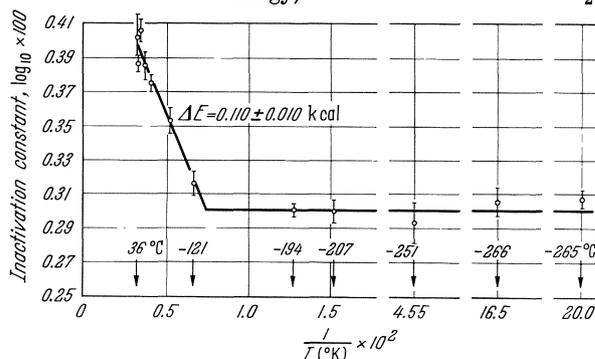


Fig. 4. Influence of temperature on the radiosensitivity to Roentgen rays of dry spores of *B. megaterium*. (The radiosensitivity is expressed as the logarithm of the inactivation constant which is inversely related to the dose needed to kill 63%)

radical. More frequently the  $\text{HO}_2^{\cdot}$  ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) increase the radiation effect because they can attack and damage a macromolecule whereas the slow electron by itself does not cause further change.

### b) Protection by added substances<sup>1</sup>

Three types of protection have been demonstrated:

$\alpha$ ) When the action is indirect the added substance will compete with the dissolved macromolecule for the free radicals ( $\text{H}^{\cdot}$ ,  $\text{OH}^{\cdot}$  or  $\text{HO}_2^{\cdot}$ ) and by competitively removing them

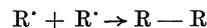
<sup>1</sup> This subject has been dealt with in considerable detail in a review article (ALEXANDER 1960).

from diffusing. The problem of how far the radicals react on melting has not been studied systematically.

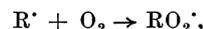
#### a) Oxygen

Oxygen can affect the radiation changes in a number of different ways.

$\alpha$ ) by reacting with an organic radical before this has had a chance to undergo further reactions. For example an organic substance of the general formulae RH can be converted to a radical  $\text{R}^{\cdot}$  either by direct action or by indirect action (e.g.  $\text{RH} + \text{OH}^{\cdot} \rightarrow \text{R}^{\cdot} + \text{H}_2\text{O}$ ). Two of these radicals may then react to form a crosslink,

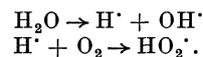


but in the presence of oxygen

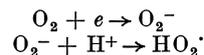


to give a peroxy radical which cannot crosslink. Moreover the subsequent reactions of  $\text{RO}_2^{\cdot}$  will in many cases be quite different from those of  $\text{R}^{\cdot}$  even when there is no crosslinking.

$\beta$ ) In the presence of oxygen the radical  $\text{O}_2^{\cdot-}$  or  $\text{HO}_2^{\cdot}$  is formed. When the action is indirect this occurs as follows



If the action is direct then the secondary electrons which are no longer capable of ionizing may be captured by oxygen as follows



in preference to reacting with an organic molecule.

These  $\text{HO}_2^{\cdot}$  (or  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) radicals can influence the radiochemical reactions qualitatively because they can give rise to reactions different from those produced by direct ionization or by an  $\text{H}^{\cdot}$  or  $\text{OH}^{\cdot}$

reduce the extent of radiation damage. This type of protection was first discovered by Dale (see this treatise) and has been very extensively studied by ALEXANDER et al. (1955) who used the degradation of dilute solutions of polymethacrylic acid as a criterion. Table 1 shows a selected list of substances found to be protective *in vitro*.

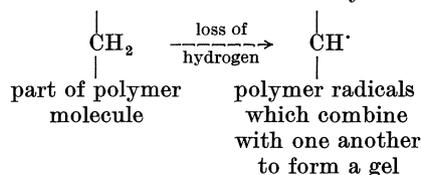
In these *in vitro* tests certain pharmacologically active substances such as histamine, tyramine and serotonin were very active in combining with free radicals in aqueous solution. Since these substances also protect animals against the lethal effect of Roentgen rays, BACQ and ALEXANDER suggested that their action *in vivo* could be explained in this way.

Table 1. Protection of a 0.025% solution of polymethacrylic acid (at pH 7) against degradation by Roentgen rays

Substances tested	Protection (%) at the following concentrations		
	$1 \times 10^{-5}M$	$1 \times 10^{-4}M$	$8 \times 10^{-4}M$
	Chelating Agents		
Sodium diethyldithiocarbamate	54	67	87
Sodium diethyldithiocarbamate		13	
Dithiooxamide	63	68	74
Dithiooxamide		42	
8-Hydroxyquinoline	64	72	83
8-Hydroxyquinoline + $2 \times 10^{-4}M$ Copper Sulphate		20	
	Non-Chelating Agents		
2-Hydroxyquinoline		29	47
Allylthiourea	43	54	69
Allylthiourea		51	
Thiourea	7	52	72
$\beta$ -Phenylethylamine	0	42	74
Allyl alcohol	0	10	66
Urea		0	
Glycine		18	
Ethylamine		12	
Tyrosine		43	
Tyramine		71	
Cystine		9	
Cystamine		66	
Glucose		47	
Sodium cyanide		80	
Sodium azide		54	
Sodium formate		37	
Sodium acetate		0	
Sodium propionate		11	
Sodium caprylate		54	

This hypothesis is almost certainly wrong since most of the amines, are now known, protect the haemopoietic organs by causing hypoxia pharmacologically. The amines also protect *in vivo* against the depolymerisation of mucopolysaccarides in connective tissue (see p. 210) and here they work by radical capture.

$\beta$ ) The protective agent may repair the damage and this applies equally whether the initial reaction was due to direct or indirect action. The general reaction which was first discovered by ALEXANDER and CHARLESBY in 1954 may be illustrated as follows:



The protective agent ( $-\text{SH}$ ) transfers a hydrogen atom to reconstitute the polymer before the polymer radical has had time to undergo further reactions such as crosslinking.

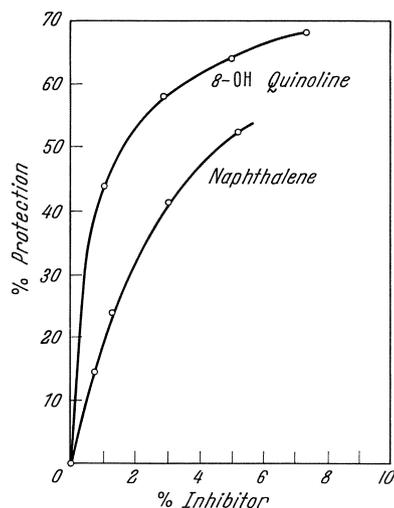
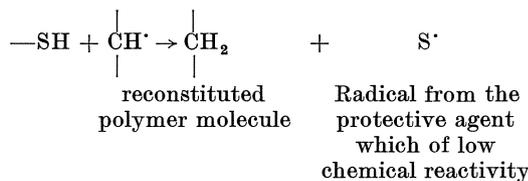


Fig. 5. Protection against radiation induced degradation of polymethyl methacrylate by different quantities of naphthalene and 8-hydroxy quinoline. These additives were intimately dispersed in the films of polymer

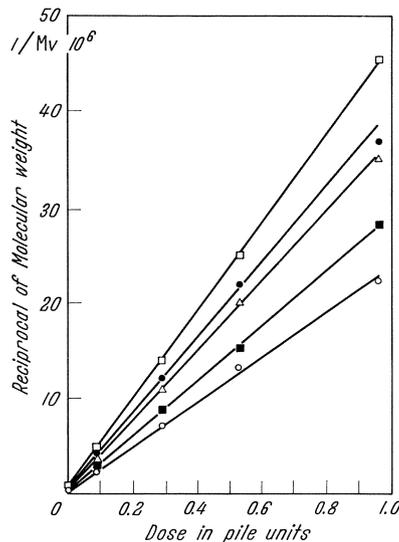


Fig. 6. Degradation (i.e. reduction in molecular weight) by pile irradiation of polymethyl methacrylate films containing different concentrations of naphthalene. ○ 5.3%, ■ 3.16%, △ 1.29%, ● 0.78%, □ polymer only

Table 2a. Protection of solid polymethyl methacrylate against degradation by the direct action of  $\gamma$ -rays

Protector	Amount present %	Protection % <sup>1</sup>
Diphenylthiourea	3.6	69
Phenol	2.7	52
$\alpha$ -Naphthylamine	2.5	78
$\beta$ -Naphthylamine	3.3	73
$\beta$ -Naphthol	5.3	24
$\alpha$ -Naphthol	5.5	2
Benzoic acid	1.0	76
2,4-Dinitroaniline	4.2	72
Diphenyl	2.5	56
Triphenylmethane	5.2	71
Anthracene	2.1	37
Phenanthrene	2.2	51
2,4-Dinitrophenol	3.2	68
Pyrene	4.1	56
Ethylurea	10.0	12
<i>sym</i> -Dimethylurea	10.0	15
Medicinal paraffin	about 10.0	3

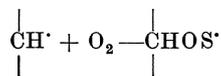
<sup>1</sup> Expressed as grams in 100 g of polymer.

Table 2b. Absence of protection against crosslinking of polyethylene by  $\gamma$ -rays

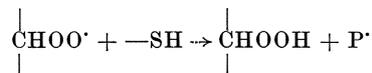
Additive	Gel formed % <sup>1</sup>
None (four different series)	67, 65, 67, 58
10% carbon black	61
5% naphthalene	70
10% phenol	71
10% 8-hydroxyquinoline	60
5% 8-hydroxyquinoline	63
10% allylthiourea	63
5% allylthiourea	63

<sup>1</sup> Crosslinking was determined as the percentage of the polyethylene that had been rendered insoluble (i.e., converted into a gel) in boiling toluene. For experimental details, see reference ALEXANDER and TOMS (1956).

In the presence of oxygen the polymer radical will be converted to an unstable peroxy radical



which will undergo further changes and may in some cases decompose in such a way as to bring about main-chain breakdown. This degradation can in principle be prevented by the protector as follows:

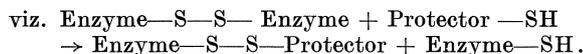


In this way the polymer is changed but decomposition is prevented by the formation of a stable compound.

The donation of a hydrogen atom to an organic radical which forms the basis of the repair reaction occurs very readily with  $-\text{SH}$  containing substances, but is not confined to them. Thus, uncharged amino groups (i.e.  $-\text{NH}_2$  but not  $-\text{NH}_3^+$ ) can also react in this way, but will be much less effective than  $-\text{SH}$  groups.

$\gamma$ ) When the action is direct added substances can also protect by mechanisms other than repair and this type of reaction has been called energy transfer (ALEXANDER and CHARLESBY 1954; ALEXANDER and TOMS 1958). This term is used when it would seem that energy taken up by the polymer is transferred to the additive before there has been an opportunity for a chemical change to occur in the polymer. The best authenticated examples of this type of protection are seen in the degradation of polymethyl-methacrylate (see Fig. 5 and 6, and Table 2) where repair mechanisms could be excluded. In most cases of protection the data does not allow a distinction to be made whether the process was one of repair or one of energy transfer, if action is direct or, (if action is indirect), one of competition.

$\delta$ ) According to ELDJARN and PIHL (1956) the  $-\text{SH}$  protective agents function by forming a mixed disulphide group with biologically important  $-\text{S}-\text{S}-$  groups in enzymes.



While the detailed investigations of the Norwegian workers have clearly shown that such enzyme-protector disulphide groups are formed under conditions where animals are protected, their role in protection is not clear. Certainly the mixed disulphide form of the enzyme is not necessarily more radioresistant (indeed LANGE and PIHL (1961) find that mixed disulphide formation sensitizes some enzymes) nor is there any indication that  $-\text{SH}$  enzymes are the important primary targets. The contribution of mixed disulphide formation to protection is therefore more likely to be by a physiological mechanism (i.e. as a result of the formation of mixed disulphides the normal biochemical processes of the cell are altered and this causes the cell to become more radioresistant).

### III. Crosslinking and degradation of synthetic polymers<sup>1</sup>

#### 1. Degradation

If degradation (i.e. breaks in the main chain) is the only macromolecular reaction that is occurring then the change in the molecular weight may be written as follows<sup>2</sup>:

$$\frac{1}{M_i} - \frac{1}{M_n} = eNR$$

<sup>1</sup> An excellent and authoritative monograph on this subject has been written by CHARLESBY (1960).

<sup>2</sup> Many macromolecules, synthetic as well as naturally occurring, like DNA, are not all of the same size and the molecular weight of a preparation is therefore an average. There are different ways in which such an average can be expressed and the numerical values will be different. All the formulae given here apply to *number* averages whereas most experimental methods give *weight* averages. To convert one average to the other requires that the nature of the size distribution curve be known and this is not always the case. For a more detailed discussion of this complex problem the reader is referred to CHARLESBY (1960).

where  $M_i$  and  $M_n$  are the molecular weights of the irradiated and unirradiated polymer respectively,  $R$  is the radiation dose,  $N$  Avogadro's number (i.e.  $6.03 \times 10^{23}$ ) and  $e$  the energy that has to be deposited in the polymer for every break that is produced. It is convenient to express  $e$  in electron volts (eV) and for this purpose  $R$  has to be expressed as eV per g (one rad is equivalent to  $6 \cdot 1 \times 10^{13}$  eV/g).

Fig. 6 shows that for polymethylmethacrylate  $\frac{1}{M_i}$  is proportional to radiation dose. This means that the number of main-chain breaks produced is proportional to dose. The slope of the graph is proportional to the energy needed to produce a break and the protection by added naphthalene is calculated from the change in slope. The proportionality of

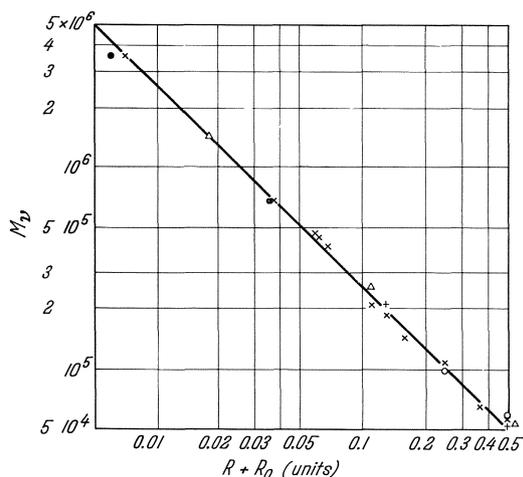


Fig. 7

Fig. 7. Degradation of polyisobutylene by pile irradiation showing that  $\log M_w = \text{constant} + \log(R + R_0)$  (for definition see text). Variation of viscosity-average molecular weight with radiation dose.  $\times$ , rods ( $R_0 = 0.007$ );  $\bullet$ , rods ( $R_0 = 0.006$ );  $\circ$ , outside shavings from rods;  $+$ , rods heated to  $150^\circ\text{C}$  after irradiation;  $\Delta$ , powder ( $R_0 = 0.0175$ ); —,  $M_w = 2.6 \times 10^4 / (R + R_0)$

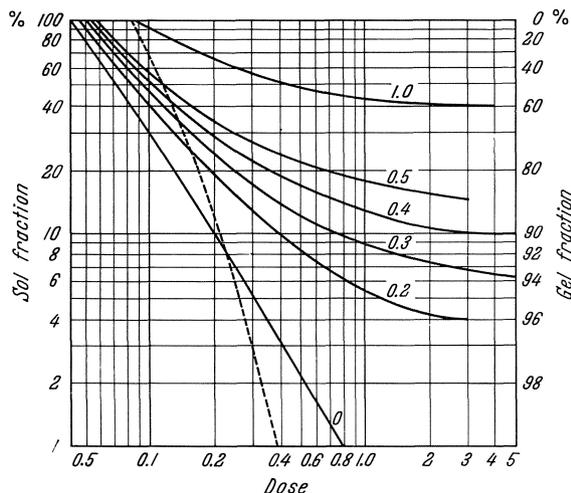


Fig. 8

Fig. 8. Theoretical relationship between the formation of insoluble gel by crosslinking and the radiation dose. At the gel point one crosslink is formed on average for each molecule present. The numbers against the lines represent the ratio of chain fracture to crosslinks; when this ratio exceeds two no gel is formed. The dotted line would be followed by a polymer of uniform molecular weight distribution (i.e. all molecules of the same size). The solid lines are for a polymer in which there is a random distribution of sizes

breaks with dose (or in other words the constancy of  $e$ ) extends over a thousand fold dose range as shown in Fig. 7. Here the data is presented logarithmically in the form  $\log M_i$  versus  $\log (R + R_0)$  where  $R_0$  is a constant determined by the molecular weight of the starting material<sup>1</sup>.

If degradation is accompanied by a smaller amount of crosslinking than these relationships would still be obeyed but the value for the energy needed to produce a break would be erroneously high. The occurrence of a small amount of crosslinking means that a polymer which is linear to start with finishes after irradiation with a branched main-chain. The introduction of branching can be detected by measuring the molecular weight of the irradiated polymers by two different physico-chemical methods, namely viscosity and light scattering (ALEXANDER and TOMS 1958). Viscosity is quite insensitive to branching while light scattering measurements reflect branching. In the absence of branching the two methods will run parallel for polymers irradiated with different doses but if there is some crosslinking then there will be a divergence.

<sup>1</sup>  $R_0$  is the dose that would be necessary to reduce a polymer of infinite molecular weight to one with the molecular weight of the starting material.

## 2. Inter-molecular crosslinking

In principle inter-molecular crosslinking could be measured by determining the increase in molecular weight but for technical, as well as theoretical reasons this is not a useful method. A much simpler and much more informative procedure is to determine the amount of insoluble gel produced by different doses. Fig. 1a showed that intermolecular crosslinking leads to the formation of large (so called infinite) networks of molecules which are no longer soluble, but only swell in the solvents that dissolve the unirradiated polymer. CHARLESBY (see CHARLESBY 1960) showed that a certain minimum dose was necessary before there is any gel and that thereafter the amount of gel increases with dose as shown in Fig. 8. The threshold dose depends on the molecular weight of the sample and on the efficiency of crosslinking<sup>1</sup>.

It so happens, that at the threshold (i.e. when gel is just beginning to be formed) the number of crosslinks that have been introduced is equal to the total number of molecules that are present. This does not mean that every molecule is involved in one crosslink. The crosslinks are randomly distributed and while some molecules are unaffected others are linked by more than one crosslink. From this relationship the energy necessary to produce one crosslink ( $E$ ) can be calculated. Threshold dose (in eV/g) =  $\frac{EN}{M_0}$  where  $N$  is avogadro's number and  $M_0$  the molecular weight before irradiation.

If some main-chain scission is produced at the same time as cross-linking, then the threshold dose for gel formation is increased and a limit is set to the fraction of the polymer that can be converted into gel, however large the dose. Fig. 8

shows the theoretical curves for crosslinking with degradation calculated by the theory of CHARLESBY (cf. 1960). If more than two breaks are produced for every crosslink no gel will be formed whatever the dose. Thus, by determining the relationship between the amount of gel produced and radiation dose the ratio of crosslinks to main-breaks can be calculated.

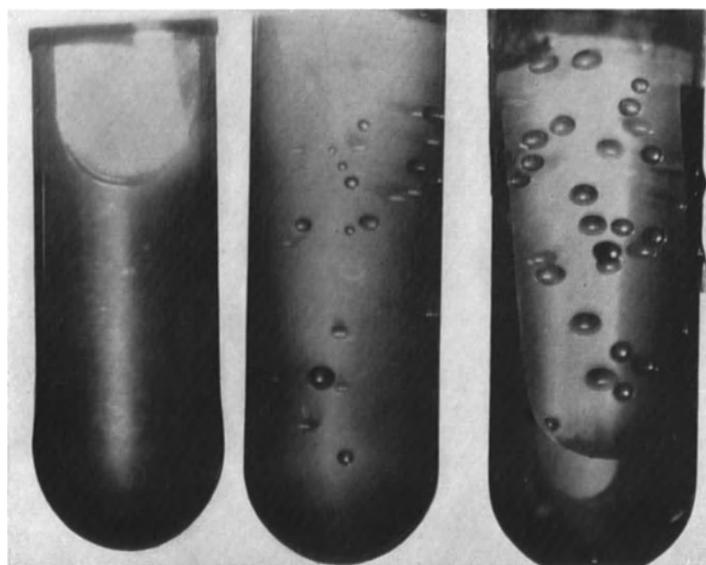


Fig. 9. Photograph of 2 per cent polyvinyl pyrrolidone solution. 1. before irradiation, 2.  $1.5 \times 10^5$  r (just gelled), 3.  $7 \times 10^5$  r (heavily crosslinked). (Bubbles due to trapped gases produced during irradiation)

## 3. Intra-molecular crosslinking

Crosslinking can also be brought about by indirect action and solutions of certain water soluble polymers will set to a gel on irradiation (see Fig. 9). If these polymers are irradiated in very dilute solutions, the viscosity falls and the reaction appears to be one of main-chain scission. However, molecular weight determinations show that there is no reduction in molecular weight, but that the molecules have become more compact. This is due to the formation of intra-molecular crosslinks (see Fig. 1 b). When the concentration of these polymers exceeds 0.5 %, intermolecular crosslinking takes place and the solution is eventually converted into a gel. Presumably the free radicals attack the polymers to give an

<sup>1</sup> It also depends on the molecular weight distribution of the different molecules in the starting polymer.

active centre. In dilute solution the chance of interaction between active centres is small and the principle reaction is between different groups within the same flexible molecule. At higher polymer concentrations intermolecular reactions occur (see Fig. 10).

This intermolecular reaction can also be prevented by giving the molecules an electric charge; thus, completely unionised polyacrylic acid crosslinks very well in dilute solution, but if only 5% of all the acid groups in the polymer are ionized crosslinking no longer occurs. The electric charge causes repulsion between the molecules so that they cannot get together to produce a crosslink.

Crosslinking (particularly in the dilute solution) is much reduced or even prevented by the presence of oxygen which presumably adds on to the active centre and thereby prevents this from taking part in crosslinking as shown on page 3. Cysteamine and certain other substances are very effective in preventing crosslinking in solution (see Fig. 11) and there is evidence (ALEXANDER and CHARLESBY 1957) that this occurs principally by the repair mechanism and not by the competition mechanism which applies for polymers that are degraded (Table 1).

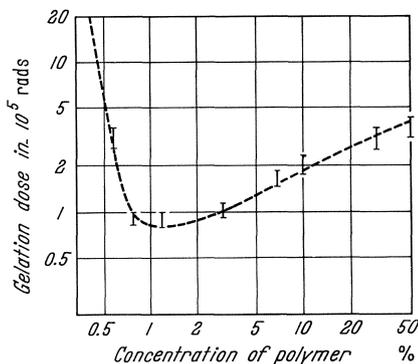


Fig. 10

Fig. 10. Gelation by  $\gamma$ -rays of aqueous solutions of polyvinyl pyrrolidone at different concentrations. (Gelation dose corresponds to first production of detectable gel.) At low concentrations the crosslinking is intra-molecular and no gel is formed. At 0.5% concentration inter-molecular crosslinking occurs and gel is formed. At higher concentrations the dose needed to give gel increases because of the "dilution law" of indirect action (i.e. there are more macromolecules present per ml so the dose has to be increased)

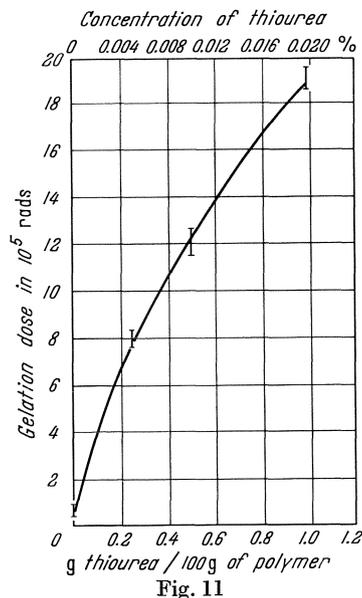


Fig. 11

Fig. 11. Protection by thiourea. Prevention of crosslinking of polyvinyl alcohol in 2% aqueous solution by  $\gamma$ -rays

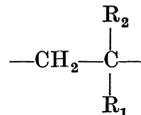
## 4. Relation between structure and radiation response

### a) Direct action

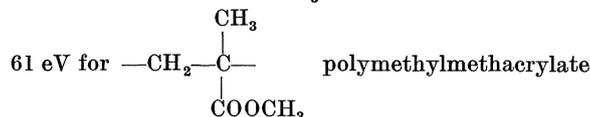
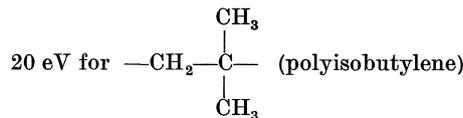
In spite of a very great amount of experimental work no satisfactory mechanism has yet been proposed that explains why some polymers crosslink and others degrade. If oxygen is excluded it would seem that different polymers fall generally into one or other of two quite distinct classes; so that either only crosslinking or only main-chain scission is seen. Light scattering and viscosity measurements showed that irradiation of solid (i.e. direct action) polymethyl methacrylate and polyisobutylene (ALEXANDER and TOMS 1956) and of dilute solutions (i.e. indirect action) of polymethacrylic acid (ALEXANDER and CHARLESBY 1957) gave only degradation. With polythene the reverse was found, only crosslinking and no degradation (see Fig. 12). Only with polypropylene do the two processes occur simultaneously in the absence of oxygen (BLACK and LYON 1957).

Copolymers consisting of units that crosslink and of units that degrade (i.e. styrene and isobutylene copolymers) give a complex response which is illustrated in Fig. 13.

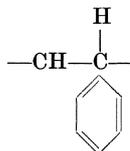
The most useful structural generalisation that has been made (cf. CHARLESBY 1960) is that polymers of the following general constitution



crosslink if either  $R_1$  or  $R_2$  (or both) are hydrogen, otherwise they degrade. The energy needed to produce a crosslink or a main-chain break varies widely and depends on intramolecular energy transfer processes. Thus at room temperature the energy needed to give a break is



A crosslink in polythene,  $-CH_2-CH_2-$  requires some 20 eV while for polystyrene,



2000 eV are necessary (cf. CHARLESBY 1960).

The presence of oxygen has relatively little effect on main-chain scission, but decisively influences crosslinking. Fig. 12 shows that in thin films of polymers (thin films had to be used to allow oxygen penetration and oxygen effects were not seen with thick films because the small amount of oxygen present is quickly used up) the gel curve indicates that approximately one main-chain break is produced for every crosslink. ALEXANDER and TOMS (1956) concluded that the

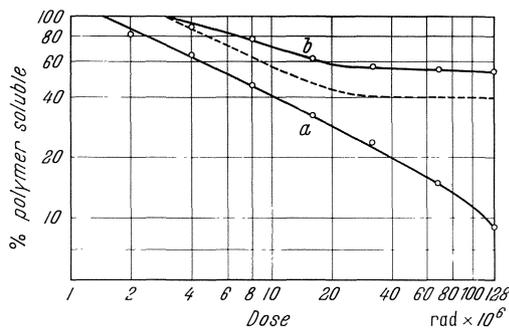


Fig. 12

Fig. 12. Relationship between dose of 2 MeV electrons and fraction of polyethylene (in the form of  $18 \mu$  thick films) rendered insoluble (i.e. crosslinked). a) Irradiation *in vacuo*. b) Irradiation in air. Broken line theoretical curve for a reaction where one main chain break is produced for every break

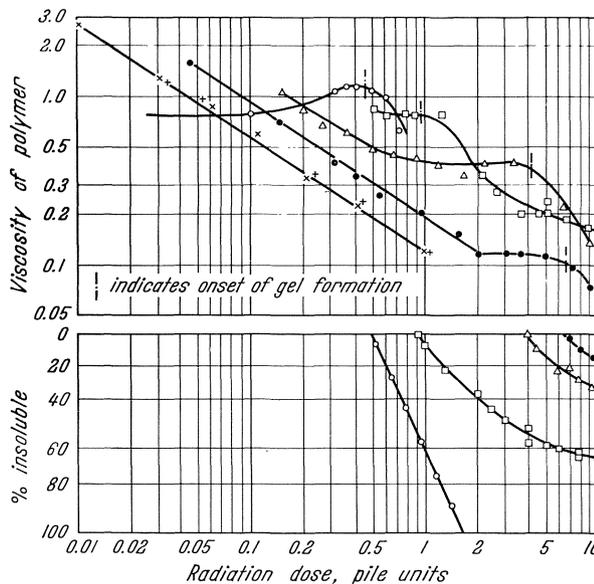


Fig. 13

Fig. 13. Decrease in the intrinsic viscosity (top diag.) and formation of gel (bottom diag.) in a copolymer of which one component (polystyrene) undergoes crosslinking and the other component (polyisobutylene) degrades. + 100% polyisobutylene; ● 80% polyisobutylene, 20% polystyrene; △ 50% polyisobutylene, 50% polystyrene; □ 20% polyisobutylene, 80% polystyrene; ○ 100% polystyrene

effect of the oxygen was not to reduce the total number of crosslinks but to introduce in addition main-chain breaks. It was suggested that these were the result of the formation of  $O_2^-$  (see p. 186). Unstable peroxides are however, also formed and the actual mechanism has not been elucidated.

In the case of polystyrene the effect of oxygen was even more drastic. When a fine powder was irradiated in the presence of oxygen no gel was formed at all while in its absence crosslinking occurred normally. This indicated that the number of breaks introduced by the presence of oxygen was more than twice the number of crosslinks formed.

### b) Indirect action

The effect of irradiation of synthetic polymers in aqueous solution has received relatively little study (cf. ALEXANDER and CHARLESBY 1957). Some synthetic polymers, notably polymethacrylic acid are degraded when irradiated in dilute aqueous solutions so long as

Table 3. *Effect of roentgen and  $\gamma$ -rays on different water soluble polymers*

	Effect of X- or $\gamma$ -rays on <sup>1</sup>		
	dilute aqueous solution <sup>2</sup>	concentrated aqueous solution <sup>2</sup>	dry polymer
Polymethacrylic acid; in acid form pH 4	degradation	degradation	degradation
Polymethacrylic acid; 60 % neutralised pH 7	degradation	degradation	degradation
Polyacrylic acid; in acid form pH 4	intra-molecular crosslinking	crosslinking	crosslinking
Polyacrylic acid; 60 % neutralised pH 7	degradation	degradation	crosslinking
Polyvinyl alcohol	intra-molecular crosslinking	crosslinking	crosslinking
Polyvinyl pyrrolidone	intra-molecular crosslinking	crosslinking	crosslinking
Polyacrylamide	intra-molecular crosslinking	crosslinking	crosslinking
Polystyrene sulphonic acid	degradation	degradation	crosslinking <sup>3</sup>

<sup>1</sup> These experiments apply to aerated solutions.

<sup>2</sup> Dilute in less than 0.3 % ; concentrated greater than 1 % .

<sup>3</sup> Extremely radiation resistant; for one crosslink of the order of  $10^4$  eV of energy must be taken up.

oxygen is present. The main-chain scission in this case is brought about by OH and/or  $HO_2$  radicals. Polystyrene sulphonic acid is degraded equally in the absence as in the presence of dissolved oxygen.

Other water soluble synthetic polymers such as polyvinyl alcohol and unionized polyacrylic acid become crosslinked (see Table 3).

## 5. Intra-molecular energy transfer and electron spin resonance of trapped radicals

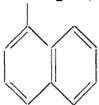
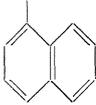
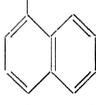
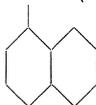
Energy deposited by ionizing radiations in one part of the molecule can be transferred to another part which has a chemical structure favourable for energy trapping. The great radioresistance of polystyrene (2000 eV per crosslink) suggested that energy absorbed in the main-chain migrated to the aromatic ring in the side chain where it was dissipated. Experiments in which a naphthalene ring was substituted in a paraffin chain (see Table 4) demonstrated the same phenomenon and indicated that in this system energy transfer decreased in effectiveness if more than six carbon atoms had to be traversed (ALEXANDER and CHARLESBY 1954).

Reference has already been made to the fact that when solid polymers are irradiated radicals are trapped and these can be detected by electron spin resonance (e.s.r.). The shape of the e.s.r. spectrum reflects the nature of the radicals formed but as yet the

theory is not sufficiently precise for reliable interpretation except in the simplest cases. Frequently the spectrum is surprisingly simple and suggests that one type of radical only is present. For measurements made at room temperature this need not mean that only one type of radical is present but merely that only one type of radical persists. If the irradiation and the e.s.r. measurements are made at very low temperatures (e.g. those of liquid nitrogen,  $-185^{\circ}\text{C}$ ) then disappearance of radicals is unlikely and a simple e.s.r. pattern indicates intra-molecular energy transfer has taken place. This process limits the number of products formed by channelling the energy deposited randomly into certain groups.

With polythene (SMALLER and MATHESON 1958) and possibly also with other polymers (see protein p. 203) the e.s.r. spectrum changes completely as the irradiated sample is

Table 4. Influence of an aromatic group substituted in different positions along the chain of the straight-chain hydrocarbon dodecane on the dose of ionizing radiations that has to be delivered to the paraffin chain to produce one crosslink

Substance		Energy per crosslink (eV)
$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_{10} \cdot \text{CH}_3$	dodecane	20
$\text{CH}_2 \cdot (\text{CH}_2)_{10} \cdot \text{CH}_3$	naphthyl-1-dodecane	32
		
$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_2 \cdot \text{CH} \cdot (\text{CH}_2)_7 \cdot \text{CH}_3$	naphthyl-4-dodecane	46
		
$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_4 \cdot \text{CH} \cdot (\text{CH}_2)_5 \cdot \text{CH}_3$	naphthyl-6-dodecane	49
		
$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_4 \cdot \text{CH} \cdot (\text{CH}_2)_5 \cdot \text{CH}_3$	cyclo-decalyl-6-dodecane	27
		

warmed from  $-185^{\circ}\text{C}$  to room temperature and this suggests that there is a relatively slow migration of electrons which causes the nature of the radicals to alter. The e.s.r. data indicates that energy transfer occurs by at least two processes, one being much more rapid than the other.

An estimate (though not an accurate determination) of the number of radicals formed can be made from magnitude of the e.s.r. signal. The radical yield has been related to the macromolecular changes in the case of polymethyl methacrylate (INGRAM 1958); 60 eV being required for one main-chain break and for the formation of a trapped radical. In addition to main-chain scission the ester side chain is decomposed simultaneously but it would appear that only scission gives rise to trapped radicals. This is in agreement with earlier experiments (ALEXANDER, CHARLESBY and ROSS 1954) that the radiolysis of the side chain occurred according to the following scheme:



#### IV. Effect of radiation on the structure of proteins<sup>1</sup>

Much work has been done on the *in vitro* irradiation of proteins. Biological properties particularly enzymatic activity are lost both following attack by indirect action in proteins

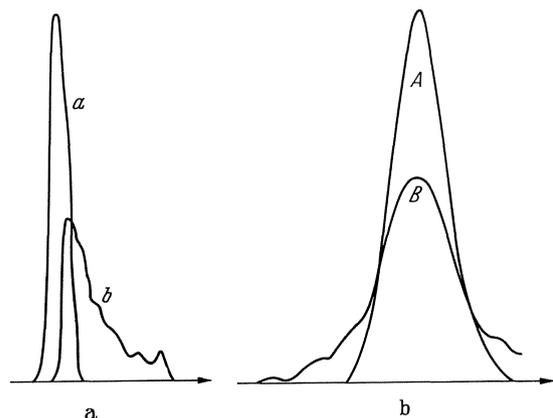


Fig. 14a and b. The Lamm scale ultracentrifuge diagrams of irradiated bovine serum albumin. a Indirect effect on a 1% solution. The control solution (a), and the irradiated solution (b) which has received 100,000 R, b Direct effects. The solid has received  $8 \times 10^6$  R and is measured as a 1% solution (B) compared with a control solution (A)

in solution and by direct action when the proteins are irradiated in the dry state. But direct action is much more efficient and most proteins are inactivated when somewhere 50—200 eV are deposited within them<sup>2</sup>. Enzymes, on the other hand, require the attack by many OH radicals (somewhere between 10—200) before they are inactivated. The inactivation curve shows that inactivation is not a co-operative phenomenon requiring many reactions, but that one OH radical is sufficient to inactivate if it reacts at the right point. The remaining OH radicals are wasted by reacting at unimportant centres.

The great efficiency of direct action is surprising since biochemical experiments have shown that the whole of a protein is not needed for enzymatic activity and chemical changes occurring in large parts of it are unlikely to effect its action. This

suggested to PLATZMAN and FRANCK (1958) that the direct action of irradiation produces a general denaturation and recent experiments have fully confirmed this prediction.

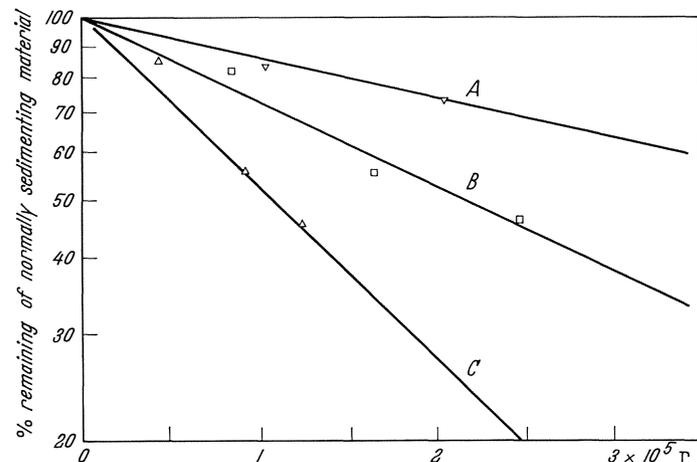


Fig. 15. Effect of  $\gamma$ -rays on solutions of human serum albumin at different concentrations. The radiation change measured is the amount of protein that has an increased sedimentation constant (compare Fig. 14a). A 1% protein, B 2% protein, C 0.5% protein

##### 1. Indirect action

The effect of ionizing radiations on proteins in solution has been studied for nearly sixty years by a large variety of different physico-chemical techniques (e.g. viscosity, solubility, precipitability, heat stability, optical rotation etc.). The interpretation of the changes has been difficult, since even now our knowledge of the configuration of globular proteins in solution and the forces responsible for maintaining them is incomplete. Apparently conflicting results have frequently been reported and this emphasises that the nature of the changes depends critically on the radiation conditions. All this data cannot be summarised in this article and the earlier work is well described

<sup>1</sup> Inactivation of enzymes has been dealt with in the chapter by Dale and this section will be confined to a description of the chemical and physico-chemical alterations.

<sup>2</sup> This figure is of the order of one primary ionisation but the variation in inactivation dose per molecule is too great to make it possible to determine molecular weights of enzymes in this way (see p. 199).

in a review by FRICKE (1938) who has done much of the pioneer work. The following effects are seen:

1. Denaturation similar to that produced by heating in solution. The molecule is "opened up" and this is followed by aggregation if the reaction occurs near the isoelectric point when the molecules do not repel one another because they carry no electric charge.

2. Partial denaturation which disrupts part of the structure and allows complete denaturation to occur at lower temperatures.

3. The formation of covalent crosslinks to give structures of increased molecular weight.

4. Chemical alteration of the side chains (cf. oxidation of SH groups, opening up of imidazol rings, etc.).

5. Attack on the polypeptide bonds causing scission of the main-chains.

The relative contribution of chemical changes to the side chains and of scission of the polypeptide bonds to the structural disorganization (1) and (2) are not known but it seems probable that the latter are the more important.

Aggregation and crosslinking causes the sedimentation behaviour to be altered (Fig. 14) and for fibrinogen and serum albumin the amount of protein having a changed sedimentation constant increases exponentially with dose (Fig. 15). Moreover the dose required to alter a given fraction is directly proportional to the radiation dose; a clear demonstration of the dilution effect which characterises indirect action. ROSEN (1959) showed that both hydrogen bonds (i.e. aggregation) and covalent crosslinks were responsible for the change in sedimentation constant of serum albumin. These intermolecular reactions occur most readily when the protein molecules carry no net charge. Under these conditions one molecule has its sedimentation constant

altered for every 200 eV of energy put into the system. Or in other words only one out of every six OH radicals that are produced react with the protein in such a way as to cause aggregation (or crosslinking), the remaining five are used up in other processes (e.g. modifying side chains). Away from the iso-electric point, aggregation requires much larger doses (see Fig. 16) because the molecules repel one another and therefore cannot get

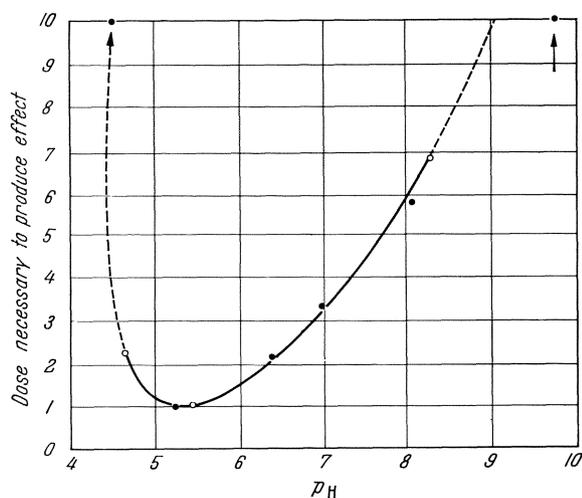


Fig. 16. The influence of the pH of the solution on the aggregation and precipitation of Roentgen ray irradiated solutions of human-serum albumin. The ordinate is the factor by which the dose must be increased over that dose required at the isoelectric point to produce a given amount of aggregation or precipitation. ○ determined from sedimentation diagram, ● determined from the onset of visible precipitation. The arrows indicate points lying outside the scales

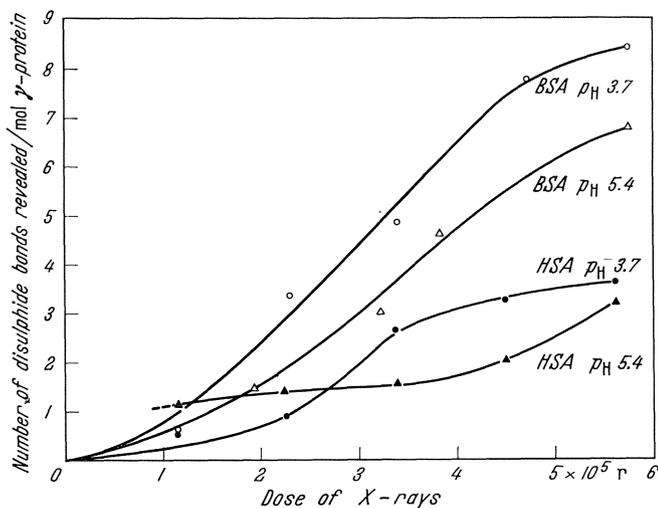


Fig. 17. Increase in the number of disulphide available for reaction with a reducing agent at pH 5 after irradiation with Roentgen rays at 1% concentration and at two pH values. There is a marked difference in behaviour between bovine (BSA) and human serum albumin (HSA)

together (compare effect on synthetic polymers in dilute solutions). When aggregation is prevented in this way changes in the UV absorption spectrum<sup>1</sup> of the irradiated protein occur that are absent if the irradiation is carried out at the iso-electric point. This indicates that extensive chemical changes in the UV absorbing amino acid residues take place when crosslinking is prevented because the electric charge on the molecules prevents interaction.

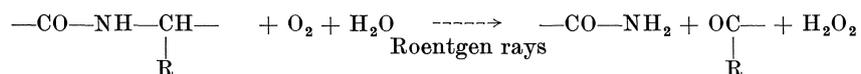
Disorganisation of the secondary structure of the protein is also shown by the fact that groups, which in the native state are sterically inaccessible to other substances, become accessible and available for reaction. This behaviour is well illustrated for the seventeen disulphide bonds in each molecule of serum albumin (see Fig. 17). In the unirradiated protein in solution at its iso-electric point none of these can be oxidized or reduced (ALEXANDER and HAMILTON 1960) but on irradiation up to 50% become accessible.

These physico-chemical changes can be protected against by added substances though the exact mechanism of protection i.e. repair or competition, is not known (see review by ALEXANDER 1960).

#### a) Oxygen effect

In general the physico-chemical alterations described above are the same whether the irradiation occurs in the absence or presence of dissolved oxygen and this suggests that OH radicals are largely responsible for these reactions. If loss of enzymatic activity is measured there is also no oxygen effect; earlier claims that the inactivation of enzymes in dilute solutions was greater in the presence of oxygen have been found to be erroneous by subsequent workers<sup>2</sup>.

The failure of oxygen to enhance radiation damage is very surprising since chemical changes involving the side chains of the protein are qualitatively different and often quantitatively increased (see review BACQ and ALEXANDER 1961) by the presence of oxygen. The most striking example is the breaking of the peptide bond which was shown by JAYKO and GARRISON (1958) to occur only when solutions are irradiated in the presence of oxygen. The following overall reactions having been proposed:



#### b) Difference between irradiation with $\alpha$ -particles and with Roentgen rays

The indirect action of sparsely ionizing radiations is brought about by the free radicals ( $\text{H}^\cdot$ ,  $\text{OH}^\cdot$  and  $\text{HO}_2^\cdot$ ) when water is ionized and the so called molecular products ( $\text{H}_2$  and  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) that are formed at the same time are believed to play no part. When solutions are irradiated with densely ionizing radiations such as  $\alpha$ -particles only a small fraction (circa 10%) of the ionized water gives rise to radicals capable of reacting with a substrate and the molecular products predominate. Yet it has been found (ALEXANDER and ROSEN 1960) that the tryptophane residues in proteins are attacked to a greater extent when protein solutions are exposed to  $\alpha$ -particles than to x-rays. This reaction is not brought about by ordinary hydrogen peroxide. To explain this sensitivity of the tryptophane residues to  $\alpha$ -particles it was postulated that, when water is exposed to  $\alpha$ -radiation the hydrogen peroxide that is formed is initially in a highly activated form (possibly a triplet state). In this active form it is much more reactive than ordinary hydrogen peroxide and readily

<sup>1</sup> If the protein is irradiated at the iso-electric point, no true changes in the UV absorption occur although the increased scattering of the solution due to increase in particle size can give rise to illusory changes in UV spectrum.

<sup>2</sup> Indeed in very dilute solutions inactivation is somewhat greater in the absence of oxygen and this has been interpreted in terms of crosslinking (cf. ALEXANDER 1960). If this reaction contributes to loss of enzymatic activity, then its prevention by peroxidation (compare p. 189) could reduce inactivation.

attacks tryptophane; but it is less reactive than OH' radicals and does not interact with many of the groups in proteins with which OH' radicals do. This greater selectivity of the activated hydrogen peroxide ensures that  $\alpha$ -radiation causes more damage to certain susceptible centres than does x-irradiation, since the OH radicals produced by x-rays, are used up in competing processes. The existence of activated hydrogen peroxide provides an explanation why  $\alpha$ -radiation produces in protein solution chemical changes that are quite different from those brought about by Roentgen rays and other sparsely ionizing radiations. Protection by added sulphhydryl compounds is much less effective against the densely ionizing than sparsely ionizing radiations because of the greater selectivity of the activated hydrogen peroxide.

## 2. Direct action

Detailed studies have been made of the changes in the biological properties of proteins, when they are irradiated in the dry state (i. e. when the action is direct). In general enzymatic activity is lost when something of the order of 50 to 200 eV of energy is deposited and

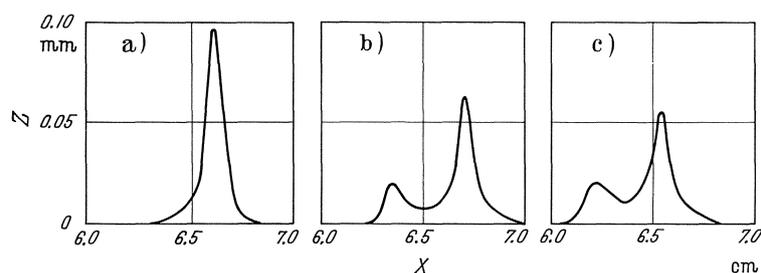


Fig. 18. Splitting of haemocyanin molecule by the direct action of  $\alpha$ -particles. (a) Ultra-centrifuge sedimentation diagram of haemocyanin before irradiation; (b) Sedimentation diagram of haemocyanin after irradiation at 20° C; (c) Sedimentation diagram after irradiation at -180° C. The original peak corresponds to a material of molecular weight  $9 \times 10^6$  while the component produced by irradiation, clearly a homogeneous product, has a molecular weight of  $4.5 \times 10^6$

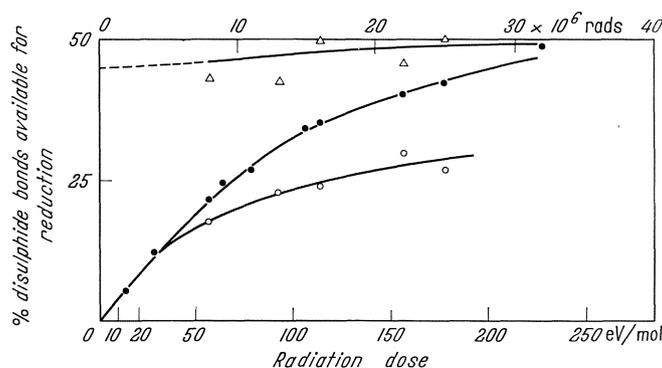


Fig. 19. Changes in the number of disulphide bonds which can be reduced at the isoelectric point with  $\beta$  mercapto ethylamine following irradiation of solid bovine serum albumin by 2 MeV electrons. —●— For water-soluble fractions (that is, including the molecules that have not been affected by radiation); —○— for water soluble fraction after correction for unchanged protein on the basis of the ultracentrifuge data; —△— for fraction insoluble in water, but soluble in salt solution

very approximately this amount of energy can be equated to one primary ionization. Attempts have been made to determine the size and shape of protein molecules by "target theory", but the uncertainty of the exact value for the inactivation dose, the fact that energy transfer occurs between molecules (e.g. protection by added substances in the solid state) and the existence of an oxygen effect, makes any calculation very uncertain. The values obtained from target theory can only be considered as giving an order of magnitude.

The fact that a single ionization anywhere within the molecule leads to inactivation inspite of the fact that biochemical data had shown that large parts of most enzyme molecules are not required for activity led to the suggestion that an ionization within a protein

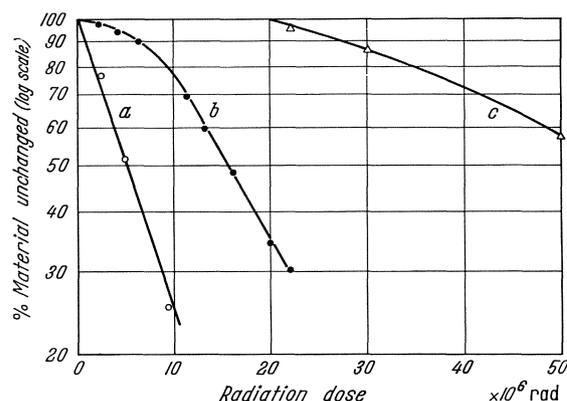


Fig. 20. Changes in some physical properties following irradiation of solid bovine serum albumin by 2 MeV electrons. (a) Fraction of bovine serum albumin showing changed sedimentation behaviour in the ultracentrifuge; (b) fraction of bovine serum albumin insoluble in water; (c) fraction of bovine serum albumin insoluble in M/15 phosphate buffer (pH 7)

100 eV molecule in ovalbumin on the basis of immunological tests and concluded that different degrees of unfolding were produced.

ALEXANDER and HAMILTON (1960) have made a detailed investigation of the effect of 2 MeV electrons on crystalline bovine serum albumin (B.S.A.) and the data are summarised below<sup>1</sup>. Less detailed investigations using a number of other proteins indicate that a similar sequence of events is followed though of course there are quantitative differences.

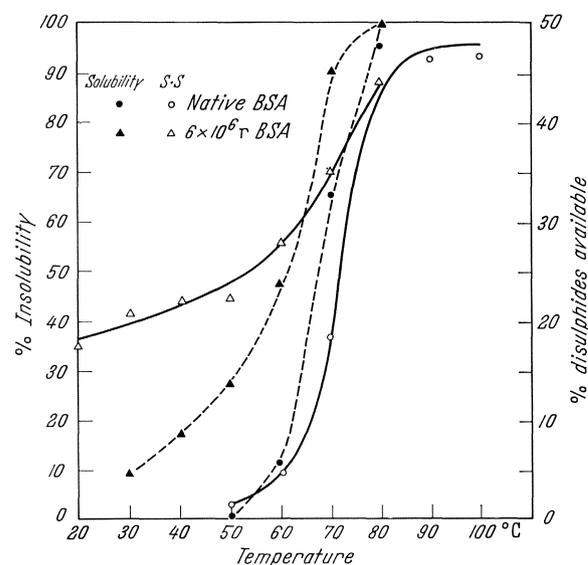


Fig. 21. Increased heat sensitivity of bovine serum albumin irradiated in the solid state with  $6 \times 10^6$  R of 2 MeV electrons (in the absence of oxygen) as determined by changes in solubility and in reactivity of disulphide bonds

molecule leads to its denaturation (PLATZMAN and FRANCK 1958). Experiments (see below) have now established, that the direct action of ionizing radiations disrupts hydrogen bonds as a primary process, which is independent of subsequent co-valent chemical changes in the amino acid residues or main peptide chain. Relatively few investigations have been carried out on the changes in the physico-chemical properties of proteins when these are exposed to radiation in the solid state. SVEDBERG and BROHULT (1939) found that the giant blood proteins, haemocyanin from the snail *Helix Pomatia*, was dissociated into its sub-units whenever an  $\alpha$ -particle passed through it. Those sub-units are held together by hydrogen bonds (see Fig. 18). LEONE, LANDMANN and FRICKE (1959) detected denaturation by

immunological tests and concluded that different degrees of unfolding were produced.

ALEXANDER and HAMILTON (1960) have made a detailed investigation of the effect of 2 MeV electrons on crystalline bovine serum albumin (B.S.A.) and the data are summarised below<sup>1</sup>. Less detailed investigations using a number of other proteins indicate that a similar sequence of events is followed though of course there are quantitative differences.

1. A primary ionization (i.e. an event occurring on average for every 45 eV of energy deposited) anywhere within the molecule leads to its partial disorganisation as shown by the fact that 25% of the disulphide bonds of B.S.A. become sterically accessible for reaction (see Fig. 19). A decrease in sedimentation constant without a change in molecular weight is also observed (see Fig. 14a) and suggests an unfolding of the molecule (see Fig. 20). This is referred to as stage 1 in the denaturation process and has so far only been obtained by irradiation. The protein remains soluble, but is very temperature sensitive and on heating to 40°C is converted to stage 2 (see Fig. 21).

2. Two primary ionizations per molecule render B.S.A. insoluble in water (denaturation stage 2) though remaining fully soluble in salt solutions in which it exists in aggregates

<sup>1</sup> All of these results refer to irradiations carried out in the absence of oxygen.

containing on average five B.S.A. molecules (see Fig. 20). Both disulphide bonds and hydrogen bonds contribute to the aggregation. 50% of the disulphide bonds are revealed and the product is very stable and has the same properties as B.S.A. that has been denatured by heating in solution.

Table 5. *Amino-acid residues destroyed in bovine serum albumin on irradiation with 2 MeV electrons in the solid state*

Amino-acids	Amino-acid residues		
	No. per molecule	No. changed <sup>2</sup> per 45 eV per protein molecule	Apparent <i>G</i> value <sup>1</sup>
Cystine	17.0	0.22	12.0
Combined aspartic and glutamic acids estimated as carboxyl groups	104.5	1.11	11.2
Tyrosine	19.8	0.18	7.7
Histidine	16.9	0.13	7.7
Phenylalanine	26.0	0.18	6.3
Proline	29.6	0.14	6.3
Arginine	24.2	0.15	5.5
Amino groups of lysine	58.4	0.27	4.9

<sup>1</sup> Residues changed per 100 eV per protein molecule  $\times 100$   
Per cent content of residue in protein

<sup>2</sup> Average amount of energy deposited per molecule to produce denaturation in 63 per cent of the molecule.

3. As the radiation dose is increased the B.S.A. becomes insoluble in all solvents though 40 to 50% of the disulphide bonds remain sterically inaccessible (see Fig. 20). These remaining groups are very difficult to reveal and only treatment with a detergent makes all of them available for re-action.

4. Covalent chemical changes occur in irradiation and the destruction of the different amino-acids has been followed. The sensitivity of the different amino-acid residues varies and cystine is the most sensitive<sup>1</sup> (see Table 5).

However, the differences in the sensitivity of the different amino acid residues are small — the total range being a factor of two — and there is no question of any one group being exceptionally vulnerable. A number of new groups that had been introduced by irradiation

were detected; the most numerous being carbonyl groups (see Fig. 23), but there is no evidence that these are associated with mainchain scission. The analytical data does not support the hypothesis advanced by GORDY and SHIELDS (1955) (see p. 203) that the

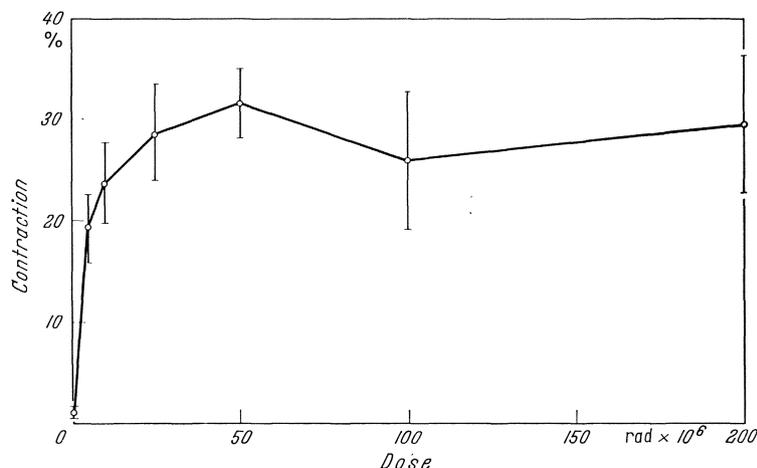


Fig. 22. Influence of 14 MeV electrons on permanent contraction of wool fibres after treatment in lithium bromide solutions (100 g LiBr/100 g of water). The fibres contract 12% in length on immersion in the LiBr but the unirradiated fibres return to their normal length on washing in water. Irradiation renders this contraction irreversible

<sup>1</sup> RAJEWSKY and DOSE (1957) claimed that some 25% of the amino-acid residues were altered in dry lysozyme by a dose of  $5 \times 10^6$  R. These very high values run counter to well established facts of radiation-chemistry since they imply *G* values for the destruction of amino-acids greater than 100.

energy deposited becomes selectively localised on disulphide bonds since damage to these groups is by no means predominant (cf. Table 5).

We conclude that the changes in the physico-chemical properties cannot be attributed to these reactions and that a primary effect of radiation in proteins is the disruption of intra-molecular hydrogen bonds. The mechanism of such a reaction is obscure, though there is every reason to believe that it is responsible for the loss of enzyme activity seen

after irradiation. In many proteins that are readily denatured by heating.

A similar situation has also been encountered when wool fibres are irradiated (ALLEN and ALEXANDER, 1961). From a chemical point of view a wool fibre can be considered to be made up of cells containing essentially two components: micelles, consisting of an orderly array of linear polypeptide chains held together by hydrogen bonds, situated in a matrix or cement of protein crosslinked by disulphide bonds. Hydrogen bond

breaking reagents such as lithium bromide disturb these micelles, but the orderly structure is reformed when the hydrogen bond breaking reagent is removed. After radiation by relatively small doses, the physico-chemical properties of the wool fibre appear to be unaffected, but damage to the crystalline micelles is revealed by the fact that contraction produced by exposure to lithium bromide is no longer reversible (see Fig. 22).

#### Oxygen effect, protection and e.s.r. signals

A remarkable feature of the irradiation of dry proteins is that loss of enzymatic activity occurs more readily if the irradiation is carried out in the presence of oxygen, (trypsin, ALEXANDER 1957; lysozyme, SHALEK and GILLESPIE 1959; ribonuclease, HUTCHINSON 1960). The mechanism of this oxygen effect has not been definitely established. Of the two

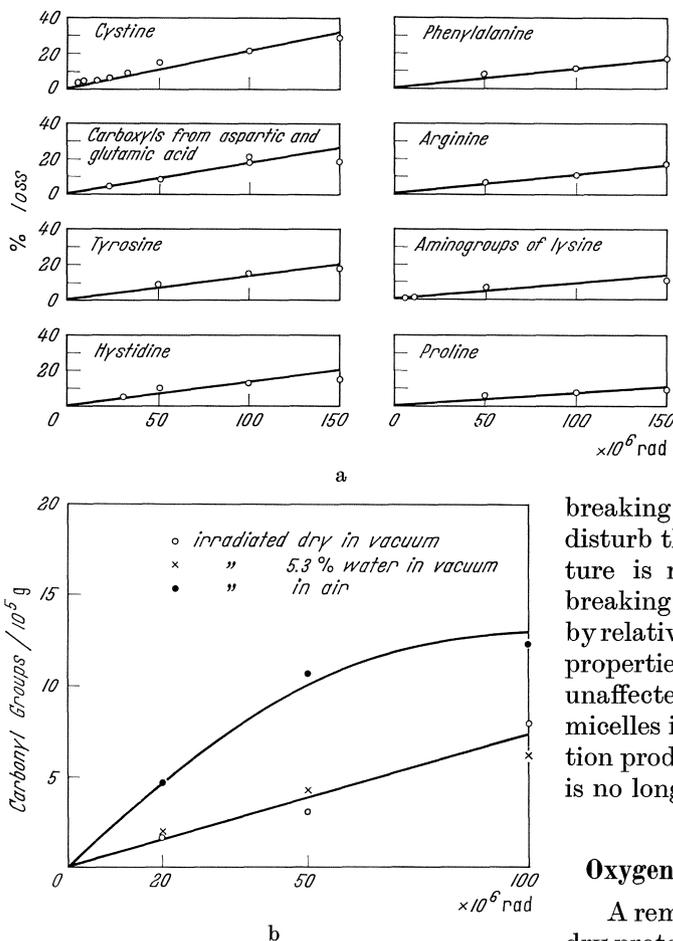


Fig. 23 a and b. Chemical changes produced when solid bovine albumin is irradiated with 2 MeV electrons. (a) Changes in the amounts of unaltered amino acids remaining (vacuum irradiation); (b) Formation of carbonyl groups following irradiation under different conditions

possibilities that have been discussed on page 186 for an oxygen effect with direct action, we believe that attack by an  $\text{O}_2^-$  radical is more likely than the formation of peroxide groups due to the addition of oxygen to an active centre. Evidence that such peroxide groups are formed is, however, available (ALEXANDER, FOX, ROSEN and STACEY 1957).

A comparison of the changes produced when dry bovine serum albumin is irradiated in the presence of oxygen, with the changes produced in the absence of oxygen showed that the "opening up" (i.e. revelation of disulphide bonds) was unaffected by oxygen but that co-valent chemical changes were enhanced (ALEXANDER and HAMILTON 1961). The most marked effect being on the number of carbonyl groups introduced (see Fig. 23b) and this may indicate that peptide bonds were broken (cf. JAYKO and GARRISON 1958).

Added substances protect enzymes (BRAAMS and HUTCHINSON 1958) just as they protect synthetic polymers against degradation (cf. p. 187). GORDY and MIYAJAWA (1960) found evidence for protection of a protein from electron spin resonance, the magnitude of the signal being reduced if cysteamine was present. LIBBY, ORMEROD, CHARLESBY and ALEXANDER (1961) noted the same effect even when the irradiation and measurement of e.s.r. were carried out at  $-195^{\circ}$  C and concluded that at this temperature the repair mechanism (i.e. donation of a H atom, see p. 187) could not apply and that some protection occurred by energy transfer. On standing at room temperature however cysteamine can be seen in the e.s.r. to undergo a repair reaction leading to the gradual appearance of S $\cdot$  radicals and it is not possible at the present time to decide which of the two mechanisms is the more important.

The evidence for energy transfer within the same protein molecule is conflicting. The relatively small range of G value (see Table 5) indicates that intra-molecular energy transfer processes do not lead to a concentration of energy into a few residues only, while GORDY and SHIELDS (1955) conclude that the similarity of the protein e.s.r. pattern with that of irradiated cystine proves funnelling to the disulphide bonds. LIBBY et al. (1961) report that this similarity is not seen at  $-185^{\circ}$  C.

More recent work by HENRIKSEN, SANNER and PIHL (1963) has shown that the e.s.r. signal typical of sulphur only appears after many hours of standing at room temperature. Clearly a very slow transfer process is involved and the norwegian workers suggests that a type of repair reaction (see p. 187), in which a hydrogen from SH reacts with an organic radical, is responsible. This slow movement of some of the radicals to the sulphur containing amino acids may not influence biologically significant damage. Thus the degree of enzyme inactivation is the same if a dry protein is assayed immediately after irradiation or after some weeks during which the number of sulphur radicals in the protein has greatly increased.

## V. Effect of radiation in nucleic acids and nucleoproteins<sup>1</sup>

Main-chain scission in DNA requires that both strands of the twin molecule are broken as otherwise this double molecule will not come apart. Moreover the "single breaks" must occur fairly close to one another or the molecule will not part as it is held together by hydrogen bond. Single breaks that occur far apart are "hidden" and not directly revealed by measurements of molecular dimensions.

Main-chain scission leads to a decrease in viscosity because the length of the molecule is reduced. The viscosity of DNA can also be reduced if the hydrogen bonds between the twin strands is disturbed, since the molecule then becomes more flexible and can take up a smaller volume in solution (compare Fig. 1 b). An effect rather like intra-molecular crosslinking (see p. 191). This disturbance of the secondary structure is produced by heating in solution and by U.V. light but surprisingly (in view of the effect on proteins) no indication for it has been found after exposure to ionizing radiations.

### 1. Indirect action

#### a) Changes in size and shape

TAYLOR, GREENSTEIN and HOLLAENDER (1947) carried out the first detailed investigation of the effect of Roentgen rays on dilute solutions of DNA and observed a reduction in viscosity which they attributed to main-chain scission. This conclusion has been amply verified in subsequent experiments (cf. MOROSON and ALEXANDER 1961).

<sup>1</sup> No detailed papers have been published on the effect of irradiation on the physico-chemical properties of RNA or RNA proteins. Overall chemical analysis indicate that drastic changes, involving the release of ammonia, phosphate etc., occur quite readily (SCHOLDS and WEISS 1954).

It seems highly probable, that OH radicals are responsible for the degradation of DNA. Protection by added substances has been demonstrated by several different workers (cf. ALEXANDER 1961), and competitive removal of OH radicals seems to be the most likely mechanism.

There is conflicting evidence concerning the importance of oxygen in this reaction. Some workers believe that oxygen is very important, whereas others can find no oxygen effect at all; another point of uncertainty of these investigations is the magnitude of the post-irradiation effect in which the viscosity continues to fall after radiation has been

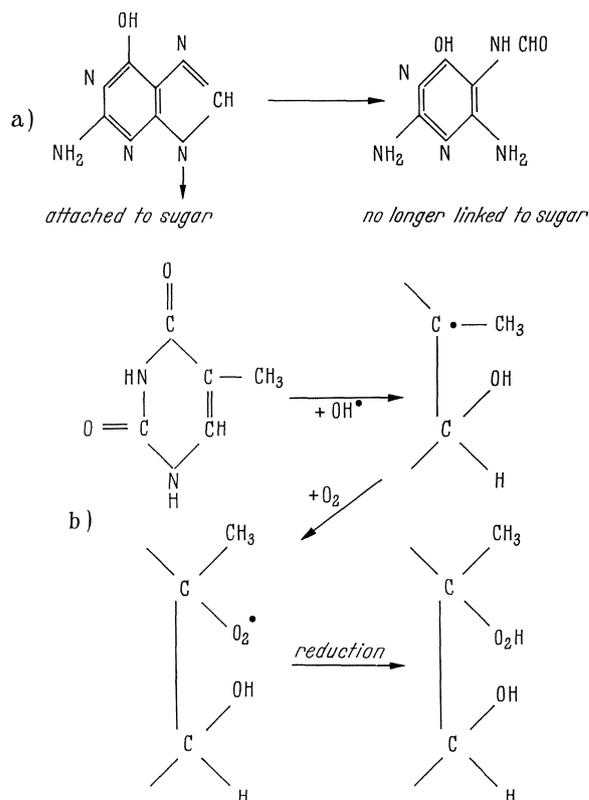


Fig. 24a and b. Effect of irradiation in dilute solution (i.e. indirect action) on the structure of the purine and pyrimidine bases in DNA. (a) Effect on guanine residue (irradiation in the absence of oxygen). (b) Peroxidation of thymine residues by irradiation in the presence of oxygen

completed (for more detailed discussion see BACQ and ALEXANDER 1960).

Much of this confusion is due to the fact that the DNA was frequently handled at very low salt concentrations in which it is now known to be inherently unstable. The post-effect is in part due to the fact that this denaturation occurs more rapidly in radiation damaged molecules of DNA. Another complicating factor is that in the presence of sodium chloride indirect action produces chlorine and this very effectively degrades DNA (MOROSON and ALEXANDER 1961). In very dilute solutions this reaction will take considerable time and can therefore give rise to post-effects. The whole of the post-effect cannot, however, be explained in this way and it seems likely that the radicals also produce a chemical change in the molecules which renders it inherently unstable. This could be due to the introduction of peroxide groups (see below), although the possibility that unstable esters are formed has also to be considered. Finally the loss of a purine residue due to opening the ring (see below) would make the DNA more susceptible to hydrolysis. The addition of glutathione was found by ERRERA (1947) to stop the post-effect in irradiated DNA solution and ALEXANDER (1959) found thio-

sulphate to be very effective, so long as the DNA solution contained sodium chloride. These postirradiation additives probably function, in part at least, by removing chlorine, but this need not be their whole function and they may also stabilise damaged DNA.

Experiments with chemically produced OH radicals indicate that approximately 100 OH radicals are needed to produce one double break in a DNA molecule of  $10^7$  molecular weight (MOROSON and ALEXANDER 1961). If we assume that every OH radical produces a break in one or another of the sugar phosphate chains of the double molecule, the main-chain scission occurs whenever breaks occur in the twin chains within 5 nucleotide distances. Work with DNAase confirms this estimate. On the other hand it is to be expected that a substantial proportion of the OH radicals react with the purine and pyrimidine bases and will thus not be available for breaking the sugar-phosphate bond.

A puzzling feature of these results is that they suggest that nearly every OH radical is used up in a reaction that gives rise to a main-chain break. Yet the chemical evidence (see below) suggests that the "side-chains" also react.

## b) Chemical changes

All the constituents of nucleic acids, (i.e. the purine bases, the pyrimidine bases and the deoxyribo sugar residues), are readily attacked by the radicals formed in water (SCHOLLES and WEISS 1954). Each of these is more radiosensitive if irradiated by itself, when the other parts of the DNA molecule do not compete for radicals. Thus a given dose of x-rays produces a greater change in the ultraviolet absorption spectrum of solutions containing only purines or pyrimidines than in solutions of nucleosides (i.e. base-sugar compounds); and DNA is the most resistant to Roentgen ray induced UV changes. The chemistry of the reaction with the bases is beginning to be understood, but much less is known of the reactions of the deoxyribose and its phosphate.

HEMS (1958) observed the reaction, shown in Fig. 24a, occurs when dilute solutions of purine-sugar compounds are irradiated in the absence of oxygen. This, however, is by no means the only reaction that occurs with purines. The product formed in the presence of oxygen is not known. Pyrimidines are also attacked and in the presence of oxygen some stable

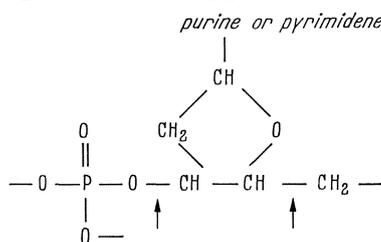


Fig. 25

Fig. 25. Points (indicated by arrows) at which DNA molecule has to be attacked for a break in the polynucleotide chain to be produced

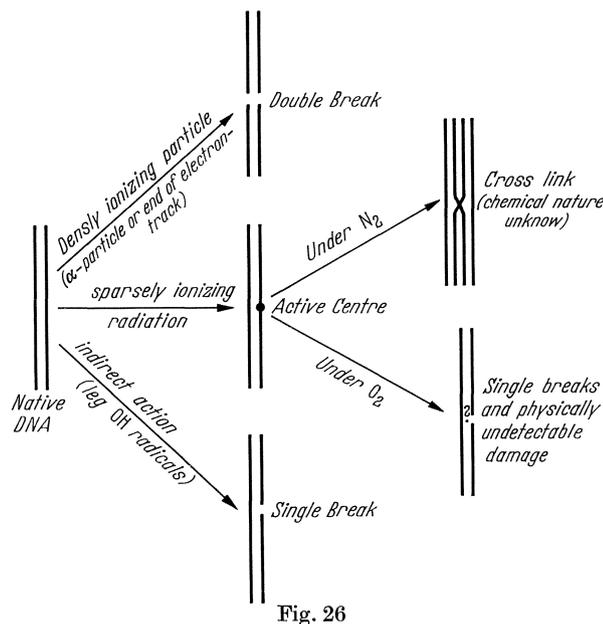
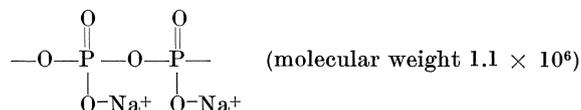


Fig. 26

Fig. 26. Diagrammatic representation of the changes produced in the macromolecular properties of DNA by irradiation. (When a number of single breaks are formed then there is a probability that two of these will be sufficiently close to one another for a double break to occur)

pyrimidine peroxides have been isolated (see Fig. 24b). If dilute solutions of DNA are irradiated the pyrimidines are more sensitive than the purines though the "G" values quoted by WEISS et al. (1960) and by HEMS (1960) are in disagreement. The presence of oxygen enhances the breakdown of the bases.

The reduction in molecular weight that is observed immediately after irradiation cannot be attributed to reaction with the purines or pyrimidines since this could not cause immediate breaks in the polynucleotide chain; part of the after effect may be the result of hydrolysis induced by base attack or the decomposition of the pyrimidine peroxides, but the major part of the macromolecular changes must be due to attack on the sugar phosphate groups of the main polynucleotide chain. The P—O bond must be very radio-resistant since a 0.1% solution of the synthetic polyphosphate,



was not detectably degraded by  $10^4\text{R}$  (ALEXANDER and FOX 1953). For this reason we favour the view that the polynucleotide chain is degraded at one of the —O—C— bonds indicated by an arrow in Fig. 25.

## c) Changes produced in cellular nucleoproteins

Many investigators have reported (cf. details in BACQ and ALEXANDER 1961) that the viscosity of solutions (or gel-like suspensions) of nucleoprotein extracted from the cell

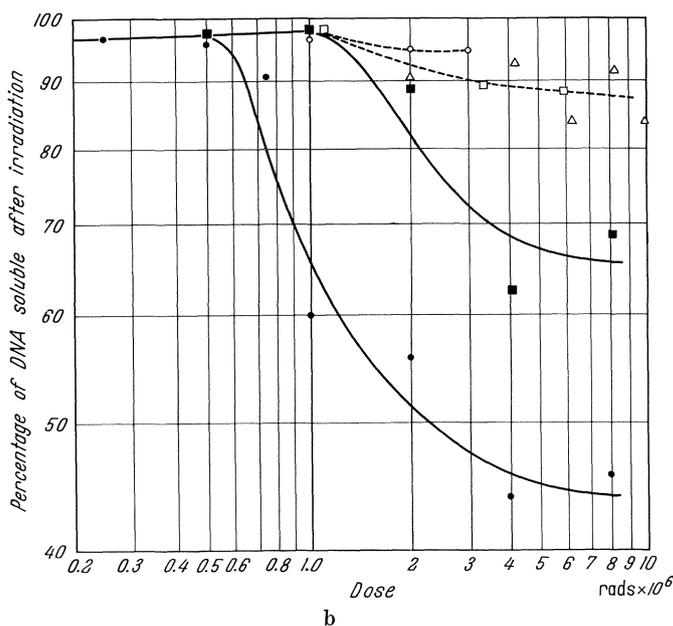
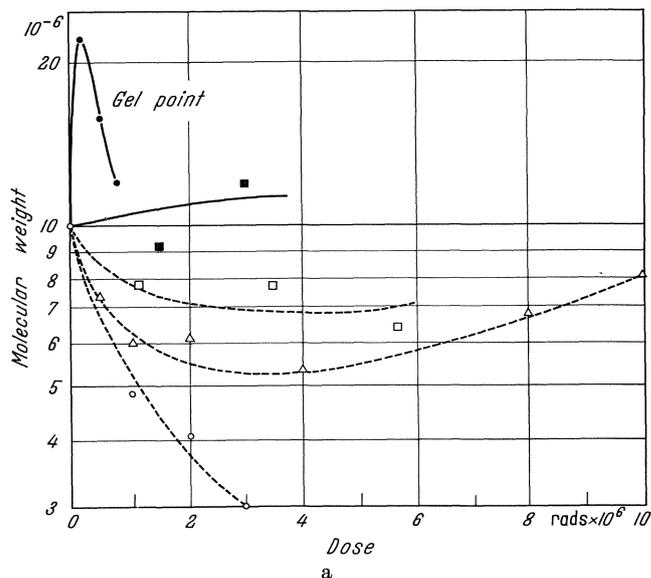


Fig. 27 a and b. Influence of water content of the DNA fibron changes produced by irradiation with 1 MeV electron. a Change in average molecular weight (measured by light-scattering).  $\circ$  100% water content irradiated in air;  $\bullet$  100% water content irradiated in nitrogen (or vacuum);  $\triangle$  20% water content irradiated in air;  $\square$  0% Water content irradiated in air;  $\blacksquare$  0% Water content irradiated in nitrogen (or vacuum).

b Formation of insoluble gel network

nucleus with water or with one molar sodium chloride was reduced by a few hundred r of Roentgen rays. This sensitivity is due to the fact that extremely dilute solutions of these nucleo-proteins were used so that as a result of the "dilution effect" only small doses are needed to produce a change. The claim that has repeatedly been made, that nucleoproteins are exceptionally sensitive seems to be unfounded. Indeed WEISS et al (1960) have shown that the DNA is largely produced against indirect action in nucleoproteins since the protein mostly captures most of the radicals. The changes in the viscosity that have been observed are probably in part associated with main-chain scission of DNA by OH radicals, as described in the preceding sections but interpretation of these results in molecular terms is difficult at the present time since the structure of the nucleoprotein complex in these solutions is not fully understood. An earlier observation (ROZENDAAL et al. 1951) that histone becomes dissociated from nucleoprotein in solution has been confirmed by LLOYD and PEACOCKE (1963) who attributes some of the drop in viscosity to this reaction. ERRERA (1947) finds that the rigidity of nucleoprotein in the nuclei of chicken erythrocytic is reduced by irradiation (see Fig. 30) but the nature of the underlying physico-chemical change is not understood.

When vegetative cells are irradiated the nucleoprotein is present in a much more concentrated form (e.g. 20% solid content of mammalian nuclei) than in the *in vitro* investigation. So that "direct"

action becomes important while in the experiments with nucleoprotein in dilute solutions only indirect action plays a part.

## 2. Direct action

When DNA is irradiated in the dry state, there is no evidence for rupture of hydrogen bonds (LETT et al. 1961). The reason why the complex hydrogen bonded structure is not susceptible to irradiation while that of globular proteins is, may be attributed to the relative stability of the hydrogen bonds in the two systems. In the helix of the DNA, any hydrogen bonds that are broken will tend to reform immediately in the same way and irreversible damage only occurs when a very large number of hydrogen bonds are all broken at the same time. In proteins, on the other hand, the inter-chain hydrogen bonds do not represent the most stable configuration and when they are broken the molecule may quickly alter its configuration so that the hydrogen bonds do not reform in the same way.

The principle effect of irradiating dry DNA is to produce crosslinks, however, simultaneous main-chain scission also occurs (LETT et al. 1961; ALEXANDER and LETT 1960). We visualise the situation as follows (see Fig. 26).

Radiation produces a break in one of the two chains in such a way that one of the broken ends is reactive and can join to another broken end to form a crosslink. Main-chain scission then occurs if, by chance, there are coincident (within 5 nucleotides) breaks in the single chains or if there is a cluster of ionizations. The formation of crosslinks between the active ends is facilitated if the DNA is swollen so that movement of the molecules can occur. Hence, crosslinking increases as the water content of a DNA sample is raised from 0–200% (Fig. 27). At higher water contents crosslinking falls again because the main-chain scission produced by the free radicals formed in the water overwhelms the number of crosslinks formed.

In the presence of oxygen crosslinking is prevented because the active ends become peroxidised and can no longer crosslink. Oxygen, however, does not readily penetrate dry DNA and the oxygen effect with samples containing between 0–25% of water is therefore small. In samples containing an equal weight of DNA and water the oxygen effect is very pronounced; in the absence of oxygen, crosslinking predominates and DNA is converted into a gel (see Fig. 27), while in its presence only degradation is seen. The situation is therefore complex and small changes in environ-

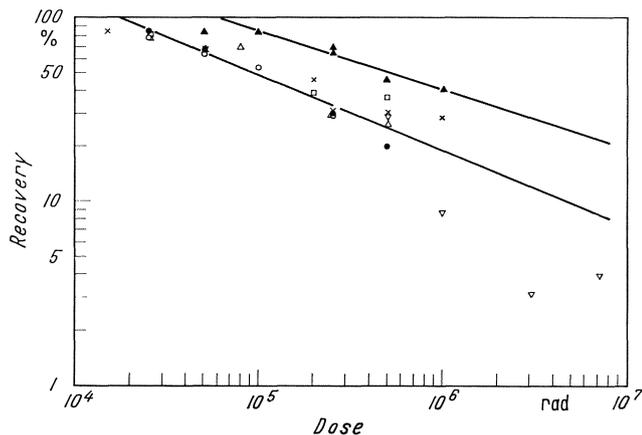


Fig. 28. Cross-linking of DNA, measured as decrease in recovery, in the nucleus of fish sperm after irradiation with 2 MeV electrons.  $\square$  and  $\nabla$  Sperm head from salmon;  $\blacksquare$  Sperm head from herring;  $\circ$  sperm head from trout;  $\triangle$  viable trout sperm irradiated in its seminal fluid;  $\bullet$  'reconstituted' nucleoprotein obtained by mixing DNA and protamine

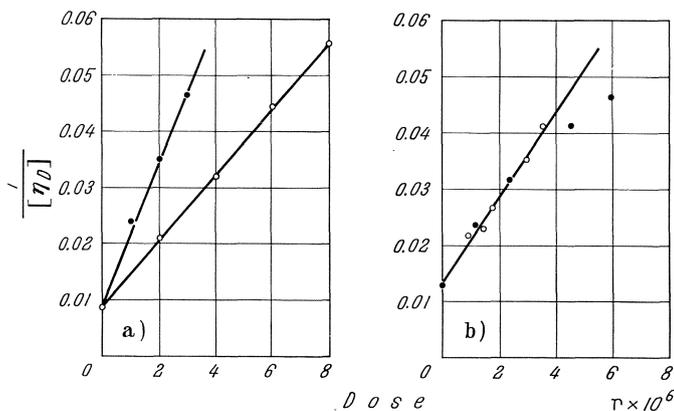


Fig. 29a and b. Comparison of the effect of polonium  $\alpha$ -rays (curve b) and of 1 MeV electron (curve a) on the viscosity (expressed as the reciprocal) of DNA which has been irradiated in air at different moisture contents.  $\circ$  20% water;  $\bullet$  100% water (i.e. 1 g of water, 1 g of DNA)

mental conditions can completely alter the radiation response of DNA when present at fairly high concentrations.

The nature of the chemical reactions produced by direct action is not known as no attempts appear to have been made to analyse the products formed.

#### a) Effect on nucleoprotein

The crosslinking observed with pure DNA has also been found when fish sperm are irradiated (ALEXANDER and STACEY 1959). The sperm heads of trout, salmon and herring are probably the least complex nucleoproteins in nature. They contain only DNA (65%) and the single basic proteins (35%) in the form of a dense and non-swollen aggregate. The DNA can be extracted easily and quantitatively. After treatment with sparsely ionizing radiations the fraction of DNA that can be extracted in a soluble form falls (see Fig. 28) because the DNA has been crosslinked into an insoluble gel network. The presence of oxygen decreases the efficiency of crosslinking in this system as it does that of pure DNA. Whether the protein component takes part in the crosslinking reaction of the sperm head nucleoprotein is not known.

Table 6. *Protection against the direct action of  $5 \times 10^5$  rads of 2 MeV electrons on DNA in the heads of herring sperm<sup>1</sup>. On irradiation the DNA becomes cross-linked and is no longer soluble, but is present as a gel*

Protective agent present in suspension	DNA present as gel %
None	79
0.1% cysteamine	11
0.02% cysteamine	51
0.15% thiourea	66
0.02% thiourea	77
0.5% tyramine	54

<sup>1</sup> The sperm heads were irradiated as a 12% suspension in water. The spermhead nucleoprotein does not swell and is present as a dense sphere. Under these conditions the action of the radiation is entirely direct and free radicals formed in the water play not part.

But since the protamine fits easily into one of the grooves of the DNA double helix and does not prevent contact between different DNA helices from being made, there is no steric reason why the crosslinking processes postulated for DNA and shown in Fig. 26 should not occur. This is not, however, the case for the more complex nucleoproteins present in vegetative cells where it is believed that the twin helix is completely covered by a sheath of protein which effectively prevents radiation from forming crosslinks between separate pairs of DNA helices. When vegetative cells are irradiated and the DNA is extracted immediately after irradiation main-chain degradation is found but no evidence for crosslinks. This does not mean that the action is indirect but shows that under cellular conditions the principal macromolecular effect of direct action on DNA is main-chain scission.

#### b) Action of polonium $\alpha$ -particles

When DNA either dry or as a concentrated gel is irradiated with densely ionizing  $\alpha$ -particles the predominant reaction is main-chain scission and the environmental conditions such as moisture content, absence or presence of oxygen are almost without influence (see Fig. 29). Every time an  $\alpha$ -particle passes through a DNA molecule both strands of the twin helix are severed and a double break is produced (LETT et al., 1961).  $\alpha$ -Particles also are very much less effective in crosslinking DNA in nucleoprotein of sperm heads.

#### c) Trapped radical and protection by added substances

When dry DNA is irradiated trapped radicals can be detected by electron-spin resonance (SHIELDS and GORDY 1959). The magnitude of the signal decreases when a dry and relatively crystalline sample of DNA that has been irradiated at  $-195^\circ\text{C}$ , is warmed to room temperature. This suggests ready interaction between radicals as would be expected for a crosslinking system.

If the sperm heads are soaked in a solution of the sulphhydryl protective agent, cysteamine, crosslinking is reduced (see Table 6). This protective action could, be due either to

energy transfer (i.e. as in the protection of polymethyl methacrylate, see p. 188, and of dry bovine serum albumin, see p. 203, or due to repair (i.e. repairer of the reactive centre

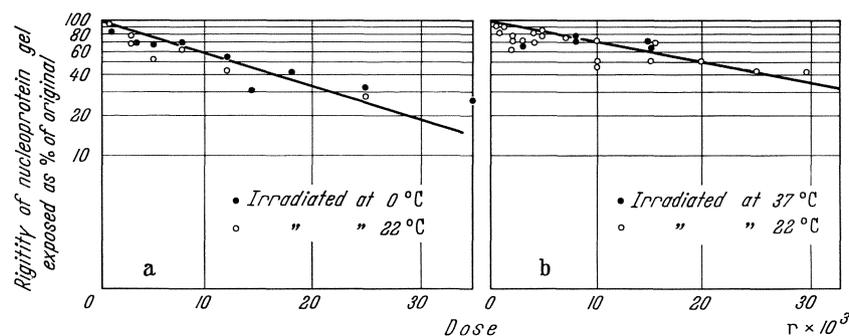


Fig. 30a and b. Effect of irradiation with Roentgen rays on the rigidity of a nucleoprotein gel extracted from the erythrocytes of chickens. a Erythrocytes irradiated and nucleoprotein gel extracted after irradiation; b irradiation of nucleoprotein gel *in vitro*

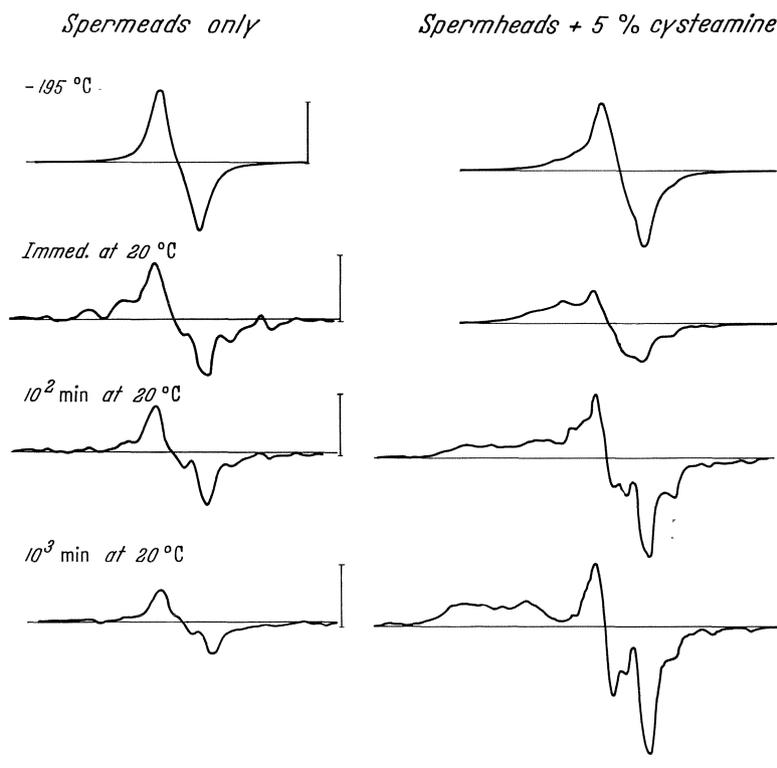


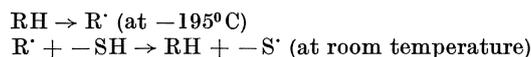
Fig. 31. Electron spin resonance spectra of salmon sperm heads irradiated with  $\text{Co}^{60}$   $\gamma$ -rays ( $10^6$  rads) at the temperature of liquid nitrogen and then allowed to warm to room temperature (the material was maintained in an evacuated sealed tube throughout). At  $-195^\circ\text{C}$  cysteamine has no detectable effect on the nature of the radicals formed in the sperm heads. On standing at room temperature the characteristic DNA signal decays more rapidly in the presence of cysteamine than in irradiated sperm heads only, and a new band (to the left of the DNA signal) appears. This new band is totally absent if no cysteamine is present and is due to a  $\text{S}^{\cdot}$  radical. The number of the various kinds of radicals is proportional to the area under the curve but direct comparisons of the curves can not be made since the sensitivity of the instrument was varied to reveal details of the spectra. The line on the right of each spectrum is a measure of the sensitivity

of DNA with cysteamine which prevents crosslinking). Energy transfer was indicated for the protection of bovine serum albumin since the e.s.r. signal at  $-195^\circ\text{C}$  was reduced if cysteamine was present during irradiation. In the case of the sperm heads cysteamine

does not influence the magnitude of the signal at  $-195^{\circ}\text{C}$  and direct evidence for the occurrence of a repair mechanism has been obtained (ALEXANDER and ORMEROD 1962).

The e.s.r. signal obtained from irradiated sperm heads is quite characteristic (see Fig. 31) and we refer to it as the  $\text{R}'$  type radical. On standing at room temperature the signal due to  $\text{R}'$  slowly disappears as would be expected since crosslinking (i.e.  $\text{R}' + \text{R}' \rightarrow \text{R} - \text{R}$ ) occurs. If the spermheads are irradiated in the presence of cysteamine then the rate of disappearance of  $\text{R}'$  is much higher, but is accompanied by the appearance of a new type of band in the e.s.r. spectrum which can be unambiguously assigned to a sulphur radical.

The reaction sequence:



has thus been proved to occur on irradiation of DNA in the presence of a sulphhydryl protective agent.

## VI. Changes produced in polysaccharides

Solution of hyaluronic acid as well as of its conjugate with protein in synovial fluid are depolymerised by Roentgen-rays (see BRINKMAN and LAMBERTS 1960). The majority of the degradation occurs instantaneously (i.e. by the time the first measurement has been made)

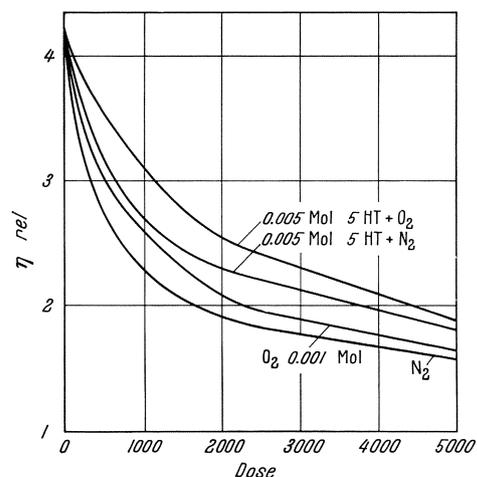


Fig. 32. Effect of roentgen rays on the viscosity ( $\eta$ ) of synovial fluid. This material is less sensitive in the presence than in the absence of oxygen and is protected by the presence of 5-hydroxy-tryptamine (serotonin)

but a small further fall takes place over the subsequent 24 hours. As the system obeys the dilution law (i.e. dilution increases sensitivity) there can be little doubt that the effect is due to radicals produced in water. The addition of cysteamine, 5-hydroxy-tryptamine (serotonin), as well as other substances that had been shown to protect mice and polymethacrylic acid in solution (see p. 187), also protect synovial fluid against Roentgen rays. An unexpected and puzzling observation is that the viscosity drop is greater for irradiations in the presence than in the absence of oxygen (see Fig. 32).

The possibility that indirect action may with some types of polysaccharides give cross-linking must be borne in mind since BARKER et al. (1959) find polymeric substances after irradiation of solutions of simple sugars.

When cellulose is irradiated in the solid state its viscosity is reduced and CHARLESBY (cf. 1960) has found that the results are in agreement with a process of random scission where 60 eV are required

per break. If dry samples are irradiated in the absence of oxygen and stored in the absence of oxygen then there is no post-irradiation change in the cellulose. If the dry samples, however, are stored in an atmosphere of dry oxygen then their viscosity fell continuously for some ten days after irradiation. This oxygen dependant after effect is completely suppressed by the presence of water vapour. Trapped radicals have been detected by electron spin resonance measurements when sugars and polysaccharides are irradiated in the solid state. GLEGG (1957).

## VII. Biological implications

What is the relevance of these studies to the cellular lesion? Which, if any, of the reactions with cellular macromolecules are biologically important? Chemical analysis of irradiated cells cannot provide the answer since the problem is not; what has happened to the molecules, but which of the reactions that have occurred are important and which are not?

The majority of the radiochemical events that have occurred in a irradiated cell do not play any part in causing biological damage.

The hope has been expressed by ZIMMER (1960) that electron spin resonance measurements provide a powerful new tool for determining the nature of the primary lesion. This view cannot share, since all materials when irradiated under conditions where radical recombination is prevented or slowed down (e.g. dry state or frozen state), give an e.s.r. signal. The detection and even the analysis of the e.s.r. spectrum of irradiated cells cannot help us decide which are the biologically important reactions. E.s.r. reflects all the processes, the large fraction of unimportant as well as the small fraction of important ones. E.s.r. is valuable for the radiochemist studying the chemical nature of radiation damage and it can be most useful in such problems as the mechanism by which molecules are protected against or rendered more sensitive to direct action of ionising radiations.

A most important clue about the nature of the primary lesions is obtained from the relative biological effectiveness (RBE) of different kinds of ionizing radiations. For cellular lesions densely ionizing radiations (or those having high linear energy transfer, LET) are more efficient than sparsely ionizing radiations. Yet, for the inactivation of enzymes and of viruses the exact opposite is the case. Unfortunately only very little work has been done to compare the effect of ionizing radiations with different LET on a chemical or physico-chemical level.

Preliminary work with proteins indicates that, as in the case of enzyme inactivation polonium  $\alpha$ -rays are less effective than Roentgen rays in producing physico-chemical changes by direct action though not necessarily for indirect action (see p. 198). In the case of DNA,  $\alpha$ -rays are qualitatively different from sparsely ionizing radiations in that they produce essentially only main-chain scission. Quantitatively, the data shows that whenever an  $\alpha$ -track crosses a DNA molecule a rupture into a double molecule is produced. However, the total amount of damage done to DNA by a given dose of  $\alpha$ -irradiation is less than produced with the same dose of sparsely ionizing radiation. The occasional cluster of ionization in an electron track will produce a double break with about the same overall efficiency as  $\alpha$ -rays but in addition the electrons produce many more single breaks and crosslinks. Work with transforming principle confirms that  $\alpha$ -rays are less effective than x-rays in inactivating DNA.

The radiosensitivity of cells is not determined solely by the sensitivity of the critical structure (e.g. DNA, nucleoprotein or membrane) damage which constitutes the primary lesion, because there is a repair. Much of the initial damage is reconstituted by metabolic processes within the cell. It is not therefore possible to relate damage at the chemical level with damage to the critical macromolecules. Until the processes of repair are understood the study of the immediate radiation damage of important cell constituents cannot be used to explain the radiosensitivity of intact cells.

## References

- ALEXANDER, P.: Degradation of DNA. Ann. Rep. Brit. Emp. Cancer Campaign **37**, 63 (1959).  
 — Protection of macromolecules *in vitro* against damage by ionizing radiations in radiation, protection and recovery (edt. A. HOLLÄENDER), p. 3—44. London: Pergamon Press 1960.  
 — Z. M. BACQ, S. F. COUSENS, M. FOX, A. HERVE, and J. LAZAR: Mode of action of some substances which protect against the lethal effects of X-rays. Radiat. Res. **2**, 392—415 (1955).  
 — R. M. BLACK, and A. CHARLESBY: Radiation induced changes in polyisobutylene. Proc. roy Soc. A **232**, 31—48 (1955).  
 ALEXANDER, P., and A. CHARLESBY: Energy transfer in macromolecules exposed to ionizing radiations. Nature (Lond.) **173**, 578—579 (1954).  
 — — Radiation protection in copolymers of isobutylene and styrene. Proc. roy. Soc. A **230**, 136—145 (1955).  
 —, and M. FOX: Depolymerisation by x-rays. J. chim. Phys. **50**, 415—422 (1953).  
 — — Effect of X-rays and  $\gamma$ -rays on synthetic polymers in aqueous solution. (Symp. on Macromolecules, 1956.) J. polym. Sci. **23**, 355—375 (1957).

- ALEXANDER, P., M. FOX, and M. ROSS: The degradation of solid polymethylmethacrylate by ionizing radiation. *Proc. roy. Soc. A* **223**, 392—404 (1954).
- — D. ROSEN, and K. A. STACEY,: Comparison of some direct effects of ionizing radiations in protein. *Nature (Lond.)* **178**, 846—849 (1956).
- — and L. D. G. HAMILTON: Irradiation of proteins in the solid state. II. Chemical changes produced in bovine serum albumin. *Radiat. Res.* **13**, 214—233 (1960).
- — Changes in the reactivity of disulfide bonds in bovine serum albumin on denaturation. *Arch. Biochem.* **88**, 128—135 (1960).
- — Irradiation of proteins in the solid state. 3. Influence of oxygen and adsorbed water on changes produced in bovine serum albumin. *Radiat. Res.* **15**, 193—201 (1961).
- — and K. A. STACEY: Irradiation of proteins in the solid state. I. Aggregation and disorganisation of secondary structure in bovine serum albumin. *Radiat. Res.* **12**, 510—525 (1960).
- — and J. T. LETT: Role of oxygen in the crosslinking and degradation of deoxyribonucleic acid by ionizing radiations. *Nature (Lond.)* **187**, 933—934 (1960).
- — P. KOPP, and R. ITZHAKI: Degradation of dry deoxyribonucleic acid by polonium x-rays. *Radiat. Res.* **14**, 363—373 (1961).
- — and M. G. ORMEROD: Repair of radiation damage in a nucleoprotein by cysteamine. *Nature (Lond.)* **193**, 290—291 (1962).
- — Repair of the primary chemical lesion. In: *Biol. effects of ionizing radiations at the molecular level (Proc. of symp. in BRNO 1962)*, publ. Intl. Atomic Energy Agency Vienna, p. 399—410.
- — and D. ROSEN: Formation of activated hydrogen peroxide by irradiation water with  $\alpha$ -rays. *Nature (Lond.)* **188**, 574—575 (1960).
- — and K. A. STACEY: Cross-linking of deoxyribonucleic acid in sperm heads by ionizing radiations. *Nature (Lond.)* **184**, 958—960 (1959).
- — and D. J. TOMS: The effect of oxygen on the changes produced by ionizing radiations in polymers. *J. polym. Sci.* **22**, No. 101, 343—348 (1956).
- — Protection provided by added substances against the direct action of ionizing radiations. *Radiat. Res.* **9**, 509—524 (1958).
- ALLEN, E., and P. ALEXANDER: An effect of ionizing radiations on the hydrogen bonds in wool. *Radiat. Res.* **15**, 390—399 (1961).
- BACQ, Z. M., and P. ALEXANDER: *Fundamentals of Radiobiology*, 2nd edit. London: Pergamon Press 1961.
- BARKER, S. A., P. M. GRANT, and M. STACEY: Effects of gamma-radiation on some carbohydrates, hydroxyacids and amino-acids in aqueous solutions. *Nature (Lond.)* **183**, 376—377 (1959).
- BLACK, R. M., and B. J. LYONS: Effect of high-energy radiation on polypropylene. *Nature (Lond.)* **180**, 1346—1347 (1957).
- BRAAMS, R., F. HUTCHINSON, and D. RAY: Changes in the sensitivity of enzymes in the dry state to radiation. *Nature (Lond.)* **182**, 1506 only (1958).
- BRINKMAN, R., and H. LAMBERTS: Examples of immediate low-level X-ray effects; their significance for the study of chemical protection. *Int. J. Radiat. Biol., Suppl.* **1**, 167—175 (1960).
- — H. B. LAMBERTS, and J. ZUIDERELD: Irradiation and chemoprotection of fresh synovia as a model of mucopolysaccharide depolymerization. *Int. J. Radiat. Biol.* **3**, 279—283 (1961).
- CHARLESBY, A.: *Atomic radiation and polymers*. London: Pergamon Press 1960.
- ELDJARN, L., and A. PIHL: On the mechanism of chemical protection against ionizing radiations. In: *Progress in Radiobiology*, p. 249—257. Edinburgh: Oliver & Boyd 1956.
- ERRERA, M.: *In vitro* and *in situ* action of ionizing radiations on nucleoproteins of the cell nucleus. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **12**, 60—63 (1947).
- FRICKE, H.: The denaturation of proteins by high-frequency radiations. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **6**, 164—169 (1938).
- GLEGG, R. E.: The influence of oxygen and water on the after-effect in cellulose degradation by gamma-rays. *Radiat. Res.* **6**, 469—473 (1957).
- GORDY, W., W. B. ARD, and H. SHIELDS: Microwave spectroscopy of biological substances. II. Paramagnetic resonance in X-irradiated carboxylic and hydroxy acids. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **41**, 996—1004 (1955).
- — and I. MIYAGAWA: Electron-spin resonance studies of mechanisms for chemical protection from ionizing radiation. *Radiat. Res.* **12**, 211—229 (1960).
- HART, E. J., and J. W. BOAG: Absorption spectrum of the hydrated electron in water. *J. Amer. chem. Soc.* **84**, 409—412 (1962).
- HEMS, G.: Effect of ionizing radiation on aqueous solutions of guanylic acid and guanosine. *Nature (Lond.)* **181**, 1721—1722 (1958).
- — Chemical effects of ionizing radiation on deoxyribonucleic acid in dilute aqueous solution. *Nature (Lond.)* **186**, 710—712 (1960).
- HENRIKSEN, T., T. SANNER, and A. PIHL: Transfer of radiation induced unpaired spins from proteins to sulphur components. *Radiat. Res.* **18**, 163—176 (1963).
- HUTCHINSON, F.: Modifying factors in the inactivation of biological macromolecules. *Radiat. Res., Suppl.* **2**, 49—64 (1960).
- INGRAM, D. J. E.: *Free Radicals as Studied by Electron Spin Resonance*. London: Butterworths 1958.
- JAYKO, M. E., and W. M. GARRISON: Formation of  $>C=O$  bonds in the radiation-induced oxidation of protein in aqueous systems. *Nature (Lond.)* **181**, 413—414 (1958).
- LANGER, R., and A. PIHL: Radiosensitising effect of thioglycolic acid on glutaraldehyde phosphate dehydrogenase. *Int. J. Radiat. Biol.* **3**, 249—258 (1961).

- LEONE, C. A., W. LANDMANN, and H. FRICKE: Structural degradation of  $\gamma$ -irradiated ovalbumin. *Prog. in Nuclear Energy Series VI*, vol.2, p. 124—130. London: Pergamon Press 1959.
- LETT, J. T., and P. ALEXANDER: Crosslinking and degradation of DNA gels with varying water contents when irradiated with electrons. *Radiat. Res.* **15**, 159—173 (1961).
- K. A. STACEY, and P. ALEXANDER: Crosslinking of dry deoxyribonucleic acids by electrons. *Radiat. Res.* 1961 **14**, 349—362 (1961).
- LIBBY, D., M. G. ORMEROD, A. CHARLESBY, and P. ALEXANDER: Electron spin resonance studies of bovine serum albumin and cystine irradiated with  $\gamma$ -rays at 77° K and at room temperature. *Int. J. Radiat. Biol.* **4**, 26—26 (1961).
- — — — Prevention of cysteamine of radical formation in bovine serum albumin by  $\gamma$ -rays. *Nature (Lond.)* **190**, 998—999 (1961).
- LLOYD, P. H., and A. R. PEACOCKE: Degradation by irradiation of thymus DNA-histone in solution. *Nature (Lond.)* **200**, 428—429 (1963).
- MOROSON, H., and P. ALEXANDER: Changes produced by U. V. light in the physico-chemical properties of DNA. *Radiat. Res.* **14**, 29—49 (1961).
- PEACOCKE, A. R.: The structure and physical chemistry of nucleic acids. *Progr. Biophys.* **10**, 55—114 (1960).
- PHILPOT, J. St. L., V. J. HORGAN, B. W. PORTER, and D. B. ROODYN: Toxicity of peroxides in relation to radiation. In: *Organic Peroxides in Radiobiology*, p. 50—60. London: Pergamon Press 1958.
- PLATZMAN, R., and J. FRANCK: A physical mechanism for the inactivation of proteins by ionizing radiation in *Symp. on Information Theory in biology*, p. 262—275. London: Pergamon Press 1958.
- RAJEWSKY, B., and K. DOSE: On direct action of Röntgen-rays on proteins, peptides and amino acids. II. Investigations on peptides and amino acids. *Z. Naturforsch.* **12b**, 384—393 (1957).
- ROSEN, D.: Intermolecular and intramolecular reactions of human-serum albumin after its X-irradiation in aqueous solution. *Biochem. J.* **72**, 597—602 (1959).
- ROSEN, D., S. BROHULT, and P. ALEXANDER: Effects of gamma rays on solutions of human serum albumin. I. Sedimentation studies. *Arch. Biochem. Biophys.* **70**, 266—276 (1957).
- ROZENDAAL, H. M., W. D. BELLAMY, and T. H. BALDWIN: Effects of ionizing radiations upon isolated DNA-protein fibres. *Nature (Lond.)* **168**, 694 only (1951).
- SCHOLES, G., and J. WEISS: Chemical action of X-rays on nucleic acids and related substances in aqueous systems. II. The mechanism of the action of X-rays on nucleic acids in aqueous systems. *Biochem. J.* **56**, 65—72 (1954).
- SHALEK, R. J., and T. L. GILLESPIE: Oxygen effect in the irradiation of enzymes in *Radiobiology and Cancer*, p. 41—49. Houston: Univ. of Texas Press 1959.
- SHIELDS, H., and W. GORDY: Electron-spin resonance studies of radiation damage to the nucleic acids and their constituents. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **45**, 269—281 (1959).
- SMALLER, B., and M. S. MATHESON: Paramagnetic species produced by  $\gamma$ -irradiation of organic compounds. *J. Chem. Phys.* **28**, 1169—1178 (1958).
- SVEDBERG, T., and S. BROHULT: Splitting of protein molecules by ultra-violet light and  $\alpha$ -rays. *Nature (Lond.)* **143**, 938—939 (1939).
- TARUSOFF, V. N.: Kinetics of primary reactions and chemical protections. In: *The initial effects of ionizing radiations on cells*, p. 315—326. New York: Academic Press 1961.
- TAYLOR, B., J. P. GREENSTEIN, and A. HOLLANDER: The action of X-rays on thymus nucleic acid. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **12**, 237—246 (1947).
- WEISS, J., P. EMERSON, G. SCHOLES, D. H. THOMSON, and J. F. WARD: Chemical effects of ionizing radiations on nucleic acids and nucleoproteins. *Nature (Lond.)* **187**, 319—320 (1960).
- ZIMMER, K. G.: The development and prospects of quantitative radiobiology. *Int. J. Radiat. Biol., Suppl.* **1**, 1—8 (1960).

## D. Irradiation effects on enzymes (in vitro)

By

**W. M. Dale**

With 5 figures

### 1. Introduction

Enzymes are the essential catalysts of the breakdown and synthesis of vital constituents in cells of living organisms and usually display a high degree of specificity. Without enzymes the cells could not carry out the necessary reactions in an aqueous milieu at the ambient temperature. This is in contrast to the reactions used by the organic chemist in the laboratory, which require far more drastic procedures and higher temperatures than would be tolerated by living matter.

Because of their important functions in cell life and their possible implications in radiation effects, enzymes have received a great deal of attention which has advanced our knowledge considerably though not sufficiently to allow us to be dogmatic about their place in radiation research.

There are enzymes which, being firmly bound to intracellular structures or to inter-phase boundaries, are inseparable by artificial means; there are others which are more or less soluble and mobile. The relatively recent method of fractionation by ultracentrifugation has yielded much information about the localisation of various enzymes attached to or contained in very small granules of the cytoplasm (microsomes, mitochondria).

All known enzymes consist of protein molecules. They carry a specific "active group" which forms a more or less firm bond with specific substrates leading to the enzymic reaction. Some enzymes are known to consist of dissociating compounds between a specific protein and a "prosthetic group" — a non-protein — both parts being essential for enzymic activity.

There is no reason to assume that the radiation-response of enzymes, as chemical individuals, should be basically different from that of other chemicals, apart, of course, from losing their enzymic activity.

In fact, several general aspects of the direct and indirect mode of action of radiation applied to enzymes have been touched upon in chapter A of this handbook.

### 2. Earlier literature

A considerable part of the older literature is concerned with the action of radiation on impure enzymes, some of it reporting inactivation by radiation, some finding either no effect at all, or an effect only after considerable doses. Typically, a series of papers on the effect of radiation on pepsin, trypsin and invertase (HUSSEY and THOMPSON 1922—23, 1924, 1925—26) establishes correctly the exponential dose/inactivation relationship in dilute aqueous solutions of these enzymes, but states that no effect was observed in concentrated solutions. The indirect action of radiation was not known at that time, and the resistance to radiation of the concentrated solution was therefore explained by assuming that the concentrated enzyme was in an undissociated state in which it responded differently from a dissociated state when in dilute solution.

No practical purpose would be served by considering early publications. This chapter will be concerned mainly with special considerations of the action of radiation on enzymes.

Since protein is the carrier of activity, the effect of radiation on protein should be considered first. Some of the discussion which follows concerns general protein chemistry, of which enzyme proteins are an inseparable part.

## I. Denaturation of proteins and enzymes

The effect of radiation on protein is "denaturation". The term "denaturation" is relatively loosely defined and will remain so until the fine structure of the molecular arrangement of proteins is fully known. Denaturation is any non-proteolytic modification of the unique structure of a native protein, giving rise to definite changes in chemical, physical or biological properties (NEURATH, GREENSTEIN, PUTNAM and ERICKSON 1944). MIRSKY and PAULING (1936) define the characteristics of denaturation of protein more specifically by assuming an arrangement of labile linkages within the native protein molecule, on which the denaturing agents presumably act. These labile linkages are hydrogen bonds between the—C=O and—NH groups in adjoining peptide chains and between phenolic —OH groups and adjoining carboxyl or amino groups.

Loss of solubility of a native protein upon denaturation followed by precipitation is a conspicuous outward sign of denaturation (CHICK and MARTIN 1910, 1911—1912; 1912 bis 1913 a and b SORENSEN 1925). NORTHROP, KUNITZ and HERRIOTT (summarised in NORTHROP 1939) have shown that a decrease occurred in the solubility of the protein of proteolytic enzymes with a proportionate loss of enzymic activity. More subtle changes may occur before any change of solubility can be demonstrated.

Denaturing agents are very diverse. Ultra-violet radiation, ionizing radiation and surface forces, — apart from heat, acid, alkali, alcohol, urea, salicylate and high pressure, — are of importance in connection with enzymes.

With the unfolding of the molecular configuration of the protein molecule in the process of denaturation and simultaneous intramolecular rearrangement, various constituent groups, such as sulphhydryl, disulphide or phenolic groups, become unmasked while they are either feebly detectable in the native protein, or not detectable at all. A change in the reactivity of phenol groups in pepsinogen and pepsin takes place upon denaturation (HERRIOTT 1938).

When proteins are irradiated with ultra-violet light coagulation occurs, initiated by denaturation in a temperature-independent photochemical reaction. The flocculation of the denatured protein is a reaction notable for a high temperature-coefficient (CLARK 1936, 1938). The quantum yields for the ultra-violet inactivation of the enzymes urease and pepsin are far below unity, and their activity is lost before visible changes in the molecular-extinction coefficient occur. Ionizing radiations act similarly. Ultra-violet-irradiated egg albumin was changed in such a way that heat subsequently applied coagulated it at a far lower temperature than it would have coagulated non-irradiated albumin (CLARK 1925).

Similar results, but with ionizing radiation, were obtained by FRICKE (1952a and b) in a quantitative investigation which also yielded interesting information concerning the relationship of the SH groups of cysteine and the denaturation of egg albumin.

The changes resulting in insolubility of heated irradiated egg albumin are of the same general character as those produced by heating the original protein. The irradiated protein solutions contain different protein derivatives, which subsequently denature, and show a marked decrease in energy of activation as well as entropy. From this it can be concluded that irradiation has caused structural changes that are profound, though of as yet unknown nature. The SH group of cysteine in egg albumin could be oxidized to S-S and beyond this stage without denaturation or marked instability of the protein. No fractionation of the egg albumin took place.

In a later paper (FRICKE and LEONE 1958; FRICKE, LEONE and LANDMANN 1957), an elaboration of the various stages of structural breakdown of the irradiated protein was carried out by the use of the criterion of loss of ability to precipitate antinative rabbit

serum. The fractions recognised were molecules degraded to the extent of becoming insoluble at their isoelectric point. Other molecules less affected changed with heating more easily than native ones to the form insoluble at the isoelectric point. The conclusion was reached that the serological radiation effect stemmed from the structural changes and involved essentially an all-or-none destruction of the specific combining groups. It appears that the isoelectric insoluble and thermolabile constituents form a group of more or less unfolded protein molecules with no clear-cut division of the degree of unfolding between the two groups. It is important to note that the thermolabile constituents, in a moderately-irradiated system, account for about half the destruction of combining groups.

In a further investigation (FRICKE, LANDMANN, LEONE and VINCENT 1959) the results were confirmed by the use of optical-rotation measurements.

## 1. SH enzymes

The changes and unmasking of SH and S-S groups in proteins now lead to a discussion of the possible role in irradiated enzymes. The importance of sulphur compounds in connection with the mode of action of radiation was stressed in chapter A<sub>IV</sub>

Much work on the so-called SH enzymes was carried out by Barron and his school (BARRON and DICKMAN 1949; BARRON, DICKMAN, MUNTZ and SINGER 1949; BARRON 1951). The SH groups of these enzymes are essential to enzymic activity. This work started with the idea that the role of cysteine and glutathione as activators of cell division and cell growth may also have some connection with radiation effects involving SH and S-S groups. This finding in turn goes back to the observation that the enzymes papain and cathepsin can be activated by HCN and also by SH compounds (hydrogen sulphide, cysteine and glutathione) (GRASSMANN, v. SCHOENEBECK and EIBELER 1931; BERSIN and LOGEMANN 1933; BERSIN 1933; MASCHMANN and HELMERT 1934). The action of radiation on those enzymes which consist of a specific protein and a prosthetic group may involve either or both of them by breaking hydrogen bonds in the protein and oxidizing reactive groups in side-chains of the molecule, for instance sulfhydryl, hydroxyl and amino groups or double bonds. In any of these cases a change of the enzymic activity will be produced. It will be recalled from chapter A<sub>IV</sub> that sulphur-containing compounds and SH groups are particularly sensitive to radiation.

When the crystalline enzyme phosphoglyceraldehyde dehydrogenase was irradiated with Roentgen rays, half the enzymic activity of 70 microgram of enzyme per millilitre was destroyed by 200 R, and nearly complete inactivation was achieved with 500 R. The inactivation was ascribed partly to the oxidation of sulfhydryl groups and partly to denaturation of protein. It was found that the first process was reversible when glutathione in its reduced state was added to the solution after irradiation. The oxidised R-S-S-R groups are then converted back into active RSH-RSH groups. At 21 % inactivation, complete reactivation occurred after the addition of glutathione, indicating that Roentgen irradiation had produced only oxidation of the sulfhydryl groups; when the enzyme was 50 % inactivated, reactivation amounted to only 62 %, and a completely inactivated enzyme could be reactivated to only 10 % of its original activity. This lack of reactivation was interpreted as protein denaturation by x-irradiation. Similar results were obtained with another sulfhydryl enzyme, adenosine triphosphatase (myosin), but crystalline yeast hexokinase proved to be rather resistant to the action of Roentgen rays. The inactivation of succinoxidase by x-rays can also be reversed with glutathione. In this case a small amount of catalase was added to decompose any hydrogen peroxide formed during the reaction. When glutathione was added before irradiation, the enzyme was completely protected.

Although the effect of  $\alpha$ -radiation will be discussed later, it should be mentioned here that Barron found an unusually high value of the radiation effect of  $\alpha$ -rays, namely an ionic yield of 1.0 ( $G = 3$ ) for phosphoglyceraldehyde dehydrogenase.

BARRON was finally convinced that the oxidation of SH to S-S is the key reaction which could more or less explain most of the radiation effects observed in radiation biology. He also assumed that cataract formation after irradiation may be due to the oxidation of SH groups in the lens protein, leading to intermolecular S-S bridges with consequent polymerization of protein molecules and thus to the production of opacity of the tissue of the lens.

In fact, it has been found (PIRIE, VAN HEYRINGEN and BOAG 1953) that, in the lens of the rabbit after exposure to 1,400 R, the glutathione content and the activity of the enzyme, glutathione reductase, falls progressively during the clinical development of cataract. Other —SH enzymes also lost activity, whereas four enzymes whose activity is not dependent on —SH groups (malic enzyme, cytochrome reductase, lactic dehydrogenase and isocitric dehydrogenase) remained unaffected. The observed decline of the glutathione content and enzymic activity of glutathione reductase did not begin earlier than 20 hours after irradiation. One has, therefore, to conclude that the radiation did not directly interfere with the activity of the —SH enzymes at the time of irradiation.

BARRON also suggests that chromosome breaks might be produced through the formation of S-S linkages, causing distortion followed by breakage.

Generally BARRON stresses the importance of the use of low dosage of radiation which only lead to oxidation of sulfhydryl groups to disulphide groups, in contrast to large doses which cause denaturation of protein.

It is doubtful whether it is justifiable to make a distinction between the action of small and of large doses of radiation in the case of the SH group in the SH enzymes on the one hand and of protein on the other, since our present methods of detecting changes in protein, indicating denaturation, are probably less sensitive than those for detecting other chemical changes. Moreover, a change of slope in dose-effect curves of irradiation would be expected to occur when two different mechanisms of effect are operating. Such differences have not been observed.

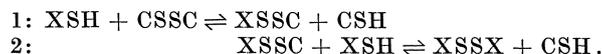
At present, general opinion does not agree with the role assigned to SH enzymes in the mechanism of radiation damage. Criticism has been levelled (GRAY 1954) against the importance ascribed to SH containing molecules, since the total number of oxidizable SH groups in the cell, according to an estimate by PATT, is of the same order as the number of molecules decomposed by a million Roentgens. One cannot, therefore, expect to find that a dose of a few hundred Roentgens will significantly reduce the activity of any one type of SH-containing molecule. BARRON counters such criticism by pointing out (BARRON 1955) that not all SH-groups are oxidizable by Roentgen-irradiation — only those which can react freely — whereas the others are either separated by distances too great to allow formation of disulphides, or are under the influence of electronegative groups in their vicinity, or made inaccessible because of steric hindrances.

Apart from these theoretical considerations, recent experiments throw doubt on some basic results obtained by BARRON and co-workers. The investigations on the enzymes phosphoglyceraldehyde dehydrogenase (BARRON, DICKMAN, SINGER and MUNTZ 1954; BARRON and JOHNSON 1954) and on alcohol dehydrogenase have been carefully reinvestigated by LANGE, PIHL and ELDJARN (1959); PIHL, LANGE and ELDJARN (1958), whose results differed considerably from those obtained by BARRON and his co-workers. These authors point out that studies of proteins and enzymes irradiated in solution have shown that in addition to the extensive radiochemical reactions of the sulphur atoms, radiochemical changes occur at a number of other chemical groupings as well (DRAKE, GIFFEE, JOHNSON and KOENIG 1957; OKADA and GEHRMANN 1957; BARRON, AMBROSE and JOHNSON 1955; JAYKO and GARRISON 1958a and b) and further that disulphides are also highly susceptible to the indirect action of ionizing radiations (SHAPIRO and ELDJARN, 1955), whereas BARRON considered only the oxidation of SH groups to S-S as important and assumed S-S groups to be radiochemically stable. Since a number of groups, not containing sulphur, can be changed by radiation, it seemed improbable that

an enzyme could be inactivated by indirect action with an overall yield of 1.0 ( $G = 3$ ) as found by BARRON, for this implies that one enzyme molecule should be inactivated per ion pair produced in solution. This is particularly unlikely in the case of phosphoglyceraldehyde dehydrogenase and alcohol dehydrogenase, because both enzymes possess a considerable number of free SH groups. The main results of the reinvestigation are that the ionic yield of the inactivation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and of alcohol dehydrogenase after x-irradiation was 0.02 and not 1.0, which brings the ionic yield into line with that of the inactivation of the majority of enzymes and thus disposes of the claim of special radiation sensitivity. Part of the discrepancy between these and BARRON's result is caused by the latter's use of former values of the molecular weights of the enzymes, which have now been doubled. It seems to be more significant that a reactivation of inactivated enzyme by the addition of reduced glutathione could not be confirmed.

## 2. The "mixed disulphide" hypothesis

ELDJARN and PIHL have developed the "mixed disulphide" hypothesis in an extensive series of investigations (see reference list for papers by ELDJARN and/or PIHL and co-workers) in which they tried to elucidate the chemical protection against ionizing radiations. Mixed disulphides in thiol-disulphide interactions are formed by two reactions:



Where XSH represents a thiol compound of X, CSSC a disulphide compound of C, and XSSC a mixed disulphide compound.

The diagrams (Fig. 1 and 2) explain the protection of SH or S-S groups for the indirect action (Fig. 1) as well as for the protection of target molecules against direct action by mixed disulphide formation. An attacking oxidizing radical has a 50% chance of reforming an SH group and thus preventing an irreversible alteration of the target molecule in the case of indirect action. A similar mechanism is suggested for the ionization of the target molecule. The mixed disulphide

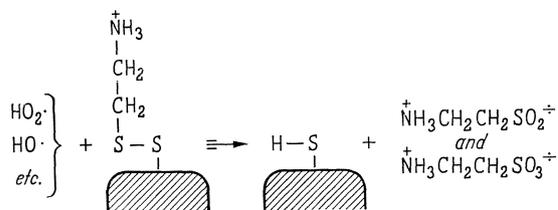


Fig. 1

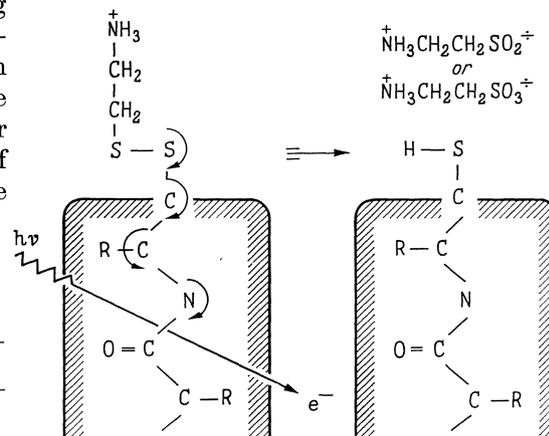


Fig. 2

Fig. 1. Protection by mixed disulphide formation of the target SH or SS group against the indirect action of ionizing radiation. The approaching radiation induced radicals may attack the one or the other of the two sulphur atoms. In the case envisaged, the interaction results in the reconstitution of the target SH group. ELDJARN, L., and A. PIHL: 25th Anniversary Publ. from the Norwegian Radium Hospital, No. 3 (1958)

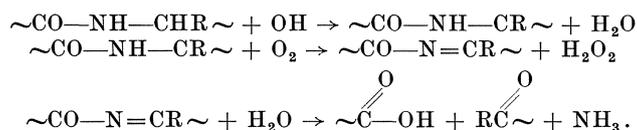
Fig. 2. Protection of target molecule against direct hit by mixed disulphide formation. The impinging particle ejects an electron ( $e^-$ ) from the target molecule (*e.g.* a polypeptide chain). The vacancy is repaired by movement of electrons along the chain, leaving the disulphide bond with one electron only. This bond subsequently ruptures with the reconstitution of the target SH group. ELDJARN, L., and A. PIHL: 25th Anniversary Publ. from the Norwegian Radium Hospital, No. 3 (1958)

bond supplies the electron for repairing the original ionization and is itself converted into an SH moiety attached to the target molecule, the other half being oxidized to a sulphonic or sulphinic acid group. This reaction scheme, quite apart from the concept

of protection, is relevant to radiation-induced reactions with SH and S-S groups in enzyme proteins; in fact, ELDJARN and PIHL suggest that the target molecules most probably belong to the enzymic systems of the cells, possibly coenzymes occurring in minute amounts.

### 3. Non-SH groups in protein molecules affected by radiation

That the effect of radiation on proteins and therefore on enzymes is not confined to sulphur-containing groups has been substantiated by the work of GARRISON and co-workers (JAYKO and GARRISON 1958a and b; JAYKO, WEEKS and GARRISON 1958; GARRISON, JAYKO and BENNETT 1962). The final aim of these investigations was to obtain information on specific loci of the attack by OH radicals and H atoms formed in aqueous solutions of protein (pepsin, gelatine) by radiation. The formation of the  $>C=O$  groups generally formed in oxidation of organic compounds was also observed when the protein solutions were oxidized by radiation in oxygenated solution. That oxidation takes place at the peptide link accounts for part of the irradiation products containing carbonyl groups. The following reactions are suggested (R = amino acid residue).



Thus, the reaction sequence contains organic radicals and an intermediary imino compound which is subsequently hydrolyzed to the keto compound. The dialysed protein contains about one carbonyl group for every two hydroxyl radicals formed, and the products identified are: glyoxylic, pyruvic and  $\alpha$ -ketoglutaric acid.

## II. Inactivation of enzymes in aqueous solutions

### 1. Radiation yields

In chapter A<sub>IV</sub> an enzyme was chosen to explain the features of the indirect action of radiation on an organic substance in aqueous solution, and we discussed why the action of radiation caused an exponential relationship between the inactivation of the enzyme and the dose of radiation applied. This exponential relationship holds for all enzymes investigated, with the exception of the inactivation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and alcohol dehydrogenase by Roentgen rays, where a linear relationship existed down to at least 40% inactivation (LANGE, PIHL and ELDJARN 1959). The reason for this exception is not yet clear.

The question was also discussed why there is a gradual falling off of the efficiency of radiation when the concentration of the solute drops below a certain limit, whereas on increasing the concentration over a wide range the inactivation yield remains constant. That the constancy of the yield over a wide range of concentration does not hold for every enzyme is borne out by the experiments of McDONALD (1954a) on the inactivation of aqueous solutions of crystalline trypsin. The reaction yield increased from 0.06 to 0.7  $\mu\text{M}$  per litre per 1000 R when the concentration of the trypsin solutions varied between  $1 \times 10^{-7}$  to  $2 \times 10^{-4}$  molar without any tendency to become constant, whereas in the case of the enzyme carboxypeptidase (DALE, GRAY and MEREDITH 1949) constancy of yield was reached at a molar concentration of  $6 \times 10^{-6}$ . In the case of pepsin (BELLAMY and LAWTON 1954) and of chymotrypsin (McDONALD, 1955) a similar but slower rise of inactivation occurs with concentration over which carboxypeptidase inactivation is constant, that is, above 0.2 milligram protein per millilitre. Such increases of radiation yields with increasing concentration bring to mind the yield-concentration dependence for the deamination of amino acids discussed in chapter A<sub>VI.5</sub>. In this instance, one could argue that the concentration of the solute has become great enough for direct action to

play a major part, whereas the concentration of those enzymes appears to be well within the range of indirect action.

The irradiation yields can vary also with external conditions, that is, the medium, pH and temperature (McDONALD 1955). The reaction yield-pH curve for trypsin is a symmetrical one with a minimum yield at pH 6–pH 7, rising by a factor of 3 on approaching pH 2.5 and pH 9.5. Various buffers depress the inactivation. The inactivation is particularly sensitive to the presence of ethanol, which causes a sigmoid shape of the inactivation-dose curves. At 26° C the inactivation is 1.5 times greater than at 5° C in the presence of 0.005 M hydrochloric acid, but less so with 0.005 N sulphuric acid and negligible with 0.005 N nitric acid. These details are mentioned to show the complexity of the inactivation of radiation effects on enzymes.

It may be mentioned in this connection that de BORNIER (1958a) reported a non-exponential dose-effect curve for the inactivation of aqueous solutions of trypsin by Roentgen rays, which he explained by assuming that the inactivated trypsin molecules had a greater affinity for free radicals than had the active ones. This is not only unlikely in itself,

but also at variance with the results of many other investigators. It would appear more probable that some impurity may have interfered.

The values of ionic yields, expressed as the number of molecules inactivated per ion pair generated in the solution by the irradiation when the surviving fraction of the initial activity of the enzymes has reached the level of 37% original activity, vary considerably with the type of enzyme and, of course, with its physical state, i.e. whether irradiation took place in solution (indirect action) or in the dry state (direct action). The following are some values for indirect action: ribonuclease has an ionic yield of 0.03 ( $G = 0.09$ ) (LEA and HOLMES, unpublished); deaminoacid oxidase 0.14 ( $G = 0.42$ ) (DALE, 1942, 1947); carboxypeptidase

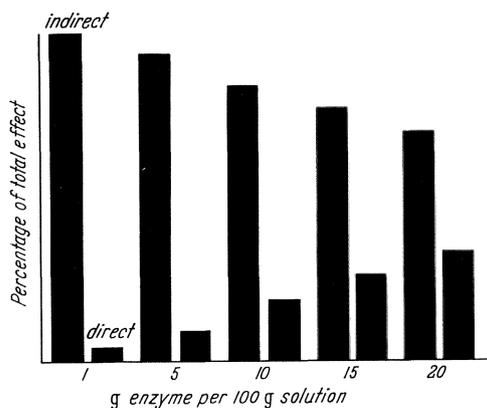


Fig. 3. The relative contributions of direct and indirect action in the inactivation of carboxypeptidase. [Brit. J. Radiol., Suppl. 1, 46–50 (1947)]

0.18 ( $G = 0.54$ ) (DALE, GRAY and MEREDITH 1949) and catalase 0.0027 ( $G = 0.0081$ ) (but varying with dose-rate) (FORSSBERG, 1945, 1946).

In contrast to the relatively low yields of enzyme solution (indirect action), the yields for direct action, i.e. in dry enzymes or in enzyme solutions in which the indirect action is suppressed by the addition of protective agents, are approximately 1.0 ( $G = 3$ ), e.g. ribonuclease (LEA, SMITH, HOLMES and MARKHAM 1944). The relative contributions of direct and indirect action in the inactivation of carboxypeptidase are shown in Fig. 3 (DALE 1947).

It would appear that for *in vitro* experiments with carboxypeptidase at a water-content equivalent to that of tissues (about 80%), the contribution by the indirect action to the total irradiation effect is still considerable.

Even higher yields of indirect action have been obtained by HUTCHINSON, PRESTON and VOGEL (1957), for dilute coenzyme A solutions (100  $\mu\text{g/ml}$ ) namely 0.98 ( $G = 2.94$ ). In the same publication invertase and alcohol dehydrogenase and coenzyme A were irradiated in wet and in dry yeast cells. The sensitivity wet versus dry was about 2 to 1 for invertase, 20 to 1 for alcohol dehydrogenase and 100 to 1 for coenzyme A and the difference has been attributed to the indirect action of radiation. Here we have a noticeable example of the indirect mode of action being more effective than the direct action and it is remarkable that it was necessary to remove the water by very extensive vacuum treatment for 36 hours in order to obtain approximately valid 37% inactivation doses for the “dry state”.

For the calculated percentage of the direct effect at the various concentrations of carboxypeptidase, it is assumed that the direct-action yield of the carboxypeptidase molecules in the dissolved state is equal to that in its dry state. However, there is some uncertainty about the validity of this assumption (KRENZ 1949); water of hydration, for instance, may cause a difference.

Recently AUGENSTINE (1959a) advocated plotting the reciprocal of the inactivation yield against the reciprocal of the solute concentration to characterise the inactivation of enzymes. In this way a straight-line relationship was obtained, and the probabilities associated with radical-destruction and solute inactivation could be determined separately and the efficiency of protecting substances assessed. The applicability of this method extends to very low concentrations indeed, whereby the role played by recombination of radicals as well as by impurities of the solvent and pH effects becomes measurable. However, at concentrations of the solute greater than about 100  $\mu\text{M}$  per litre, the linear relationship breaks down in certain cases, the yields becoming larger than predicted by the reciprocal plot. Moreover, the target volumes calculated from the straight lines of the reciprocal plot are 200 times (trypsin) and 45 times (chymotrypsin) greater than those anticipated for the actual molecular volumes of these enzymes in the dry state. AUGENSTINE, therefore, suggests tentatively that the yield for direct action in solution may differ from that in the dry state and that it would seem preferable to refer to direct effects in the dry state as a special or limiting case of indirect effects in solutions produced by freely-diffusing *radicals* or by *ions* in a target volume surrounding charged solute molecules.

These remarks with regard to the physical state of the enzyme lead on to a discussion of experiments in which enzymes were either just dry, or dissolved but spread as monolayer-films on surfaces.

## 2. Surface films of enzymes

MAZIA and BLUMENTHAL (1950) have tried to throw light on the discrepancy between the marked radiation sensitivity in some biological systems (e.g. cytogenetic effects, inhibition of mitosis) and the relative insensitivity of biological matter in solution. Only pure and dilute solutions, in particular, of enzymes, showed radiation sensitivity approaching that of sensitive biological systems. In order to free themselves from the limitations of dilution and purity, they examined whether *physical organization* of an enzyme system could raise its radiation sensitivity to that displayed by the physical structure of chromosomes.

They were able to demonstrate that structural organization of such an enzyme system was indeed a factor in radiation sensitivity. Surface films of an enzyme-substrate solution, namely a mixture of solutions of crystalline egg albumin and crystalline pepsin, were prepared by allowing a drop to spread on an aqueous buffer of pH 4. The film was then irradiated with Roentgen rays and after irradiation compressed to a fibre to measure its activity. At pH 4 the enzyme is inactive. For the measurement of enzymic activity, the fibre was washed and transferred to hydrochloric acid at pH 1.8, which is the pH of optimal enzymic activity. The digestion of this fibre at this pH was followed visually with the aid of a microscope, and the time required for the disappearance of the fibre was taken as the basis for the measurement of enzymic activity. The irradiation took place in the direction film surface  $\rightarrow$  buffer solution. They could show that the sensitivity of the enzyme spread as a monolayer was greater (one ionization inactivating  $10^3$  enzyme molecules) than it would have been in solution, and also that the sensitivity could be altered by irradiating the film under various degrees of compression. Up to 10% compression had little effect, but further increase caused the percentage inactivation to fall off rapidly.

The enzyme-substrate system in these experiments is very sensitive to radiation, since doses of the order of 100 R inactivated 50% of the original enzymic activity. Such doses would be called small for most biological effects, and their effectiveness was achieved in

a system which was neither dilute nor particularly pure, for it contained at least two species of molecules: enzyme-protein, and substrate-protein. These molecules were partly unfolded and linked to each other in a continuous two-dimensional solid or rather gel-like fabric. Whether the inactivation of the enzyme occurs in this case by direct ionization of the enzyme molecules, or by radicals formed in the aqueous phase, could not be decided, but this is less important than the fact that one ionization corresponds to the inactivation of about 1000 enzyme molecules. The possibility has, therefore, to be contemplated that the physical structure of the film comprises polymeric units through which the absorbed energy can spread.

These experiments are of special interest because they are a step on the way to imitating the conditions of enzymes which are absorbed in internal phase boundaries of cells. The state of these enzymes in the cell is not yet sufficiently known, especially with regard to their mode of action, i.e. whether they remain stationary when in action, or whether they can be displaced by their substrates, etc. MAZIA and BLUMENTHAL are careful enough not to draw too-far-reaching conclusions, and the results can be classified as only semi-quantitative because of the unusual method of assay of activity, which was dictated by circumstances, the digestion taking place in a semi-solid state. It may be of more importance that the substrate itself must have undergone changes by having been irradiated at the same time as the enzyme, a fact which was likely to influence the activity measurement. The radiation effects are possibly affected by the existence of two phase boundaries: air/protein and protein/water, though this could imitate two phase boundaries in a cell.

A further cause of uncertainty in the interpretation is the drastic rearrangement of the molecules and loss of solubility which occurs when proteins are spread at an interface, a phenomenon commonly referred to as "surface denaturation". In some proteins this leads to loss of specific activity; in other it does not. Although the authors believe that the pepsin had not lost its activity on account of surface denaturation, there may have been an additive effect of molecular derangement and radiation. These objections do not affect the conclusions that the radiation effect was spread over a considerable area.

SMITH (1954) examined radiation effects on monomolecular films of other proteins — catalase and bovine-serum albumin — primarily to estimate the lifetime of active radicals concerned in the inactivation. The calculation of the lifetime is of no special concern in the present context, but it is of interest that neither with catalase nor bovine-serum albumin as monolayers did the inactivation with low doses of Roentgen rays, as achieved by MAZIA and BLUMENTHAL with pepsin-albumin layers, occur. Up to Roentgen ray doses of 100,000 R, no measurable inactivation could be detected, and 500,000 R were necessary to inactivate 48 % of the catalase and 12 % of the serum albumin.

The very great difference in sensitivity to radiation between the system employed by MAZIA and BLUMENTHAL and that by SMITH is difficult to understand. The conditions in these experiments were not identical, and may account for part of the discrepancy. In the two series of experiments by SMITH, monolayers of a *single* substance were used in contrast to the substrate-enzyme *mixture* of MAZIA and BLUMENTHAL; and air was strictly excluded by placing the film at a lucite-water instead of an air-water interface, because of the possible inactivation by ions and other active complexes generated in air observed by ROTHEN (1948) when he used  $\alpha$ -radiation in similar experiments. A further possible cause for the insensitivity to radiation of the catalase films may have been the high degree of impurity of the catalase preparation (85 %) which, in view of the indirect mode of action stipulated in this investigation, was likely to have had a protective effect. The ionic yields of the inactivation of catalase — and of serum-albumin to 37 % remaining activity were 0.044 ( $G = 0.132$ ) and 0.023 ( $G = 0.069$ ) respectively. It would be premature to draw final conclusions from experiments with monolayers, and further experimentation is clearly required.

### 3. Which of the primary or secondary radiation products from water are the active agents of radiation effects?

From the theoretical point of view at least, it is of some value for the analysis of reaction mechanism to know which type or types of the primary or secondary irradiation products from water are the active agents of radiation effects on enzymes. In some instances it has been possible to specify whether OH radicals or H atoms or the hydroperoxide radical HO<sub>2</sub> and/or hydrogen peroxide have been responsible.

In the absence of oxygen, Roentgen radiation forms only H atoms, solvated electrons and OH radicals, but in its presence forms in addition the hydrogen peroxide radical HO<sub>2</sub> and hydrogen peroxide. One might, therefore, differentiate between the action of hydroxyl radicals on the one hand and the action of HO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on the other, because if either of the two additional oxidative agents are reacting, higher reaction yields are expected in oxygenated solutions. However the possibility should also be considered that the reactions of organic radicals formed by OH attack may also depend on the presence of oxygen. Additional evidence is provided by the application of Fentons reagent, which forms OH radicals in a mixture of ferrous salt with hydrogen peroxide according to:



When Fentons reagent is added to a system containing oxidizable matter, the OH radicals will act chemically without irradiation.

The enzyme ribonuclease, which is not an SH enzyme, stable to hydrogen peroxide and inactivated by Roentgen radiation equally in oxygen-free and oxygenated solution, is inactivated by OH radicals formed by Roentgen radiation, or photochemically by ultraviolet radiation in ferric salt solution ( $\text{Fe}^{+++} + \text{H}_2\text{O} + \text{hy} \rightarrow \text{Fe}^{++} + \text{OH} + \text{H}^+$ ) (COLLISON, DAINTON and HOLMES 1950).

Carboxypeptidase is also independent of the presence of oxygen during irradiation (DALE, GRAY and MEREDITH 1949) and stable to hydrogen peroxide in concentrations formed by radiation. Here again the conclusion is that the inactivating agent is the OH radical.

MCDONALD (1954a and b) found that oxygenated and oxygen-free solutions of crystalline trypsin were equally inactivated by Roentgen rays, which made it probable that the OH radical was the oxidizing agent. In a further study (MCDONALD, 1955) she could give confirmatory evidence that H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was not the effective agent. Although trypsin was inhibited by concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> greater than 0.001 M, the inhibition was independent of the time of exposure of the enzyme solution to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, which made it likely that this inactivation was not real, but rather caused by interference with the procedure of assay. Furthermore, the inactivation was reversible on dilution, whereas solutions inactivated by Roentgen radiation could not be restored to their original activity on dilution (assayed by the same method). There is, therefore, a clear-cut differentiation between the action of hydrogen peroxide as such and the inactivation by radiation.

The examples discussed so far have been oxidative inactivations of enzymes by the OH radical. Reduction reactions however, though less common, do occur in radiation chemistry, and it was thought at first sight (FORSSBERG 1947) that the enzyme catalase was inactivated by H atoms rather than by OH radicals. The conclusion was based on experiments in which reactive substances were added to the catalase solution in the absence of oxygen. In chapter A, an explanation was given of how the competition for radicals between an added solute and an original solute leads to the protection effect or its counterpart — sensitization. This general principle has been applied to non-enzymic reactions as well. When oxygen-free solutions of methylene blue are exposed to Roentgen rays, a bleaching effect takes place (STEIN and DAY, 1950), which is enhanced by the addition of benzoic acid. The competing reactions of OH radicals with benzoic acid decreased the number of OH radicals available for the reoxidation of the dye.

In general terms the explanation of sensitization is that the added substance should use up those radicals which are not entering into the reaction with the primary substance under test. Thus, an excess of H atoms will be left if OH radicals are used up, and *vice versa*.

In the absence of oxygen, no oxidative entities are formed other than OH radicals. When a series of substances added to solutions of catalase were tested for protective power, it was found that oxidized substances such as cystine and S-S glutathione protected the enzyme, whereas the same substances in their reduced state, i.e. cysteine and SH-glutathione, had the opposite effect of increasing the radiation effect. This result led to the conclusion that H atoms were the inactivating agent in accordance with the principle set out above.

SUTTON (1952), however, does not support this view on the basis of his own experiments with H atoms produced by photolysis of NaI solutions by ultra-violet radiation and also by cathodically-produced H atoms, which were allowed to diffuse through a palladium foil into air-free catalase solutions. By neither method was there any significant inactivation other than that observed in control experiments. Saturation of the enzyme solution with oxygen or nitrogen before irradiation had only a small protective effect, but saturation with hydrogen gas was highly protective. All these results favour the conclusion that OH radicals and not H atoms are the inactivating agents. The fact that catalase is protected by potassium iodide also supports the view that inactivation occurs by hydroxyl radicals according to:



In a later investigation, DALE and RUSSELL (1955, 1956) were able to show that those compounds which apparently had a sensitizing effect were actually protecting. The spurious sensitizing effect could be traced back to the fact that both cysteine and glutathione (SH) have *per se* an inhibiting effect on unirradiated catalase, which when taken into account changes the sensitization to protection. Furthermore, chromatographic, electrophoretic and spectrophotometric analyses of the irradiated solutions proved invariably the protective action of cysteine and glutathione. Catalase is thus in line with most other enzymes, as far as inactivation by OH radicals is concerned, but in other respects is rather irregular and not easy to handle experimentally. Hydrogen protects the enzyme in some circumstances, but not in others. There is also a dose-rate dependence (FORSSBERG 1946; BONET-MAURY and PATTI 1955), radiation delivered at lower rates being more effective.

An interesting reaction, in which the chemically-reactive, radiation-induced intermediate agent has been identified with high probability, concerns the effect of radiation on the coenzyme I (diphosphopyridine nucleotide) (STEIN and SWALLOW 1954, 1958; SWALLOW 1953, 1954, 1955). When this coenzyme is Roentgen irradiated in aqueous aerated solution, a slight decrease in optical density occurs at the characteristic absorption peak at 260 m $\mu$  of the spectrum (BARBON 1952), a process with a low radiation yield. A very different result is obtained when anoxic coenzyme solutions with added ethanol are irradiated. The diphosphopyridine nucleotide is then reduced with a high radiation yield not to the normal dihydrodiphosphopyridine nucleotide but very probably to a dimer. The following reaction-mechanism is suggested:

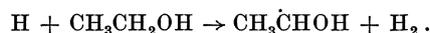


The hydroxyl radicals react with ethanol according to:



Since the concentration of the ethanol was about 1000 times greater than the concentration of coenzyme, the ethanol will protect the nucleotide against the attack by OH radicals, and the protection will be all the more efficient because the reactivity of ethanol towards OH radicals exceeds that of the coenzyme. Only H atoms and hydroxyethyl radicals are then left for reduction of the coenzyme, and there is strong evidence that this is reduced

by organic radicals rather than by hydrogen atoms, because no reduced form of coenzyme is observed on irradiation in the presence of molecular hydrogen, though the reaction of OH radicals with hydrogen would increase the concentration of free hydrogen atoms. Further the addition of sodium benzoate for scavenging the OH radicals and thus leaving the hydrogen atoms as possible reducing agents does not lead to the appearance of the reduced form of the coenzyme. Hydrogen atoms diffusing through a palladium foil are also unable to achieve a reduction. The most convincing evidence, as pointed out by SWALLOW, lies in the fact that the yield of molecular hydrogen from ethanol solutions containing diphosphopyridine nucleotide is not less than that from ethanol solutions without it, a result explainable only if free hydrogen atoms do not cause the reduction, but give molecular hydrogen by the reaction:



In contrast, dihydrodiphosphopyridine nucleotide in air-saturated aqueous solution is *oxidized* to give the normal active form of the coenzyme (BARRON, JOHNSON and COBURE 1954).

So far examples have been discussed in which the identity of the radiation-induced inactivating agent could be verified with a reasonable degree of certainty, and possible interference by hydrogen peroxide excluded, but the relative part played by hydrogen peroxide is not always easy to assess. Difficulties of assessment arise from the fact that a number of substances are oxidized by hydrogen peroxide and that in the presence of such oxidizable substances more hydrogen may be formed by radiation on balance than in their absence. It is known that hydrogen peroxide is formed as well as destroyed by Roentgen radiation, the destruction being caused by a back reaction. The forward and the back reactions going on simultaneously in pure aerated water lead to an equilibrium concentration which differs to a known extent with radiations of different energies and with the rate of energy dissipation. The presence of a solute, however, which can react with hydrogen peroxide and thereby remove it from the system, utilizes that amount of hydrogen peroxide which would have been destroyed by the back reaction.

Hydrogen peroxide (BARRON, SEKI and JOHNSON 1952) proved to be a relatively sluggish oxidizing agent and had very little effect on SH glutathione and ferrocytochrome, but some effect on coenzyme I, though in the latter case the preparation was assumed to have contained heavy-metal impurities, which in the presence of  $\text{H}_2\text{O}_2$  gave rise to OH radicals.

The catalytic effects of heavy-metal ions in tissue cannot, of course, be excluded. As to enzymes proper, BARRON distinguishes between those SH enzymes which require the presence of SH groups for activity, but have freely-reacting SH groups and can therefore be oxidized by mild oxidizing agents, and those which have sluggishly-reacting SH groups and therefore offer greater resistance to oxidation. Urease and yeast hexokinase were examined as representatives of the sluggish type and papain and yeast alcohol dehydrogenase of the freely-reacting type. Hydrogen peroxide, 0.001 M, was without effect on urease, in confirmation of HELLERMAN, PERKINS and CLARK (1933), and no effect was observed on the activity of yeast hexokinase. Papain was inhibited by 40% and yeast alcohol dehydrogenase by 23%, whereas a concentration of hydrogen peroxide of  $10^{-4}$  M had no effect at all, though urease and yeast hexokinase are easily inactivated by Roentgen rays. The conclusion is, therefore, that the role of hydrogen peroxide in Roentgen ray inactivation of these enzymes is negligible.

Further consideration has to be given to hydrogen peroxide in those radiations for which the ionization density in tracks, i. e. the linear-energy transfer (LET), is high. More important than the immediate effect of hydrogen peroxide may be its role in the so-called after-effects of radiation. This will be discussed shortly.

It should be mentioned in parenthesis that some investigators consider the oxidizing action of the hydroperoxide radical,  $\text{HO}_2$ , towards saturated organic systems to be rather weak in comparison with its action on strongly-reducing inorganic systems, such as ferrous ions (WEISS 1958; ALPER 1958).

#### 4. The effect of densely-ionizing radiations on enzymes ( $\alpha$ -radiation)

In contrast to the numerous experiments with less densely-ionizing radiations like Roentgen rays,  $\gamma$ -rays,  $\beta$ -particles and fast electrons, only two investigations are reported on the effects of a densely-ionizing radiation on enzymes. DALE, GRAY and MEREDITH (1949) examined the effect of  $\alpha$ -radiation on the enzyme carboxypeptidase and found that

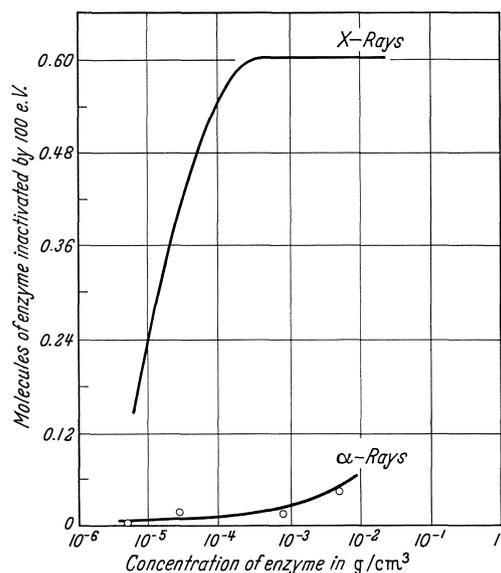


Fig. 4. Concentration-yield relationship for the inactivation of carboxypeptidase by  $\alpha$ - and Roentgen radiation

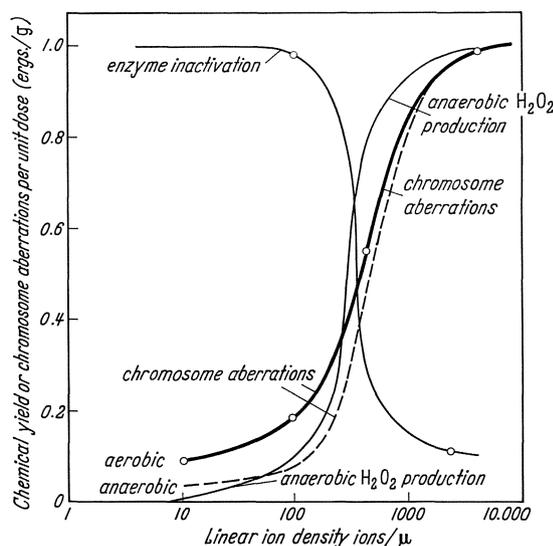


Fig. 5. The influence of ion density on chemical change and chromosome breakage. [GRAY, L. H.: Silvanus Thompson Memorial Lecture. Brit. J. Radiol. **26**, 609—618 (1953)]

about 0.05 molecules were inactivated per 100 eV of energy absorbed. This value is only about 1/10 of the Roentgen ray yield. Fig. 4 shows the yield of the inactivation of carboxypeptidase by Roentgen and  $\alpha$ -radiation in dependence of the concentration of the enzyme.

The question now arises why the  $\alpha$ -ray effect is so much less than the effect of Roentgen radiation. For an answer we have to consider the difference between the ionization tracks of the heavy  $\alpha$ -particle and that of fast electrons caused by  $\gamma$  — or Roentgen radiation. The track of a heavy  $\alpha$ -particle is marked by ionization and excitation events densely packed, whereas the ionization in the case of Roentgen and  $\gamma$ -radiation are more widely spaced and have a more irregular random distribution. The ionized water molecules of the solvent are instantaneously transformed into their corresponding radicals, so that in an  $\alpha$ -ray track the positive ions converted into OH radicals form initially a columnar core, and the negative ions converted into H atoms surround this column like a sheath some distance apart. In a Roentgen ray track, the positive and negative ions, and therefore the OH radicals and H atoms, are already intermingled at their points of origin. In an  $\alpha$ -ray track the close proximity of the OH radicals favours the formation of hydrogen peroxide according to:



quite independently of the presence or absence of oxygen. There is little chance of interaction with substances dissolved in the water, whereas in tracks of fast electrons and

photons, in which the ionizations are much further apart, interaction with solute occurs with a much higher probability. It was mentioned earlier that hydrogen peroxide had very little effect on some organic substances; it is therefore not surprising that the production of hydrogen peroxide by  $\alpha$ -particles is hardly changed by the presence of other solutes. In particular it has been shown (DALE, DAVIES, GILBERT, KEENE and GRAY 1952) that carboxypeptidase in 0.1 % concentration did not measurably reduce the yield of hydrogen peroxide. EBERT (unpublished) also showed that the production of hydrogen peroxide by  $\alpha$ -radiation remained unaffected by the presence of 20 % formic acid or 20 % ethyl alcohol solutions when compared with pure water, though the two substances are easily attacked by hydroxyl radicals. Possibly, though not experimentally verified, in tissues traversed by  $\alpha$ -radiation very high but localised concentrations of hydrogen peroxide can occur and may then exert an effect.

It is obvious that the hydrogen peroxide yield of  $\alpha$ -radiation has no connection with the inactivation of carboxypeptidase. In contrast to the concomitant biological lesion of chromosome aberrations Fig. 5 clearly depicts the situation. At the highest ionization density, enzyme inactivation is low, but aerobic and anaerobic hydrogen peroxide production and chromosome aberrations high.

Although there is a possibility that a small fraction of the radicals which have escaped pair-wise combination to molecular products like hydrogen peroxide and hydrogen, make inactivating collisions with carboxypeptidase molecules, the non-proportionality between yield and concentration of enzyme prompts one to look for an additional or alternative mechanism of inactivation. Such a mechanism is provided by the electrons ( $\delta$ -rays) ejected with sufficient energy to produce large numbers of further ionizations. The  $\delta$ -rays branch off the main track of the alpha-particle and have a range of different energies causing corresponding variations in the density of ionizations along their tracks. The conclusion can be drawn, without going here into details of the calculations on which it is based, that the fraction of the  $\delta$ -rays whose ionization density and distribution approaches that of Roentgen rays can account for most if not all of the low ionic yield (G-value) with which  $\alpha$ -radiation inactivates carboxypeptidase.

The second case of irradiation of an enzyme with  $\alpha$ - and Roentgen rays concerns phosphoglyceraldehyde dehydrogenase reported by BARRON and DICKMAN (1949). After 200 R of Roentgen radiation the ionic yield was 0.93 and after 180 R of  $\alpha$ -radiation 1.0, that is, the yields for both radiations were very nearly the same. This result is rather surprising in view of the general experience that relatively simple systems in aqueous solution conform to the pattern of carboxypeptidase.

## 5. Conjugated enzymes

Conjugated enzymes consist of two components — a prosthetic group and a protein, both of which are essential and specific for the enzymic activity. Neither constituent is active by itself. The prosthetic group and the protein form a dissociating complex and can be isolated individually by chemical means. There is, therefore, a chance of irradiating the two moieties singly or mixed.

The enzyme d-aminoacid-oxidase consists of the prosthetic group alloxazin-adenine-dinucleotide (a yellow non-enzymic compound) and its specific protein. When the dinucleotide and the protein were irradiated separately (DALE, 1942) the inactivation by Roentgen radiation was four times greater than when irradiated as a mixture. The lower radiation effect in the latter case is due to the protection effect, and it could be shown after addition of unirradiated dinucleotide or unirradiated protein that the protein was mainly responsible for the protection of the dinucleotide rather than the converse. This protection effect may not be the only cause of the variation in radiation yield, but is probably predominant, and it is difficult to unmask other inherent changes in the enzyme itself. That such specific

changes which go beyond a simple decrease of the number of active enzyme molecules by radiation do occur is supported by experiments in which enzymes after irradiation were shown to have undergone a modification of a characteristic parameter of their mode of action.

### III. Modification of enzymic characteristics

#### 1. Change of the Michaelis constant

MEE (1958) has investigated the properties of dilute aqueous solutions of chymotrypsin after irradiation and found a change of the Michaelis constant. This constant is a measure of the firmness with which the substrate is linked to the enzyme. The value of the constant was increased, indicating a lower enzyme-substrate affinity, and the reaction velocity was consequently decreased. After inactivation of chymotrypsin by heat, however, the constant remained the same, though the reaction velocity decreased. When the irradiated enzyme was heated, no further change of the constant occurred, but the reaction velocity decreased still further. The action of heat appears to consist of a complete inactivation of those enzyme molecules which were affected, whereas radiation may inactivate some molecules completely, but leaves others in a state of modified specificity.

Very similar results were obtained with x-irradiated solutions of trypsin (B. M. DE BORNIER 1958b). A 12 % increase of the Michaelis constant after irradiation with  $2 \times 10^4 \text{ R}$  was observed, an indication that the reactive sites on the surface of the enzyme molecule which bind the substrate had been changed.

#### 2. Bifunctional enzymes

Closely related to the action of radiation on the substrate-enzyme linkage are experiments performed to elucidate radiation effects on enzymes with two functions. It is known from irradiation of some biological substances in the dry state that either the whole molecule is inactivated by an ionization-event occurring in it, or that the "target volume" is not the whole molecule but only part of it and that the part involved corresponds to the particular criterion of activity and therefore method of assay chosen. For example, the insolubility of bovine-serum albumin induced by irradiation leads to the calculation of a target volume of 70,000, corresponding to the whole molecule (McNULTY and HUTCHINSON 1954), whereas the test for ability to precipitate antinative rabbit serum suggests a target volume of a molecular weight of about 7,000 (HUTCHINSON and MOSBURG 1954).

ARONSON, MEE and SMITH (1956) therefore tried to find out whether the dual activity of alpha-chymotrypsin, namely its protease and esterase activity, would be differentially inactivated by radiation when the method of assay appropriate to each of the two specific activities of the enzyme was applied. The result was that the esterase activity was three times more sensitive to radiation than the protease activity, which may be interpreted by assuming two different active centres on the surface of the molecule. This, however, is not in agreement with other biochemical evidence. The question of dual sites of enzymic activity is left undecided by the authors, who point out the possibility that there may be only one active centre which, according to the surrounding charge configuration, may react with one substrate, and for a different configuration, with the other, thus leading to different radiation sensitivities.

In a reevaluation of these data AUGENSTINE (1959a) comes to the conclusion that the two activities in chymotrypsin are inactivated at the same rate when the results are extrapolated to infinite solute concentration.

AUGENSTINE (1959b) in a study of the radiation effect on the esterase and the protease activity of trypsin arrives at the tentative conclusion that two overlapping sites for the two activities are involved whereby the hydrolytic apparatus would be common, but the

points of specific attachment would vary with the substrate. The progress made in this investigation is the finding that measured inactivation rates are affected by the treatment of the irradiated enzyme during or prior to assay. At least three classes of trypsin molecules are present after irradiation: active, damaged and inactive ones. The damaged molecules have more intact H-bonds than inactive molecules and can become inactive by the application of urea or of heat before the addition of substrate; reactivation can also take place by prior exposure to substrate. It is of interest to note that the protease activity was more radiation sensitive than the esterase activity, which is the reverse of the result mentioned before with alpha chymotrypsin, though the two enzymes have much in common.

### 3. After-effects

It has been mentioned before, in connection with protein denaturation and with enzymes in particular, that as a consequence of irradiation intramolecular changes take place, which render the molecules more susceptible to additional damaging agents applied after irradiation. A related phenomenon is the occurrence of "after-effects", which have been observed in many non-enzymic substances as well as in enzymes. Irradiation of fats, for example, causes the development of a more rapid autoxidation chain reaction than before irradiation, probably because of the destruction of natural antioxidants by the radiation. Viscosity changes of irradiated nucleic acids, persisting after radiation has stopped, have also been observed.

Similar after-effects have been described for the enzyme pepsin (ANDERSON 1954) and for crystalline trypsin (MCDONALD 1954b). Pepsin was inactivated by Roentgen rays by an immediate action and by a slowly developing one after irradiation. The slow reaction can be larger than the initial one and has a high temperature coefficient of inactivation. The immediate loss of enzyme activity was paralleled by an immediate loss of native protein, but an additional amount of protein became thermally less stable as an after-effect, which brings to mind the thermal lability of irradiated egg albumin mentioned earlier. With trypsin a continued loss of activity also occurs after termination of radiation, and again the subsequent inactivation, unlike the initial one, is markedly dependent on temperature. It was further observed that the larger the initial inactivation, the faster was the rate of the secondary reaction.

## IV. Irradiation of interrelated enzyme systems

Although it would be of great value to obtain information on the effect of radiation on the working of enzymes in their natural conditions within cells, it has not yet been possible to achieve this aim, because of the great complexity of the interplay of enzyme-catalysed catabolic and anabolic processes (DALE 1955; DALE 1960 and concluding page of chapter A). The delicate balance of enzymic activities in cells is highly dependent on the supply, at the right time and place, of the correct amounts of substrates, coenzymes and intermediate metabolites. Therefore, interference by radiation may alter the velocity of alternative or simultaneous interdependent reactions. Such changes will be more marked when the metabolites are at rate-limiting concentrations, thus assuming the role of pace-makers of metabolism (KREBS 1956).

However, attempts have been made to approach these difficult problems by passing from the mere inactivation of enzymes by irradiation to the study of more complex interrelated enzyme systems. These experiments cannot do more at present than illustrate by means of simplified models the way by which radiation damage can possibly develop in living matter, after the direct and indirect action of radiation has caused chemical changes. OKADA and FLETCHER (1959) and LATARJET and GRAY (1954) have pointed out how chemical reaction chains may amplify the primary reaction damage until the "observable"

injury, i.e. cytological lesions, genetic damage and biochemical changes, finally becomes apparent.

OKADA and FLETCHER chose four test systems for the demonstration of the effects of radiation on composite enzyme systems in which preirradiated components were assembled in a total system and the effect of radiation on the initial rate of formation of the final product compared with that of the complete unirradiated system. In each case the concentration of the two components to be irradiated was chosen so as to be rate-limiting. The character of the experimental set-up was similar to the experiments with the prosthetic group and the specific protein of d-amino acid oxidase (DALE, 1942) mentioned earlier.

The types of reaction were: consecutive reaction; single reaction, and coupled reaction; simultaneous reaction.

**1. Consecutive reaction.** Fructose diphosphate (FDP) was converted in the first step to glyceraldehyd-3-phosphate by the action of aldolase ( $E_A$ ). In the second step, triosephosphate dehydrogenase (1, 3-DPG) ( $E_B$ ) formed 1,3-diphosphoglyceric acid in the presence of diphosphopyridine nucleotide (NAP). For this first example we shall give the full details which include the components irradiated (underlined) and the corresponding initial rate of formation of the final product 1,3-diphosphoglyceric acid (1,3-DPG).

<i>Test system</i>	<i>Initial rate of formation of 1,3-DPG</i>
FDP + $E_A$ + $E_B$	1.00
FDP + <u><math>E_A</math></u> + $E_B$	$0.66 \pm 0.03$
FDP + $E_A$ + <u><math>E_B</math></u>	$0.42 \pm 0.04$
FDP + <u><math>E_A</math></u> + <u><math>E_B</math></u>	$0.24 \pm 0.11$

It will be seen that irradiation of enzyme  $E_A$  reduces the initial rate less than irradiation of enzyme  $E_B$  and that the largest reduction of the initial rate takes place when both enzymes irradiated separately are added to FDP, which amounts to a potentiated effect.

The reaction scheme can be represented schematically in the following way:

<i>System</i>	<i>Irradiated components</i>	<i>Initial rate of formation</i>
$\begin{matrix} E_A & & E_B \\ A \rightarrow B \rightarrow C \end{matrix}$	$E_A, E_B$	of C

Where A = first substrate; B = second substrate and C = final product.

Similar potentiated effects are obtained with 2 other reaction mechanisms:

### 2. The single reaction:

<i>System</i>	<i>Components irradiated</i>	<i>Initial rate of formation</i>
$\begin{matrix} E \\ A \rightarrow B \end{matrix}$	A, E	of B

Where A = pyruvate, E = lactic acid dehydrogenase and B = lactate and further

### 3. The coupled reaction:

<i>System</i>	<i>Components irradiated</i>	<i>Initial rate of formation</i>
$\begin{matrix} A \text{ coenzyme} & \text{coenzyme C} \\ E_A \downarrow \downarrow & \uparrow \uparrow \downarrow \downarrow E_B \\ B \text{ coenzyme} & \text{coenzyme D} \end{matrix}$	$E_A, E_B$	of D

Where  $E_A$  = Zwischenferment;  $E_B$  = cytochrome c reductase;

D = reduced cytochrome c; A = glucose-6-phosphate; B = 6-phosphogluconate and the coenzymes are TPN and flavinmononucleotide.

### 4. The simultaneous reaction:

The following example requires more detail in order to show clearly that, in contrast to the potentiating radiation effect of the three previous examples, only an *additive* effect has been observed.

Casein was hydrolysed by the simultaneous action of trypsin ( $E_A$ ) and chymotrypsin ( $E_B$ )



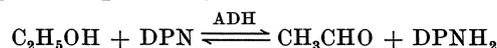
<i>Test system</i>	<i>Initial rate of formation of peptides and amino acids</i>
Casein + $E_A$ + $E_B$	1.00
Casein + $E_A$	$0.71 \pm 0.10$
Casein + $E_B$	$0.32 \pm 0.18$
Casein + $\overline{E_A}$	$0.34 \pm 0.08$
Casein + $\overline{E_B}$	$0.11 \pm 0.03$
Casein + $\overline{E_A}$ + $E_B$	$0.44 \pm 0.04$

↔ additive effect

From these experiments it is evident that in interrelated enzyme systems the initial rate of the formation of the final product is dependent on the radiation effects on its components. Thus, when two irradiated components were added to the system the magnitude of the change in the over-all reaction rate was a multiple, or the sum of, the rate-changes produced by irradiation of each component alone. The change of rate need not always be depressed, as in the examples mentioned, but can also be accelerated.

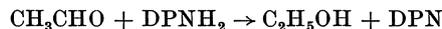
When highly polymerized deoxyribonucleic acid is irradiated by Roentgen rays (12,650 R) the rate of depolymerization by non-irradiated DNase is increased (OKADA 1957). As mentioned before, the experiments are simplified models of reactions which, in living cells, occur in a much more complicated manner, and may involve a far greater number of consecutive and branching steps so that an inactivation of each enzyme, of say 100 enzymes involved, by 1 %, would escape detection, but the initial rate of formation of the final product as the resultant of all the small undetectable changes of the enzymes, would lead to an easily detectable change in this final product.

In a similar investigation HUG and SCHACHINGER (1959) studied the effect of soft x-irradiation on the coenzyme-coupled enzyme reaction



where DPN = diphosphopyridine nucleotide and ADH = alcoholdehydrogenase.

The reaction rates of the system were continuously followed *during* irradiation by measuring the formation (or disappearance) of  $DPNH_2^*$  spectrophotometrically at the characteristic absorption-peak of this compound. The forward reaction, i.e., the alcohol dehydrogenation, was slowed down by irradiation, whereas the back reaction was increased. This increase may be partially explained by the finding that the reaction



takes place under irradiation also in the absence of enzyme, and is superimposed on the enzyme reaction.

Further information was provided by experiments in which the dehydrogenase and DPN were pre-irradiated separately or together, and then added to complete the system for reaction. DPN seemed to be more radiation-sensitive than ADH. It should be noted, however, that ADH was irradiated in the presence of alcohol and therefore was probably protected. A feature of the inactivation of DPN was a nearly complete recovery within about 40 minutes after irradiation had stopped.

These experiments again demonstrate the complexity of radiation effects on the components and their interplay in coupled systems. Much still remains for future investigation, before the knowledge gained can be successfully applied to processes in the living organism.

\* The notation  $DPNH_2$  is used here in preference to  $DPNH$  in accordance with the recommendation by DIXON and WEBB, "Enzymes", Longmans, Green & Co., (1958) page 395.

## V. Concluding remarks

Our knowledge of the mechanism of radiation effects on enzymes *in vitro* has grown during the last 30 years; but to what extent the inactivation of enzymes by radiation is implicated in the final injury to living cells is still largely a matter of dispute.

Many experiments have been performed with the aim of comparing the activity before and after irradiation of enzymes extracted from homogenates of cells and tissues and in most cases only slight differences were observed. Extracts of homogenates are open to objection on two grounds. Firstly they may contain inhibitors or activators and are ill-defined quantitatively, because of the uncertainties of extraction-procedures, and of variations in the firmness with which various enzymes are bound to internal structures of cells. Secondly, extracts can at best yield information as to the total amount of enzymes present, a quantity which is rather irrelevant with regard to radiation effects and can hardly be expected to be noticeably affected by radiation. The functional amounts of enzymes mobilized by the current metabolic requirements of the cells are of real importance. These may occur in trace quantities, locally separated from the storage of the bulk of enzymes, but if so may escape analytical estimation.

It is possible, however, that substrates as intermediary products are of greater importance, because their steady-state concentration may be very small. These enzyme-substrate systems can play the role of "pace-makers" in metabolic reactions and will then be most vulnerable to radiation (KREBS 1956). Experiments discussed under the heading "Irradiation of interrelated enzyme systems" therefore appear to be of particular interest.

While it would be wrong to be dogmatic about the possible role of enzymes in the sequence of events leading to the final biological endeffect, they cannot be ruled out and may be one of the many mechanisms of radiation injury.

Grateful acknowledgement is made to the authors and publishers for their permission to reproduce the figures.

## References

- ALPER, T.: Personal communication by E. J. HART. A mechanism for the oxygen effect suggested by some recent experiments. *Organic peroxides in radiobiology*, p. 131—137. London: Pergamon Press 1958.
- ANDERSON, R. S.: A delayed effect of x-rays on pepsin. *Brit. J. Radiol.* **27**, 56—61 (1954).
- ARONSON, D., L. MEE, and C. L. SMITH: Comparison of the activation of the esterase and protease activities of  $\alpha$ -chymotrypsin solution with X-rays. *Progress in Radiobiology*, p. 61—72. London: Oliver & Boyd 1956.
- AUGENSTINE, L.: Indirect inactivation of macromolecules in solution by ionizing radiation. A method of analysis. *Radiat. Res.* **10**, 89—111 (1959a).
- Structural correlation between esterase and protease activities of trypsin. *Science* **129**, 718—719 (1959b).
- BARRON, E. S. G.: Thiol groups of biological importance. *Advances in Enzymology*, p. 201—258. London: Interscience Publishers Ltd. 1951.
- The effect of ionizing radiations on some systems of biological importance. *Symposium on Radiobiology*, Oberlin, 1950, p. 216—240. New York: John Wiley & Sons Inc. 1952.
- BARRON, E. S. G.: The effect of ionizing radiations on systems of biological importance. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **59**, 574—593 (1955).
- J. AMBROSE, and P. JOHNSON: Studies on the mechanism of action of ionizing radiations. XIII. The effect of x-irradiation on some physico-chemical properties of amino acids and proteins. *Radiat. Res.* **2**, 145—158 (1955).
- , and S. R. DICKMAN: Studies on the mechanism of action of ionizing radiations. II. Inhibition of sulphhydryl enzymes by alpha, beta and gamma rays. *J. gen. Physiol.* **32**, 595—607 (1949).
- — J. A. MUNTZ, and T. P. SINGER: Studies on the mechanism of action on ionizing radiations. I. Inhibition of enzymes by x-rays. *J. gen. Physiol.* **32**, 537—553 (1949).
- — T. P. SINGER, and J. A. MUNTZ: Effects of x-rays on the activity of enzymes. *Biological effects of external x- and gamma radiation*. New York: McGraw-Hill Book Co. 1954.
- , and P. JOHNSON: Studies on the mechanism of action of ionizing radiations. XI. Inactivation of yeast alcohol dehydrogenase by x-irradiation. *Arch. Biochem.* **48**, 149—153 (1954).
- — and A. COBURE: Effect of x-irradiation on the absorption spectrum of purines and pyrimidines. *Radiat. Res.* **1**, 410—425 (1954).

- BARRON, E. S. G., L. SEKI, and P. H. JOHNSON: Studies on the mechanism of action of ionizing radiations. VIII. Effect of hydrogen peroxide on cell metabolism, enzymes and proteins. *Arch. Biochem.* **41**, 188—202 (1952).
- BELLAMY, W. D., and E. J. LAWTON: Problems in using high voltage electrons for sterilisation. *Nucleonics* **12**, No 4, 54—57 (1954).
- BERSIN, T.: Über die Einwirkung von Oxydations- und Reduktionsmitteln auf Papain. II. Die Aktivitätsbeeinflussung durch Licht, Organoarsenverbindungen und Ascorbinsäure. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **222**, 177—186 (1933).
- , u. W. LOGEMANN: Über den Einfluß von Oxydations- und Reduktionsmitteln auf die Aktivität von Papain. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **220**, 209—216 (1933).
- BORNIER, B. M. DE: Effets de l'irradiation de la trypsine par les rayons X. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **246**, 1081—1084 (1958a).
- Mechanism de l'action des rayons X sur la trypsine. Modification de la constante de Michaelis. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **246**, 2166—2169 (1958b).
- BONET-MAURY, P., and F. PATTI: Effets des rayonnements ionisant sur les catalases. *J. Chim. phys.* **52**, 616—620 (1955).
- CHICK, H., and C. J. MARTIN: On the 'heat coagulation' of proteins. *J. Physiol. (Lond.)* **40**, 404—430 (1910).
- — On the 'heat coagulation' of proteins. II. The action of hot water upon egg albumin and the influence of acid and salts upon reaction velocity. *J. Physiol. (Lond.)* **43**, 1—27 (1911—1912).
- — On the 'heat coagulation' of proteins. III. The influence of alkali upon reaction velocity. *J. Physiol. (Lond.)* **45**, 61—69 (1912—1913a).
- — On the 'heat coagulation' of proteins. IV. The conditions controlling the agglutination of proteins already acted upon by hot water. *J. Physiol. (Lond.)* **45**, 261—295 (1912—1913b).
- CLARK, J. H.: Studies on radiated proteins. I. Coagulation of egg albumin by ultra-violet light and heat. *Amer. J. Physiol.* **73**, 649—660 (1925).
- The denaturation of egg albumin by ultra-violet radiation. *J. gen. Physiol.* **19**, 199—210 (1936).
- The temperature coefficient of the effect of radiation on proteins and its relation to injury of the living cell. *Amer. J. Roentgenol.* **40**, 501—508 (1938).
- COLLINSON, E., F. S. DAINTON, and B. HOLMES: Inactivation of ribonuclease in dilute aqueous solutions. Inactivation by Hydroxyl radicals. *Nature (Lond.)* **165**, 267—269 (1950).
- DALE, W. M.: The effect of x-rays on the conjugated protein d-amino acid oxidase. *Biochem. J.* **36**, Nos. 1/2, 80—85 (1942).
- Action of radiation of aqueous solutions: Experimental work with enzymes in solution. *Brit. J. Radiol., Suppl.* **1**, 46—50 (1947).
- DALE, W. M.: Modern trends in radiation biochemistry. *Actions chimiques et biologiques des radiations*, p.207—243, p.239. Paris: Masson & Cie. 1955.
- Survey of the actions of ionizing radiations in aqueous systems and some considerations of energy transfer. Symposium on Bioenergetics, Brookhaven, 1959, Radiation Research, Suppl. 2. London: Academic Press 1960.
- J. V. DAVIES, C. W. GILBERT, J. P. KEENE, and L. H. GRAY: The formation of hydrogen peroxide by  $\alpha$ -radiation in the presence of the enzyme carboxypeptidase. *Biochem. J.* **51**, 268—270 (1952).
- L. H. GRAY, and W. J. MEREDITH: The inactivation of an enzyme (carboxypeptidase) by x- and  $\alpha$ -radiation. *Phil. Trans. A*, No 840, **242**, 33—62 (1949).
- , and C. RUSSELL: Action of ionizing radiations on catalase in presence of cysteine, cystine and glutathione. *Nature (Lond.)* **175**, 33—34 (1955).
- — A study of the irradiation of catalase by ionizing radiations in the presence of cysteine, cystine and glutathione. *Biochem. J.* **62**, 50—57 (1956).
- DRAKE, M. P., J. W. GIFFEE, D. A. JOHNSON, and V. L. KOENIG: Chemical effects of ionizing radiations on proteins. I. Effect of  $\gamma$ -radiation on the amino acid content of insulin. *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 1395—1401 (1957).
- ELDJARN, L.: The metabolism of cystamine and cysteamine. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **6**, Suppl. 13, 7—96 (1954).
- , and A. PIHL: On the mechanism of chemical protection against ionizing radiation. *Progress in Radiobiology*, p. 249—259. London: Oliver & Boyd 1956.
- — On the mode of action of x-ray protective agents. I. The in vivo fixation of cystamine and cysteamine to proteins. *J. biol. Chem.* **223**, 341—352 (1956).
- — The equilibrium constants and oxidation-reduction potentials of some thiol-disulphide systems. *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 4589—4593 (1957a).
- — On the mode of action of x-ray protective agents. II. Interaction between biologically important thiols and disulphides. *J. biol. Chem.* **225**, 499—510 (1957b).
- — and B. SHAPIRO: Cysteamine-cystamine: On the mechanism for the protective action against ionizing radiation. *Proc. of the Intern. Conf. on the Peaceful Uses of Atomic Energy* **11**, 335—342 (1956).
- FORSBERG, A.: Action of x-rays on catalase and biological significance of the action. *Ark. Kemi, Min. Geol. A* **21**, No 7, 1—15 (1945).
- The action of roentgen rays on the enzyme catalase. *Acta radiol. (Stockh.)* **27**, 281—293 (1946).
- Mechanism of the action of x-rays on enzymes in water-solution. *Nature (Lond.)* **159**, 308—309 (1947).

- FRICKE, H.: Kinetics of thermal denaturation of x-rayed egg albumin. *J. phys. Chem.* **56**, 789—795 (1952a).
- Effect of ionizing radiation on protein denaturation. *Nature (Lond.)* **169**, 965—966 (1952b).
- W. LANDMANN, C. LEONE, and J. VINCENT: Application of optical rotation measurements in studying the structural degradation of  $\gamma$ -irradiated ovalbumin. *J. phys. Chem.* **63**, 932—935 (1959).
- , and C. A. LEONE: Structural degradation of  $\gamma$ -irradiated ovalbumin. *Radiat. Res.* **9**, 116—116 (1958).
- — and W. LANDMANN: Role of structural degradation in the loss of serological activity of ovalbumin irradiated with gamma-rays. *Nature (Lond.)* **180**, 1423—1425 (1957).
- GARRISON, W. M., M. E. JAYKO, and W. BENNETT: Radiation-induced oxidation of protein in aqueous solution. *Radiat. Res.* **16**, 483—502 (1962).
- GRASSMANN, W., O. v. SCHOENEBECK, u. H. EIBELER: Über die Aktivierung tierischer und pflanzlicher Proteasen durch Glutathion. 16. Abhandlung über Pflanzenproteasen in der von R. WILLSTATTER und Mitarbeitern begonnenen Untersuchungsreihe. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **194**, 124—136 (1931).
- GRAY, L. H.: Some characteristics of biological damage induced by ionizing radiations. *Radiat. Res.* **1**, 189—213 (1954).
- HELLERMAN, R., M. E. PERKINS, and W. M. CLARK: Urease activity as influenced by oxidation and reduction. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **19**, 855—860 (1933).
- HERRIOTT, R. N.: Isolation, crystallization and properties of swine pepsinogen. *J. gen. Physiol.* **21**, 501—540 (1938).
- HUG, O., u. L. SCHACHINGER: Der Einfluß ionisierender Strahlen auf DPN-gekoppelte Fermentssysteme. *Atomkern-Energie* **4**, 290—296 (1959).
- HUSSEY, R. G., and W. R. THOMPSON: The effect of radioactive radiation and x-rays on enzymes. I. The effect of radiation from radium emanation on solutions of trypsin. *J. gen. Physiol.* **5**, 647—659 (1922—1923).
- — The effect of radioactive radiation and x-rays on enzymes. II. The effect of radiation from radium emanation on pepsin in solution. *J. gen. Physiol.* **6**, 1—5 (1924).
- — The effect of radioactive radiation and x-rays on enzymes. III. The effect of radiation from radium emanation on solutions of invertase. *J. gen. Physiol.* **9**, 211—219 (1925—1926).
- HUTCHINSON, F., and E. MOSBURG: Deuteron inactivation of absorbed monolayers of bovine serum albumin. *Arch. Biochem.* **51**, 436—443 (1954).
- A. PRESTON, and B. VOGEL: Radiation sensitivity of enzymes in wet and in dry yeast cells. *Radiat. Res.* **7**, 465—472 (1957).
- JAYKO, M. E., and W. M. GARRISON: Further studies on the formation of the  $>C=O$  bond in the radiation-induced oxidation of protein. *Radiat. Res.* **9**, 134—135 (1958a).
- — Formation of  $>C=O$  bonds in the radiation-induced oxidations of proteins in aqueous systems. *Nature (Lond.)* **181**, 413—414 (1958b).
- B. M. WEEKS, and W. M. GARRISON: Mechanisms in the radiolysis of aqueous protein solutions. UCRL-8195 (Geneva Conference 1958).
- KREBS, H. A.: The effects of extraneous agents on cell metabolism. "Ionizing radiations and cell metabolism". Ciba Foundation Symposium, p. 92—103. London: J. A. Churchill Ltd. 1956.
- KRENZ, F. H.: Private communication 1949.
- LANGE, R., A. PIHL, and L. ELDJARN: The inactivation of SH enzymes by x-rays. *Int. J. Radiat. Biol.* **1**, 73—79 (1959).
- LATARJET, R., and L. H. GRAY: Definitions of the terms "protection" and "restoration". *Acta radiol. (Stockh.)* **41**, 61—62 (1954).
- LEA, D. E., K. M. SMITH, B. HOLMES, and R. MARKHAM: Direct and indirect action of radiations on viruses and enzymes. *Parasitology* **36**, 110—118 (1944).
- MASCHMANN, E., u. E. HELMERT: Über die Aktivierung des „Papain“ durch Vitamin C-Eisen und seine Hemmung durch Vitamin C (Ascorbinsäure). *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **223**, 127—135 (1934).
- MAZIA, D., and G. BLUMENTHAL: Inactivation of enzyme-substrate films by small doses of x-rays. *J. cell. comp. Physiol.* **35**, Suppl. 1, 171—186 (1950).
- MCDONALD, M. R.: The inactivation of dilute solutions of crystalline trypsin by x-radiations. I. Kinetics and characteristics. *J. gen. Physiol.* **38**, 93—103 (1954a).
- The effect of x-rays on dilute solutions of trypsin: Continued inactivation after termination of irradiation. *Brit. J. Radiol.* **27**, 62—63 (1954b).
- The inactivation of dilute solutions of crystalline trypsin by x-radiation. II. Effects of enzyme concentration, medium, pH and temperature. *J. gen. Physiol.* **38**, 581—598 (1955).
- , and E. C. MOORE: The inactivation of dilute solutions of crystalline trypsin by x-radiations. III. The role of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals. *Radiat. Res.* **2**, 426—430 (1955).
- MCNULTY, W., and F. HUTCHINSON: Deuteron inactivation of dry bovine serum albumin. *Arch. Biochem.* **50**, 92—103 (1954).
- MEE, L. K.: Properties of enzymes after irradiation. *Radiat. Res.* **9**, 151 (1958).
- MIRSKY, A. E., and L. PAULING: On the structure of native, denatured and coagulated proteins. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **22**, 439—447 (1936).

- NEURATH, H., I. P. GREENSTEIN, F. W. PUTNAM, and J. O. ERICKSON: The chemistry of protein denaturation. *Chem. Rev.* **34**, 157—265 (1944).
- NORTHROP, J. H.: Crystalline enzymes. New York: Columbia University Press 1939.
- OKADA, S.: Inactivation of desoxyribonuclease by x-rays. III. Modification of the effect of radiation on DNA-DNase system. *Arch. Biochem.* **67**, 113—120 (1957).
- , and G. FLETCHER: Amplification effect observed in inter-related enzyme systems after irradiation. *Radiat. Res.* **11**, 177—183 (1959).
- , and G. GEHRMANN: Inactivation of desoxyribonuclease by x-rays. IV. Changes in amino acid composition and ultra-violet light absorption induced by ionizing radiation. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **25**, 179—182 (1957).
- PIHL, A., and L. ELDJARN: Equilibrium constants of thiol-disulphide systems. The relative oxidation reduction potentials of cysteine-glutathione. *Acta chem. scand.* **11**, 1083—1084 (1957).
- — and J. BREMER: On the mode of action of x-ray protective agents. III. The enzymatic reduction of disulphides. *J. biol. Chem.* **227**, 339—345 (1957).
- R. LANGE, and L. ELDJARN: Alleged susceptibility of sulphhydryl enzymes to ionizing radiation. *Nature (Lond.)* **182**, 1732—1733 (1958).
- PIRIE, A., R. VAN HEYRINGEN, and J. W. BOAG: Changes in lens during the formation of X-ray cataract in rabbits. *Biochem. J.* **54**, 682—688 (1953).
- ROTHEN, A.: Influence of  $\alpha$ -particles on the immunological property of antigen films. *J. biol. Chem.* **172**, 841—842 (1948).
- SHAPIRO, B., and L. ELDJARN: The effects of ionizing radiation on aqueous solutions of cysteamine and cystamine. *Radiat. Res.* **3**, 255—266 (1955).
- SMITH, C. L.: The inactivation of monomolecular films of proteins and its relation to the lifetime of active radicals formed in water by x-radiation. *Arch. Biochem.* **50**, 322—336 (1954).
- SÖRENSEN, S. P. L.: Studien über die Proteine. VII. Über die Hitzekoagulation der Proteine. *C. R. Lab. Carlsberg* **15**, No 9, 1—26 (1925).
- STEIN, G., and M. J. DAY: Chemical effects of ionizing radiations in some gels. *Nature (Lond.)* **166**, 146—149 (1950).
- , and A. J. SWALLOW: Reduction by x- and  $\gamma$ -rays of some substances of biological interest. *Nature (Lond.)* **173**, 937—939 (1954).
- — The reduction of diphosphopyridine nucleotide and some model compounds by x-rays. *J. chem. Soc.* **60**, 306—312 (1958).
- SUTTON, H. C.: General Discussion. *Disc. Faraday Soc.* No 12, 281—282 (1952).
- Swallow, A. J.: Radiation chemistry of ethanol and diphosphopyridine nucleotide and its bearing on dehydrogenase action. *Biochem. J.* **54**, 253—257 (1953).
- The reducing action of x-rays. *Radiat. Res.* **1**, 570 (1954).
- The reduction of diphosphopyridine nucleotide by ethanol under the influence of x-irradiation. *Biochem. J.* **61**, 197—203 (1955).
- WEISS, J.: General Discussion. *Organic Peroxides in Radiobiology*, p. 140. London: Pergamon Press 1958.

# E. Einfluß der Strahlenqualität auf die Strahlenwirkung

Von

**W. Dittrich**

Mit 4 Abbildungen

## I. Einleitung

Selbst bei gleichbleibender absorbiertener Gesamtenergie und gleichbleibender räumlicher und zeitlicher Makro-Verteilung der Energiedosis kann sich die Reaktionsweise bestrahlter biologischer Objekte noch mit der Mikrotopographie der einzelnen Absorptionsakte, d. h. mit der „Strahlenqualität“, ändern. Ein Maß dieser Abhängigkeit ist die sog. relative biologische Wirksamkeit (RBW) einer Strahlung.

Nach den Euratom-Grundnormen ist unter RBW das Verhältnis einer als Bezugsgröße gewählten Röntgenstrahlendosis „zu einer in Betracht gezogenen Dosis der ionisierenden Strahlung, welche die gleiche biologische Wirkung hervorruft“, zu verstehen. Im angloamerikanischen Schrifttum wird demgegenüber zumeist  $\gamma$ -Strahlung als Bezugsstrahlung gewählt.

Untersuchungen über die RBW verschiedener ionisierender Strahlenarten geben Aufschlüsse über den biologischen Wirkungsmechanismus ionisierender Strahlenarten. Sie wurden häufig durchgeführt, um Anhaltspunkte über die Eignung einer bis dahin noch nicht näher geprüften Strahlenart für Therapie Zwecke zu gewinnen, und um die für den Menschen höchstzulässige Strahlenbelastung festzulegen.

Im folgenden werden die biologischen Wirkungen von  $\gamma$ -Strahlen, ultraharten Röntgenstrahlen, Elektronen verschiedener Energie, einschließlich  $\beta$ -Strahlen, von Röntgenstrahlen der konventionellen Strahlentherapie und von noch größerer Wellenlänge, von Neutronen, Deuteronen,  $\alpha$ -Teilchen und von anderen schwereren Ionen bzw. Rückstoßkernen betrachtet.

Die physikalischen Unterschiede in der Wechselwirkung ionisierender Strahlenarten mit bestrahltem biologischem Material sind von zweierlei Art, nämlich

a) makroskopische Unterschiede im Isodosenverlauf, die hier insofern Beachtung verdienen, als sich ein Einfluß der Strahlenqualität auf die biologische Strahlenwirkung im allgemeinen nur bei gleichbleibender Dosisverteilung sicher beurteilen läßt,

b) mikrotopographische Unterschiede im Verteilungsmuster der physikalischen Elementarereignisse längs der Bahnen der primären bzw. sekundären, tertiären usw. ionisierenden Teilchen.

Die makroskopische Energieverteilung, der Isodosenverlauf, wird durch Bestrahlungsbedingungen, Absorption und Streuung des primären Strahlenbündels im bestrahlten Medium bestimmt. Dabei können sich, abhängig von Reichweite und Streuung der Sekundärteilchen, in der Nachbarschaft von Grenzflächen charakteristische Aufbaueffekte ergeben. Die Richtung des einfallenden Strahlenbündels stimmt mit der bevorzugten Richtung der ausgelösten Sekundärelektronen überein. Daher hat eine Zunahme der Materialdichte in dieser Richtung zunächst eine Zunahme der Bahndichte der Sekundärelektronen und der (örtlich absorbierten) Dosis zur Folge, bis im Gleichgewicht das Maximum der Tiefendosis erreicht ist. Bei ultraharten Röntgenstrahlen ergeben sich, je nach Quantenenergie und Filterung, Aufbaueffekte, die einen Anstieg der Tiefendosis noch mehrere Zentimeter unter der Oberfläche des bestrahlten biologischen Objekts zur

Folge haben. Andererseits wird die Intensität von Röntgenstrahlen, z.B. der konventionellen Strahlentherapie, und auch von schnellen Neutronen in erster Näherung exponentiell geschwächt, was eine entsprechende Abnahme der Tiefendosis zur Folge hat. Schnelle Elektronen und andere elektrisch geladene Primärteilchen wiederum haben eine mehr oder weniger scharf begrenzte Reichweite und ergeben daher eine andere Dosisverteilung, die im übrigen auch von der Geometrie des einfallenden Strahlenbündels weitgehend abhängt.

Die Auswertung vieler in der Literatur mitgeteilter Ergebnisse wird wesentlich erschwert durch:

1. Unsicherheiten in der Dosimetrie und
2. die Benutzung von Gemischen ionisierender Strahlenarten mit sehr unterschiedlichem differentiellen Ionisierungsvermögen.

Unter der sog. differentiellen oder spezifischen Ionisation versteht man die Anzahl der Primärisonisationen längs der Weglänge  $1 \mu$  eines ionisierenden Teilchens, wobei das Absorptionsmaterial jeweils anzugeben ist.

Erwähnt sei, daß die differentielle Ionisation gelegentlich auch als die Anzahl der Ionisationen pro  $\text{mg}/\text{cm}^2$  definiert wird. Im folgenden wird ausschließlich von der 1. Definition Gebrauch gemacht.

Die RBW ionisierender Strahlenarten ist keineswegs eine für sie schlechthin charakteristische, unabhängige Größe. Je nach der gewählten Testreaktion ergeben sich für die gleiche Strahlung unter Umständen sehr verschiedene RBW-Werte. Eine Analyse der Strahlenwirkung auf höhere Organismen (des Strahlentodes, des Gewichtsverlustes des Gesamtorganismus oder einzelner seiner Organe, einer strahlenbedingten Vitalitätsminderung, der Regression bestrahlter Tumoren usw.) kann wegen des Zusammenwirkens und/oder der Konkurrenz verschiedener einfacher Effekte sehr unterschiedliche Wirkungsmuster ergeben, wodurch dann gelegentlich der Eindruck nicht nur quantitativer sondern auch qualitativer Wirkungsunterschiede entsteht.

FAILLA hat vorgeschlagen, Röntgenstrahlen mit einer mittleren differentiellen Ionisation von 100 Ionenpaaren/ $\mu$  in Wasser als Standardstrahlung zu benutzen, da diese Strahlung z.B. als 250 kV Röntgenstrahlung mit geeigneter Filterung leicht verfügbar ist (GRAY 1947). Dieser Vorschlag hat sich inzwischen in der Strahlenheilkunde weitgehend durchgesetzt, so daß die Wahl einer anderen Standardstrahlung stets ausdrücklich vermerkt werden sollte. So kann es gelegentlich günstig sein, als Standard monoenergetische schnelle Elektronen beim Minimum der differentiellen Ionisation zu wählen.

Bisweilen wählt man als Bezugsstrahlung die  $\gamma$ -Strahlung einer Radiumquelle, die sich mit den Zerfallsprodukten im Gleichgewicht befindet, gefiltert durch 0,5 mm Platin. Radium- $\gamma$ -Strahlen sind als Substandard durchaus verwendbar, weil sich herausgestellt hat, daß ihre RBW, verglichen mit monoenergetischen schnellen Elektronen, nur ausnahmsweise stärker von 1 abweicht (BOAG 1953).

Die der ICRU (International Commission on Radiological Units and Measurements) vorliegende Definition für die relative biologische Wirksamkeit (RBW) lautet:

„Die relative biologische Wirksamkeit  $(RBW)_b^a$  einer ionisierenden Strahlenart  $a$  im Vergleich zu einer ionisierenden Strahlenart  $b$  bezüglich einer bestimmten biologischen Wirkung ist das Verhältnis  $D_b/D_a$ , wobei  $D_a$  und  $D_b$  die absorbierten Dosen<sup>1</sup> der beiden Strahlenarten darstellen, welche bei gleicher zeitlicher Dosisverteilung und bei gleichen Umgebungsbedingungen zum gleichen Ausmaß der biologischen Wirkung führen:  $(RBW)_b^a = D_b/D_a$ .“

In der Regel wird dann die Strahlenart  $a$  als Teststrahlung, die Strahlenart  $b$  als Bezugs- oder Standardstrahlung bezeichnet.

Diese Definition (1) der RBW als das Verhältnis der Dosen, die gleiche Wirkung hervorbringen, ist die weitaus gebräuchlichste. Erwähnt sei, daß manche Autoren die RBW auch als das Verhältnis der Strahlenwirkungen, welche durch gleiche Bestrahlungsdosen hervorgebracht werden definieren.

<sup>1</sup> Die absorbierte Dosis ist die Energie, welche an die Materie durch ionisierende Teilchen pro Masseneinheit des bestrahlten Stoffes an der interessierenden Stelle abgegeben wird (ICRU 1957). Die Einheit der „Energiedosis“ oder „absorbierten Dosis“ ist das rad.  $1 \text{ rad} = 100 \text{ erg/g}$ .

Diese Definition (2) ist weniger zweckmäßig, da sie eine Messung der Strahlenwirkung in näher festzulegenden Einheiten erfordert. Einzelne RBW-Werte nach Definition (2) erlauben noch keine Abschätzung der Dosen beider Strahlungen, welche die gleiche biologische Wirkung hervorbringen.

Die relative biologische Wirksamkeit (RBW)<sup>1</sup> läßt sich am genauesten für große Kollektive, die aus möglichst gleichartigen biologischen Einheiten bestehen, ermitteln, da die allgemeine biologische Variabilität in den statistischen Fehler des gemessenen RBW-Wertes eingeht.

Es stellt sich heraus, daß die RBW-Werte einer gegebenen Strahlenart, bezogen auf eine Standardstrahlung, außer von der Testreaktion auch vom Dosisbereich, von der Dosisleistung und von einer Reihe weiterer Bedingungen abhängen können. Die Angabe einzelner RBW-Werte erlaubt für sich allein noch keine Abschätzung der biologischen Wirkung *gleicher* Dosen beider Strahlenarten. Ganz allgemein sind Angaben über RBW-Werte nur dann von Nutzen, wenn die genauen Versuchsdaten bekannt sind.

## II. Der lineare Energietransfer (LET)

Die mikrotopographischen Unterschiede im Verteilungsmuster der Energieabgabe an bestrahltes Material hängen von der Quantenenergie, bzw. Teilchenenergie primärer, sekundärer usw. Teilchen ab. Bei der Absorption von  $\gamma$ -Strahlen, ultraharten und Röntgenstrahlen der konventionellen Strahlentherapie entstehen als Sekundärteilchen Elek-

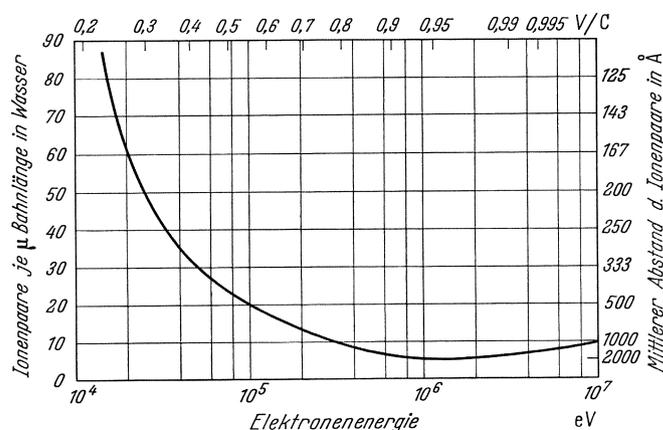


Abb. 1. Differentielle Ionisation von Elektronen verschiedener Energie

tronen, welche als Photo- oder Compton-Elektronen aus der Elektronenhülle der Atome abgetrennt werden. Schnelle und langsame Neutronen werden biologisch wirksam über Rückstoßkerne, unter denen die Rückstoßprotonen am häufigsten und wichtigsten sind. Elektrisch geladene Primärteilchen rufen unmittelbar und auf dem Umweg über Rückstoßteilchen ( $\delta$ -Elektronen u. a.) biologische Wirkungen hervor. Thermische Neutronen erzeugen bei den durch sie in biologischem Material ausgelösten Kernprozessen ein Gemisch aus

$\gamma$ -Quanten, Protonen eventuell Deuteronen und  $\alpha$ -Teilchen. Bei  $\gamma$ -, Röntgenstrahlen und Neutronen ist zwangsläufig die geometrische und energetische Verteilung der Rückstoßteilchen sehr uneinheitlich, und zwar auch bei monoenergetischer Primärstrahlung. Eine Ausnahme bilden in dieser Hinsicht lediglich sehr langwellige Röntgenstrahlen.

Der Energieverlust, den ein primäres oder sekundäres Elektron bei der Erzeugung eines Ionenpaares im Mittel erleidet, ist weitgehend unabhängig von seiner Energie und variiert nur geringfügig mit der Ordnungszahl des absorbierenden Materials. Elektronen unterscheiden sich in dieser Hinsicht nur wenig von geladenen schweren Teilchen.  $\delta$ -Teilchen treten jedoch bei gleicher differentieller Ionisation bei schweren Primärteilchen etwas häufiger auf.

Die differentielle Ionisation eines ionisierenden Teilchens (Abb. 1) läßt sich nun zwar in Gasen mit der Wilson-Kammer-Technik unmittelbar beobachten und messen, nicht jedoch in Wasser und in wäßrigen Medien. Nach einem Vorschlag von ZIRKLE (1952) wird neuerdings die differentielle Ionisation gewöhnlich durch eine andere Größe ersetzt, welche gleichfalls die Strahlenqualität charakterisiert, nämlich durch den sog. linearen Energie-

<sup>1</sup> Im angloamerikanischen Schrifttum abgekürzt RBE (relative biologic effectiveness).

transfer (LET). Im deutschen Schrifttum ist auch die Bezeichnung lineare Energieübertragung, abgekürzt LEÜ, gebräuchlich. Darunter versteht man die je Weglänge  $1 \mu$  eines Teilchens in einem gegebenen Material absorbierte Energie. Diese Energie ist in den meisten biologischen Systemen annähernd proportional der Anzahl der entstehenden Ionenpaare, der differentiellen Ionisation. LET-Werte werden in  $\text{keV}/\mu$  angegeben<sup>1</sup>. Der lineare Energietransfer kann sich, ebenso wie die differentielle Ionisation, längs der Bahn des gleichen Primärteilchens stark ändern. Beide Größen hängen sehr wesentlich von zwei Faktoren ab, nämlich von Teilchenladung und Teilchengeschwindigkeit. Da die Wechselwirkung eines elektrisch geladenen Teilchens mit den von ihm durchquerten materiellen Strukturen mit der Ladung des Teilchens und mit der Zeitdauer zunimmt, während welcher das elektromagnetische Störfeld auf die materiellen Strukturen einwirkt, nehmen differentielle Ionisation und linearer Energietransfer mit der Teilchenladung zu und mit der Teilchengeschwindigkeit ab. Auch der lineare Energietransfer nimmt in Richtung auf das Bahnende eines ionisierenden Teilchens allmählich zu. Wenn beispielsweise ein 1 MeV Elektron Materie durchdringt, erzeugt es Ionisationen und Anregungen, die einzeln oder in der Umgebung von „Primärionisationen“ in Gruppen von verschiedener Größe nebeneinander liegen. Gelegentlich kommt es jedoch auch zu einem mehr zentralen elastischen Zusammenstoß des primären Elektrons mit einem Elektron der Atomhülle, wobei ein  $\delta$ -Teilchen mit einer Energie von, in unserem Beispiel, maximal 0,5 MeV entsteht.  $\delta$ -Teilchen werden nach LEA (1944) definiert als Sekundärelektronen mit einer Mindestenergie von 100 eV. Dies bedeutet, daß bei Elektronenenergien unter 100 eV den für die Entstehung kleiner Ionisationsgruppen, im angloamerikanischen Schrifttum „spur“ genannt, verantwortlichen Sekundärteilchen eine Sonderstellung eingeräumt werden soll. Bei dieser Abgrenzung handelt es sich ersichtlich um eine Konvention, die sich als zweckmäßig erweisen kann, um die „örtlich absorbierte“ Energie festzulegen. Die Bahnlänge eines langsamen Sekundärelektrons ist nicht mehr unmittelbar meßbar, so daß in diesem Fall der Anwendbarkeit des LET-Begriffes erhebliche Schwierigkeiten entgegenstehen. Bei genaueren Analysen sind auch Größe, Häufigkeit und Abstand der verschiedenen Ionisationsgruppen und Gruppen sonstiger Primärprozesse zu berücksichtigen. So ist es z.B. für gewisse treffertheoretische Betrachtungen unumgänglich, für jede spezielle Strahlenart wirklich auch das gesamte LET-Spektrum zu erfassen. Angaben für typische Fälle und entsprechende Formel­ausdrücke finden sich bei BOAG (1953).

Für eine Mittelwertbildung bestehen formal verschiedene Möglichkeiten. Gewöhnlich wird über die gesamte Bahnlänge — einschließlich der der  $\delta$ -Teilchen gemittelt:

$$\overline{\text{LET}} = \frac{\text{gesamte pro Volumeneinheit absorbierte Energie}}{\text{gesamte Bahnlänge einschließlich der der } \delta\text{-Teilchen pro Vol. Einh.}}$$

gelegentlich jedoch auch über die Teilchenenergie, was für Strahlenarten mit nur einer einzigen bevorzugten Teilchenkomponente, z.B. Elektronen, sinnvoll sein kann. Oft reicht jedoch, wie bereits erwähnt, die Angabe eines LET-Mittelwertes nicht aus.

Längs der Bahn ionisierender Teilchen treten neben Ionisationen auch andere Primäreignisse auf, insbesondere Molekulanregungen und elektronische Anregungen und, längs einer Elektronenbahn, allerdings in sehr geringem Umfang, Rückstoßatome, bzw. -ionen sowie Bremsstrahlung.

Die auf Rückstoßteilchen maximal übertragbare Energie nimmt mit dem Unterschied der beiden beteiligten Massen, der Masse des einfallenden Teilchens  $m_e$  und der Masse des Rückstoßteilchens  $m_r$ , relativ ab. Es sei  $\mu$  der Bruchteil der bei einem elastischen Stoß maximal übertragbaren Energie des

<sup>1</sup> Gegen eine synonyme Anwendung der Bezeichnungen „linearer Energietransfer (LET)“ und „linearer Energieverlust (LEV)“ bestehen Bedenken. Der Energieverlust eines ionisierenden Teilchens längs eines bestimmten Bahnstückes von der Länge  $1 \mu$  ist nämlich immer dann erheblich größer als die von ihm örtlich auf die Materie tatsächlich übertragene Energie, wenn ein  $\delta$ -Elektron ausgelöst wird. Ähnliche Bedenken bestehen gegen die synonyme Anwendung der Bezeichnungen LET und „spezifische Energieabgabe“.

einfallenden Teilchens. Dann gilt angenähert:  $\mu \sim \frac{4m_e \cdot m_r}{(m_e + m_r)^2}$ . Elektronen übertragen daher bei elastischen Stößen nur einen verschwindend geringen Teil ihrer kinetischen Energie auf Rückstoßatome im Gegensatz etwa zu Neutronen, Protonen und anderen schweren Teilchen.

Anders liegen die Verhältnisse bei der Bremsstrahlung. Die Intensität der Bremsstrahlung ist dem Quadrat der Teilchenmasse umgekehrt proportional und fällt deshalb bei schweren Teilchen vergleichsweise wenig ins Gewicht. Sie wächst mit der Elektronenenergie und der Ordnungszahl des absorbierenden Materials stark an. Die Quantenenergie der Bremsstrahlung verteilt sich über ein weites Spektralgebiet (Bremskontinuum), das an seinem kurzwelligen Ende scharf abbricht. Die maximale Quantenenergie  $(h\nu)_{\max}$  entspricht der kinetischen Energie des einfallenden geladenen Teilchens.

Tabelle 1. *Linearer Energietransfer (LET) pro 1  $\mu$  Weg in Eiweiß in keV (nach POLLARD u. Mitarb.)*

	10 MeV	4 MeV	2 MeV	1 MeV	0,5 MeV
$\alpha$ -Teilchen	66,2	130,0	208,0	252,0	246,0
Deuteronen	9,3	19,4	32,0	54,0	79,5
Protonen	5,7	11,7	19,4	32,0	54,0
Elektronen	—	—	0,275	—	—

Die maximale Quantenenergie  $(h\nu)_{\max}$  entspricht der kinetischen Energie des einfallenden geladenen Teilchens.

Zum Unterschied von Elektronen bewegen sich schwere Teilchen entsprechend ihrer viel größeren Masse auf weitgehend gestreckten Bahnen und die statistische Streuung ihrer Reichweiten ist geringer.

Je nach Teilchenart und Teilchenenergie erhält man für die auf biologisches Material tatsächlich übertragene Energie unterschiedliche Werte. Der lineare Energietransfer (LET) ist der Dichte des bestrahlten biologischen Materials annähernd proportional, unterscheidet sich also von dem in Wasser gefundenen Wert durch einen materialabhängigen, konstanten Faktor. Dieser ist für weiches Gewebe 1.

Tabelle 2. *LET-Werte, gemittelt über die Weglänge*

Strahlung	LET (keV/ $\mu$ )
Schnelle Elektronen . . . . .	0,2
Radium- $\gamma$ -Strahlung . . . . .	0,3
4 MeV $\gamma$ -Strahlung eines Kernreaktors . . .	0,3
Röntgenstrahlen	
200 kV ( $\lambda = 0,12 \text{ \AA}$ ), 190 MeV Deuteronen	2,1
120 kV ( $\lambda = 0,2 \text{ \AA}$ ) . . . . .	2,9
40 kV ( $\lambda = 0,54 \text{ \AA}$ ) . . . . .	2,2
$\lambda = 1,5 \text{ \AA}$ . . . . .	3,7
$\lambda = 2,1 \text{ \AA}$ . . . . .	4,7
$\beta$ -Strahlung von Tritium ( $H^3$ ) . . . . .	5,5
Spaltneutronen . . . . .	6
$\alpha$ -Teilchen . . . . .	23
Thermische Neutronen in $H_2O$	
( $\gamma$ -Strahlung + Protonen + $\alpha$ -Teilchen) . .	65
5 MeV $\alpha$ -Teilchen . . . . .	94
Thermische Neutronen nach Injektion von $B^{10}$	
( $\alpha$ -Teilchen + $Li^7$ -Rückstoßkerne) . . . .	190
Thermische Neutronen nach Injektion von $Pu^{238}$ bzw. $Pu^{239}$ ( $\alpha$ -Teilchen bzw. $\alpha$ -Teilchen und schwerere Kerne) . . . . .	4000—9000

In Tabelle 1 sind für trockenes Eiweiß mit einer Dichte von 1,35 einige LET-Werte für verschiedene Teilchen und verschiedene Energien zusammengestellt. Man entnimmt Tabelle 1, daß der LET für schwere Teilchen bedeutend größer ist als für leichte der gleichen Energie und dementsprechend größerer Geschwindigkeit.

Ein Teil der übertragenen Energie wird unmittelbar oder auf dem Umweg über Molekülanregungen in Wärme umgewandelt und zerstreut. Nur bei sehr hohen LET-Werten kommt jedoch die bei einem Teilchendurchgang gebildete „Punktwärme“ (F. DESSAUER) als solche für die Auslösung des biologischen Primärvorganges ursächlich in Betracht. Die biologisch wirksamste Form der Energieübertragung stellt die Ionisation (LEA 1946) dar. Sie ist in der Regel insbesondere auch wirksamer als die Anregung (MCLAREN 1949, 1950; SETLOW 1958).

Bei den Anwendungen des LET-Begriffs ergeben sich zwei typische Schwierigkeiten:

1. Die Querschnitte für elastische Zusammenstöße zweier Elektronen sind wenig genau bekannt, wenn das einfallende Elektron eine Energie unter 2 keV besitzt und die Energie des Rückstoßelektrons vergleichbar mit dem Ionisationspotential wird.

2. Die räumliche Anfangsverteilung der längs der Teilchenbahnen in biologischem Material entstehenden freien Radikale ist nur ungenau bekannt; mindestens ein Viertel

Tabelle 3. *EBW-Werte für Letaleffekte bei der Maus*

Effekt	Standard-Strahlung	Strahlenart	RBW	Autor
LD <sub>50/30</sub>	Röntgenstrahlen (300 kV)	Röntgenstrahlen 4 MeV (0,3 keV/μ)	0,74	Med. Res. Council Christie Hosp. (1957)
LD <sub>50/30</sub>	Röntgenstrahlen (250 kV)	Röntgenstrahlen 1 MeV	0,82	KOHN et al. (1956)
LD <sub>50/28</sub>	Röntgenstrahlen (250 kV)	Röntgenstrahlen 1 MeV	0,83—0,85	STORER et al. (1957)
LD <sub>50/28</sub>	Röntgenstrahlen (250 kV)	Röntgenstrahlen 1 MeV	0,85—0,81	PATTERSON (1957)
LD <sub>50/30</sub>	<sup>60</sup> Co γ-Strahlen	Radium-γ-Strahlen (0,3 keV/μ)	1,0	STORER et al. (1957)
LD <sub>50/30</sub>	Radium-γ-Strahlen	Röntgenstrahlen (250 kV)	1,3	STORER et al. (1957)
LD <sub>50/30</sub>	Radium-γ-Strahlen	Röntgenstrahlen (1 MeV)	2,0	CLARK et al. (1954)
Akuter Strahlentod und Verkürzung der Lebenserwartung	Röntgenstrahlen (250 kV)	Röntgenstrahlen (80—135 kV)	1,0	GRAHN et al. (1958)
LD <sub>50/30</sub>	Radium-γ-Strahlen	H <sup>3</sup> -β-Strahlen (5,5 keV/μ)	1,7	STORER et al. (1957)
LD <sub>50/30</sub>	Röntgenstrahlen (250 kV)	schnelle Neutronen	1,7	CARTER et al. (1956)
Akuter Strahlentod	Röntgenstrahlen (250 kV)	schnelle Neutronen	1,6	BOND et al. (1956)
Verkürzung der Lebenserwartung	Röntgenstrahlen (250 kV)	Mischstrahlen bei Kernwaffenversuch	2,6	STORER et al. (1958)
LD <sub>50/30</sub>	Röntgenstrahlen (250 kV)	Neutronen (45,0 keV/μ)	2,2	CURTIS et al. (1958)
LD <sub>50/30</sub>	Röntgenstrahlen (250 kV)	Neutronen (45,0 keV/μ)	3,7	CLARK et al. (1957)
LD <sub>50/30</sub>	Röntgenstrahlen (250 kV)	Neutronen (45,0 keV/μ)	2,0	MELVILLE et al. (1957)
LD <sub>50/30</sub>	Röntgenstrahlen (250 kV)	Neutronen (45,0 keV/μ)	2,3	STORER et al. (1957)
LD <sub>50/30</sub>	Röntgenstrahlen (250 kV)	Neutronen (45,0 keV/μ)	3,6	HENSHAW et al. (1947)
LD <sub>50/30</sub>	Röntgenstrahlen (250 kV)	Neutronen (45,0 keV/μ)	2,0	DELIHAS et al. (1958)
LD <sub>50/30</sub>	<sup>60</sup> Co γ-Strahlen	Neutronen (45 keV/μ)	4,4	VOGEL et al. (1957)
LD <sub>50/30</sub>	<sup>60</sup> Co γ-Strahlen (protrahiert)	Neutronen (45 keV/μ)	6,3	CLARK et al. (1957)
LD <sub>50/30</sub>	<sup>60</sup> Co γ-Strahlen (protrahiert)	Neutronen (45 keV/μ)	5,0	EVANS (1948)
LD <sub>50/30</sub>	<sup>60</sup> Co γ-Strahlen (protrahiert)	Neutronen (45 keV/μ)	2,0	UPTON (1956)
LD <sub>50/30</sub>	Röntgenstrahlen (220 kV)	schnelle Neutronen Be (p, n)	3,45	EVANS et al. (1954)
LD <sub>50/30</sub>	Röntgenstrahlen (220 kV)	schnelle Neutronen (d-Be)	1,2—2,7	RILEY et al. (1956)
LD <sub>50/30</sub>	Röntgenstrahlen (220 kV)	schnelle Neutronen (d-Be)	6,6—11,7	GILES et al. (1950)
LD <sub>50/30</sub>	Röntgenstrahlen (220 kV)	schnelle Neutronen (d-Be)	1,6	CARTER et al. (1956)
LD <sub>50/30</sub>	Röntgenstrahlen (250 kV)	schnelle Neutronen (3—20 MeV)	1,6	CARTER et al. (1956)
Akuter Strahlentod	Röntgenstrahlen (250 kV)	thermische Neutronen	2,8	RILEY et al. (1955)
LD <sub>50/30</sub>	Radium-γ-Strahlen (0,35 keV/μ)	thermische Neutronen	2,3	STORER et al. (1957)
LD <sub>50/30</sub>	Radium-γ-Strahlen	α-Teilchen und Li <sup>7</sup> -Rückstoßteilchen (190 keV/μ)	1,3	STORER et al. (1957)
Absterbeordnung	Röntgenstrahlen (stark protrahiert)	Radon-α-Strahlen (stark protrahiert)	10,0	RAJEWSKI (1956)

dieser Radikale geht (nach BURCH 1959) nicht auf Ionisationsprozesse, sondern auf Anregungen zurück.

LET-Angaben der Literatur tragen diesen Verhältnissen oft ungenügend Rechnung.

Die Kurve des LET in Abhängigkeit von der Energie verläuft bei Elektronen praktisch parallel mit der Kurve der differentiellen Ionisation. Nach der IAEA entspricht im Einklang mit den Angaben des Nat. Bureau of Standards (Washington Handbook 59) eine differentielle Ionisation von 100 Ionenpaaren/ $\mu$  in Wasser ein LET von 3,5 keV/ $\mu$ . Für große Elektronenenergien über 1 MeV ändert sich die differentielle Ionisation nur wenig und liegt dann bei 6—7 Ionisationen pro  $\mu$  in Wasser. Am Bahnende eines Elektrons hingegen liegen, wie bereits erwähnt, die Ionisationen besonders dicht nebeneinander (Abb. 1).

In Tabelle 2 sind Angaben über den Energietransfer von Röntgen- und  $\gamma$ -Strahlung, monoenergetischen Elektronen,  $\alpha$ -Teilchen und schweren Rückstoßteilchen zusammengefaßt. So hat beispielsweise ein schnelles Elektron einen linearen Energietransfer von nur 0,2 keV/ $\mu$ , 190 MeV Deuteronen haben denselben mittleren LET wie eine 200 kV Röntgenstrahlung und 5 MeV  $\alpha$ -Teilchen einen LET von 94 keV/ $\mu$ . Das Maximum des LET liegt für Protonen bei einer Energie von 0,15 MeV, für Deuteronen bei 0,3 MeV, für  $\alpha$ -Teilchen bei 0,6 MeV.

### III. Die Abhängigkeit physikalischer und chemischer Strahlenwirkungen von der Strahlenqualität

Ionisationen und Anregungen längs der Bahn eines ionisierenden Teilchens bewirken in biologischem Material chemische und physikalisch-chemische Veränderungen, die ihrerseits auch von der Strahlenqualität, also vom LET, abhängig sein können. Es ist zweckmäßig, die Verhältnisse in Lösungen gesondert zu betrachten. Anschließend wird auf die Vorgänge einzugehen sein, die an makromolekularen Strukturen oder Festkörpern ablaufen. Diese Abgrenzung ist gerechtfertigt durch den Umstand, daß auch bei der biologischen Strahlenwirkung zwei verschiedene Typen von Wirkungsmechanismen unterschieden werden müssen, nämlich der *Mechanismus der indirekten Strahlenwirkung*, wobei die Strahlenenergie zunächst auf Moleküle in der Nachbarschaft der reaktionsfähigen biologischen Strukturen übertragen wird, bevor sie durch intermolekulare Energiewanderung oder durch Transport über diffusible Energieträger dahin gelangt, und der *Mechanismus der direkten Strahlenwirkung*, wo die Energie des ionisierenden Teilchens unmittelbar auf die reaktionsfähigen biologischen Strukturen übertragen wird und dort, eventuell nach vorausgegangener intramolekularer Energieverschiebung (Energieleitung), Veränderungen hervorbringt.

Im folgenden sei zunächst auf die strahlenchemischen Reaktionen eingegangen, die in wäßrigen Lösungen ablaufen. „Mikrotopographische“ Unterschiede, d.h. Unterschiede in der räumlichen Verteilung von positiven und negativen Ionen, langsamen Sekundärelektronen, angeregten Atomen bzw. Molekülen und freien Radikalen, einschließlich freien Atomen als Ausdruck eines unterschiedlichen LET erklären die oft erheblichen Wirkungsunterschiede ionisierender Strahlenarten bei strahlenchemischen Reaktionen.

Langsame Sekundärelektronen mit Energien unter 100 eV verlieren ihre Bewegungsenergie in wäßrigen Medien innerhalb eines die Primäriodisation umgebenden kugelförmigen Bereichs von 2—3  $m\mu$  Durchmesser (MAGEE 1953).

Nach BURTON, MAGEE und SAMUEL (1952) sowie DANTON (1956) wird ein 100 eV Elektron nach etwa  $10^{-13}$  sec in Wasser auf thermische Geschwindigkeit abgebremst und entfernt sich vom Ort der Primäriodisation etwa 2  $m\mu$ . Nach der älteren, inzwischen nicht mehr haltbaren Auffassung von LEA (1946) und GRAY (1955) sollte sich das Sekundärelektron bis zu 10—15  $m\mu$  vom Ort der Primäriodisation entfernen können.

In der Umgebung der Primäriodisation entstehen kleine Ionisationsgruppen und in der Bahnspur aller, auch der langsamen Sekundärelektronen, außerdem elektronische Anregungen. Das langsame Sekundärelektron selbst wird in diesem Bereich schließlich eingefangen. Es neutralisiert entweder ein hier bereits vorhandenes Ion, wobei Singulett- und Triplett-Zustände entstehen können (BURTON, HAMILL und MAGEE 1958), oder lagert

sich an ein neutrales Molekül oder Atom an (BURTON et al. 1958), wobei ein negatives Ion entsteht. Die Anlagerungsenergie thermischer Elektronen überschreitet in Flüssigkeiten die Anlagerungsenergie der meisten Moleküle im Gaszustand.

Nach SOMMERMEYER (1948) kommt auch die Anlagerung eines abgetrennten Elektrons an ein neutrales Molekül als biologisch wirksames Primäreignis in Betracht. Mit der Konzentration von Acceptorstoffen vermindert sich die Aussicht, daß das langsame Sekundärelektron zu dem bei seiner Abtrennung entstandenen positiven Loch zurückkehrt und ist bei Konzentrationen über  $10^{-2}$  molar zu vernachlässigen. In gleichem Sinne wirkt sich die Solvatisierung des Elektrons aus, ein Prozeß, der durch Orientierung der Dipolmente des Lösungsmittels zustande kommt und der z.B. in Wasser eine Zeit von  $10^{-11}$  sec erfordert (hydratisiertes Elektron, Polaron). In molekularen Medien, z.B. in Wasser, kann ein durch Ionisation entstandenes positives Loch durch Austausch der elektrischen Ladung seinen Platz wechseln und so zur Energieausbreitung in der Umgebung von Bahnspuren ionisierender Teilchen beitragen. Langsame Sekundärelektronen ionisieren in vielen Fällen annähernd proportional zur sog. molekularen Polarisierbarkeit (LAMPE et al. 1957).

Ein beim Ionisationsvorgang zunächst angeregtes Ion kann seine Anregungsenergie rasch bei Zusammenstößen mit Flüssigkeitsmolekülen, die im mittleren Abstand von  $10^{-13}$  sec aufeinanderfolgen, verlieren. Dabei geht mit der Anregungsenergie auch die chemische Reaktionsfähigkeit zum Teil verloren.

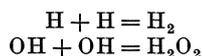
Auch die Anregungsenergie kann sich durch Wanderung, d. h. durch Übertragung auf Nachbarmoleküle, ausbreiten. Im Mittel entfallen auf ein Ionenpaar in wäßrigen Medien etwa 1—2 Anregungen, deren Topographie längs der Bahnspuren etwa der Ionisationstopographie entspricht.

Beim Zerfall angeregter Moleküle und Ionen entstehen freie Radikale, das sind Atome oder Atomgruppen mit nicht abgesättigten, freien chemischen Valenzen. Freie Radikale entstehen auch als das Ergebnis einer Neutralisierung von Ionen durch thermische Elektronen. Auch die Mikrotopographie der freien Radikale in der Bahnspur ionisierender Teilchen entspricht daher etwa der Ionisationstopographie. Freie Radikale sind chemisch besonders reaktionsfähig. Für ihr weiteres Schicksal ist ihre Anfangsverteilung, ihre mittlere freie Weglänge und die Konzentration von Radikalfängern entscheidend. In der Regel beträgt in wäßrigen Medien der mittlere Abstand benachbarter Radikale der gleichen Radikalgruppe ebenso wie ihre mittlere freie Weglänge, zumindest bei kleinerem Molekulargewicht, nur einige Å.

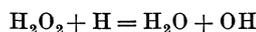
Aus der Vereinigung freier Radikale können völlig neuartige Moleküle hervorgehen. Die Rekombinationswahrscheinlichkeit der Radikale nimmt naturgemäß mit ihrer lokalen Konzentration zu und ist in der Bahnspur eines Teilchens mit hohem LET besonders groß, da hier der ursprüngliche mittlere Abstand der Radikale besonders klein ist. Radikalfänger, das sind in Lösung befindliche Moleküle, welche bevorzugt mit freien Radikalen reagieren, stören deshalb den Rekombinationsvorgang in der Bahnspur eines Teilchens mit hohem LET nur wenig. Die meisten Radikalfänger, zu denen z.B. SH-Körper, Calciumnitrat und zahlreiche organische Verbindungen gehören, treten auch mit thermischen Elektronen in Wechselwirkung (J. L. MAGEE, M. BURTON, W. H. HAMILL 1958).

In wäßrigen Lösungen entstehen in der Bahnspur ionisierender Teilchen freie Wasserstoffatome und freie OH-Radikale. Nach LEA (1955) und GRAY (1955) bildet sich in unmittelbarer Nachbarschaft der Bahnspur eine Säule von OH-Radikalen, die von einer Hülle von freien H-Atomen umgeben wird. Vor Beginn der Diffusionsvorgänge beträgt der Radius der OH-Säule nach LEA (1947)  $2\text{ m}\mu$ , nach DALE (1949)  $0,8\text{ m}\mu$ , der Radius der H-Hülle beträgt nach LEA und GRAY (1947)  $15\text{ m}\mu$ . GRAY (1952) hat die unterschiedliche  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Produktion aus der unterschiedlichen Topographie der freien Radikale erklärt. Einige Parameter dieser Verteilung sind seither in Zweifel gezogen worden (MAGEE 1953a; SAMUEL und MAGEE 1953). Die von GRAY angenommene Verteilung in einer Radikalsäule ist jedoch zumindest qualitativ korrekt.

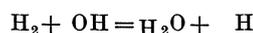
Nach einer Hypothese von GRAY (1955) liefern Elektronen mit Energien zwischen 60 und 500 eV fast nur molekularen Wasserstoff und  $\text{H}_2\text{O}_2$ , während langsame Elektronen unter 60 eV oder Elektronen mit Energien über 500 eV fast ausschließlich freie Wasserstoffatome und freie OH-Radikale erzeugen. Dieses von GRAY vorgeschlagene Modell, welches die Abhängigkeit der molekularen Ausbeute von Wasserstoff von der Strahlenqualität mit ausreichender Genauigkeit wiedergibt (Abb. 4), stellt sicherlich eine Vereinfachung dar. SAMUEL und MAGEE haben demgegenüber 1953 eine Bahnspurkombinationshypothese aufgestellt, bei welcher angenommen wird, daß in der Bahnspur die Kombinationsvorgänge



mit anschließenden Rückreaktionen vom Typ



und



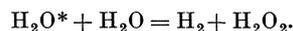
statthaben. Solche Bahnspureffekte können nur in kondensierten Systemen auftreten, nicht in verdünnten Gasen.

Es ist üblich, die strahlenchemischen Ausbeuten in  $G$ -Werten anzugeben, wobei der  $G$ -Wert die Anzahl der entstehenden Moleküle bzw. Radikale je 100 eV absorbiertes Energie angibt. Oft wird auch der chemische Umsatz  $M$  (Anzahl der veränderten Moleküle) auf die Anzahl  $N$  der entstehenden Ionenpaare bezogen (Ionen ausbeute  $M/N$ ). Es gilt angenähert

$$G = \frac{M}{N} \cdot 2,95.$$

Ein Teil der sog. molekularen Ausbeute an  $\text{H}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}_2$  bleibt nach älteren Untersuchungen auch bei  $\gamma$ -Bestrahlung wäßriger Medien noch unabhängig von der Radikalfängerkonzentration (ALLEN et al. 1952). Dies erklärt sich aus der Rekombination von freien Radikalen in der Bahnspur. Diese Prozesse werden durch Diffusion kontrolliert.

Nach neueren Beobachtungen läßt sich selbst bei der Reaktorgesamtstrahlung die Ausbeute an molekularem Wasserstoff durch 15,9 m Calciumnitrat praktisch vollständig unterdrücken (SCHWARZ 1955), ein Befund, durch den die Existenz von nicht durch Diffusion kontrollierten Prozessen sehr in Frage gestellt wird. Dieses Ergebnis spricht auch gegen einen direkten Zerfall von angeregten Wassermolekülen etwa nach der Gleichung



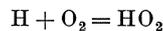
Für chemische Reaktionen, an welchen angeregte Radikale beteiligt sind, gilt nicht die gewöhnliche Arrheniussche Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Temperatur.

Vergleichende Untersuchungen von BURCH (1959) über die chemischen Umsetzungen in Ferro- und Cerisulfatlösungen mit  $\text{Co}^{60}$ - $\gamma$ - und  $\text{Po}^{210}$ - $\alpha$ -Strahlung haben gezeigt, daß die Jaffé-Formel, welche ursprünglich für die Verteilung von Ionen in der Bahnspur ionisierender Teilchen in Gasen aufgestellt worden war, sich auch auf die Verteilung und Diffusion der freien Radikale des Wassers anwenden läßt, und daß eine einfache Erweiterung dieser Formel auf den Kombinationsvorgang eine brauchbare Interpretation der Versuchsergebnisse ermöglicht. Die durch Diffusion kontrollierten Radikalkombinationen laufen in der Bahnspur ionisierender Teilchen sehr rasch ab, und zwar innerhalb von Größenordnungsmäßig  $10^{-10}$  sec. Sie lassen sich nur durch sehr wirksame Radikalfänger in Konzentrationen von 0,1 mol/l und mehr beeinflussen.

Bei Abwesenheit von Radikalfängern in höherer Konzentration erzeugen konventionelle und ultraharte Röntgenstrahlen,  $\gamma$ -Strahlen und schnelle Elektronen in wäßrigen Systemen primär praktisch ausschließlich freie H-Atome und OH-Radikale; schwere

Teilchen daneben in größerer Menge molekularen Wasserstoff  $H_2$  und  $H_2O_2$ . Für schwere Rückstoßteilchen ist die Ausbeute an freien H-Atomen und freien OH-Radikalen fast gänzlich zu vernachlässigen. Die Gesamtzahl der zerlegten Wassermoleküle ändert sich verhältnismäßig wenig mit dem LET. Der  $G$ -Wert für den Zerfall des Wassers  $G(-H_2O)$  liegt für  $\gamma$ -Strahlung bei 4,5 und für schwere Teilchen aus Kernspaltungsprozessen bei 3,6. Es zerfallen also etwas mehr Wassermoleküle als Ionenpaare entstehen (Abb. 2).

In sauerstoffhaltigem Wasser entstehen neben den genannten sekundär auch noch andere freie diffusible Radikale, unter denen man den freien  $HO_2$ -Radikale eine besondere Bedeutung für den sog. strahlenbiologischen Sauerstoffeffekt zugesprochen hat. Die Ausbeute an  $HO_2$ -Radikale ist in sauerstofffreiem Wasser für  $\gamma$ -Strahlung gering und beträgt nur etwa  $G(HO_2) = 0,026$ , für energiearme  $\alpha$ -Strahlen liegt der  $G$ -Wert bei 0,15 und läßt sich durch hohe Radikalfängerkonzentrationen erniedrigen (HART 1955; SWORSKI 1956 u. a.). Ist hingegen molekularer Sauerstoff vorhanden, dann entstehen freie  $HO_2$ -Radikale unter Mitbeteiligung freier H-Atome nach der Gleichung



in höherer Ausbeute auch bei Bestrahlung des sauerstoffhaltigen Wassers mit schnellen Elektronen und  $\gamma$ -Strahlen. Die mittlere Lebensdauer der freien  $HO_2$ -Radikale liegt bei etwa 0,01 sec. Sie dissoziieren zum Teil in  $H^+$ - und  $O_2$ -Ionen. In den letzten Jahren sind von vielen Seiten ernste Bedenken gegen die überragende Bedeutung freier  $HO_2$ -Radikale für das Zustandekommen des Sauerstoffeffekts geäußert worden (ALPER und HOWARD-FLANDERS 1956). Ein strahlenbiologischer Sauerstoffeffekt ist auch an sehr wasserarmen Objekten nachgewiesen, wobei qualitativ andersartige Radikaltypen auftreten (EHRENBERG, BHASKARAN) können. Bei Bestrahlung von Lösungen unterschiedlicher Konzentration' insbesondere auch von wäßrigen Lösungen, ändert sich in bestimmten Konzentrationsbereichen die Ionenausbeute. Es ergeben sich dabei ganz charakteristische Abhängigkeiten, die teilweise schon von H. FRICKE und S. MORSE (1927) beschrieben wurden. Bestimmt man nämlich die Gesamtausbeute einer einfachen strahlenchemischen Reaktion, dann findet man in gewissen konzentrierteren Lösungen, z.B. von Ferrosulfat, bis zu einem bestimmten Verdünnungsgrad abwärts eine weitgehend gleichbleibende, nur von der Gesamtdosis abhängige Ausbeute. Vermindert man jedoch die Konzentration des gelösten Stoffes über eine gewisse, vom LET der Strahlung abhängige untere Grenze hinaus, dann sinkt die Ionenausbeute, und zwar bei sehr kleinen Konzentrationen proportional zur Konzentration des Substrats. Dies bedeutet, daß bei hoher Substrat-

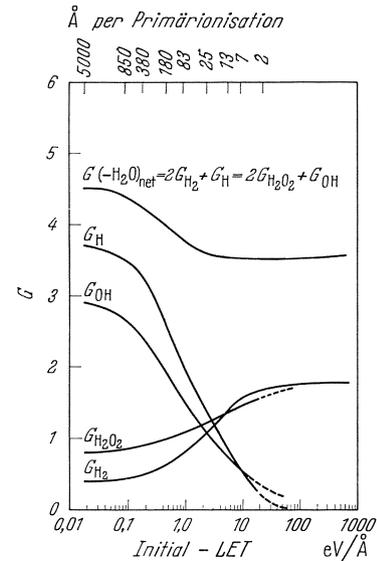


Abb. 2. Radikalausbeute (H,OH) und molekulare Ausbeute ( $H_2$  und  $H_2O_2$ ) bei der Radiolyse von 0,8 n  $H_2SO_4$  ( $(-H_2O)_{net}$ ) als Funktion des initialen LET des einfallenden Teilchens. (Entnommen aus: „Comperative Effects of Radiation“, Ed.: M. BURTON, J. S. KIRBY-SMITH & J. L. MAGEE. Autor: C. J. HOCHANADEL. Verlag: John Wiley & Sons, Inc. New York-London 1960, S. 179, Fig. VIII 3)

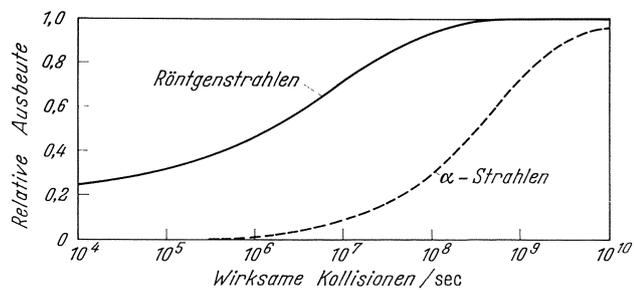


Abb. 3. Abnahme der Ionenausbeute für Röntgenstrahlen der konventionellen Strahlentherapie und  $\alpha$ -Strahlen bei niedriger Konzentration der Acceptorsubstanz. (Die Anzahl der wirksamen Kollisionen pro Sekunde zwischen Radikal und den in Lösung befindlichen Molekülen der Acceptorsubstanz nimmt proportional zu deren Konzentration zu) (nach LEA)

proportional zur Konzentration des Substrats. Dies bedeutet, daß bei hoher Substrat-

konzentration die Substratmoleküle praktisch vollständig mit sehr reaktionsfähigen „aktivierten“ Molekülen des Lösungsmittels, z.B. mit den freien Radikalen des Wassers reagieren können, während Acceptormoleküle bei kleinen Konzentrationen in der Bahnspur in ungenügender Menge zur Verfügung stehen, so daß es zunehmend häufiger zu Radikalkombinationen kommt und sich die Ionenausbeute schließlich vermindert. In der Bahnspur dicht ionisierender Teilchen mit hoher Anfangskonzentration der freien Radikale macht sich daher dieser z.B. von DALE an Enzymen besonders eingehend untersuchte Verdünnungseffekt schon relativ früh bemerkbar (Abb. 3).

Die Abb. 2 zeigt, daß in bestimmten mittleren Konzentrationsbereichen die Ausbeute strahlenchemischer Reaktionen mit dem LET abnimmt.

Dieser Einfluß wird bei solchen strahlenchemischen Reaktionen besonders deutlich, an denen vorzugsweise freie H-Atome teilnehmen, wie z.B. bei der Inaktivierung des Fermentes Carboxypeptidase (DALE et al. 1949). Bei oxydativen Prozessen, an denen freie OH-Radikale beteiligt sind, wie z.B. bei der Inaktivierung von SH-Fermenten (BARRON et al. 1949; HOLLAENDER 1955 u.a.) ist der Einfluß des LET auf die Ionenausbeute weniger deutlich, da nicht nur die freien OH-Radikale, sondern auch das aus ihnen durch Kombination vor allem axial in der sich allmählich durch Diffusion ausbreitenden Radikalsäule entstehende  $H_2O_2$  oxydierend wirkt. Die Ionenausbeute oxydativer strahlenchemischer Prozesse ist daher im allgemeinen vom LET weniger abhängig als die Ausbeute reduktiver strahlenchemischer Prozesse.

In anorganischen wäßrigen Systemen ist der Einfluß der Strahlenqualität, insbesondere für die Oxydation von Ferrosulfat, sehr eingehend untersucht worden. Nach MILLER (1950) ändert sich die Ionenausbeute erst nach Unterschreiten eines Wertes von  $4,4 \gamma/cm^3$  (Verdünnungseffekt).

Nach MINDER und LIECHTI (1946) ist die Reaktion in einem Temperaturbereich von  $4^{\circ}$ — $54^{\circ}$  temperaturunempfindlich. Hingegen ist der Effekt stark abhängig vom pH-Wert (LIECHTI et al. 1945) und von der Sauerstoffspannung (EBERT und HOWARD 1954). Schon die ältesten Untersuchungen von FRICKE und MORSE (1927) hatten Unabhängigkeit der Ausbeute von der Strahlenqualität im Bereich von 28—100 keV Röntgenstrahlen ergeben. Die Reaktion wird daher seit langem zur Dosismessung ionisierender Strahlenarten auf chemischem Wege verwandt. Die  $G$ -Werte für den Umsatz von Ferrosulfat, das in 0,8 n Schwefelsäure bestrahlt wird, werden von den verschiedenen Autoren unterschiedlich angegeben (MILLER und WILKINSON 1952). Neuere Werte sind im National Bureau of Standards, Handbook 78 (Washington 1961) zusammengestellt. Neben strahlenbedingten Oxydationen, z.B. von Arseniten, Seleniten, Nitriten, Kohlenmonoxyd sind auch strahlenbedingte Reduktionen, z.B. von Cerisalzen, Kaliumchromat, Kaliumpermanganat, Jodaten usw. bekannt.

Unter diesen Strahlenreduktionen ist die Reduktion von Cerisulfat von BURCH (1959) auch theoretisch genauer untersucht worden. Dieser strahlenchemische Prozeß findet in der chemischen Dosimetrie Anwendung. Eine theoretische Behandlung des Einflusses der Strahlenqualität auf die Zerstörung von Wasserstoffsuperoxyd in wäßriger Lösung findet sich bei WEISS (1952).

Der strahlenchemische Umsatz organischer Verbindungen in wäßriger Lösung ist von zahlreichen Autoren untersucht worden. In der Regel handelt es sich um Oxydationen (LEFORT 1955). Aus strahlenchemischen Umsätzen lassen sich weitgehende Rückschlüsse auf die entstehenden Primärprodukte ziehen (HAYON et al. 1958). Eine Analyse der strahlenchemischen Umsetzungen an bestrahlten organischen Substanzen gestaltet sich besonders schwierig, da hier sehr zahlreiche Reaktionsmöglichkeiten bestehen, die im einzelnen abzuklären sind. Dies gilt insbesondere auch für die Abhängigkeit von der Strahlenqualität.

Als das Ergebnis solcher Untersuchungen lassen sich einige allgemeine Feststellungen treffen: In wäßrigen Systemen gelten die Gesetzmäßigkeiten des Verdünnungseffektes.

Bei hohem LET finden Reaktionen zwischen freien OH-Radikalen und gelösten organischen Acceptorstoffen kaum statt (GRAY, MAGEE 1953 u. a.).

Seit 1950 sind auch Enzyme in größerem Umfang in die vergleichenden strahlenchemischen Untersuchungen mit verschiedenen Strahlenarten einbezogen worden, und zwar vor allem von POLLARD u. Mitarb. (1953). Dabei kamen außer  $\alpha$ -Strahlen auch Deuteronen verschiedener Energien und schnelle Elektronen zur Anwendung.

Die an insgesamt 40 Enzymen und Antikörpern gewonnenen Ergebnisse sind bei POLLARD (1953) zusammengestellt. Die gefundenen Wirkungsquerschnitte stimmen in vielen Fällen mit einer Genauigkeit von 20 % mit den elektronenoptisch oder kolloidchemisch gewonnenen überein. Das gilt z. B. auch für das transformierende Prinzip der Pneumokokken. Bei einigen Enzymen zeigt sich, daß die Inaktivierung erst erfolgt, wenn mindestens drei Ionisationen innerhalb des strahlenempfindlichen Volumens erzeugt werden. Es kommt also in diesem Fall nicht gleich zu einem Absinken der Ionenausbeute mit zunehmenden LET, sondern zunächst zu einem Wirkungsanstieg bis zu einem Maximum und erst bei noch höheren LET-Werten zur Wirkungsabnahme. Bei Enzymen in wäßriger Lösung überlagert sich der direkten Strahlenwirkung die indirekte, wobei wiederum die freien Radikale des Wassers die entscheidende Rolle spielen. Die indirekte Strahlenwirkung kann in verdünnten Lösungen die direkte quantitativ weit überwiegen. Bei der Inaktivierung von Enzymen in wäßriger Lösung ergeben sich erhebliche Unterschiede je nachdem, ob es sich um eine reine Lösung des kristallisierten Enzyms in Wasser handelt oder ob gleichzeitig andere Substanzen in der Enzymlösung vorhanden sind, welche um die entstehenden freien Radikale des Wassers mit den Enzymmolekülen konkurrieren.

Eine Schutzwirkung kann auch auf andere Weise zustande kommen. So kann z. B. die Schutzsubstanz gleichzeitig vorhandenen Sauerstoff binden und hierdurch die Bildung von  $\text{HO}_2$ -Radikalen verhindern oder sich mit dem Enzym zu einem strahlenresistenteren reversiblen Komplex verbinden. Für die Abhängigkeit der Schutzwirkung von der Konzentration gelöster Radikalfänger gelten die früher (Abb. 2) beschriebenen Gesetzmäßigkeiten, d. h. ein Einfluß der Strahlenqualität auf die indirekte Komponente der Strahlenwirkung kann sich bei bestimmten Schutzstoffkonzentrationen stark bemerkbar machen.

In vivo sind die Enzyme durch die in höheren Konzentrationen vorhandenen Zellbestandteile gegen indirekte Effekte weitgehend geschützt, und ihre Strahlenempfindlichkeit liegt oft um mehrere Größenordnungen unter der in vitro in reinen wäßrigen Enzymlösungen ermittelten. Dies lehrt ein Vergleich des in feuchtem und trockenem Zustand bestrahlten enzymhaltigen Materials (HUTCHINSON et al. 1957).

Ähnlich wie in der Bahnspur ionisierender Teilchen mit hohem LET die Wahrscheinlichkeit für das Rekombinieren der Wasserradikale mit dem LET zunimmt, läßt sich diese Wahrscheinlichkeit auch durch Konzentrieren der Gesamtdosis in einem einzigen kurzen Bestrahlungsimpuls erhöhen. Allerdings wird der Effekt erst bei hohen Bestrahlungsdosen deutlich und ist z. B. bei der Zerstörung eines organischen Farbstoffmoleküls (Tartrazin) nachgewiesen worden. Er ist hier für das Absinken der Ionenausbeute verantwortlich, wenn die Bestrahlungsdosis in einem oder wenigen Impulsen von einer Mikrosekunde Dauer vereinigt wird (DITTRICH 1953).

Auch in festen Stoffen — Nichtleitern und Halbleitern — können unter der Bestrahlung neben Ionisationen und Anregungen freie Radikale entstehen. Freie Radikale lassen sich mit Hilfe der sog. Mikrowellenspektroskopie als paramagnetische Zentren nachweisen (Literatur bei ZIMMER 1960a und b, 1963; EHRENBERG, KIRBY-SMITH). Die nicht abgesättigten magnetischen Eigenmomente der Valenz-Elektronen (ungepaarte Spins) freier Radikale treten mit den Eigenmomenten der Nachbaratomkerne in Wechselwirkung. Aus der Form der Signale, die man mit der Methode der Mikrowellenspektroskopie erhält, läßt sich die mehr minder enge Koppelung ablesen. In getrocknetem biologischen Material beträgt die Lebensdauer der magnetischen Zentren bisweilen viele

Tage. Der durchschnittliche Energieaufwand pro Radikal liegt bei bestrahlten Aminosäuren zwischen 23 und 2500 eV (KÖHNLEIN u. MÜLLER 1962). Der Energieaufwand pro Radikal liegt für das komplementäre Nucleinsäurebasenpaar Adenin-Thymin wesentlich höher als für das komplementäre Paar Cytosin-Guanin (KÖHNLEIN u. MÜLLER 1962). Dieser Befund wurde in Beziehung gebracht zur Beobachtung S. KAPLANs (1962), der bei Mikroorganismen eine Korrelation zwischen Strahlenempfindlichkeit und relativem Gehalt ihrer DNS an Cytosin und Guanin festgestellt hatte. Zumeist nimmt die Radikal- ausbeute mit dem LET der angewandten Strahlung ab und ist z.B. für Neutronen- und  $\alpha$ -Strahlung relativ kleiner als für Röntgenstrahlen der konventionellen Strahlentherapie.

#### **IV. Die Abhängigkeit biologischer Strahlenwirkungen von der Strahlenqualität**

In den letzten Jahren ist eine Reihe ausgezeichnete Übersichtsarbeiten über den Einfluß der Strahlenqualität auf die RBW erschienen (BOAG 1953; HAGEN et al. 1960). Es ist nicht möglich, ausführlich und im einzelnen auf all die zahlreichen Veröffentlichungen einzugehen, die dem Gegenstand gewidmet sind. Vielmehr kann im folgenden nur eine begrenzte Auswahl der einschlägigen Arbeiten getroffen werden, und zwar hauptsächlich unter dem Gesichtspunkt, ob entweder besonders deutliche Effekte beobachtet oder aber ob die experimentellen Untersuchungen im Hinblick auf die Dosimetrie mit besonderer Sorgfalt ausgeführt werden konnten.

##### **1. Biologische Elementareinheiten**

Bakterienviren (Phagen), pflanzen- und tierpathogene Viren sind ebensowenig wie Gene und Genkomplexe der Wirtszelle als selbständige Formen des Lebens anzusehen; sie entfalten ihre biologischen Funktionen nur innerhalb lebender Zellen. Wegen ihres relativ einfachen Baues ermöglicht die Reaktionsweise dieser biologischen Einheiten jedoch einen besonders guten Einblick in die verschiedenen Mechanismen der biologischen Strahlenwirkung.

An Bakteriophagen und anderen Virusarten wurden, ähnlich wie an Enzymen und anderen Großmolekülen, mit dichtungisierenden Teilchenarten, Querschnittsbestimmungen ihrer strahlenempfindlichen Strukturen durchgeführt. Dabei ergaben sich unter der naheliegenden Voraussetzung, daß jeder Teildurchgang durch die strahlenempfindliche Innenstruktur diese Viren inaktiviert, Inaktivierungsquerschnitte, welche zumindest größenordnungsmäßig mit den auf andere Weise ermittelten geometrischen Querschnitten übereinstimmen. Die Übereinstimmung ist besonders gut für kleinere Viruskörper, einschließlich Bakteriophagen. Bei größeren Viren ist der elektronenoptisch und kolloidchemisch ermittelte geometrische Querschnitt in der Regel etwas größer als der Inaktivierungsquerschnitt. Die strahlenempfindlichen Innenstrukturen beanspruchen offenbar nur einen Teil des Gesamtvolumens.

So ergibt sich beim Coli-Phagen T1 (POLLARD 1954) mit  $\alpha$ -Strahlen oberhalb eines gewissen LET-Wertes ein geometrischer Querschnitt des strahlenempfindlichen Bereiches von etwa 80 % des Gesamtquerschnittes (POLLARD 1954). In Einklang mit der gemachten Voraussetzung sind RBW und LET in höheren LET-Bereichen in der Regel annähernd umgekehrt proportional zueinander (Sättigungseffekt). Für kleine LET-Werte findet man hingegen wiederum besonders kleine RBW-Werte. So steigt beim Coli-Phagen T1 bei Bestrahlung mit Deuteronen abnehmender Energie und zunehmender LET die RBW zunächst bis zu einem Maximum an und fällt dann wieder ab (POLLARD 1954). Nach einer von POLLARD vorgeschlagenen Erklärung erfordert die Inaktivierung eine Mindestenergie von 0,1 keV entsprechend dem für drei Einzelionisationen im Mittel erforderlichen Energieaufwand. Ein ähnliches Verhalten zeigt das Tabakmosaik-Virus mit der sich anbietenden Erklärung, auch hier sei das Überschreiten einer höheren Energieschwelle [Konzentrationsseffekt nach P. JORDAN (1938)] erforderlich (A. E. DIAMOND 1956). Auch

für die Zerstörung einiger Biomoleküle konnte ein Anstieg der Wirksamkeit mit zunehmendem LET nachgewiesen werden. Die Fähigkeit des Virus der atypischen Geflügelpest, rote Blutkörperchen zu agglutinieren, ist an bestimmte Großmoleküle an der Virusoberfläche gebunden, die durch Übertragung zerstört werden, welcher nach POLLARD (1954) mindestens vier Ionisationen entsprechen müssen. Auch hier ergibt sich für einen bestimmten linearen Energietransfer ein Maximum der relativen biologischen Wirksamkeit. In anderen Fällen nimmt die RBW von Anfang an mit dem LET monoton ab.

Bisher ist es nur ausnahmsweise gelungen, Virus- bzw. Bakteriophagenmutationen durch Bestrahlung der Viruspartikel außerhalb ihrer Wirtszelle zu induzieren. Innerhalb der Wirtszelle bestrahlte Viruskörper bzw. Bakteriophagen verhalten sich hinsichtlich der Mutationsauslösung in mancher Hinsicht ähnlich wie die Genome von Einzellern.

Die Nucleinsäure von Phagen bzw. Virus repräsentiert einen Genkomplex mit linearer gestreckter oder ringförmiger Anordnung der Faktoren.

Nach ihrer Genese werden die in den Zellen lokalisierbaren Mutationen in Punkt-, Chromosomen- und Genommutationen eingeteilt. Viele von ihnen können durch ionisierende Strahlen induziert werden, wobei die Strahlenempfindlichkeit der verschiedenen Gene innerhalb sehr weiter Grenzen variieren kann. Eine Zusammenstellung von Mutationshäufigkeiten bei Bakterien findet sich bei KAPLAN (1958). Die Induktionsraten für Einzelgene liegen bei *Drosophila* zwischen  $1,1 \times 10^{-6}/R$  und  $3,4 \times 10^{-9}/R$ . Für dominante Letalfaktoren und Translokationen werden um Größenordnungen höhere Raten (CATSCH et al. 1943; HÖHNE et al. 1954; RUSSEL et al. 1954) gefunden.

Nach RUSSEL und RUSSEL (1958) ergeben sich für strahleninduzierte dominante bzw. rezessive sichtbare Mutationen bei der Maus mit Spontanraten zwischen  $0,7-1,3 \times 10^{-5}$ , mittlere Raten von  $2,8 \times 10^{-7}$  pro R bzw. von  $2,1 \times 10^{-7}$  pro R.

Punktmutationen sind charakterisiert durch das Fehlen solcher strukturellen Veränderungen am Chromosom, die sich mit den heutigen Methoden der Lichtmikroskopie unmittelbar feststellen lassen. Ihre materielle Grundlage sind offenbar kleinste Stückausfälle oder Änderungen in den das einzelne Gen, bzw. Muton, charakterisierenden Nucleotidsequenzen.

Das materielle Substrat der Chromosomenmutationen sind gröbere Chromosomenumbauten, das der Genommutationen Änderungen der Chromosomenzahl.

Nach ihrem phänotypischen Effekt lassen sich die Mutationen in sichtbare Mutationen, Letalmutationen und Vitalitäts-/Fertilitätsmutationen sowie, vor allem in der Mikrobiologie, in Mutationen von Stoffwechselfaktoren ordnen. In allen Gruppen sind Punkt- und Chromosomenmutationen vertreten.

Viele strahlen genetische Untersuchungen an tierischen und pflanzlichen Objekten erstrecken sich auf Mutationstypen, die lediglich durch ihr Erscheinungsbild charakterisiert sind und die mit Sicherheit Gemische von Punkt- und Chromosomenmutationen darstellen.

Sehr genau untersucht sind die Verhältnisse bei *Drosophila melanogaster*. Beim Übergang von konventionellen Röntgenstrahlen zu Radium- $\gamma$ -Strahlen konnte eine sichere Abhängigkeit des mutagenen Effekts von der Strahlenqualität nicht gefunden werden. Jedoch wird über Unterschiede in der RBW von konventionellen und ultraharten Röntgenstrahlen sowie schnellen Elektronen berichtet.

Bereits 1949 fanden LUCE u. Mitarb. (1949) für 20 MeV Photonen, REGEHR u. Mitarb. (1950) für 23 MeV Photonen eine geringere Wirksamkeit bei der Auslösung recessiv geschlechtsgebundener Letalfaktoren. 3 MeV Elektronen und 180 keV Röntgenstrahlen ergaben keinen Wirkungsunterschied (DITTRICH et al. 1950), während 31 MeV Photonen sich als weniger wirksam erwiesen als 180 keV Röntgenstrahlen, wenn Spermien und Spermatiden bestrahlt wurden (FRITZ-NIGGLI 1956). Ein deutlicher Unterschied der Mutagenität von 30 MeV Elektronen und 180 keV Röntgenstrahlen wurde bei Spermatiden festgestellt (FRITZ-NIGGLI 1959), während für reife Spermien die Unterschiede offenbar weniger deutlich sind (BERTRAM und HÖHNE 1958).

Bei der Induktion von Translokationen und Chromosomenbrüchen zeigten 30 MeV Elektronen eine geringere biologische Wirksamkeit als 180 kV Röntgenstrahlen (FRITZ-NIGGLI 1958a). Bei der Auslösung von Brüchen in einem Ring-X-Chromosom ergaben sich hingegen keine sicheren Wirkungsunterschiede zwischen 3 MeV Elektronen und 180 kV Röntgenstrahlen (V. BRANDT und DITTRICH 1953).

Bei dominanten Letalfaktoren ergab sich eine Abhängigkeit der RBW vom Stadium der bestrahlten Keimzelle und von der Dosis für 31 MeV Photonen und 30 MeV Elektronen im Vergleich zu konventionellen Röntgenstrahlen (FRITZ-NIGGLI 1958b). Die relative biologische Wirksamkeit der ultraharten Strahlung im Vergleich zu konventionellen Röntgenstrahlen, deren zahlenmäßigem Wert allerdings angesichts verschiedener technischer Schwierigkeiten kein allzu großes Gewicht beizulegen ist, lag in keinem Fall über, oft unter 1.

FRITZ-NIGGLI (1958b) hat bei meiotischen Stadien Wirkungsunterschiede zwischen 30 MeV Elektronen und 31 MeV Photonen festgestellt. 31 MeV Photonen waren relativ weniger mutagen<sup>1</sup>.

Beim Vergleich der biologischen Wirksamkeit von Neutronen und konventionellen Röntgenstrahlen bei der Mutationsauslösung ergaben sich uneinheitliche Ergebnisse.

Schon 1938 stellten TIMOFÉEFF und ZIMMER für recessiv geschlechtsgebundene Letalfaktoren eine geringere Mutagenität schneller Neutronen fest, welche die Autoren als Sättigungseffekt interpretiert haben (TIMOFÉEFF et al. 1947). Die von anderen Autoren mit schnellen Neutronen höherer Dosisleistung gefundenen, z. T. abweichenden Ergebnisse sind, wie eine kritische Betrachtung zeigt, sehr wahrscheinlich nicht auf Fehler in der Bestrahlungstechnik oder Dosimetrie zurückzuführen, sondern dürften andere Ursachen haben (ZIMMER 1957).

U. FANO untersuchte die Wirkung schneller Zyklotron-Neutronen (LET 20ke V/ $\mu$ ) auf die Mutationsrate bei *Drosophila* und fand für recessiv geschlechtsgebundene Letalfaktoren gleichfalls nur etwa die halbe, für dominante Letalfaktoren jedoch die doppelte biologische Wirksamkeit, verglichen mit konventionellen Röntgenstrahlen. Ähnliche Ergebnisse werden von DEMPSTER (1941) erhalten.

KING et al. (1955) fanden eine höhere RBW der Neutronenstrahlung bei recessiv geschlechtsgebundenen Letalfaktoren.

Dominante Letalmutationen stehen in keiner Beziehung zu großen strukturellen Chromosomenveränderungen, die nach MULLER (1940) bevorzugt durch Teilchen mit hohem LET ausgelöst werden.

Bei der Erzeugung von Translokationen (MULLER 1954) und bei der Auslösung dominanter Letalfaktoren (DEMPSTER 1941) ergab sich eine höhere Mutagenität der Neutronenstrahlung. Die Unterschiede sind für 2-Bruch-Aberrationen besonders deutlich im Bereich kleiner Dosen (TRAUT 1963). Sichtbare Mutationen werden durch Neutronen relativ häufiger induziert als durch Röntgenstrahlen der konventionellen Strahlentherapie.

Über den biologischen Effekt einer etwa vorhandenen unterschiedlichen Komponente langsamer (thermischer, bzw. epithemischer) Neutronen, die mit Ionisationskammern oder Szintillisationszählern nicht erfaßt wird, ist noch wenig bekannt.

Bei der Maus ergab sich für dominante Letalfaktoren eine höhere biologische Wirksamkeit schneller Neutronen als für konventionelle Röntgenstrahlen (RUSSELL et al. 1954). Die bisher vorliegenden Ergebnisse sprechen dafür, daß zumindest bei der Auslösung von Chromosomenmutationen die relative biologische Wirksamkeit mit zunehmendem LET ein Maximum durchläuft, ein Effekt, der sich zwanglos erklärt, wenn man annimmt, daß Chromosomenbrüche einen höheren Energieaufwand erfordern als eine Einzelionisation. Für Chromosomenmutationen bei pflanzlichen Objekten ist eine solche Energieschwelle schon von LEA (1955) angenommen worden. Seine Argumente werden allerdings durch neuere Befunde von NEARY (1964) teilweise entkräftet.

<sup>1</sup> Eine Bestätigung dieses überraschenden Ergebnisses von anderer Seite liegt vorerst nicht vor.

Chromosomenaberrationen werden in Mitosezellen von *Vicia faba*, *Pisum sativum* und *Solanum lycopersicum* nach Neutronenbestrahlung 3—8mal häufiger als nach Röntgenbestrahlung beobachtet (MARSHAK 1939, 1942) und in Carcinom- und Lymphosarcomzellen der Ratte etwa 3—5mal häufiger. Die RBW-Werte variieren je nach dem Zeitpunkt der Beobachtung nach Bestrahlung (MARSHAK et al. 1945). MACKAY (1951, 1952) hat bei pflanzlichen Objekten festgestellt, daß Neutronen bevorzugt Chromosomenschäden und Genmutationen hervorrufen, während bei konventionellen Röntgenstrahlen die unmittelbaren physiologischen Strahlenreaktionen überwiegen.

Für strukturelle Chromosomenstörungen, die zwei und mehr Brüche erfordern, ergeben sich mit Strahlenarten kleinen linearen Energietransfers Abweichungen von der Linearität der Dosiswirkung. Es ist vorläufig immer noch nicht mit letzter Sicherheit entschieden, ob zumindest für Punktmutationen eine solche Linearität bzw. exponentielle Dosisabhängigkeit ganz allgemein besteht. Für die Rückmutation biochemischer Mutanten bestimmter *Salmonella*-Stämme erhielt DEMEREC (1960) mit kleinen Dosen eine lineare Dosiswirkung.

Die Abhängigkeit der Mutationsentstehung von der Strahlenqualität ist phasenspezifisch, d. h. sie ändert sich mit dem Reifegrad und der Teilungsphase der bestrahlten Keimzelle. Bei sieben sichtbaren rezessiven Mutationen der Maus ergaben die Untersuchungen von RUSSELL und RUSSELL (1958) unterschiedliche Mutationsraten für konzentrierte Röntgenbestrahlung (80 R pro Minute) und verdünnte  $\gamma$ -Strahlung (100 R pro Woche). Die gefundenen Unterschiede sind in diesem Fall allerdings offenbar viel eher auf die unterschiedliche Dosisleistung als auf die unterschiedliche Strahlenqualität zurückzuführen.

Beim Menschen lassen sich Mutationsraten für sichtbare Mutationen nur sehr grob abschätzen, und so ist man vorläufig darauf angewiesen, die wenigen für die Maus im strahlenbiologischen Experiment ermittelten Daten auf den Menschen zu extrapolieren

## 2. Zelle und Zellteilung

Bei strahlenbiologischen Untersuchungen an Einzelzellen fällt eine Reihe von Komplikationen weg, die sich bei höheren Organismen aus der Wechselwirkung der einzelnen Organe und Organsysteme untereinander ergeben können. Die Wirkung ionisierender Strahlenarten auf die kleinste selbständige Einheit der lebenden Materie, die Zelle, ist daher ein bevorzugtes Objekt der quantitativen Strahlenbiologie.

Untersuchungen an Einzelzellen erstrecken sich auf morphologische und funktionelle Störungen, vor allem auf die Beeinflussbarkeit der Zellteilungsvorgänge und auf strukturelle Veränderungen am Zellkern bzw. an den Zellorganellen, Chromosomen, Cytoplasma und Grana (Mitochondrien, Ribosomen etc.). Zahlreiche Untersuchungen dieser Art wurden teils an einzelligen Mikroorganismen, teils an nicht entarteten Zellen höherer Organismen in Gewebeskultur, teils an Krebszellen durchgeführt.

Die Einwirkung ionisierender Strahlen auf Mikroorganismen und höher organisierte Einzelzellen führt, je nach der Höhe der verabfolgten Dosis, zu einem vorübergehenden oder dauernden Verlust der Teilungsfähigkeit. Erst bei Dosen von  $10^5$  rad und mehr kommt es als unmittelbare Folge der Bestrahlung zu raschem Zelltod.

Bei Untersuchungen an Mikroorganismen ergeben sich für verschiedene Stämme derselben Art bisweilen recht erhebliche Unterschiede in der Strahlenempfindlichkeit und Abhängigkeit von den Kulturbedingungen (ELKIND et al. 1957), die den Vergleich der Ergebnisse verschiedener Autoren (ELKIND 1957; ALPER 1960) sehr erschweren können.

Untersuchungen mit verschiedenen Strahlenarten über die „Tötung“ (Verlust der Vermehrungsfähigkeit) von *E. coli* haben eine Abnahme der RBW mit dem linearen Energietransfer ergeben, während bei Sporen von *B. mesentericus* das umgekehrte Verhalten, nämlich eine Zunahme der RBW mit dem LET festgestellt werden konnte (LEA

et al. 1941). Das Verhalten von Coli-Bakterien wurde von LEA (1955) im Sinne der Treffertheorie (der direkten Strahlenwirkung) als „Sättigungseffekt“ interpretiert und das Verhalten von Mesentericussporen als Ausdruck eines „Konzentrationseffektes“ gedeutet — der Letalschaden setze das Überschreiten einer höheren Energieschwelle in den strahlenempfindlichen Bereichen voraus.

Untersuchungen mit schnellen Elektronen und konventionellen Röntgenstrahlen an *E. coli* (DIECKMANN et al. 1950) ergaben für den Letaleffekt eine etwas höhere Wirksamkeit schneller Elektronen (DITTRICH et al. 1950).

An zwei Coli-Stämmen, nämlich an Coli-B und an dem strahlenresistenteren Stamm Coli-B/r, durchgeführte Untersuchungen zeigten, daß, gemessen am Letaleffekt,  $\alpha$ -Teilchen besonders wenig wirksam sind, daß aber die RBW in einem mittleren LET-Bereich vorübergehend zunimmt, wenn nämlich der LET von 1,2 keV/ $\mu$  (190 MeV Deuteronen) auf 6,3 keV/ $\mu$  (26 MeV Deuteronen) ansteigt. In diesem LET-Bereich findet sich für die beiden Stämme ein relatives Maximum.

Dieses von DOBSON (1951) beobachtete relative Maximum der RBW wird von diesem Autor darauf zurückgeführt, daß mit zunehmendem LET neben dem direkten Mechanismus ein indirekter über diffusible Energieträger wirksam wird.

LANGENDORFF und SOMMERMEYER (1954) erhielten bei einem Coli-Stamm mit besonders großer Strahlenempfindlichkeit für konventionelle Röntgenstrahlen eine mittlere Letaldosis von 1,4 kR und für  $\alpha$ -Strahlen von 2,4 kR.

Bisweilen ändert sich mit dem linearen Energietransfer auch die Form der Dosiswirkungskurve. Bei Sporen von *Aspergillus terreus* flacht sie sich mit zunehmendem LET (STAPLETON et al. 1952) ab. Für konventionelle Röntgenstrahlung ergibt sich eine deutlich S-förmige, für Neutronen und  $\alpha$ -Teilchen hingegen eine gestreckte Inaktivierungskurve. Für hohe Dosen erweist sich dabei die relative biologische Wirksamkeit dieser beiden Strahlenarten als etwa doppelt so hoch wie die RBW konventioneller Röntgenstrahlen.

Sowohl bei haploider als auch bei diploider Hefe ergab sich bei Untersuchungen mit Deuteronen und  $\alpha$ -Teilchen (ZIRKLE et al. 1952a) eine relative Konstanz der RBW zwischen 0,5 und 20 keV/ $\mu$ . Dann stieg die RBW bis zum höchsten untersuchten LET-Wert, nämlich 250 keV/ $\mu$ , bei den haploiden Zellen auf das 2,5fache und bei den diploiden Zellen auf das 3,5fache an.

Die RBW zeigt bei der Inaktivierung von Hefe, zum Unterschied von vielen anderen biologischen Effekten, im mittleren LET-Bereich kein Maximum, sondern steigt bis zu sehr hohen LET-Werten kontinuierlich weiter an. Hefezellen gelten seit langem als das Schulbeispiel für einen „Konzentrationseffekt“.

Gemessen an der Hemmung der Zellteilung von Farnsporen (*Pteris longifolia*) ergab sich wiederum zunächst ein „Konzentrationseffekt“, nämlich eine RBW von 1,3 für Neutronen, verglichen mit konventionellen Röntgenstrahlen (ZIRKLE et al. 1937). Unterschiede in der Hemmung des Mitoseablaufs zwischen schnellen Elektronen und konventionellen Röntgenstrahlen bei pflanzlichen Objekten wurden mehrfach beschrieben. Bei *Vicia faba* entfalteteten die Betatronstrahlen, schnelle Elektronen und ultraharte Röntgenstrahlen eine relativ stärkere Hemmwirkung als konventionelle Röntgenstrahlen (FRITZNIGGLI 1956; SCHMERMUND et al. 1952). Gemessen am Absinken des Mitoseindex 3 Std nach der Bestrahlung ergab sich für *Vicia faba* (GRAY und READ 1950) zunächst ein Anstieg der RBW von 1 für  $\gamma$ -Strahlen auf 2,15 für  $D(d, n)$ -Neutronen, gefolgt von einem Absinken auf 0,6 für Radon- $\alpha$ -Teilchen. Das Minimum des Residualwachstums bestrahlter Bohnenwurzeln entspricht nach älteren Untersuchungen von MARSHAK (1939, 1942) u. THODAY (1942) etwa der Häufigkeit abnormer Anaphasen und bei beiden Testreaktionen ergibt sich für Neutronen und  $\alpha$ -Teilchen eine vielfach höhere RBW als für konventionelle Röntgenstrahlen. Für eine Hemmung des Wurzelspitzenwachstums bei *Vicia faba* erhält man im LET-Bereich schneller Neutronen ein Maximum der RBW (AUSTIN et al. 1953).

Bei *Tradescantia* rufen Röntgenstrahlen und Neutronen qualitativ gleichartige Chromosomenaberrationen hervor (GILES 1943), doch nimmt die RBW mit dem linearen Energietransfer zu; CONGER et al. bestätigten 1956 dieses Ergebnis mit konventionellen Röntgenstrahlen, 2,5 MeV Neutronen und 14 MeV Neutronen.

Für die Vereinigung von Isochromatidbrüchen und für die Induktion von Chromosomenbrüchen ändert sich bei *Tradescantia* die Form der Dosiswirkungskurve mit dem LET. Sie verläuft bei höheren LET-Werten flacher (THODAY 1942). Nach LEA und CATCHESIDE restituieren etwa 80 % der durch konventionelle Röntgenstrahlen induzierten primären Chromosomenbrüche gegenüber nur etwa 50 % bei  $\alpha$ -Strahlen.

Bei LET-Werten über 10 keV/ $\mu$  wird die Aberrationsrate, unabhängig von der Sauerstoffspannung, ähnlich wie für die Entstehung von  $H_2O_2$ , so daß hier von GRAY (1953) ursächliche Zusammenhänge vermutet worden sind.

Chromosomenaberrationen lassen einen deutlichen strahlenbiologischen Sauerstoffeffekt erkennen. Mit 250 keV- und  $^{60}Co$ - $\gamma$ -Strahlung war für Chromotidbrüche bei *Tradescantia* ein sicherer Schutzeffekt durch Sauerstoffmangel nachweisbar (TANSLEY et al. 1953).

Die relative Häufigkeit manifester Brüche verglichen mit der Häufigkeit latenter „potentieller“ Brüche nimmt mit dem LET zu. Bei Gegenwart von Sauerstoff vermögen sich latente Brüche in manifeste umzuwandeln. Diese Auffassung deckt sich mit der von ALPER und HOWARD-FLANDERS (1956) vertretenen allgemeinen Hypothese der Sauerstoffwirkung, wonach reversible Primärveränderungen bei Gegenwart von Sauerstoff in irreversible überführt werden.

An Hühnerherzfibroblasten in Gewebeskultur untersuchten LASNITZKI und LEA (1940) das Ausmaß der Mitosehemmung nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen verschiedener Härte,  $\gamma$ -Strahlen und schnellen Neutronen und erhielten einen Anstieg der RBW mit dem linearen Energietransfer. Bei Bestrahlung von Hühnerherzfibroblasten-Kulturen und menschlichen Krebszellen (Stamm *HeLa*) ergaben sich quantitative Unterschiede in der relativen Häufigkeit gestörter Zellteilungen. Bei kleinem LET der Betatronstrahlung hängt die RBW in erheblichem Maße von der Dosisleistung ab (BECKER et al. 1958; GÄRTNER 1958). Gemessen an der Häufigkeit struktureller Chromosomenstörungen beim Yoshida-Sarkom der Ratte erwiesen sich 15 MeV Elektronen als biologisch weniger wirksam, verglichen mit konventionellen Röntgenstrahlen (DITTRICH 1957).

Nicht nur bei strahleninduzierten strukturellen Chromosomenstörungen des Sekundäreffektes wird eine Abhängigkeit von der Strahlenqualität beschrieben, sondern auch bei den sog. physiologischen Chromosomenstörungen des Primäreffektes, welche man nach Bestrahlung von Mitosezellen (SCHERMUND et al. 1952) beobachtet. ZIRKLE (1952) konnte an Einzelzellen nachweisen, daß es schon zu einer Depolymerisation der DNS an umschriebener Stelle der Chromosomenoberfläche kommt, wenn das Chromosom dort von einer relativ kleinen Anzahl  $\alpha$ -Teilchen oder Protonen getroffen wird.

### 3. Organe und Gewebe

Die strahlenbiologischen Reaktionen an Zellen im Gewebsverband werden durch das Wechselspiel zwischen den verschiedenen Gewebekomponenten eines Organs und durch die Wechselwirkung verschiedener Organe miteinander kompliziert. Schon in der gleichen Zelle laufen nebeneinander zahlreiche Strahlenreaktionen ab, die sich gegenseitig beeinflussen können. Dies gilt in noch höherem Maße für die verschiedenen Zellarten eines Organs. Als allgemeine Regel läßt sich feststellen, daß die biologische Wirksamkeit mit dem linearen Energietransfer zunächst zu- und später nach Überschreiten eines Maximums wieder abnimmt. Die RBW-Unterschiede sind für Kurzzeitbestrahlung gewöhnlich weniger ausgeprägt als für chronische Bestrahlung.

Die Strahlenempfindlichkeit eines Organs oder Gewebes hängt weitgehend von der gewählten Tierart ab. Dies gilt sogar für Tierarten, die der gleichen Klasse angehören.

So erweist sich nach McDONALD et al. (1955) die Linse des Kaninchenauges, gemessen an der Auslösung einer  $\beta$ -Strahlenkatarakt, als etwa viermal so strahlenempfindlich wie die Linse des Primatenauges und auch des menschlichen Auges. Daneben wird das Versuchsergebnis auch durch Alter, Wachstumsgeschwindigkeit, Körpergröße, Körperform, chromosomale Charakteristika und zahlreiche andere Merkmale beeinflusst. Je nach dem betrachteten Organ und Gewebe und je nach dem betrachteten Effekt finden sich daher sogar beim gleichen Organismus sehr unterschiedliche Strahlenempfindlichkeiten nebeneinander.

Im folgenden beschränken wir uns auf strahlenbiologische Untersuchungen, welche sich auf die nachstehend aufgeführten Organe und Reaktionen erstrecken: Augenlinse, Keimdrüsen, Milz, Thymus, Darm und transplantable Tumoren, Hemmung der Hämatopoese, Cancerogenese.

Der gefundene RBW-Wert kann merklich von der Dosisleistung abhängen, wie Untersuchungen von EVANS an der Augenlinse der Maus gezeigt haben. Beim Vergleich konventioneller Röntgenstrahlen mit schnellen Neutronen ergab sich für eine Einzeldosis ein RBW-Wert der Neutronenstrahlung von 6, für 3 gleiche Dosen jedoch von 9 (KOHN et al. 1956); LEINFELDER (1955), bei chronischer Bestrahlung sogar von 14 (EVANS et al. 1948).

Gemessen an dem Grad der Linsentrübung des Albino-Kaninchens ergab sich demgegenüber für (Be+T)-Neutronen, verglichen mit konventionellen Röntgenstrahlen, für Kurzzeitbestrahlung eine RBW von 9 (TANSLEY et al. 1953) und für  $\alpha$ -Teilchen mit 23 keV/ $\mu$  LET wurde eine RBW von 4,1 gefunden (v. SALLMANN et al. 1955). ZUPPINGER und FAVRE (1959) erhielten für ultraharte Röntgenstrahlen 30 MeV eine RBW von 1,0, für schnelle Elektronen 30 MeV eine solche von 0,6.

Für Fertilitätsminderung der weiblichen Maus durch Bestrahlung mit Neutronen bzw. konventionellen Röntgenstrahlen ergab sich bei Kurzzeitbestrahlung ein RBW-Wert von etwa 4, bei chronischer Bestrahlung jedoch ein höherer Wert von etwa 6—7 (EVANS 1948, 1949) (wobei 1 „N“ = 1,86 rad gesetzt wurde). Für die Fertilitätsminderung männlicher Mäuse erhielten SNELL und AEBERSOLD (1937) einen RBW-Wert von 3 für Neutronen im Vergleich zu Röntgenstrahlen, andere Untersucher für 10 keV/ $\mu$  Neutronen den Wert 9,85 und für Spaltneutronen (45 keV/ $\mu$ ) den Wert 6,55.

Für die Hodenatrophie der Maus 4 Wochen nach Bestrahlung ergaben sich die folgenden RBW-Werte: Für die  $\gamma$ -Strahlen des Radium und 1 MeV Röntgenstrahlen 1 (KOHN et al. 1956; STORER et al. 1957), für 250 kV Röntgenstrahlen 1,2, für schnelle Neutronen 1,7<sup>1</sup> für Spaltneutronen 2,0, für  $\alpha$ -Teilchen und Li-Rückstoßteilchen (thermische Neutronen bei Anwesenheit von B) 3,5 (STORER et al. 1957).

Zahlreiche Untersuchungen haben den Einfluß der Strahlenqualität auf die Strahlenatrophie von Milz und Thymus zum Gegenstand. Radium- $\gamma$ -Strahlung (0,3 keV/ $\mu$ ) und 250 kV Röntgenstrahlung erwiesen sich bei der Maus als gleich wirksam (STORER 1957), während 4 MeV Photonen (0,3 keV/ $\mu$ ) des gleichen mittleren linearen Energietransfers weniger wirksam waren als konventionelle Röntgenstrahlen. Es ist nicht sicher auszuschließen, daß unterschiedliche Isodosenverteilungen dieses Ergebnis beeinflusst haben. Beim Vergleich der Tritium ( $H^3$ )- $\beta$ -Strahlung (5,5 keV/ $\mu$ ) mit einer  $\gamma$ -Strahlung kleiner Dosisleistung als Standard ergab sich für die Milz- bzw. Thymusatrophie ein RBW-Wert von 1,3 bzw. 1,5, für schnelle Neutronen in beiden Fällen der Wert 1,5 und für Spaltneutronen der RBW-Wert 1,8 (STORER et al. 1957). Andere Autoren (CONGER et al. 1957 und 1958) geben jedoch für die Milzatrophie den höheren Wert 4,4 an.

Für die RBW schwererer Rückstoßteilchen schneller Neutronen und Spaltfragmente von  $^{239}\text{Pu}$  liegen Schätzungen vor (STORER et al. 1957).

Bei Veränderungen des weißen Blutbildes bei verschiedenen Tierarten ergaben sich für schnelle Neutronen RBW-Werte zwischen 2,5 und 4,0 (EVANS 1948; LAWRENCE et al.

<sup>1</sup> Bei extrem protrahierter Bestrahlung ergab sich jedoch für schnelle Neutronen eine RBW von 14 (EVANS 1948).

1936, 1937). Die Resorption von  $^{59}\text{Fe}$  erwies sich, im Gegensatz zu den bisher besprochenen Testreaktionen, als weitgehend unabhängig von der Strahlenqualität bzw. vom LET (BOND et al. 1956; RAMBACH et al. 1959; STORER et al. 1957). Für die Zellschädigungen des Darmes hingegen ergab sich eine RBW schneller Neutronen von 7 (LESHER et al. 1958), für die Dünndarmatrophie von 2,3 (CARTER et al. 1956).

Eine sehr eingehende experimentelle Studie über chronische Strahlenschäden durch schnelle Neutronen stammt von NEARY u. Mitarb. (1957), über die hier im Zusammenhang berichtet sei. Bei chronischer Bestrahlung mit  $\gamma$ -Strahlen und schnellen Neutronen erhielten die Autoren RBW-Werte für die Neutronenstrahlung, gemessen am Gewichtsverlust der Hoden, die unter 8 lagen, gemessen an der Einschränkung der männlichen Fertilität RBW-Werte von etwa 6,5; für die Einschränkungen der weiblichen Fertilität RBW-Werte von 3, für hämatologische Veränderungen, wenn das Absinken der weißen Blutkörperchen im Blutbild als Test benutzt wurde, von 7, für den Gewichtsverlust von Milz und Thymus RBW-Werte von etwa 7. Gemessen an Hodengewicht und männlicher Fertilität ändert sich die RBW nicht so stark mit der Dosisleistung, wie früher von EVANS (1948, 1949) angenommen worden war. Bei chronischer Bestrahlung gehen die Veränderungen des peripheren Blutbildes der Gewichtsabnahme des Testes parallel.

Qualitative Unterschiede zwischen  $\gamma$ -Strahlen und schnellen Neutronen hinsichtlich des Einflusses dieser Strahlungen auf das Gewicht von Hoden, Milz, Thymus, männliche und weibliche Fertilität sowie auf das weiße Blutbild wurden nicht gefunden. Die RBW schneller Neutronen, gemessen an der Verminderung des Hodengewichts nach einer 24 Std langen Bestrahlung war für drei genetisch verschiedene Mäusestämme sehr unterschiedlich und betrug 5,1 bzw. 6,2 bzw. 9,7. Gemessen an der Gewichtsminde rung der Hoden änderte sich die RBW nicht, wenn die Bestrahlungsdosis innerhalb von 24 Std oder über 7 Monate verteilt verabfolgt wurde. Gemessen an der Minderung der männlichen Fertilität von CBA-Mäusen lag die RBW für chronische Bestrahlung bei 6—7, gemessen an der Minderung der weiblichen Fertilität bei 3. Bei sehr kleinen Dosisleistungen waren die Gonaden die strahlenempfindlichsten Organe der Maus.

Beim Vergleich der Letalwirkung von Neutronen und  $\gamma$ -Strahlen auf transplantable Tumoren der Maus ergab sich für schnelle Neutronen ein RBW-Wert von 9,5, wenn die Tumoren in vitro bestrahlt worden waren und von 24 bei Bestrahlung in vivo (GRAY et al. 1948).

Bei zahlreichen anderen Strahlenwirkungen an speziellen Geweben oder Organen, über die in der Literatur berichtet wird, ergeben sich insgesamt numerische Werte der RBW von Neutronen verglichen mit  $\gamma$ -Strahlen zwischen 3 und 24, und es ist keineswegs möglich, eine befriedigende Erklärung für diese große Variationsbreite anzugeben. Teilweise dürften die von den einzelnen Untersuchern gefundenen Unterschiede auf Unterschiede in der Isodosenverteilung und auf Irrtümer in der Dosimetrie zurückzuführen sein; sie sind teilweise aber auch in der Wahl unterschiedlicher biologischer Kriterien begründet.

#### 4. Letaleffekte und Wachstumshemmung bei höheren Organismen

Beim Strahlentod höherer Tiere und des Menschen wirken sicherlich viele Faktoren zusammen. Je nach dem gewählten Dosisbereich kann der Strahlentod im einzelnen sehr verschiedene Ursachen haben und daher die RBW erheblich von der gewählten Dosis abhängen. Als Testreaktion benutzt man entweder das Absterben von 50 % des bestrahlten Tierkollektivs 10 oder 30 Tage nach Bestrahlung — die zugehörige Dosis wird als Letaldosis 50 %, 10 Tage ( $\text{LD}_{50/10}$ ) usw. bezeichnet — oder aber die Verkürzung der Überlebenszeit nach subletalen Dosen.

Solche Untersuchungen erstreckten sich vor allem auf die verschiedenen Laboratoriumstiere: Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen usw.

Eine große Zahl von Untersuchungen mit Neutronen, Röntgen- und  $\gamma$ -Strahlen wurden an der Maus durchgeführt. MITCHELL (1947) fand 1947 eine RBW der Neutronen

bezogen auf  $\gamma$ -Strahlung von  $32 \pm 8,6$ , wenn die Absterberate ganzkörperbestrahlter Tiere 20 Tage nach der Bestrahlung als Testreaktion benutzt wird. EVANS (1948, 1949) erhielt 1948 und 1949 mit Neutronen für den Letaleffekt bei Dosen zwischen 400 und 1200 rad mit großer bis mittlerer Dosisleistung eine RBW von 4, für sehr kleine Dosisleistung jedoch eine RBW von 6—7. Für die Verkürzung der Lebenszeit ergab sich eine RBW von 9.

Auch andere Autoren stellten eine Zunahme der RBW schneller Neutronen im Vergleich zu  $\gamma$ -Strahlung fest, wenn die Dosisleistung vermindert wird (HENSHAW et al. 1947), und zwar vor allem bedingt durch eine besonders starke Wirkungsminderung der  $\gamma$ -Strahlung mit abnehmender Dosisleistung.

Demgegenüber stellten einige Autoren (CURTIS et al. 1958; MELVILLE et al. 1957) bei Fraktionierung von  $\gamma$ -, Röntgen- und Neutronendosen keine Unterschiede in der Erholungsfähigkeit fest.

Der Tod tritt bei der mit Neutronen ganzkörperbestrahlten Maus relativ früher auf als nach  $\gamma$ -Bestrahlung (VOGEL et al. 1953, Abb. 4). RBW-Werte für die Letalität bei

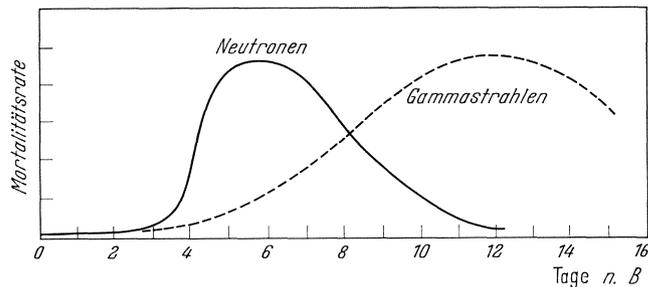


Abb. 4. Mortalitätsraten bei der Maus nach  $\gamma$ - und Neutronenganzbestrahlung (nach VOGEL, CLARK und JORDAN 1953)

der Maus sind unter Berücksichtigung des Schrifttums bis 1960 in Tabelle 3 zusammengestellt.

Die Literaturangaben über die RBW schneller Neutronen verglichen mit  $\gamma$ -Strahlen schwanken in einem weiten Spielraum zwischen 4 und 32. Die Differenzen sind z.T. durch Inhomogenität der Bestrahlungsdosis bedingt z.T. wohl auch durch Irrtümer in der Dosimetrie sowie in den sehr unterschiedlichen Kriterien für den Letaleffekt.

VOGEL, CLARK und JORDAN (1953) haben ausgeführt, daß man zu sehr verschiedenen RBW-Werten gelangen kann, je nachdem, ob man als Kriterium die  $LD_{50/30}$  oder die  $LD_{50/10}$  wählt. Im ersten Fall erhält man z.B. mit schnellen Neutronen RBW-Werte zwischen 4 und 6, im zweiten Fall jedoch wesentlich höhere Werte. Schließlich sind sicherlich auch in dieser Hinsicht noch echte Unterschiede zwischen den verschiedenen Mäusestämmen vorhanden.

Die RBW-Werte für Organschädigungen, wie z.B. Linsentrübung oder Schädigung der Gonaden, liegen oft höher als für die Letalschädigung.

Zum Einfluß der Strahlenqualität auf den Letaleffekt bei der Maus läßt sich summarisch feststellen: Die  $LD_{50/30}$  steigt innerhalb eines LET-Bereiches von 3—10 keV/ $\mu$  an, ändert sich bis 45 keV/ $\mu$  nicht mehr wesentlich und sinkt anschließend wiederum ab. Die durch Chromosomenaberrationen verursachte verzögerte Letalwirkung ionisierender Strahlen weist eine sehr ähnliche Abhängigkeit vom LET auf.

Der Letaleffekt hängt bei der Maus nicht nur von der Dosis sondern auch von der Dosisleistung ab. Für eine ultraharte 22,5 MeV Röntgenstrahlung erhielten TYREE et al. (1954) bei der Röntgendosis 580 R einen RBW-Wert von 0,87, bei einer Dosis 800 R konventioneller Röntgenstrahlen 180 kV als Standard jedoch einen RBW-Wert von 0,42. Die  $LD_{50}$  der Maus nimmt für  $\gamma$ -Strahlen mit der Dosisleistung ab, kaum jedoch für Neutronen aus Kernspaltungsprozessen.

Tabelle 4 enthält einige Angaben über die Änderung der RBW mit Protrahierung und Fraktionierung der Bestrahlungsdosis. Die Absterbeordnung nach akuter  $\gamma$ - oder Röntgenbestrahlung unterscheidet sich von der Absterbeordnung nach akuter Neutronenbestrahlung. Der Mortalitätsgipfel liegt bei der Maus für  $\gamma$ - und Röntgenbestrahlung etwa am 14., für Neutronenbestrahlung am 5. Tag, und zwar für Dosen, welche eine Gesamtmortalität von 20—80% hervorrufen (ROTHERMEL et al. 1956; CLARK et al. 1957). Auch

die strahlenbedingte Bakteriämie tritt nach Neutronenbestrahlung viel früher auf (CLARK et al. 1957). Während nach subletalen Röntgendosen die Schädigung des hämatopoetischen Systems die Gesamtschädigung bestimmt, steht nach subletalen Neutronendosen die Strahlenschädigung des Darmes im Vordergrund (LESHER et al. 1958).

Im Hinblick auf Strahlenschutzfragen ist vor allem der Einfluß chronischer Bestrahlung von großem Interesse. Eine chronische Strahleneinwirkung beschleunigt schon normalerweise ablaufende Altersvorgänge: Veränderungen am Blutgefäß-Bindegewebsystem, regressive Veränderungen an den organspezifischen Zellen parenchymatöser Organe, gehäuftes Auftreten von Nephrosklerose mit Hypertonus, Involution des Endokriniums und erhöhte Leukämieanfälligkeit als auffälligste Strahlenspätchäden. Chronische Einwirkungen ionisierender Strahlenarten schränkt die Anpassungsfähigkeit des Organismus an die Umwelttoxine ein. Im Gegensatz zu Strahlenschäden einer Kurzzeitbestrahlung sind die die Spätmortalität bedingenden Veränderungen kaum mehr reversibel.

Tabelle 4. *Abhängigkeit der RBW von der Dosisleistung (Fraktionierung)*

Objekt	Strahlenreaktion	Bestrahlungsart	Standardstrahlung	Strahlenart	RBW	Autor
Maus	Absterbeordnung	10—60 min	$\gamma$ -Strahlen	schnelle Neutronen (Be+d)	$7,5 \pm 2,5$	MITCHELL (1947)
Maus	Absterbeordnung	48 Std	$\gamma$ -Strahlen	schnelle Neutronen (Be+d)	$32,0 \pm 8,6$	MITCHELL (1947)
Maus	Absterbeordnung	1,5 Std	$\gamma$ -Strahlen (Co <sup>60</sup> )	aus Kernspaltungsprozessen	1,5	VOGEL et al. (1957)
Maus	Absterbeordnung	24 Std	$\gamma$ -Strahlen	aus Kernspaltungsprozessen	6,3	VOGEL et al. (1957)
Huhn	LD <sub>50 21</sub>	1 rep/min	$\gamma$ -Strahlen	schnelle Neutronen	3,94	VOGEL et al. (1955)
Huhn	LD <sub>50/21</sub>	22 rep/min	$\gamma$ -Strahlen	schnelle Neutronen	3,72	VOGEL et al. (1955)
Ratte	LD <sub>50</sub>	einmalige Dosis	Röntgenstrahlen (400 keV)	22 MeV Röntgenstrahlen	0,75	MOOS et al. (1955)
Ratte	LD <sub>50</sub>	fraktionierte Dosis	Röntgenstrahlen (400 keV)	22 MeV Röntgenstrahlen	55—66	MOOS et al. (1955)
Ratte	50 % Überlebende	höhere Intensität (250 R/Tag)	Röntgenstrahlen (400 keV)	22 MeV Röntgenstrahlen	1,09	MOOS et al. (1956)
Ratte	50 % Überlebende	niedere Intensität (50 R/Tag)	Röntgenstrahlen (400 keV)	22 MeV Röntgenstrahlen	0,57	MOOS et al. (1956)

In den bereits früher erwähnten sehr sorgfältig durchgeführten Untersuchungen von NEARY u. Mitarb. (1957) über die Mortalität chronisch bestrahlter Mäuse ergab sich für schnelle Neutronen, verglichen mit  $\gamma$ -Strahlung, ein RBW-Wert von 10 bzw. in einer neueren Versuchsserie von 14,5<sup>1</sup>.

Eine Vielzahl von Untersuchungen über den Einfluß der Strahlenqualität auf die biologische Strahlenwirkung wurden an verschiedenen *wachsenden* pflanzlichen und tierischen Organismen durchgeführt. An pflanzlichen Embryonen (MACKEY 1951, 1952) ergaben sich zum Teil recht hohe RBW-Werte für schnelle Neutronen im Vergleich zu konventionellen Röntgenstrahlen.

Eine neben den schon früher erwähnten Mitosestörungen häufig benutzte Testreaktion ist die Hemmung des Wurzelwachstums von *Vicia faba*. Gemessen an der LD<sub>50</sub> ergab sich beim Vergleich von  $\gamma$ -Strahlen, konventionellen Röntgenstrahlen, schnellen Neutronen und  $\alpha$ -Teilchen ein Anstieg der RBW (GRAY et al. 1944) mit dem linearen Energietransfer. Signifikante Abweichungen von der Additivität verschiedener Strahlenarten wurden nicht festgestellt (GRAY et al. 1944). Die RBW nimmt mit der Dosis ab (GRAY et al. 1951; NEARY et al. 1959).

<sup>1</sup> Persönliche Mitteilung.

Ein für vergleichende Untersuchungen geeignetes tierisches Objekt sind Embryonen und Puppen von *Drosophila melanogaster*. Schon die ersten Untersuchungen hatten für jüngere Embryonen gleiche biologische Wirksamkeit schneller Elektronen und konventioneller Röntgenstrahlen ergeben (HÖHNE et al. 1949). Die RBW der Betatronelektronen sinkt jedoch mit zunehmendem Alter des Embryos ab. Dieses Ergebnis wurde durch spätere Untersuchungen (FRITZ-NIGGLI 1955), die z.T. mit verkürzter Eisammelperiode und mit 31 MeV Photonen arbeiteten, bestätigt. Auch bei *Drosophila*-Puppen ergab sich eine geringere biologische Wirksamkeit ultraharter Strahlung verglichen mit konventionellen Röntgenstrahlen (DITTRICH et al. 1949). Ähnliches gilt auch für eine Reihe anderer Testobjekte und Testreaktionen (DITTRICH et al. 1953).

Ionisierende Strahlung hemmt die Regenerationsfähigkeit geschädigten Gewebes. Vergleichende Untersuchungen über den Einfluß der Strahlenqualität auf diesen Effekt sind jedoch bisher relativ selten durchgeführt worden. Beim Vergleich schneller Neutronen (LET 20 keV/ $\mu$ ) mit konventioneller Röntgenstrahlung als Standard ergab sich für den Ersatz eines amputierten Vordergliedes der *Amblyostoma*-Larva eine RBW von 7, wenn Dosen miteinander verglichen wurden, welche die Regenerationsfähigkeit gerade eben aufhoben (HORN 1949). Gemessen an der Letalität bei Hühnerembryonen (KOHN et al. 1956) erwiesen sich 1 MeV Röntgenstrahlen verglichen mit konventionellen Röntgenstrahlen als etwas weniger wirksam.

### 5. Früh- und Spätreaktionen

Unterschiede der RBW sind gewöhnlich für Früheffekte weniger deutlich ausgeprägt als für Späteneffekte. Vor allem vergleichende Untersuchungen über den akuten Strahlentod und über die Spätletalität lassen für Früheffekte eine größere Erholungsfähigkeit des bestrahlten biologischen Systems erkennen als für Späteneffekte. Die RBW-Werte für die Spätletalität weisen eine ausgeprägtere Abhängigkeit von der Strahlenqualität auf, als die RBW-Werte für die Frühletalität.

Von klinischem Interesse sind die bei vielen therapeutischen Bestrahlungen im Körperinnern liegender Krankheitsherde gesetzten Früh- und Spätschäden der Haut und des Bindegewebes. Für die Erzeugung eines Früherythems der Haut durch schnelle Neutronen, verglichen mit konventionellen Röntgenstrahlen, ergab sich ein RBW-Wert von 4 (STONE 1948; STONE et al. 1942), für Spätreaktionen des mitbestrahlten gesunden Gewebes jedoch ein RBW-Wert, der sicher über 5 lag. Besonders schwerwiegende klinische Störungen resultierten aus den Spätschäden der Haut, die im Strahleneintrittsfeld einige Jahre nach einer Neutronenbehandlung auftraten, nämlich Narbenbildung mit schweren Gewebsschrumpfung usw.

Zahlreiche Untersuchungen über die RBW von  $\gamma$ -Strahlen verglichen mit konventionellen Röntgenstrahlen, gemessen an Hauterythem, Schleimhautreaktion usw., haben eine größere Wirksamkeit der konventionellen Röntgenstrahlen ergeben. Die RBW einer ultraharten 20 MeV-Röntgenstrahlung, verglichen mit konventionellen Röntgenstrahlen (200 kV), lag bei 0,6 und 0,7 (AUSTIN et al. 1953; CHASE et al. 1950). Auch für primäre schnelle Betatron-Elektronen wurde eine geringere biologische Wirksamkeit, gemessen an der Intensität des Strahlenerythems, gefunden als für konventionelle Röntgenstrahlen (AUSTIN et al. 1953; KEPP 1950; KEPP et al. 1951).

Der Ablauf des Hauterythems unterscheidet sich jedoch in den beiden Fällen, wenn schnelle Elektronen kleiner Energie (2—3 MeV) benutzt werden. Diese Unterschiede sind jedoch nicht allein auf Unterschiede in der Strahlenqualität zurückzuführen. Sie sind vielmehr eine Folge der unterschiedlichen Isodosenverteilung, wie BODE (1950) nachweisen konnte. Die verschiedenen Etagen der Haut, welche für die verschiedenen Wellen des Erythems verantwortlich sind, werden in diesem Fall in unterschiedlicher Weise belastet.

Zu den schwerwiegendsten Strahlenspätchäden gehört der Strahlenkrebs. Auch für die Auslösung des Strahlenkrebses ergibt sich eine RBW schneller Neutronen, verglichen mit  $\gamma$ -Strahlung bzw. konventioneller Röntgenstrahlung, über 1. Für die Auslösung einer Mäuseleukämie ergab sich biologische Gleichwertigkeit von 500—700 R  $\gamma$ -Strahlung und 48—167 rad Neutronenstrahlung (HENSCHAW et al. 1947).

Die RBW schneller Neutronen als cancerogenes Agens liegt über 1 (NOWELL et al. 1958) und entspricht etwa der für die akute Letalität festgestellten RBW (UPTON et al. 1956).

## 6. Nebenbedingungen

Auf die Abhängigkeit der RBW von Dosis und Dosisleistung wurde hier bereits des öfteren hingewiesen. In der Regel vermindern sich die Unterschiede in der biologischen Wirksamkeit mit zunehmender Dosisleistung, während die Abhängigkeit der RBW von

Tabelle 5. *Abhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit von der Sauerstoffspannung* (nach GRAY et al. 1959)

	HOWARD-FLANDERS und ALPER			DESCHNER und GRAY
	Bakterien		Hefe	Ehrlich Ascites-Tumorzellen
	Shigella flexneri Y 6 R	E.-Coli B/r	Saccharomyces cerevisiae	
Maximales Verhältnis der Strahlenempfindlichkeiten m				
Röntgenstrahlen bei 3° C	—	—	—	2,7 ± 0,15
bei Zimmertemperatur oder 18° C	2,92 ± 0,07	3,11 ± 0,11	2,4	3,1 ± 0,15
bei 35° C	—	—	—	2,9 ± 0,15
Neutronen	1,5	—	1,6	—
Sauerstoffkonstante K in $\mu\text{M/l}$				
Röntgenstrahlen bei Zimmertemperatur oder 18° C	4,0 ± 0,4	4,7 ± 0,3	5,8	5 ± 2

der Dosis nicht einheitlich ist (BORA 1955, 1958; EDINGTON 1956; KAYHART 1956; TYREE et al. 1954).

An dieser Stelle sei kurz auf die Besonderheiten einer ultrafraktionierten Bestrahlung eingegangen. Zum Unterschied von der  $\gamma$ -Strahlung der Radioisotope ist die Betatronstrahlung und die Strahlung der Linearbeschleuniger keine kontinuierliche, sondern eine ultrafraktionierte Strahlung. Mit der Periodenzahl von 50, in einigen Fällen auch 500 Impulsen pro Sekunde und mehr liefern die genannten Geräte kurzdauernde Strahlenstöße von hoher Intensität.

Einige Autoren haben (KEPP 1954; KEPP et al. 1951) teils mit konventionellen Röntgenstrahlen, teils mit  $\beta$ - und  $\gamma$ -Strahlen strahlenbiologische Untersuchungen über den Einfluß einer Ultrafraktionierung der Bestrahlungsdosis durchgeführt. Die geprüften „Flimmer“-Frequenzen lagen zwischen 5 und  $10^5$  Impulsen pro Sekunde. Eine befriedigende Erklärung der gewonnenen, teilweise überraschenden Resultate steht im einzelnen noch aus.

Eine kurze Überlegung zeigt jedoch, daß bei den üblichen therapeutischen Dosisleistungen etwa der Betatronstrahlung zwei verschiedene Elektronendurchgänge über mehrere Zellgrenzen hinweg völlig verschiedenartig zusammenwirken müßten, wenn sie innerhalb einer Mikrosekunde, der Größenordnung des Einzelimpulses, aufeinanderfolgen als z. B. bei einem mittleren zeitlichen Abstand von  $1/50$  sec, damit sich überhaupt die Ultrafraktionierung der Betatronstrahlung auf den strahlenbiologischen bzw. strahlentherapeutischen Effekt der Betatronstrahlung auswirken kann. Bei einer Periodenzahl von 50 pro Sekunde und einer mittleren Dosisleistung von 100 rad/min durchqueren je Impuls im Mittel

jeweils zwei verschiedene Elektronenbahnen ein Gewebsvolumen von etwa  $10^3 \mu^3$ . In einem Gewebsvolumen dieser Größe sind mehrere Zellen enthalten. Daher ereignet sich bei einer mittleren Dosisleistung von 100 rad/min offenbar der Fall nur selten, daß während desselben Strahlenimpulses eine Einzelzelle von mehr als einem einzigen Elektron durchquert wird. Ultrafraktionierungseffekte sind daher wohl für die Betatronstrahlung gelegentlich in Betracht gezogen, bisher jedoch noch nicht mit Sicherheit nachgewiesen worden.

Eine Zunahme der RBW schneller Neutronen mit absinkender Temperatur wurde für bestimmte Chromosomenaberrationen bei *Tradescantia* festgestellt (BORA 1958).

Von chemischen Milieufaktoren, welche den Einfluß der Strahlenqualität auf die Strahlenwirkung verändern können, wurde in der letzten Zeit vor allem der Einfluß der Sauerstoffspannung besonders eingehend quantitativ analysiert. Aus Tabelle 5 geht hervor, daß der Zahlenwert der Größe  $m$  in der von ALPER und HOWARD-FLANDERS (1956) aufgestellten und den strahlenbiologischen Sauerstoffeffekt beschreibenden Gleichung:

$$\frac{S - S_a}{S_a} = (m - 1) \frac{[O_2]}{[O_2] + K}$$

mit dem LET abnimmt.

In dieser Gleichung bedeuten  $S$  die Strahlenempfindlichkeit,  $S_a$  die Strahlenempfindlichkeit unter anaeroben Bedingungen und  $[O_2]$  die Konzentration des gelösten Sauerstoffs. Die Sauerstoffkonstante  $K$  gibt an, wie rasch die Strahlenempfindlichkeit  $S$  mit der Sauerstoffspannung zunimmt.  $m$  gibt das Verhältnis der Strahlenempfindlichkeiten bei sehr hoher Sauerstoffspannung und Sauerstoffmangel an.

Bei *Vicia faba* nimmt die RBW schneller Neutronen mit der Sauerstoffspannung ab wenn die Induktion von Mikronuclei und die Hemmung des Mitoseablaufs getestet wird (NEARY et al. 1959), ein Fall, auf den die Howard-Flanders-Alpersche Gleichung offensichtlich nicht anwendbar ist.

## V. Die biophysikalische Deutung

Eine einheitliche Theorie des Mechanismus der biologischen Strahlenwirkung kann es schon deshalb nicht geben, weil mit Sicherheit mehrere ganz verschiedene Mechanismen, z.T. sogar nebeneinander, am Zustandekommen biologischer Strahlenwirkungen beteiligt sein können, ein Sachverhalt, den ZIMMER (1960a) besonders hervorhebt. Diese verschiedenen Wirkungsmechanismen lassen sich mangels schärfer Kriterien nicht immer streng gegeneinander abgrenzen. Unverkennbar ist eine Vorliebe der mehr physikalisch orientierten Forscher für physikalische und der mehr chemisch orientierten für chemische Theoriebildung, während andere Strahlenbiologen wiederum die Bedeutung der biologischen Variabilität ganz in den Vordergrund rücken möchten.

Untersuchungen an wasserfreien „Biochemikalien“, an wäßrigen Lösungen und trockenen oder in wäßrigen Medien suspendierten Viren und Phagen machten deutlich, daß eine vollständige Analyse des Einflusses der Strahlenqualität auf die Strahlenwirkung ohne ein näheres Eingehen auf die Besonderheiten des unterschiedlichen linearen Energietransfers ionisierender Strahlenarten gar nicht möglich ist (vgl. die Abschnitte III, IV 1).

Ohne Zweifel überwiegen in einer Gesamtschau die sämtlichen ionisierenden Strahlenarten gemeinsamen Wirkungen alle Besonderheiten, welche sich aus Unterschieden im linearen Energietransfer ergeben. Allen ionisierenden Strahlenarten gemeinsam ist die Übertragung einer verhältnismäßig großen Energiemenge auf die strahlenempfindlichen biologischen Strukturen, während die unterschiedliche Topographie von Ionisationen bzw. Radikalen den Einfluß der Strahlenqualität zumindest qualitativ verständlich macht.

Entscheidende biologische Strukturen, wie etwa die des genetischen Materials, werden durch ein einziges oder durch wenige Großmoleküle repräsentiert, die sich, wie etwa die Bakteriophagen-DNS, elektronenoptisch sogar unmittelbar zur Darstellung bringen lassen. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit einer eingehenden Betrachtung der

zum biologischen Primärvorgang hinführenden mikrophysikalischen Ereignisse. Mehr oder weniger bewußt machen viele Forscher hierbei von Begriffen Gebrauch, die mit dem Namen der sog. Treffer- und Treffbereichstheorie verknüpft sind. Diese gehört wohl zu den verbreitetsten, aber wohl auch zu den am meisten umkämpften Theorien der Strahlenbiologie.

Bei der Diskussion des Problems der RBW muß daher auf Postulate dieser Theorie, die man gelegentlich zurückhaltend als Treffer- und Treffbereichs-„Hypothese“ bezeichnet (ZIMMER 1960a), kurz eingegangen werden.

Die Treffer- und Treffbereichstheorie geht von drei grundlegenden Postulaten aus:

1. Es besteht ein ursächlicher Zusammenhang zwischen dem in diskreten Einzelakten ablaufenden Prozeß der Energieabsorption und dem beobachtbaren Strahleneffekt, gleichgültig, ob der quantenhafte Charakter der Energieabsorption in der Dosiswirkungsbeziehung schließlich deutlich wird oder nicht (Trefferprinzip der biologischen Strahlenwirkung).

2. Das ionisierende Teilchen muß einen oder mehrere strahlenempfindliche Treffbereiche oder deren unmittelbare Nachbarschaft durchqueren, damit die Strahlenreaktion ausgelöst werden kann. Das Volumen des Treffbereichs, das „Treffvolumen“, ist häufig, aber nicht notwendig, klein im Vergleich zum Gesamtvolumen der reagierenden biologischen Einheit.

3. Die Energieübertragung auf materielle Strukturen des Treffbereichs ist der biologisch entscheidende Prozeß, wobei neben Anregungen vor allem die Ionisationen besonders wirksame physikalische Primäreignisse darstellen.

Die in den Strukturen des Treffbereichs gesetzten physikalischen, physikalisch-chemischen und chemischen Veränderungen sind nur teilweise reversibel. Die Existenz zahlreicher wirksamer Strahlenschutzstoffe und einiger Strahlensensibilisatoren lehrt, daß diffusible chemische Substanzen in der Reaktionskette, welche vom physikalischen Primäreignis zur beobachtbaren biologischen Strahlenwirkung führt, noch nachträglich eingreifen und diese Reaktionskette stören oder unterbrechen können.

Einwände gegen die Treffertheorie richten sich zumeist nicht gegen die statistisch-atomistische Interpretation der Primärvorgänge, sondern sie richten sich vorwiegend gegen allzu spezielle Modellvorstellungen und gegen unzulässige Vereinfachungen bei Anwendung des mathematischen Formalismus. Bei einfachen biologischen Objekten, z.B. trockenen Viren oder Bakteriophagen, läßt sich der Mechanismus der direkten Strahlenwirkung unmittelbar erkennen, und es sind wohlbegründete Aussagen über die Wirkungswahrscheinlichkeit der verschiedenen physikalischen Primäreignisse, z.B. eines Teilchendurchganges durch den Bakteriophagenkern, einer kleinen Ionisationsgruppe usw. möglich (vgl. Abschnitt IV 1). Bei komplizierteren biologischen Objekten hingegen sind wohl stets mehrere Wirkungsmechanismen nebeneinander beteiligt, beispielsweise bei der Auslösung von Chromosomenbrüchen. Ein Teil der gesetzten Schäden ist zudem sicherlich reversibel. Daher sind Aussagen über die Wirkungswahrscheinlichkeit der Treffer und damit über die wahre Größe des oft hochgradig unterteilten Treffbereichs meist mit großer Unsicherheit behaftet. Diese Wirkungswahrscheinlichkeit wird zudem nicht allzu selten durch äußere Eingriffe in den Ablauf der Reaktionskette, die vom physikalischen Primäreignis zum beobachteten Strahleneffekt führt, erheblich modifiziert.

Das aus Dosiswirkungskurven errechnete formale Treffvolumen kann daher nicht ohne weiteres mit dem wahren Treffvolumen eindeutig verknüpft oder gar identifiziert werden.

Andere Einwände betreffen die Vernachlässigung der biologischen Variabilität auf die Form der Trefferkurve. Erst in letzter Zeit ist der rechnerische Nachweis erbracht worden, daß auch reine Exponentialkurven durch sehr verschiedene Arten der Variabilität von (formalem) Treffvolumen oder auch der (formalen) Trefferzahl zustande kommen können (DITTRICH 1960), ein Fall, der bei der Abtötung von *Drosophila*-Embryonen

gewisser Altersklassen gegeben ist, wenn man die Sammelperiode der Embryonen über Stunden ausdehnt (ULRICH 1955), und der zu irrtümlichen Interpretationen Veranlassung gab.

Die aus Dosiswirkungskurven errechnete formale Trefferzahl darf nicht ohne weiteres als „wahre“ Trefferzahl interpretiert werden (TIMOFÉEFF et al. 1947; ZIMMER 1960; ZUPPINGER 1928).

Weitere berechnete Einwände wenn auch nicht gegen die Treffer- und Treffbereichshypothese als solche, so doch gegen eine weitere mißbräuchliche Anwendung des zu speziellen Modellen gehörigen mathematischen Formalismus können sich aus dem Nichtbeachten einer Zeitfaktorenabhängigkeit des biologischen Effektes ergeben. Auch in dieser Hinsicht sind in letzter Zeit Fortschritte erzielt worden, indem sich die Notwendigkeit einer strikten Unterscheidung von Zeit- und Dosisleistungskurven nachweisen ließ (DITTRICH 1957).

Bis vor kurzem galt eine Beeinflussbarkeit der Strahlenwirkung durch Schutzstoffe oder Sauerstoff bei deutlicher Temperaturabhängigkeit des Effektes als Hinweis auf die Beteiligung indirekter Wirkungsmechanismen. Da jedoch Schutzstoff- und Sauerstoffeffekte, die eine deutliche Temperaturabhängigkeit aufweisen, auch an wasserfreiem Material beobachtet wurden gilt dieses Argument nur für den Fall, daß die Strahlenempfindlichkeit in der Gegend des Gefrierpunktes des Wassers eine deutliche Sprungstelle aufweist (SOMMERMEYER 1959).

Wegen der hohen Konzentration gelöster organischer Substanzen in Zellen und Geweben ist man in vielen Fällen berechtigt, der direkten Strahlenwirkung in vivo eine mindestens ebenso große Bedeutung beizumessen wie der indirekten.

Eine Synthese der Treffer- und Treffbereichshypothese mit der indirekten Theorie der Strahlenwirkung ist von mehreren Autoren SOMMERMEYER (1941, 1952), TOBIAS (1952), ZIRKLE, R. A. WIJSMAN (1956), HUTCHINSON (1957) u. a. in der sog. Diffusionstheorie versucht worden, welche annimmt, daß bei einem Teilchen-Durchgang in der Nachbarschaft empfindlicher Strukturen diffusible Energieträger entstehen, die an diese Strukturen herandiffundieren (Energietransport) und die für die Strahlenschädigung verantwortlich sind. Nach TOBIAS (1952) entsteht eine Substanz A im niederen und eine Substanz B im hohen LET-Bereich. Nach der Diffusionstheorie vergrößert sich das Treffvolumen um ein zusätzliches „Migrationsvolumen“. Ähnliches gilt übrigens auch für andere Formen der Energieausbreitung, z. B. durch intermolekulare Energiewanderung und steht durchaus im Einklang mit Postulat 2, der Treffbereichshypothese.

Der aus Treffer- und Treffbereichshypothese entwickelte mathematische Formalismus hat sich für eine biophysikalische Analyse von Strahlenwirkungen und deren Abhängigkeit von der Strahlenqualität in dem Maße als fruchtbar erwiesen, wie seine Begriffe mit echtem biophysikalischem Inhalt erfüllt werden konnten. Weniger plausible Möglichkeiten sollten nicht oder nur unzureichend gesicherte Prämissen nicht ohne weiteres beiseite geschoben („Okhams razer“), vielmehr als solche ausdrücklich und deutlich gekennzeichnet werden.

## VI. Die RBW ionisierender Strahlenarten in Strahlentherapie und Strahlenschutz

Nur in Ausnahmefällen ist es möglich, aus therapeutischen Erfolgen bei der Anwendung ionisierender Strahlenarten Rückschlüsse auf die Elektivität dieser Strahlungen zu ziehen. Für gewöhnlich sind nämlich die Isodosenverteilungen bei Anwendung unterschiedlicher Therapiegeräte so unterschiedlich, daß es kaum gelingt, Auswirkungen der andersartigen Isodosenverteilung mit Sicherheit von Auswirkungen der andersartigen Strahlenqualität auseinander zu halten.

Bei den klinischen Anwendungen der ultraharten Strahlung (primäre und sekundäre schnelle Elektronen) sind Erfahrungen gewonnen worden, die bedingte Aussagen über die relative biologische Wirksamkeit der ultraharten Strahlung beim Strahlenerythem ermöglichen. Im Einklang mit den bereits früher erwähnten Untersuchungen von BODE

u. Mitarb. (1950) sowie von KEPP u. Mitarb. (1950, 1951) mit schnellen Betatronelektronen ergaben die klinischen Erfahrungen von HAAS u. Mitarb. (1954) mit schnellen (17,3 MeV) Elektronen verglichen mit konventionellen Röntgenstrahlen (200 kV) eine RBW zwischen 0,63 und 0,69.

Ganz allgemein ist das Elektronenerythem heftiger, heilt jedoch bei Energien bis zu 6 MeV rascher ab als das Röntgenerythem. Bei 15 MeV findet sich ein langsamerer Eintritt und eine verlangsamte Abheilung im Vergleich zu konventionellen Röntgenstrahlen. A. ZUPPINGER (1954) und UHLMANN (1959) stellten bei noch höheren Energien noch betontere Unterschiede in gleicher Richtung fest. Bei Bestrahlung besonders der Supraclavicular- und Inguinalgegend treten gelegentlich auch nach Elektronendosen von 4200—5200 rad derbe, schwer verschiebliche Narbenplatten auf, die mit der Unterlage teilweise verlötet sind und Teleangiektasen sowie Pigmentverschiebungen aufweisen. Der von MIESCHER und FLASKAMP für das Röntgenerythem als charakteristisch erkannte periodische Ablauf (Früherythem, Haupterythem und Spätreaktion) ist für eine Elektronenbestrahlung mit kleiner Eindringtiefe, wie bereits erwähnt, modifiziert.

Im Erythemablauf finden sich bei kleinen Energien nur zwei Gipfel als Folge der andersartigen Isodosenverteilung. Auch der von KEPP et al. (1951) beim Elektronenerythem im Vergleich zum Röntgenerythem nachgewiesene veränderte Einfluß der Dosisleistung könnte mit der andersartigen Isodosenverteilung zusammenhängen, wird jedoch von KEPP auf die andersartige Strahlenqualität zurückgeführt. Bei Anwendung ultraharter Röntgenstrahlung kann es als Folge des relativen Dosisanstieges nach der Tiefe zu besonders am Antrittsfeld zu einer sehr weitgehenden Schonung der Haut kommen, ein Effekt, auf den jedoch hier nicht näher eingegangen werden soll. Bei Kobalt-Tele-Therapie beobachtet man eine geringere Hautreaktion als bei konventionellen Röntgenstrahlen, falls Sekundärelektronenfilter benutzt werden (KÄRCHER 1961). Tabelle 6 enthält Angaben über die RBW in Abhängigkeit vom LET der benutzten Strahlung für das Strahlenerythem beim Menschen.

Auch im Bindegewebe kommt es nach Elektronenbestrahlung zu einer relativ heftigen Gefäß-Bindegewebsreaktion.

Bei der Bestrahlung von Bronchial-Carcinomen konnte H. L. BERMAN feststellen, daß Lungenfibrosen in der Super-Volttherapie relativ seltener auftreten als in der konventionellen Röntgentherapie. Angaben über die RBW, gemessen an der Tumorregression in der klinischen Strahlentherapie sind naturgemäß mit besonders hoher Unsicherheit behaftet. Immerhin kommen J. BOLAND (1957) u. a. zu der Auffassung, daß die RBW von 4 MeV Photonen verglichen mit 300 kV Röntgenstrahlung bei 0,8 liegt. ZUPPINGER et al (1960) nehmen für 30 MeV-Elektronen eine RBW von 0,75 an. KUTTIG (1961) fand beim Bronchus-Carcinom für  $^{60}$ -Kobalt- $\gamma$ -Strahlen keine signifikante Abweichung der RBW vom Wert 1. Die aus der klinischen Erfahrung abgeleiteten RBW-Werte sind vorläufig noch mit großer Unsicherheit behaftet\*. Für die in der Supervolttherapie immer wieder festgestellten besonders geringfügigen allgemeinen Reaktionen (ZUPPINGER u. Mitarb., SCHINZ u. Mitarb., BECKER u. Mitarb.) — besonders auch bei adipösen Patienten — dürften neben der Strahlenqualität sicherlich auch das zumeist kleinere durchstrahlte Körpervolumen verantwortlich sein.

Die wichtige Frage, ob mit zunehmender LET auch die Elektivität der Strahlenwirkung auf das Gewebe maligner Tumoren variiert, ist vorläufig immer noch nicht sicher zu entscheiden.

\* Es wird versucht für sie eine besondere Bezeichnung, die Bezeichnung „Qualitätsfaktor“ (QF) einzuführen.

Tabelle 6. *Relative biologische Wirksamkeit ionisierender Strahlung (RBW) in Abhängigkeit vom linearen Energietransfer (LET) für das Strahlenerythem beim Menschen (nach ZIRKLE 1954)*

LET <sup>1</sup>	RBW	LET <sup>1</sup>	RBW
0,35	1,0	3,6	2,8
0,5	1,0	8,5	3,0
2,4	1,2—1,4	12,0	3,5

<sup>1</sup> Tabelle 2 enthält für verschiedene Strahlenarten die zugehörigen LET-Werte.

Die Untersuchungen von GÄRTNER (1958) haben wohl gezeigt, daß ultraharte Strahlungen bei gewissen Dosisleistungen Krebszellen in Gewebeskultur relativ stärker schädigen als Fibroblastenzellen, und die wenig ermutigenden Ergebnisse von STONE (1942, 1948) bei der Anwendung schneller Neutronen in der klinischen Strahlentherapie lassen gleichfalls vermuten, daß die Elektivität ionisierender Strahlen mit dem LET abnimmt, doch wird der gesamte Fragenkomplex erst durch weitere klinische Erfahrungen, vor allem auf dem Gebiet der Supervolttherapie, aufgeklärt werden können.

Im Zusammenhang mit praktischen Fragen des Strahlenschutzes sind von Euratom (Grundnormen), IRCP und IAEO RBW-Faktoren für die Ganzkörperbestrahlung beim Menschen festgelegt worden. Es handelt sich dabei um die folgenden z.Z. akzeptierten Konventionen: Für Röntgen-,  $\gamma$ -Strahlung, Elektronen- und  $\beta$ -Strahlen jeder Energie, wenn das blutbildende Gewebe (Knochenmark, Milz, Thymus, Lymphknoten) das kritische Organ darstellt, soll der RBW-Faktor 1 gelten; für schnelle Neutronen und Protonen bis 10 MeV, wenn die Augenlinse das kritische Organ darstellt, soll der RBW-Faktor 10 gelten; für  $\alpha$ -Strahlen der Radio-Isotope, wenn die krebsige Entartung als kritische Strahlenreaktion gewählt wird, soll der RBW-Faktor 10 gelten; für schwere Rückstoßteilchen, wenn die Augenlinse das kritische Organ darstellt, soll der RBW-Faktor 20 gelten.

Die damit festgelegten Faktoren haben ausschließlich den Charakter von Leitwerten im praktischen Strahlenschutz.

### Literatur

- ALLEN, A. O.: Mechanism of decomposition of water by ionizing radiations. *Disc. Faraday Soc.* No 12, 79 (1952).
- C. J. HOCHANADEL, J. A. GHORMLEY, and T. W. DAVIS: Decomposition of water and aqueous solutions under mixed fast neutron and gamma radiation. *J. Phys. Chem.* **56**, 575 (1952).
- ALPER, T., and P. HOWARD-FLANDERS: Role of oxygen in modifying radiosensitivity of *E. coli* B. *Nature (Lond.)* **178**, 978 (1956).
- AUSTIN, M. K., J. S. LANGHLIN, and H. QUASTLER: Relative biological effectiveness of 17 MeV electrons. *Brit. J. Radiol.* **26**, 152 (1953).
- BACQ, Z. M., et P. ALEXANDER: *Principes de radiobiologie*. Paris: Masson & Cie. 1955.
- BARRON, E. S. G., and S. DICKMAN: Studies on mechanism of action of ionizing radiations; inhibition of sulfhydryl enzymes by alpha, beta, and gamma rays. *J. gen. Physiol.* **32**, 595 (1949).
- BECKER, J.: Klinische Erfahrungen mit ultraharten Röntgenstrahlen und schnellen Elektronen. *Strahlentherapie* **106**, 85 (1958).
- , u. K. E. SCHEER: *Betatron- und Telekobalttherapie*. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.
- , u. G. SCHUBERT: *Die Supervolttherapie*. Stuttgart: Georg Thieme 1961.
- BERTRAM, C., u. G. HÖHNE: Über die Mutationsauslösung mit schnellen Elektronen. *Strahlentherapie* **106**, 269 (1958).
- BHASKARAN, S.: ESR studies on plant seeds of differential radiosensitivity. *Radiat. Bot.* **4**, 285 (1964).
- BOAG, J. W.: National Bureau of Standards Report, U.S. Dep. of Commerce (Dec. 1953).
- BOAG, J. W., and A. MÜLLER: Changes in the electron spin resonance spectrum of glycine with increasing doses of radiation. *Nature (Lond.)* **183**, 831 (1959).
- BODE, H. G., W. PAUL u. H. THEISMANN: Vergleichende Untersuchungen über die Hautreaktionen nach Verabfolgung von schnellen Elektronen und Röntgenstrahlen. *Strahlentherapie* **81**, 193 (1950).
- BOND, V. P., R. E. CARTER, J. S. ROBERTSON, P. H. SEYMOUR, and H. H. HECHTER: The effects of total-body fast neutron irradiation in dogs. *Radiat. Res.* **4**, 139 (1956a).
- O. D. EASTERDAY, E. E. STICKLEY, and J. S. ROBERTSON: Relative biological effectiveness of thermal neutrons and of heavy particles from B 10 (n a) Li 7 reaction for acute effects in mouse. *Radiology* **67**, 650 (1956b).
- BONET-MAURY, P.: Radiation chemistry in relation to radiobiology. III.  $H_2O_2$  formation in water exposed to ionizing radiations. *Brit. J. Radiol.* **24**, 422 (1951).
- BORA, K. C.: Comparison of cytologic effects produced by 220 kVp roentgen-rays, radio-iridium Ir 192 gamma rays and 30 MeVp roentgen rays in microspores of *Trandescantia bracteata*. *Acta radiol. (Stockh.)* **44**, 129 (1955).
- Relative biological efficiencies of 220 kVp X-ray and 14,1 MeV fast neutrons on the induction of aberrations in the chromosomes of *Trandescantia* at low temperature. 2nd UN Internat. Conf. Geneva. London: Pergamon Press 1958.
- BRANDT, H. v., u. W. DITTRICH: Induzierte Brüche des Ring-Chromosoms  $X^{C2}$  von *Drosophila melanogaster* nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen und schnellen Elektronen. *Strahlentherapie* **91**, 149 (1953).

- BURCH, P. R. J.: Calculations of energy dissipation characteristics in water for various radiations. *Radiat. Res.* **6**, 289 (1957).
- A theoretical interpretation of the effect of radiation quality on yield in the ferrous and ceric sulfate dosimeters. *Radiat. Res.* **11**, 481 (1959).
- BURTON, M., W. H. HAMILL, and J. L. MAGEE: A consideration of elementary processes in radiation chemistry. 2nd UN Internat. Conf. Geneva. London: Pergamon Press 1958.
- J. L. MAGEE, and A. H. SAMUEL: Excited molecule theory of radiation chemistry of liquids. *J. Chem. Phys.* **20**, 760 (1952).
- CARTER, R. E., V. P. BOND, and P. H. SEYMOUR: The relative biological effectiveness of fast neutrons in mice. *Radiat. Res.* **4**, 413 (1956).
- CATSCH, A., u. GH. RADU: Die Abhängigkeit der röntgeninduzierten Translokationsrate bei *Drosophila melanogaster* von der Intensität der angewandten Bestrahlungsdosis. *Naturwissenschaften* **31**, 368 (1943).
- CHASE, H. B., and H. RAUCH: Response of individual hairs in mice to variations in x-radiation. *J. Morph.* **87**, 381 (1950).
- CHRISTENBERRY, K. W., and J. FURTH: Induction of cataracts in mice by slow neutrons and X-rays. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **77**, 559 (1951).
- CLARK, J. W., D. J. JORDAN, and H. H. VOGEL jr.: Survival of CF<sup>1</sup> female mice after single acute exposures to Co<sup>60</sup> gamma rays, to fast neutrons and to mixtures of these ionizing radiations. *Radiat. Res.* **1**, 128 (1954).
- — — Biological effects of fast neutrons and gamma rays. *Amer. J. Roentgenol.* **77**, 524 (1957).
- COCCHI, U.: *Strahlenbiologie, Strahlentherapie, Nuklearmedizin und Krebsforschung, Ergebnisse 1952—1958*, S. 361 (Hrsg. H. R. SCHINZ et al.). Stuttgart: Georg Thieme 1959.
- CONGER, A. D., and N. H. GILES jr.: The cytogenetic effect of slow neutrons. *Genetics* **35**, 397 (1950).
- M. L. RANDOLPH, and A. H. JOHNSTON: Chromosomal aberration production by X-rays and by monochromatic 2,5-Mev and 14-Mev neutrons. *Genetics* **41**, 639 (1956).
- , and H. J. LUIPPOLD: Studies on the mechanism of acquired radioresistance in cancer. *Cancer Res.* **17**, 897 (1957).
- — C. W. SHEPPARD, and H. J. LUIPPOLD: Quantitative relation of RBE in *Tradescantia* and average LET of gamma rays, x rays, and 1.3-, 2.5-, and 14.1-Mev fast neutrons. *Radiat. Res.* **9**, 525 (1958).
- CURTIS, H. J., and K. GEBHARD: The relative biological effectiveness of fast neutrons, and x rays for life shortening in mice. *Radiat. Res.* **9**, 278 (1958).
- DAINTON, F. S.: *Progress in Radiobiology*, edit. by MITCHELL, HOLMES and SMITH. Edinburgh and London: Oliver & Boyd Ltd. 1956.
- DALE, W. M.: The effect of x-rays on enzymes *Biochem. J.* **34**, 1367 (1940).
- L. H. GRAY, and W. J. MEREDITH: The inactivation of an enzyme (carboxypeptidase) by X- and  $\alpha$ -radiation. *Phil. Trans. A* **242**, 33 (1949).
- DELIHAS, N., and H. J. CURTIS: The relative biological effectiveness of fission neutrons for the production of acute mortality in mice. *Radiat. Res.* **8**, 166 (1958).
- DEMEREK, M., and U. FANO: Frequency of dominant lethals induced by radiation in sperms of *Drosophila m.* *Genetics* **29**, 348 (1944).
- Symposium on the immediate and low level effects etc., Venice 1959, edit. by A. A. BUZZATI-TRAVERSO. London: Taylor & Francis Ltd. 1960.
- DEMPSTER, E. R.: Dominant vs. recessive lethal mutation. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **27**, 249 (1941).
- DIECKMANN, C., W. DITTRICH, R. REICH u. G. SCHUBERT: Die Strahlenabtötung von *Bacterium coli comm.* durch schnelle Elektronen eines 6 MeV-Betatrons. *Naturwissenschaften* **37**, 140 (1950).
- DITTRICH, W.: Indirekte Strahlenwirkung und zeitliche Dosisverteilung. *Z. Naturforsch.* **8b**, 10 (1953).
- Reversible Treffer. *Z. Naturforsch.* **12b**, 536 (1957a).
- Induction of chromosome breaks in the Yoshida sarcoma acites cells of the rat by X-rays and fast electrons at different oxygen partial pressures. *Advances of Radiobiology*, p. 86. Edinburgh and London: Oliver & Boyd 1957b. and London: Oliver & Boyd 1957b.
- The instable phase of radiation effects. *Strahlentherapie* **112**, H. 1, 86 (1960a).
- Treffermischkurven. *Z. Naturforsch.* **15b**, 261 (1960b).
- G. HÖHNE, W. PAUL u. G. SCHUBERT: Über die Auslösung rezessiv-geschlechtsgebundener Letalfaktoren bei *Drosophila* durch schnelle Elektronen eines 6 MeV-Betatrons. *Naturwissenschaften* **37**, 545 (1950).
- W. PAUL, G. SALZ u. G. SCHUBERT: Strahlenbiologische Versuche mit schnellen Elektronen und Röntgenstrahlen an *Drosophila*-Puppen. *Z. Naturforsch.* **4b**, 226 (1949).
- , u. G. SCHUBERT: Der Wirkungsmechanismus schneller Elektronen in biologischer Materie. *Strahlentherapie* **92**, 532 (1953).
- DOBSON, R. L.: Lethal radiation effects of X-rays, deuterons, and alpha particles on the bacterium AEC Rep., UCRL 1140, 64 (1951).
- EBERT, M., u. A. HOWARD: *Strahlenbiologie 1953*. *Fortschr. Röntgenstr.* **80**, 770 (1954).
- EDINGTON, C. W.: The induction of recessive lethals in *Drosophila melanogaster* by radiations of different ion density. *Genetics* **41**, 814 (1956).
- EHRENBERG, A., and L. EHRENBERG: The decay of X-ray induced free radicals in plant seeds and starch. *Ark Fysik* **14**, 133 (1958).

- EHRENBERG, L., u. K. G. ZIMMER: Brief reports: Die Bedeutung der Mikrowellenspektroskopie für die Strahlenbiologie. *Hereditas* (Lund) **42**, 515 (1956).
- ELKIND, M. M., and C. A. BEAM: Variation of the biological effectiveness of X-rays and  $\alpha$ -particles on haploid *Saccharomyces cerevisiae*. *Radiat. Res.* **3**, 88 (1955).
- EVANS, H. J., G. J. NEARY, and F. S. WILLIAMSON: The relative biological efficiency of single doses of fast neutrons and gamma-rays on *Vicia faba* roots and the effect of oxygen. Part II. Chromosome damage: the production of micronuclei. *Int. J. Radiat. Biol.* **1**, 216 (1959).
- EVANS, T. C.: Effects of small daily doses of fast neutrons on mice. *Radiology* **50**, 811 (1948).
- The fast neutron hazard. *Nucleonics* **4**, 2 (1949).
- , and P. J. LEINFELDER: The relative effectiveness of fast neutrons and X-radiation in the production of lens damage in mice. *Radiat. Res.* **1**, 130 (1954).
- FAILLA, G.: The measurement of tissue dose in terms of the same unit for all ionizing radiations. *Radiology* **29**, 202 (1937).
- FASS, H., G. HÖHNE, W. PAUL u. G. SCHUBERT: Über die Letalschädigung von *Drosophila*-Eiern durch Röntgenstrahlen und schnelle Elektronen eines 6 MeV-Betatron. *Naturwissenschaften* **36**, 381 (1949).
- FRICKE, H.: Reduction of oxygen to hydrogen peroxide by the irradiation of its aqueous solution with x-rays. *J. Chem. Phys.* **2**, 349 (1934).
- FRITZ-NIGGLI, H.: Biologische Versuche mit dem 31 MeV-Betatron. *Fortschr. Röntgenstr.* **80**, 28 (1954).
- Vergleichende Analyse der Strahlenschädigung von *Drosophila*-Eiern mit 180 keV und 31 MeV. *Fortschr. Röntgenstr.* **83**, 178 (1955).
- Die Wirkung der 31 MeV-Röntgenstrahlen auf die Mitose von *Vicia faba* L. im Vergleich zu 180 keV. *Oncologia* (Basel) **9**, 269 (1956).
- Abhängigkeit der Mutationsentstehung von der Strahlenqualität (30 MeV-Elektronen, 31 MeV-Photonen und 180 keV-Photonen). *Naturwissenschaften* **45**, 117 (1958a).
- Betatron- und Telekobalttherapie. *Internat. Sympos. am Czerny-Krbs. f. Strahlenbehandlung der Univ. Heidelberg v. 1.—3. 7. 1957*, S. 113—130 (Hrsg. J. BECKER u. K. E. SCHEER). Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958b.
- *Strahlenbiologie*. Stuttgart: Georg Thieme 1959.
- GÄRTNER, H.: *Strahlenbiologische Grundlagen für die Anwendung energiereicher Strahlen. (Radiobiological principles for the use of energy rich radiations.)* *Strahlentherapie* **107**, 619 (1958).
- GILES, N. H.: Comparative studies of the cytogenetical effects of neutrons and X-rays. *Genetics* **28**, 398 (1943).
- GILES jr., N. H., and A. D. CONGER: Chromosomal interchanges induced in *Tradescantia* microspores by fast neutrons from uranium fission. *J. cell. comp. Physiol.* **35** (Suppl.), 83 (1950).
- GRAHN, D., and G. A. SACHER: Chronic radiation mortality in mice after single wholebody exposure to 250-, 135-, and 80-kvp x-rays. *Radiat. Res.* **8**, 187 (1958).
- GRAY, L. H.: The distribution of the ions resulting from the irradiation of living cells. *Brit. J. Radiol., Suppl.* **1**, 7 (1947).
- The presumed distribution of ions and excited groups in liquids. *J. Chim. Phys.* **48**, 172 (1951).
- Energy transfer from ionizing particles to an aqueous medium and its bearing on interpretation of radiochemical and radiobiological change. *J. cell. comp. Physiol.* **39** (Suppl. 1), 57 (1952).
- Problème des relations entre le rendement radiochimiques et les aspects physiques de la qualité des radiations. *J. Chim. Phys.* **52**, 519 (1955).
- *Actions chimiques et biologiques des radiations*, p. 1. Paris: Masson & Cie. 1955.
- H. B. CHASE, E. E. DESCHNER, J. W. HUNT, and O. C. A. SCOTT: The influence of oxygen and peroxides on the response of mammalian cells and tissues to ionizing radiations. *Progr. Nucl. Energy, Biol. Sci., Series* **6**, 69 (1959).
- A. D. CONGER, M. EBERT, S. HORNSEY, and O. C. A. SCOTT: The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. *Brit. J. Radiol.* **26**, 638 (1953).
- , and J. READ: The effect of ionizing radiations on the broad bean root. Part VI. The summations of the effects of radiation of different ion density, A-neutrons and gamma radiation, B-alpha and X-radiation. *Brit. J. Radiol.* **17**, 271 (1944).
- — Comparison of lethal effect of neutrons and gamma rays on mouse tumours; by irradiation of grafted tumours in vivo; by irradiation of tumour fragments in vitro. *Brit. J. Radiol.* **21**, 5 (1948).
- — The effects of ionizing radiations on the broad bean root. Part VII. The inhibition of mitosis by alpha radiation. *Brit. J. Radiol.* **23**, 300 (1950).
- — and M. POYNTER: The effect of ionizing radiations on the broad bean root. Part V. The lethal action of x-radiation. *Brit. J. Radiol.* **16**, 125 (1943).
- , and M. E. SHOLES: Effect of ionizing radiations on broad bean root. *Brit. J. Radiol.* **24**, 348 (1951).
- HAAS, L. L., J. S. LAUGHLIN, and R. A. HARVEY: Biological effectiveness of high-speed electron beam in man. *Radiology* **62**, 845 (1954).
- HAGEN, U., u. H. LANGENDORFF: Zur Frage der Verwendung des biologischen Dosiswertes „rem“ im Strahlenschutz. Relative biologische Wirksamkeit verschiedener Strahlen beim Säugetier. *Atomkernenergie* **5**, 173 (1960).
- HART, E. J.: Radiation chemistry of aqueous ferrous sulfate-cupric sulfate solutions. Effect of  $\gamma$ -rays. *Radiat. Res.* **2**, 33 (1955).

- HAYON, E., J. WEISS, D. ARMSTRONG, E. COLLINSON, F. S. DAINTON, D. M. DONALDSON, and N. MILLER: Primary products in the irradiation of aqueous solutions with X or gamma rays. Proceedings of the second United Nations Internat. Conf. on peaceful Uses of Atomic Energy 1958, vol. 29, p. 80.
- HENSHAW, P. S., E. F. RILEY, and G. E. STAPLETON: Plutonium project; biologic effects of pile radiations. *Radiology* **49**, 349 (1947).
- HÖHNE, G., u. G. SCHUBERT: Die Auslösung von Chromosomenmutationen bei *Drosophila melanogaster* durch schnelle Elektronen und Röntgenstrahlen. *Strahlentherapie* **94**, 72 (1954).
- HOLLAENDER, A.: *Radiation Biology*, vol. 3. New York: McGraw-Hill Book Co. 1955.
- HOLTHUSEN, H.: Beiträge zur Biologie der Strahlenwirkung. Untersuchungen an Askariden-eiern. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **187**, 1 (1921).
- HORN, E. C.: The relative biological effectiveness of roentgen rays and neutrons on the regeneration of the forelimb of *Amblystoma Larvae*. *Amer. J. Roentgenol.* **46**, 727 (1941).
- HUTCHINSON, F., A. PRESTON, and R. VOGEL: Radiation sensitivity of enzymes in wet and in dry yeast cells. *Radiat. Res.* **7**, 465 (1957).
- JORDAN, P.: Über die Elementarprozesse der biologischen Strahlenwirkung. *Radiologica* **2**, 16, 166 (1938).
- KÄRCHER, K. H.: Die Supervolttherapie (Hrsg. J. BECKER u. G. SCHUBERT). Stuttgart: Georg Thieme 1961.
- KAPLAN, H. S., and R. ZAVARINE: Correlation of bacterial radiosensitivity and DNA base composition. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **8**, No 6 (1962).
- KAPLAN, R. W.: Vererbung. *Genetik der Mikroorganismen*. *Fortschr. Bot.* **19**, 288 (1956).  
— *Physiologie der Organbildung*. *Fortschr. Bot.* **20**, 200 (1957).
- KAYHART, M.: A comparative study of dose action curves for visible eye-color mutations induced by x-rays, thermal neutrons, and fast neutrons in *Mormoniella vitripennis*. *Radiat. Res.* **4**, 65 (1956).
- KEPP, R. K.: Die Wirkung der Bestrahlung mit schnellen Elektronen auf die menschliche Haut. *Strahlentherapie* **81**, 201 (1950).  
— Die Bedeutung der Ionisationsdichte für den biologischen Effekt bei ultrafraktionierter Bestrahlung. *Acta radiol. (Stockh.)* **41**, 192 (1954).  
— u. K. MÜLLER: Zur Frage der physikalischen Erklärung verschiedener Zeitfaktorenwirkungen an biologischen Objekten. *Strahlentherapie* **88**, 139 (1952).  
— u. H. REICH: Die Bedeutung des Zeitfaktors bei Bestrahlung der menschlichen Haut mit schnellen Elektronen. *Strahlentherapie* **84**, 225 (1951).
- KING, R. C., and E. M. WOOD: Sex-linked lethal mutations induced by thermal neutrons in male and female *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **40**, 490 (1955).
- KIRBY-SMITH, J. S., and M. L. RANDOLPH: free radicals in some molecules of biological importance, p. 11. Immediate and low level effects of ionizing Radiations, edit. A. A. BUZZATI-TRAVERSO. London: Taylor and Francis Ltd. 1960.
- KÖHNLEIN, W., and A. MÜLLER: Absolute yield measurements of radiation-produced radicals by electron spin resonance. *Physics in Medicine and Biology* **6**, No 4, 599 (1962).
- KOHN, H. I., and S. GUNTER: Relative biological efficiency of 1000 kvp and 250 kvcp x-rays. I. General introduction. Determinations based on the dose-survival curves of *Saccharomyces cerevisiae*, haploid and diploid. *Radiat. Res.* **5**, 674 (1956).
- KUTTIG, H.: Die Supervolttherapie (Hrsg. J. BECKER u. G. SCHUBERT). Stuttgart: Georg Thieme 1961.
- LAMPE, F. W., J. L. FRANKLIN, and F. H. FIELD: Cross sections for ionization by electrons. *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 6129 (1957).
- LANGENDORFF, H., u. K. SOMMERMEYER: Die Deutung des LD<sub>50</sub>-Anstieges mit steigender spezifischer Ionisation und die Reaktivierung sowie Sensibilisierung durch Wärme bei *E. coli*. *Naturwissenschaften* **41**, 189 (1954).
- LAWRENCE, E. O.: The biological action of neutron rays. *Radiology* **29**, 313 (1937).
- LAWRENCE, J. H., and E. O. LAWRENCE: The biological action of neutron rays. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **22**, 124 (1936).
- LASNITZKI, I., and D. E. LEA: Variation with wave length of biological effect of radiation. *Brit. J. Radiol.* **13**, 149 (1940).
- LEA, D. E.: The action of radiations on dilute aqueous solutions: the spatial distribution of H and OH. *Brit. J. Radiol., Suppl.* **1**, 59 (1947).  
— *Action of radiation on living cells*, 2nd ed. Cambridge: Cambridge Univ. Press 1955.  
— R. B. HAINES, and E. BRETSCHER: The bactericidal action of x-rays, neutrons and radioactive radiation. *J. Hyg. (Cambridge)* **41**, 1 (1941).
- LEFORT, M.: *Chimie des radiations des solutions aqueuses. Aspect actuel des résultats expérimentaux. Actions chimiques et biologiques des radiations*, p. 95. Paris: Masson & Cie. 1955.
- LEINFELDER, P. J., T. C. EVANS, and E. RILEY: Production of cataracts in animals by x-rays and fast neutrons. *Radiology* **65**, 433 (1955).
- LESHER, S., and H. H. VOGEL: A comparative histological study of duodenal damage produced by fission neutrons and Co 60 gamma-rays. *Radiat. Res.* **9**, 560 (1958).
- LIECHTI, A., W. MINDER u. F. WEGMÜLLER: Über einige chemische Strahlenreaktionen. *Radiol. clin. (Basel)* **14**, 167 (1945).
- LUCE, W. M., H. QUASTLER, and L. S. SKAGGS: Biological evaluation of 20 million volt Roentgen rays. Recessive sex-linked lethals in *Drosophila melanogaster*. *Amer. J. Roentgenol.* **62**, 555 (1949).
- MACKEY, J.: Neutron and x-ray experiments in barley. *Hereditas (Lund)* **37**, 421 (1951).  
— The biological action of x-rays and fast neutrons on barley and wheat. *Arch. Bot., Ser.* **2**, 545 (1952).

- MAGEE, J. L.: Mechanisms of energy degradation and chemical change: Effects of secondary electrons. Basic mechanisms in radiobiology. Natl. Research Council Publ. **305**, 51 (1953).  
— Radiation chemistry. *Ann. Rev. nucl. Sci.* **3**, 171 (1953b).
- MARSHAK, A.: Effects of fast neutrons on chromosomes in mitosis. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **41**, 176 (1939).  
— (introduced by J. H. LAWRENCE): Relative effects of x-rays and neutrons on chromosomes in different parts of the "Resting Stage". *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **28**, 29 (1942).  
—, and M. BRADLEY: Relative sensitivity of chromosomes to neutrons and x-rays. III. Comparison of carcinoma and lymphosarcoma in the rat. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **31**, 84 (1945).
- MCDONALD, J. E., W. F. HUGHES, and V. G. PFEIFFER: Beta radiation contracts. *Arch. Ophthalmol.* **53**, 248 (1955).
- MCLAREN, A. D.: Photochemistry of enzymes, proteins, and viruses. *Advanc. Enzymol.* **9**, 75 (1949).  
— *Acta chem. scand.* **4**, 386 (1950).
- MELVILLE jr., G. S., F. P. CONTE, M. SLATER, and A. C. UPTON: Acute lethality of mice as influenced by the periodicity of paired exposures to fast neutrons or x-rays. *Brit. J. Radiol.* **30**, 196 (1957).
- MILLER, N.: Quantitative studies of radiation-induced reactions in aqueous solutions. I. Oxidation of ferrous sulfate by X- and  $\gamma$ -radiation. *J. Chem. Phys.* **18**, 79 (1950).  
—, and J. WILKINSON: Actinometry of ionizing radiation: II. Actinometry and radiolysis of pure liquids. *Disc. Faraday Soc.* **12**, 50 (1952).
- MITCHELL, J. S.: Experiments on mechanism of biological action of fast neutrons using summation method for lethal effects on mice (with section on dosimetry of fast neutrons). *Brit. J. Radiol.* **20**, 368 (1947).
- MOOS, W. S., J. B. FULLER, W. J. HENDERSON, and R. A. HARVEY: The effects of conventional and high-energy x-rays and electrons in fractionated dosage on rats. *Radiology* **67**, 697 (1956).  
— — — F. DALLENBACH, and R. A. HARVEY: Lethal effects on rats of single and multiple exposures of 400 Kv and 22 Mev x-radiation. *Radiat. Res.* **3**, 44 (1955).
- MÜLLER, A., G. HOTZ, and K. G. ZIMMER: Electron spin resonances in bacteriophage: alive, dead, and irradiated. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **4**, 214 (1961).  
—, and K. G. ZIMMER: Some utilization possibilities of microwave spectroscopy in quantitative radiobiology. *Strahlentherapie* **109**, 192 (1959).
- MULLER, H. J.: An analysis of the process of structural changes in chromosome of *Drosophila*. *J. Genet.* **40**, 1 (1940).  
— The relation of neutron dose to chromosome changes and point mutations in *Drosophila*. *Amer. Naturalist* **88**, 437 (1954).
- NEARY, G. J., H. J. EVANS, S. M. TONKINSON, and F. S. WILLIAMSON: The relative biological efficiency of single doses of fast neutrons and gamma-rays on *Vicia faba* roots and the effect of oxygen. Part III. Mitotic delay. *Int. J. Rad. Biol.* **1**, No 3, 230 (1959b).  
— R. I. MUNSON, and R. H. MOLE: Chronic radiation hazards. London and New York: Pergamon Press 1957.  
— J. R. K. SAVAGE, and H. J. EVANS: Chromatid aberrations in *Tradescantia* pollen tubes induced by monochromatic X-rays of quantum energy 3 and 1.5 keV. *Int. J. Rad. Biol.* **8**, 1 (1964).  
— S. M. TONKINSON, and F. S. WILLIAMSON: The relative biological efficiency of single doses of fast neutrons and gamma-rays on *Vicia faba* roots and the effect of oxygen. Part I. Reduction of root growth. *Int. J. Rad. Biol.* **1**, No 3, 201 (1959a).
- NOWELL, P. C., L. J. COLE, and M. E. ELLIS: Induction of intestinal carcinoma in the mouse by whole-body fast neutron irradiation. *Cancer Res.* **16**, 873 (1956).  
— — — Neoplasms of the glandular stomach in mice irradiated with x-rays or fast neutrons. *Cancer Res.* **18**, 257 (1958).
- PATTERSON, R.: The relative biological efficiency of 4 MeV and 300 kV radiations (A Sympos., IX. Commentary.) *Brit. J. Radiol.* **30**, 354 (1957).
- POLLARD, E. C.: Primary ionization as a test of molecular organization. *Advanc. biol. med. Phys.* **3**, 153 (1953).  
— The action of ionizing radiation on viruses. *Advanc. Virus Res.* **2**, 109 (1954).  
—, and A. E. DIAMOND: The inactivation of tobacco mosaic virus by ionizing radiation. *Phytopathology* **46**, 214 (1956).  
— W. R. GUILD, F. HUTCHINSON, and R. B. SETLOW: The direct action of ionizing radiation on enzymes and antigens, p. 72. *Progress in biophysics and biophysical chemistry*, Bd. 5, edit. I. A. V. BUTTLER and J. T. RANDALL. London and New York: Pergamon Press 1955.
- RAJEWSKI, B.: *Strahlendosis und Strahlenwirkung*. Stuttgart: Georg Thieme 1956.  
— *Wissenschaftliche Grundlage des Strahlenschutzes*. Karlsruhe: G. Braun 1957.
- RAMBACH, W. A., J. A. D. COOPER, H. L. ALT, H. H. VOGEL jr., J. W. CLARK, and D. J. JORDAN: The effect of single and multiple doses of  $\text{Co}^{60}$  gamma radiation and fission neutron radiation on the incorporation of  $\text{Fe}^{59}$  into the rat erythropoietic system. *Radiat. Res.* **10**, 148 (1959).
- REGEHR, H., T. J. ARNASON, and H. E. JOHNS: Induction of mutation by high-energy x-radiation produced by a 23-MeV betatron. *Nature (Lond.)* **166**, 228 (1950).
- Report from Medical Research Council-Unit, Christie Hospital and Holt Radium Institute, Manchester: The relative biological efficiency of 4 MeV and 300 kV radiations. I. Introduction. *Brit. J. Radiol.* **30**, 337 (1957).

- RILEY, E. F., T. C. EVANS, R. B. RHODY, P. J. LEINFELDER, and K. D. RICHARDS: The relative biological effectiveness of fast neutron and x-radiation; survival and cataract studies of Swiss mice. *Radiology* **67**, 673 (1956).
- P. J. LEINFELDER, T. C. EVANS, and R. B. RHODY: Relative cataractogenic effectiveness of fast neutron radiation from different sources. *Radiat. Res.* **3**, 342 (1955).
- ROTHERMEL, S. M., K. T. WOODWARD, and J. B. STORER: The effect of massive doses of neutrons on the median survival time of mice. *Radiat. Res.* **5**, 433 (1956).
- RUSSEL, W. L., and L. B. RUSSEL: Radiation induced genetic damage in mice. 2nd UN Internat. Conf. on the peaceful Uses of Atomic Energy A/Con./15/P/897 USA, June 1958.
- — and A. W. KIMBALL: The relative effectiveness of neutrons from a nuclear detonation and from a cyclotron in inducing dominant lethals in the mouse. *Amer. Naturalist* **88**, 269 (1954).
- SALLMANN, L. V., C. A. TOBIAS, H. O. ANGER, C. P. WELCH, S. F. KIMURA, C. M. MUNCZ, and A. DRUNGIS: Effect of high-energy particles, X-rays, and aging on lens epithelium. *Arch. Ophthalmol.* **54**, 489 (1955).
- SAMUEL, A. H., and J. L. MAGEE: Theory of radiation chemistry. II. Track effects in radiolysis of water. *J. Chem. Phys.* **21**, 1080 (1953).
- SCHINZ, H. R.: Neuere Ergebnisse mit dem Zürcher Betatron. *Radiol. Austriaca* **10**, 85 (1958).
- SCHMERMUND, H. J., and H. L. HEINRICH: Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Röntgenstrahlen und schnellen Elektronen eines 6 MeV-Betatron auf Wachstums- und Kernteilungsvorgänge von *Vicia faba equina*. *Strahlentherapie* **86**, 227 (1952).
- SCHUBERT, G.: Die Strahlenresistenz in Biologie und Medizin. *Z. Krebsforsch.* **60**, 216 (1954).
- SCHWARZ, H. A.: The effect of solutes on the molecular yields in the radiolysis of aqueous solutions. *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 4960 (1955).
- SETLOW, R. B.: The effect of ionizing-ultraviolet-radiation on proteins. *Radiat. Res.* **9**, 179 (1958).
- SNELL, G. D., and P. C. AEBERSOLD: The production of sterility in male mice by irradiation with neutrons. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **23**, 374 (1937).
- SOMMERMEYER, K.: Über den wirksamen Querschnitt von Protonen und  $\alpha$ -Strahlen gegenüber dem strahlenempfindlichen Volumen bei strahlenbiologischen Elementarreaktionen. *Z. Naturforsch.* **3b**, 57 (1948).
- Quantenphysik der Strahlenwirkung in Biologie und Medizin. Leipzig: Akad. Verlagsges. Geest & Portig 1952.
- Strahlenbiologie, Strahlentherapie, Nuklearmedizin und Krebsforschung (Hrsg. H. R. SCHINZ et al.). Stuttgart: Georg Thieme 1959.
- STAPLETON, G. E., A. HOLLAENDER, and F. L. MARTIN: Mechanism of lethal and mutagenic action of ionizing radiations of *Aspergillus terreus*; use of modifying agents and conditions. *J. cell. comp. Physiol.* **39**, Suppl. 1, 87 (1952).
- STONE, R. S.: Neutron therapy and specific ionization (Janeway memorial lecture). *Amer. J. Roentgenol.* **59**, 771 (1948).
- , and I. C. LARKIN jr.: Treatment of cancer with fast neutrons. *Radiology* **39**, 608 (1942).
- STORER, J. B., P. S. HARRIS, J. E. FURCHNER, and W. H. LANGHAM: The relative biological effectiveness of various ionizing radiations in mammalian systems. *Radiat. Res.* **6**, 188 (1957).
- B. S. ROGERS, J. U. BOONE, and P. S. HARRIS: Relative effectiveness of neutron for production of delayed biological effects. II. Effect of single doses of neutrons from an atomic weapon on life span of mice. *Radiat. Res.* **8**, 71 (1958).
- SWANSON, C. P.: Effect of oxygen tension on the production of chromosome breakage by ionizing radiations. *Radiobiol. Sympos.* 1954, p. 254 in Z. M. BACQ and P. ALEXANDER. London: Butterworths Sci. Publ. 1955.
- SWORSKI, T. J.: Mechanism for the reduction of ceric ion by thallos ion induced by cobalt-60 gamma radiation. *Radiat. Res.* **4**, 483 (1956).
- TANSLEY, K., A. HOWARD, L. H. GRAY, and J. W. BOAG: Proc. 4th Conf. on Radiation Cataract Nat. Res. Council 1953.
- THODAY, J. M.: The effects of ionizing radiations on the chromosomes of *Tradescantia bracteata*. A comparison between neutrons and x-rays. *Genetics* **43**, 189 (1942).
- TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N. W., u. K. G. ZIMMER: Das Trefferprinzip in der Biologie, Biophysik, Bd. I. Leipzig: Hirzel 1947.
- TOBIAS, C. A.: The dependence of some biological effects of radiation on the rate of energy loss, p. 357. *Sympos. on Radiobiol.*, ed. by J. J. NICKSON. New York: J. Wiley & Sons 1952.
- TRAUT, H.: The linear dose-dependence of radiation-induced translocation frequency in *Drosophila melanogaster* at relatively low X-radiation doses. *Int. J. Rad. Biol.* **7**, 401 (1963).
- TYREE, E. B., P. A. THOMPSON, H. N. BANE, A. LUZZI, and J. J. NICKSON: The effect on mouse survival after x-rays from 180 Kv and 22.5-MeV betatron. *Radiat. Res.* **3**, 354 (1954).
- UHLMANN, E. M.: Clinical experience with high-speed electrons in cancer therapy. *Radiology* **73**, 76 (1959).
- ULRICH, H.: Die Bedeutung von Kern und Plasma bei der Abtötung des *Drosophila*-Eies durch Röntgenstrahlen. *Naturwissenschaften* **42**, 468 (1955).
- UPTON, A. C., K. W. CHRISTENBERRY, G. S. MELVILLE, J. FURTH, and G. S. HURST: The relative biological effectiveness of neutrons, x-rays, and gamma rays for the production of lens opacities: observations on mice, rats, guinea-pigs, and rabbits. *Radiology* **67**, 686 (1956 a).
- J. FURTH, and K. W. CHRISTENBERRY: Late effects in mice of exposure to thermal neutrons compared with X-irradiation. *Rad. Res. Soc. Mtg.* Iowa City 1953.
- G. S. MELVILLE jr., M. SLATER, F. P. CONTE, and J. FURTH: Leukemia induction in mice by fast neutron irradiation. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **92**, 436 (1956 b).

- VOGEL, H. H., J. W. CLARK, and D. L. JORDAN: The relative biological effectiveness of fast neutrons and  $\text{Co}^{60}$  gamma rays. *Rad. Res. Soc. Mtg.*, Iowa City 1953, paper 64 and 10.
- — — Comparative mortality after 24 hour, whole-body, exposures of mice to fission neutrons and cobalt 60 gamma rays. *Radiat. Res.* **6**, 460 (1957).
- VOGEL jr., H. H., and S. P. STEARNER: The effects of dose rate variation of fission neutrons and of  $\text{Co}^{60}$   $\gamma$ -rays on survival in young chicks. *Radiat. Res.* **2**, 513 (1955).
- WEISS, J.: The decomposition of hydrogen peroxide by ionizing radiations and related problems. *Disc. Faraday Soc.* No 12, 161 (1952).
- ZIMMER, K. G.: A physicist's comments on some recent papers on radiation-genetics. *Hereditas (Lund)* **43**, 201 (1959).
- Entwicklung und Stand der Hypothesenbildung in der quantitativen Strahlenbiologie. *Naturwissenschaften* **45**, 325 (1958).
- Evidence for free-radical production in living cells exposed to ionizing radiation. *Radiat. Res.*, Suppl. **1**, 519 (1959).
- Studien zur quantitativen Strahlenbiologie. *Verl. d. Akad. d. Wissensch. u. Lit. in Mainz, in Komm. bei Franz Steiner Verl. GmbH., Wiesbaden*, 1960a.
- The development and prospects of quantitative radiobiology. *Int. J. Rad. Biol. Suppl.* **1**, 1 (1960b); KFK-Report No 22.
- , and A. MÜLLER: New light on radiation biology from electron-spin-resonance studies, p. 1. *Current Topics in Radiation Research*, edit. M. EBERT, and A. HOWARD. Amsterdam: North Holland Publ. Co. 1965.
- W. KÖHNLEIN, G. HOTZ u. A. MÜLLER: Elektron-Spin-Resonanzen in bestrahlten Bakteriophagen und deren Bestandteilen. *Strahlentherapie* **120**, 161 (1963).
- ZIRKLE, R. E.: The radiobiological importance of linear energy transfer. *Rad. Biol.*, vol. 1, p. 315, ed. by A. HOLLÄENDER. New York: Mc Graw-Hill-Book Co. 1954.
- P. C. AEBERSOLD, and E. R. DEMPSTER: The relative biological effectiveness of fast neutrons and X-rays upon different organisms. *Amer. J. Cancer* **29**, 556 (1937).
- W. BLOOM, and R. B. URETZ: Use of partial-cell irradiation in studies of cell division, p. 311. *1st Internat. Conf. on peaceful Uses of Atomic Energy 1955*, vol. 11, UN, New York 1956.
- D. F. MARCHBANK, and K. D. KUCK: Exponential and sigmoid survival curves resulting from alpha and x irradiation of *Aspergillus* spores. *J. cell. comp. Physiol.* **39**, Suppl. **1**, 75 (1952b).
- , and C. A. TOBIAS: Speculations on cellular action of radiation, p. 333. *Sympos. on Radiobiol.*, ed. by J. J. NICKSON. New York: J. Wiley & Sons 1952.
- ZUPPINGER, A.: Radiobiologische Untersuchungen an Ascariseiern. *Strahlentherapie* **28**, 639 (1928).
- Die Hochvoltstrahlung. *Schweiz. med. Wschr.* **93**, 838 (1963).
- H. COTTIER, O. GLAUSER, H. LÜTHY, W. MINDER, G. PORETTI, H. R. RENFER u. K. TÜTSCH: Die ultraharten Strahlungen zur Krebsbehandlung. *Radiol. clin. (Basel)* **24**, 65 (1955).
- , u. M. FAVRE: Experimentelle Untersuchungen über die Strahlenkatarakt. *Acta radiol. (Stockh.)* **188**, 81 (1959).
- , P. VERAGUTH, G. PORETTI, M. NÖTZLI u. H.-J. MAURER: Erfahrungen der Therapie mit 30 MeV-Elektronen. *Strahlentherapie* **111**, 161 (1960).

# F. Der Zeitfaktor

Von

**O. Hug, A. Kellerer und A. Zuppinger**

Mit 35 Abbildungen

## I. Einleitung

### 1. Historisches

Die Radiotherapeuten hatten sich zwar von Anfang an Gedanken über die zweckmäßigste zeitliche Dosierung der Röntgenstrahlen gemacht und versucht, auf empirischer Basis durch Variation der Strahlenintensität und Fraktionierung der Dosis ihre therapeutischen Ergebnisse zu verbessern, aber erst im zweiten Jahrzehnt der medizinischen Radiologie setzten Experimente zum Problem des Zeitfaktors ein. Der Arbeit von REGAUD und NOGIER über die erhöhte Wirksamkeit einer fraktionierten Röntgenbestrahlung auf den tierischen Hoden bei gleichzeitiger stärkerer Schonung der Nachbargewebe folgten bis Anfang der dreißiger Jahre zahlreiche Untersuchungen, von denen insbesondere zu nennen sind weitere Arbeiten von REGAUD und seinen Mitarbeitern (1922, 1927, 1929) und von SCHINZ und SŁOTOPOLSKI am Hoden, von MARKOVITS, von CROWTHER u. a. an Einzellern und von HOLTHUSEN (1921), von DOGNON, von ZUPPINGER (1928) und von LIECHTI an Ascariseiern, von JÜNGLING (1920), von GLOCKER u. Mitarb. (1931), von MARTIUS und von MATONI an pflanzlichen Objekten und von RADOS und SCHINZ sowie ALBERTI und POLITZER (1923/24) am Hornhautepithel von Wirbeltieren, von LASER, sowie SPEAR und CANTI an Gewebekulturen, und von WOOD und PRIME, von NATHER und SCHINZ, von SAMSSONOW, von MOTTRAM u. Mitarb. sowie von JUUL an Tumorgeweben und -zellen. Diese tastenden Versuche an verschiedenartigen Objekten ergaben, zusammen mit den von KRÖNIG und FRIEDRICH 1918 eingeleiteten systematischen klinischen Zeitfaktorstudien an der Haut, trotz der damals begrenzten technischen Möglichkeiten und mancher, auch retrospektiv nicht ganz erklärbarer Widersprüche einzelner Ergebnisse, doch schon einige wichtige, grundsätzliche Einsichten, wie sie vor allem in zusammenfassenden Darstellungen von HOLTHUSEN (1926, 1931, 1933) niedergelegt sind. Bei manchen Objekten, vor allem in natürlicher oder künstlicher Stoffwechselruhe, hatten sich bestimmte Strahlenwirkungen als unabhängig von der zeitlichen Dosisverteilung erwiesen, so bei ruhenden Pflanzensamen oder bei Ascariseiern im anoxybiotischen Zustand, aber auch am Ovar. Insbesondere zeigten die inzwischen angelaufenen genetischen Strahlenstudien, daß die Ausbeute an Punktmutationen proportional zur Dosis und unabhängig von der zeitlichen Dosisverteilung ist. Innerhalb der geprüften Grenzen galt also in diesen Fällen das Bunsen-Roskoesche Gesetz von der Konstanz des Produkts aus Dosisleistung und Zeit.

Meistens aber, so bei der Abtötung von Einzellern, der Strahlenschädigung der Haut, der Schleimhäute, des Bindegewebes oder von Ascariseiern unter physiologischen Sauerstoffverhältnissen, nahm die Wirkung einer Strahlendosis mit der Verlängerung der Gesamtbestrahlungszeit ab, oder — anders ausgedrückt — zur Erzielung des gleichen Effekts waren bei größeren Bestrahlungszeiten höhere Dosen notwendig. Eine Korrektur nach dem Schwarzschild'schen Gesetz (s. S. 285) schien in einigen Fällen dem Zeitfaktor befriedigend Rechnung zu tragen; HOLTHUSEN hatte aber schon erkannt, daß damit keine generell befriedigende Interpretation gegeben sei. Die Erklärung dieses Zeitfaktors

wurde auf biologischer Ebene gesucht und in der Erholungsfähigkeit lebender Objekte gefunden, die ihrerseits aufs engste mit der Stoffwechselaktivität zusammenzuhängen schienen. Über ihre Natur herrscht Unklarheit; man zog, wie schon KINGERY 1920, Entgiftungsprozesse und mit dem Baustoffwechsel verknüpfte Reparationsvorgänge in Erwägung. Für eine quantitative Analyse war wohl die Biologie als solche damals noch nicht reif.

Der umgekehrte Effekt, nämlich die Wirkungssteigerung bei Fraktionierung oder Protrahierung der Dosis, wie er an Keimdrüsen, an tierischen Deckepithelien, bei Tumorphantaten und gelegentlich auch an Eizellen sowie an wachsenden Pflanzengeweben beobachtet worden war, hatte zunächst wesentlich größere praktische Bedeutung in der Strahlentherapie gewonnen. Er wurde damit erklärt, daß eine über einen größeren Zeitraum ausgedehnte Bestrahlung eine größere Zahl von Zellen in einer besonders strahlenempfindlichen Teilungsphase treffen kann, während eine einmalig und in kurzer Zeit zugeführte Dosis die Zellen ungeschädigt läßt, die sich gerade in einer strahlenresistenten Phase befinden. Ferner wußte man, daß die Bestrahlung selbst in Geweben mit hoher Teilungsaktivität phasenförmige Änderungen der Strahlenempfindlichkeit hervorrufen kann.

Rückblickend kann man vielleicht sagen, daß das Zeitfaktorproblem in diesen Jahren vor allem deshalb nicht recht vorwärts kam, weil man dazu neigte, aus Einzelversuchen an wenigen Objekten mittels einer bestimmten Testreaktion und bei Variation der zeitlichen Dosisverteilung innerhalb enger Grenzen generalisierende Schlußfolgerungen zu ziehen. Den ersten systematischen klinischen Studien über den Zeitfaktor von SEITZ und WINTZ, KRÖNIG und FRIEDRICH, SCHWARZ (1925), STENSTRÖM und MATTICK folgten in den dreißiger Jahren weitere Studien von REISNER (1930), MIESCHER (1930), PAPE (1931, 1932) und vor allem von HOLTHUSEN und BRAUN, in denen über weite Bereiche der Dosen und Dosisleistungen für charakteristische Strahlenreaktionen der Haut im Hinblick auf deren Schonung bei der Tumorthherapie der Zeitfaktor ermittelt wurde.

Inzwischen hatte die Treffertheorie den Grund für eine Interpretation der Dosiswirkungsbeziehungen gelegt und sich vor allem bei der Deutung der genetischen Strahlenwirkungen als fruchtbar erwiesen. Ihrem mathematisch-biophysikalischen Modell lagen einige zunächst durchaus berechnete Vereinfachungen zugrunde. So wurde das lebende Objekt mehr oder weniger als ruhend betrachtet, d.h. man ging davon aus, daß sich die Eigenschaften des Objekts unter der Bestrahlung und bis zur Manifestation des Effekts nur durch die Strahlenwirkung selbst, aber nicht aus anderen Gründen änderten. Ferner nahm man zunächst an, daß jeder Treffer in den empfindlichen Bereichen irreversible Veränderungen schaffe und mit dem Eintreten des jeweils letzten notwendigen Treffers die Wirkung determiniert sei. Wie im theoretischen Teil gezeigt wird, wurde erst später versucht, in dieses statische Modell Ergänzungen einzufügen, um wenigstens eine Art des Zeitfaktors berücksichtigen zu können.

In all den Jahren haben diese beiden verschiedenartigen Aspekte des Zeitfaktors — der klinisch-phänomenologische, der zu einer Deutung durch biologische Erholungsvorgänge gekommen war, und der biophysikalische, der den Zeitfaktor aus der zeitlichen Abfolge mehrerer Treffer innerhalb eines empfindlichen Volumens deutete — nie ganz zusammengefunden; aber beide Gesichtspunkte schlugen sich in der Unterscheidung eines „biologischen“ und eines „physikalischen“ Zeitfaktors nieder. Man dachte dabei daran, daß jener mehr von der Gesamtbestrahlungszeit, dieser mehr von der aktuellen Dosisleistung abhängt.

Erst in letzter Zeit zeichnet sich die Möglichkeit ab, allmählich ein geschlossenes Bild der Vorgänge zu gewinnen, die für das Zustandekommen eines Zeitfaktors bestimmend sind. In Übereinstimmung mit einer allgemeinen Tendenz der modernen Biologie zur kinetischen Betrachtungsweise verlegt sich auch das strahlenbiologische Interesse auf das Studium zeitlicher Abläufe strahleninduzierter Störungen. Insbesondere durch die mit radioaktiven Indikatoren gewonnenen Einblicke in die zum Teil mit erstaun-

licher Geschwindigkeit ablaufenden molekularen und cellulären Umsätze eines Organismus ist es uns bewußt geworden, daß das Lebende immer nur als ein funktionelles System gedacht werden kann, und daß deshalb bei jeder Strahlenwirkung und ihrer Erklärung von Anfang an die inhärente, physiologische Kinetik und der zeitliche Ablauf der Strahlenwirkung mitberücksichtigt werden müssen. Nur in Grenzfällen mag es einmal erlaubt sein, auf die statische Betrachtungsweise zurückzugreifen. Damit ist der Zeitfaktor nicht mehr nur ein die Dosiswirkungsbeziehung modifizierendes Geschehen, sondern die ihm zugrunde liegenden Vorgänge sind ein essentielles Moment jeder biologischen Strahlenwirkung.

Im theoretischen Teil wird versucht, diese neueren Aspekte zu vertiefen. Bei der Besprechung des unter ganz anderen Umständen gewonnenen experimentellen Materials dagegen wird es unmöglich sein, diese neue Linie konsequent durchzuhalten. Man wird dabei oft noch mit überholten Begriffen arbeiten müssen, vor allem, wenn man sich an die Schlußfolgerungen früherer Arbeiten halten will. So sind wir uns klar, daß es nicht zulässig ist, die Abhängigkeit einer Wirkung von der zeitlichen Dosisverteilung durch einen einzigen Faktor zu kennzeichnen. Der Begriff Zeitfaktor und seine auch heute noch übliche Definition stammen aus einer Zeit, da man glaubte, daß ein in einem Experiment ermittelter Wert auch in anderen Bereichen der Dosis und Dosisleistung anwendbar sein oder gar einem Gewebe oder einer Gewebegruppe als Characteristicum zugeordnet werden könne. Ein in der Zukunft liegendes Ziel muß es sein, nicht nur für jedes Objekt und jede Strahlenwirkung die Funktion zu erkennen, nach der sich die kritische Dosis mit der Variation der zeitlichen Dosisverteilung ändert, sondern auch quantitativ aus ihr die Zeitkonstanten der Prozesse abzuleiten, die jeweils für den Zeitfaktor verantwortlich sind.

Der jeweilige Stand des Zeitfaktorproblems ist in den vergangenen Jahrzehnten mehrfach zusammenfassend dargestellt worden, so von LIECHTI, HOLTHUSEN (1926, 1931, 1933), WACHSMANN (1943), BAUER, GRAY u. Mitarb., CHAOUÛ u. Mitarb., LEA, DUSAULT (1956) und in letzter Zeit von HUG (1957), FOWLER und STERN und von MOLE (1963).

## 2. Erläuterungen einiger Begriffe

Der „Zeitfaktor“ wird üblicherweise definiert als das Verhältnis einer „Langzeitdosis“ zu einer „Kurzzeitdosis“, die beide den gleichen biologischen Effekt hervorrufen. Ist also ein Effekt unabhängig von der zeitlichen Dosisverteilung, so ist der Zeitfaktor gleich 1; muß die Dosis bei der Verlängerung der Gesamtbestrahlungszeit erhöht werden, so ist der Zeitfaktor größer als 1; erniedrigt sie sich dabei, so ist der Zeitfaktor kleiner als 1.

Dieser Faktor kann also nur dazu dienen, die Wirksamkeit zweier Bestrahlungen mit unterschiedlicher zeitlicher Verteilung bei sonst konstanten Verhältnissen zu vergleichen. Es ist nicht zu erwarten, daß ihm eine generellere Bedeutung zukommt.

Unter „*aktueller Dosisleistung*“ verstehen wir die Dosisleistung während des eigentlichen Bestrahlungsaktes; „*mittlere Dosisleistung*“ nennen wir die Gesamtdosis dividiert durch die Gesamtbestrahlungszeit (einschließlich der bestrahlungsfreien Pausen).

Alle durch ein Primärteilchen direkt oder indirekt ausgelösten Ionisationen und Anregungen können als gleichzeitig angesehen werden und werden in dieser Arbeit als *ein Absorptionseignis* bezeichnet.

## II. Theoretischer Teil

Es ist nicht zu erwarten, daß sich die Fülle außerordentlich inhomogenen experimentellen und klinischen Erfahrungsgutes zum Zeitfaktorproblem in ein einheitliches, mathematisch, biophysikalisch und medizinisch konsistentes Modell einordnen läßt; wir versuchen aber, ein möglichst viele Phänomene umfassendes Schema aufzustellen, das als Leitfaden bei der Durchsicht des experimentellen Materials dienen kann und vielleicht auch einen heuristischen Wert bei künftigen experimentellen und klinischen Arbeiten hat.

## 1. Voraussetzungen für das Zustandekommen eines Zeitfaktors

Die Wirksamkeit einer Strahlendosis ändert sich dann nicht mit der zeitlichen Verteilung, wenn die einzelnen Absorptionseignisse unabhängig voneinander zum Effekt beitragen, und wenn sich außerdem die Strahlenempfindlichkeit des Systems höchstens mit der Dosis, aber nicht aus anderen Gründen ändert. Bei vielen Strahlenreaktionen aber kommt es zu einer Wechselwirkung der durch die einzelnen Absorptionseignisse ausgelösten Zustandsänderungen. Eine solche Wechselwirkung ist auf jeder der Wirkungsstufen möglich, die von der Energieabsorption bis zum manifesten Effekt führen. Ein von eins abweichender Zeitfaktor kann dann auftreten, wenn die strahleninduzierten Zustandsänderungen auf einer der Stufen zeitlich begrenzt sind und deshalb, z.B. bei der kleineren der beiden verglichenen Dosisleistungen, stärker regeneriert oder restituiert werden, bevor die Wechselwirkung eintritt. Die Strahlenwirkung kann dann in komplexer Weise sowohl von der zeitlichen als auch von der räumlichen Dichte der Absorptionseignisse abhängen. Häufig wird die Wirkung mit steigender zeitlicher Dichte der Absorptionseignisse zunehmen, da dann rückläufige Prozesse weniger zur Geltung kommen. Es kann aber auch eine Art „zeitlicher Sättigungseffekt“ dadurch eintreten, daß etwa bei hoher Dosisleistung die entstehenden freien Radikale sich gegenseitig löschen und dadurch unschädlich gemacht werden, oder daß bei kurzen Bestrahlungszeiten nur der Teil einer Population geschädigt wird, der sich gerade in einem empfindlichen Stadium befindet. Auf der primären physikalisch-chemischen Stufe der Strahlenwirkung ist es also möglich, daß die Wirkung nicht durch die Gesamtzahl der strahleninduzierten „aktiven Zentren“ gegeben ist, sondern durch den zeitlichen Verlauf ihrer Konzentration. Auch auf den weiteren Wirkungsstufen kann es für das Zustandekommen des Effekts nötig sein, daß ein gewisser Schwellenwert momentaner Störung erreicht wird, so daß es nicht ausschließlich auf das zeitliche Integral dieser Veränderung ankommt. Das entspricht der Wirkungsweise eines sog. „Konzentrationsgiftes“ im Gegensatz zu einem „Summationsgift“.

Machen wir uns zunächst ein schematisches Bild der *zeitlichen Abfolge* der strahleninduzierten Veränderungen bis zum manifesten Effekt. Die initialen physikalischen Störungen führen meist innerhalb von weniger als  $10^{-6}$  sec zu molekularen Veränderungen und insbesondere zur Bildung freier Radikale. Diese ihrerseits verursachen biologisch bedeutsame chemische Veränderungen. Dabei beträgt die Lebensdauer der meisten freien Radikale im wäßrigen Milieu nur Bruchteile einer Sekunde, wenn auch Messungen der Elektronenspinresonanz noch nach Minuten und Stunden in trockener Substanz freie Radikale nachweisen. Selbst an sich irreversible molekulare Veränderungen, die in Wechselwirkung zur weiteren Entwicklung des Schadens beitragen, können durch Ausscheidungsvorgänge oder im Zuge physiologischer Umsätze beseitigt und die durch sie hervorgerufenen sekundären Störungen des Stoffwechsels kompensiert werden. Auch physiko-chemische Zustandsänderungen makromolekularer Komplexe, wie etwa Permeabilitätsstörungen, können, wie neuere Experimente vermuten lassen, innerhalb von Minuten bis Stunden repariert oder kompensiert werden. Chromosomenbrüche können ausheilen, wobei die Restitutionszeiten in der gleichen Größenordnung liegen. Auch für Punktmutationen nimmt man in letzter Zeit ein prämutatives, erholungsfähiges Stadium an. Insgesamt kann man auf Grund zahlreicher cytologischer Experimente schließen, daß die meisten dieser intracellulären Erholungsvorgänge spätestens innerhalb eines Tages abgeschlossen sind. Dagegen können sich die Wechselwirkungen der durch zeitlich getrennte Absorptionseignisse hervorgerufenen Störungen auf geweblicher oder gar organismischer Ebene, vor allem bei der Ausbildung von Strahlenspätchäden, über Wochen, Monate und viele Jahre hinziehen.

Alle strahleninduzierten Zustandsänderungen auf den verschiedenen Wirkungsstufen vor dem letzten determinierenden Schritt haben offenbar bestimmte „Aufbauzeiten“ und „Abklingzeiten“, die beide im allgemeinen von der gleichen Größenordnung sind.

Jeder Zustandsänderung kann man vereinfachend eine „charakteristische Dauer“ zuschreiben; eine Wechselwirkung der von verschiedenen Absorptionseignissen ausgelösten Zustandsänderungen kommt nur in Frage, wenn der zeitliche Abstand der Absorptionseignisse nicht größer ist als die charakteristische Dauer der betreffenden Zustandsänderung.

Eine weitere wesentliche Voraussetzung für die Wechselwirkung der von verschiedenen Absorptionseignissen ausgelösten Zustandsänderung ist, daß sich auch die *Volumina*, in denen sie wirksam werden, überlappen. Das schränkt die Möglichkeit eines „physikalischen Zeitfaktors“ erheblich ein, da unmittelbarer Energietransport nur über etwa 100 Å erfolgen und auch der Großteil der für die Strahlenwirkung verantwortlichen freien Radikale innerhalb der Zelle nicht weiter als über Bruchteile eines  $\mu$  diffundieren kann. Das bedeutet, daß nicht nur für dicht ionisierende Strahlung (bei der ja die

einzelnen Bahnspuren an sich schon weiter voneinander entfernt sind), sondern auch für *locker ionisierende* Strahlung sehr hohe Dosen nötig sind, damit sich die Beiträge aus verschiedenen Absorptionseignissen so nahe kommen, daß ein primärer Zeitfaktor möglich ist. Zur Veranschaulichung dieser Verhältnisse ist in Abb. 1 der mittlere Abstand einer beliebigen Ionisation von der nächstgelegenen Ionisation eines anderen Absorptionseignisses in Abhängigkeit von der Dosis dargestellt, und zwar für eine dicht und eine locker ionisierende Strahlenart. Damit ist zugleich die Distanz gegeben, über die sich die Wirkung eines

Absorptionseignisses ausbreiten muß, damit es überhaupt zu einer Wechselwirkung kommen kann. Es sind nur grob abgeschätzte Werte wiedergegeben, die sich im wesentlichen auf Messungen von ROSSI u. Mitarb. über die Verteilung der lokalen Dichte der absorbierten Energie stützen. Erst im Bereich hoher Dosen also ist eine Wechselwirkung so kurzer Reichweite möglich, wie sie für einen physikalischen Zeitfaktor in Frage kommt.

So kann man etwa der Abb. 1 entnehmen, daß bei einer Wechselwirkungs-Reichweite von beispielsweise 1000 Å und einer charakteristischen Dauer von Bruchteilen einer Sekunde (z. B.  $10^{-2}$  sec) die nötige Mindestdosis etwa 1000 rad für locker ionisierende Strahlung, etwa 100000 rad für dicht ionisierende Strahlung beträgt und die Dosisleistung von der Größenordnung  $10^5$  bzw.  $10^7$  rad/sec sein müßte. Nach Abb. 1 muß nämlich die Dosis etwa 1000 bzw. 100000 rad sein, damit ein nennenswerter Teil der Absorptionseignisse um weniger als 1000 Å voneinander entfernt ist, d. h. in die Reichweite der gegenseitigen Wechselwirkung fällt. Eine charakteristische Dauer von  $10^{-2}$  sec bedeutet, daß die Wechselwirkung innerhalb von  $10^{-2}$  sec nach Absorption erfolgen muß; damit aber innerhalb von  $10^{-2}$  sec 1000 bzw. 100000 rad erreicht werden, muß die Dosisleistung  $10^5$  bzw.  $10^7$  rad/sec sein. Tritt bei kleineren Dosen und Dosisleistungen ein Zeitfaktor auf, so ist er, wenn nicht schon in komplexeren biologischen Vorgängen, so allenfalls in einer Wechselwirkung relativ langlebiger freier Radikale zu suchen, oder man muß an synergistische Funktionsstörungen in größeren submikroskopischen Strukturelementen denken. Nur wenn, wie etwa bei den Untersuchungen von HUBER und BRASCH et al., wirklich mit höchsten Dosen und Dosisleistungen gearbeitet wird, sollte man von einem physikalischen Zeitfaktor sprechen. Auch zum Problem der Ultrafraktionierung kann man auf diese Weise einige Hinweise gewinnen. Greifen wir ein Resultat aus neueren Untersuchungen von OBERHEUSER u. KÜNKEL heraus. Bei Abtötung von 6 Std alten Drosophilaembryonen durch ultrafraktionierte 15 MeV-Elektronen war bei einer mittleren Dosisleistung von 25 rad/min eine Bestrahlung mit 50 Hz wirksamer als eine solche mit 25 Hz. Das bedeutet nach Abb. 1, da die Einzel-

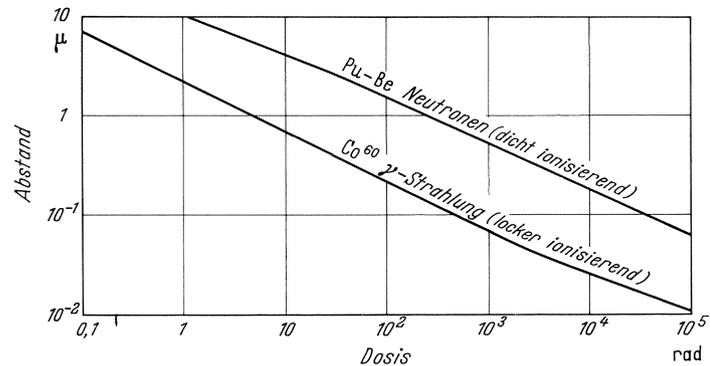


Abb. 1. Mittlerer Abstand einer Ionisation vom nächstgelegenen anderen Absorptionseignisse. Die Kurve für konventionelle Röntgenstrahlung zur Tiefentherapie fällt praktisch mit der für  $^{60}\text{Co}$ -Gammastrahlung zusammen. Für Strahlung niedriger Energie verschiebt sich die Kurve etwas nach oben, liegt aber nahe der Kurve für  $^{60}\text{Co}$ -Gammastrahlung (s. dazu O. HUG und A. KELLERER, Stochastik der Strahlenwirkung. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966)

impulsdosis geringer als 0,02 rad ist, daß sich die für diese unterschiedliche Wirkung verantwortliche Wechselwirkung über mehrere  $\mu$  ausbreiten muß, und zwar in weniger als 0,04 sec. Da die Natur einer solchen Wechselwirkung unbekannt ist (freie Radikale können kaum über einige  $\mu$  in der Zelle wandern), ziehen wir der Bezeichnung „physikalischer Zeitfaktor“ im üblichen Sinne den weniger verpflichtenden Begriff „primärer Zeitfaktor“ vor.

Diese Überlegungen zur Rolle der räumlichen und zeitlichen Dichte der Absorptionsereignisse erlauben, wenigstens bei einfacheren Formen der zeitlichen Dosisverteilung, gewisse Rückschlüsse auf die Natur der für den Zeitfaktor verantwortlichen rückläufigen Prozesse. Kompliziertere Arten der Dosisverteilung erfordern aber eine detaillierte Analyse. Die Durchsicht des experimentellen Materials zeigt mit aller Deutlichkeit, daß es meist eine vergebliche Mühe ist, die relative Wirksamkeit zweier zeitlich verschiedener Bestrahlungsarten auf die Änderung eines Parameters, wie Gesamtbestrahlungszeit, aktuelle oder mittlere Dosisleistung, Größe und Zahl der Fraktionen oder der bestrahlungsfreien Intervalle, zurückzuführen. Das folgende Schema soll zeigen, daß die Wirksamkeit der Strahlendosis tatsächlich eine Funktion des gesamten Spektrums der zeitlichen Abstände zwischen allen Absorptionsereignissen ist. Man kann das jeweilige Muster der zeitlichen Dosisverteilung durch die Wahrscheinlichkeitsverteilung der zeitlichen Abstände zweier zufällig aus der Gesamtdosis herausgegriffener Absorptionsereignisse charakterisieren, d.h. durch die Funktion  $F(\tau)$ , die angibt, mit welcher Wahrscheinlichkeit zwei Absorptionsereignisse einen zeitlichen Abstand haben, der  $\tau$  nicht überschreitet.  $D \cdot F(\tau)$  ist dann der Teil der Gesamtdosis, der durch Absorptionsereignisse zustande kommt, die voneinander höchstens den zeitlichen Abstand  $\tau$  haben, d.h. derjenige Dosisbetrag, der für eine Wechselwirkung der charakteristischen Dauer  $\tau$  in Frage kommt und den man „Konfluenzdosis“ nennen kann. An Hand der Abb. 1 kann geprüft werden, ob die der Konfluenzdosis entsprechenden räumlichen Abstände der einzelnen Absorptionsereignisse tatsächlich eine Wechselwirkung auf der entsprechenden Stufe erlauben.

Die der Verteilungsfunktion  $F(\tau)$  zugeordnete Wahrscheinlichkeitsdichte  $f(\tau)$  errechnet sich nach der Formel:

$$f(\tau) = \frac{1}{D^2} \int_0^T I(t) \cdot I(t + \tau) dt$$

wobei sich das Integral über die gesamte Bestrahlungszeit erstreckt und  $I(t)$  die Dosisleistung in Abhängigkeit von der Zeit und  $D$  die Gesamtdosis ist.

Es sei auf eine quantitative Behandlung verzichtet und statt dessen lediglich eine Veranschaulichung gegeben, indem wir die Funktionen  $D \cdot F(\tau)$  an je einem Beispiel für die gebräuchlichsten Arten der zeitlichen Dosisverteilung angeben.

In Abb. 2 ist für verschiedene Formen der Protrahierung und Fraktionierung einer gewissen Gesamtdosis — hier 1000 rad verteilt über 10 Tage — die Verteilungsfunktion  $F(\tau)$  dargestellt. Man kann daraus also ablesen, wie hoch für eine Wechselwirkung bestimmter charakteristischer Dauer die jeweilige Konfluenzdosis  $D \cdot F(\tau)$  ist.

Kurve a bezieht sich auf kontinuierliche Bestrahlung. Offensichtlich ist in diesem Fall keine Wechselwirkung mit kürzerer charakteristischer Dauer als einige Stunden möglich, da dann die Konfluenzdosis praktisch verschwindet; alle rückläufigen Prozesse mit einer Dauer von weniger als einigen Stunden, also alle primären und intracellulären Erholungsvorgänge, kommen voll zur Wirkung.

Anders für fraktionierte Bestrahlung: Kurve b entspricht einer Bestrahlung mit zehn Einzelfraktionen und einer aktuellen Dosisleistung von 100 rad/min. Hier ist die Konfluenzdosis für Wechselwirkungen der charakteristischen Dauer zwischen einer Minute und einigen Stunden gleich 100 rad und damit nicht mehr zu vernachlässigen. Bezüglich langsamer Erholungsprozesse im Bereich von Tagen entspricht Kurve b der Kurve a.

Noch deutlicher wird der Einfluß der Fraktionierung an der Kurve c, die einer Bestrahlung in zwei Einzelfraktionen entspricht. Für diese Bestrahlungsart ist die Konfluenzdosis für Wechselwirkungen der charakteristischen Dauer von Minuten bis zu

Stunden gleich 500 rad. Damit ist der Einfluß der rückläufigen Prozesse mit Dauern zwischen Minuten und Stunden wesentlich eingeschränkt.

Die Kurven d und e schließlich entsprechen den Kurven b und c bis auf die aktuelle Dosisleistung, die nun mit  $10^4$  rad/min angesetzt ist. Für diese Fälle ist die Konfluenzdosis für Wechselwirkungen innerhalb von Bruchteilen einer Sekunde bereits gleich 100 bzw. 500 rad. Die Erhöhung der aktuellen Dosisleistung führt also dazu, daß schon

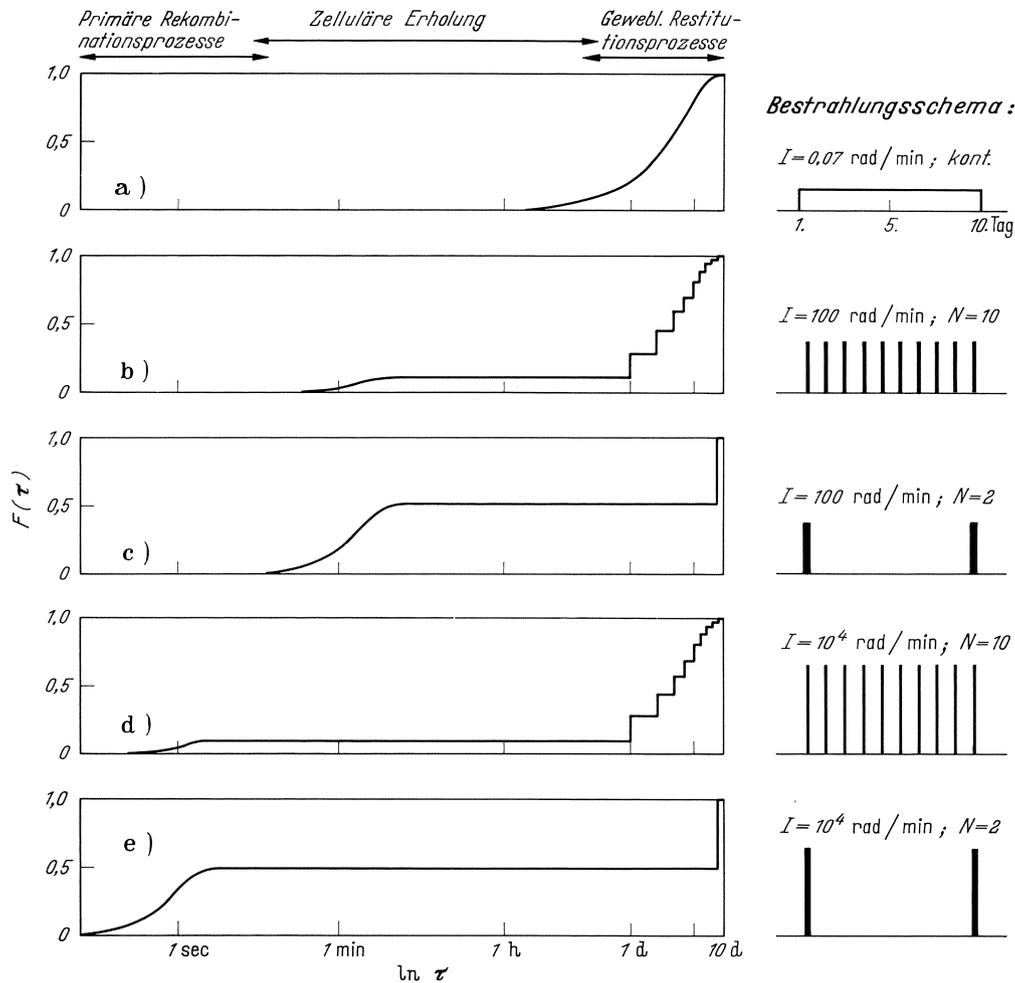


Abb. 2.  $F(\tau)$  für verschiedene zeitliche Verteilung einer Dosis von 1000 rad innerhalb von 10 Tagen (berechnet nach der Definition auf S. 276)

sehr schnelle rückläufige Prozesse mehr oder minder stark ausgeschaltet werden. Für charakteristische Dauern von mehr als einigen Minuten sind die Kurven aber unabhängig von der aktuellen Dosisleistung. Der Vergleich der Kurven d und c zeigt insbesondere, daß, wenn nicht sehr schnelle rückläufige Prozesse entscheidend sind, bei gleicher Gesamtbestrahlungszeit eine Fraktionierung mit geringerer aktueller Dosisleistung durchaus wirksamer als eine Fraktionierung mit höherer aktueller Dosisleistung und größerer Zahl der Einzelfractionen sein kann. In diesem Fall wirkt also die Bestrahlung mit geringerer aktueller Dosisleistung, als sei sie zeitlich konzentrierter. Dies ist wichtig für die Beurteilung mancher experimenteller Untersuchungen.

Eine zweite allgemeine Feststellung kann an Hand dieser Kurven gemacht werden. Mit zunehmender Zahl der Fraktionen wird ganz allgemein die Bedeutung der aktuellen

Dosisleistung abnehmen, weil dabei die Konfluenzdosis für charakteristische Dauern  $\tau$ , die gegen die Gesamtdauer der Bestrahlung klein sind, abnimmt. So mag für ein bestimmtes Dosisleistungsverhältnis bei Einzeitbestrahlung ein Zeitfaktor auftreten, während bei Aufspaltung der Einzeldosen in mehrere getrennte Portionen die aktuelle Dosisleistung keine Rolle mehr spielt. Dies ist der Grund dafür, daß bei den heute in der Therapie üblichen, hoch fraktionierten Bestrahlungen die Protrahierung von untergeordneter Bedeutung ist, und man daher im wesentlichen nur den Fraktionierungsfaktor zu diskutieren braucht (s. klinischer Teil).

## 2. Allgemeiner mathematischer Ansatz

### a) Die Kinetik der Strahlenwirkung

Wie bereits einleitend erwähnt, ging die Treffertheorie anfangs von der vereinfachenden Annahme aus, daß eine Testreaktion dann eintritt, wenn ein oder mehrere irreversibel wirkende Trefferereignisse in den empfindlichen Bereichen der biologischen Einheit erfolgt sind; die vitalen Systeme wurden zunächst als ruhend betrachtet. Es bereitete dann erhebliche Schwierigkeiten, nachträglich den Zeitfaktor in den treffertheoretischen Formalismus einzubauen. Während es lange Zeit als gesichert gelten konnte, daß Strahlenwirkungen, die nach einer Exponentialfunktion verlaufen und als Eintreffervorgänge gedeutet wurden, keinerlei Abhängigkeit von der zeitlichen Dosisverteilung aufweisen, wurde es bald notwendig anzunehmen, daß bei Mehrtreffervorgängen die einzelnen Trefferereignisse — solange das irreversible letzte noch nicht eingetreten ist — reversibel sind. SWANN und DEL ROSARIO behandelten mathematisch den Fall eines Zweitreffervorgangs und nahmen an, daß die Wirkung des ersten Treffers vor Eintritt des zweiten Treffers abklingen kann, wobei die Abklingzeiten exponentiell verteilt sind. Sie gelangten zu folgender Gleichung für den Bruchteil  $\frac{N}{N_0}$  der bei der Dosis  $D$  Überlebenden:

$$\frac{N}{N_0} = \frac{(a-b) \left(b + \frac{\lambda}{2}\right)}{2b \left(b - \frac{\lambda}{2}\right)} \left( \frac{e^{-(a-b)t}}{a-b} - \frac{e^{-(a+b)t}}{a+b} \right), \text{ wobei: } \begin{aligned} a &= \alpha D + \frac{\lambda}{2} \\ b &= \left( \alpha D \lambda + \frac{\lambda^2}{4} \right)^{\frac{1}{2}} \end{aligned}$$

$\alpha$  formales kritisches Volumen,  $\lambda$  Erholungskonstante,  $t$  Bestrahlungszeit.

Diese Beziehung ist trotz der sehr speziellen Voraussetzungen so kompliziert, daß sie kaum zu handhaben ist. Aus diesem Grunde nahmen RAJEWSKY und DÄNZER vereinfachend an, daß der Testeffekt genau dann eintritt, wenn  $n$  Treffer innerhalb eines bestimmten Zeitraumes  $\tau$  erfolgen, weil die Wirkung eines jeden Einzeltreffers nur für diese scharf begrenzte Zeit bestehen bleibt. Ihre Formel für den Fall  $n=2$  lautet:

$$\frac{N}{N_0} = 1 - e^{-\alpha I t} \left[ 1 + \alpha I t + \sum_r \frac{(\alpha I t)^r}{r!} \left( 1 - (r-1) \frac{\tau}{t} \right)^r \right]$$

Die Summation erfolgt dabei über alle  $r > 1$  mit  $1 - (r-1) \frac{\tau}{t} > 0$ .

DITTRICH leitete dann die Lösung für beliebiges  $n$  ab.

Mit dem Ziel, bei der Interpretation der Dosiswirkungsbeziehungen die den vitalen Objekten innewohnende Kinetik und die Kinetik strahleninduzierter Vorgänge von Anfang an zu berücksichtigen, haben HUG und KELLERER und KELLERER und HUG einen generellen Formalismus vorgeschlagen, der gerade für die Erfassung des Zeitfaktors brauchbar zu sein scheint. Bei einer Zelle, als einem bewegten System, kann allenfalls in der Ruhe des Fließgleichgewichtes eine statische Behandlung erlaubt sein. Das Verständnis einer von außen gesetzten Störung des Ablaufs aber ist nur möglich bei Kenntnis der innewohnenden Prozesse. Will man also die Strahlenwirkung auf ein solches System

beschreiben, so erfordert das eine Reihe von Gleichungen, die sowohl die physiologischen als auch die strahleninduzierten Abläufe wiedergeben. Man kann den physiologischen und den strahleninduzierten Zuständen der Einheiten einer Population ein Netz von Zustandspunkten zuordnen. Jedem dieser Punkte entspricht eine Besetzungszahl, die angibt, mit welcher Wahrscheinlichkeit eine Einheit sich gerade in diesem Zustand befindet, oder anders gesagt, welcher Prozentsatz einer Population in diesem Zustand ist. Bestimmt werden diese Besetzungszahlen durch die Übergangswahrscheinlichkeiten zwischen den einzelnen Punkten. Wir bauen dabei das Punktenetz so auf, daß die horizontalen Übergänge den physiologischen Zustandsänderungen (molekularen oder cellulären Umsätzen) entsprechen, die vertikalen den durch die Bestrahlung erzwungenen Zustandsänderungen (Abb. 3a).

Wählen wir als einfachstes Beispiel und um den Anschluß an die Treffertheorie zu wahren, den sog. Mehrtrefferansatz, so stellen die Zustände mit bestimmten Trefferzahlen eine Kette übereinanderliegender Punkte dar. Vom untersten Punkt, dem Ausgangszustand, gehen die Einheiten in den darüberliegenden Zustand „1-Treffer“ über, wenn sie zum ersten Mal getroffen werden. Von da können sie dann durch weitere Trefferereignisse schließlich den Zustand „ $n$ -Treffer“ erreichen, der dem Eintritt der Testreaktion entspricht (Abb. 3b).

$\alpha_i$  ist dabei der auf die Dosisleistung bezogene Übergangskoeffizient von Punkt zu Punkt.

Die Abhängigkeit der Besetzungszahlen  $x_i$  von der Zeit und — bei festgehaltener oder in ihrem zeitlichen Verlauf bekannter Dosisleistung  $I$  — von der Dosis bestimmt die entsprechende Dosiseffektcurve.

Analytisch wird ein solcher Vorgang durch ein System linearer Differentialgleichungen beschrieben. Anschaulicher, bequemer niederzuschreiben und leichter in die Sprache automatischer Rechner zu übersetzen ist die Rechnung, wenn man die Matrixschreibweise benutzt. Über die Größe der einzelnen Übergangswahrscheinlichkeiten kann man von vornherein keine Aussagen machen; nur wenn man sie einander gleichsetzt, erhält man die sog. Mehrtrefferkurven nach BLAU und ALTENBURGER. Ähnlich spezielle Annahmen führen zu den sog. Mehrbereichskurven.

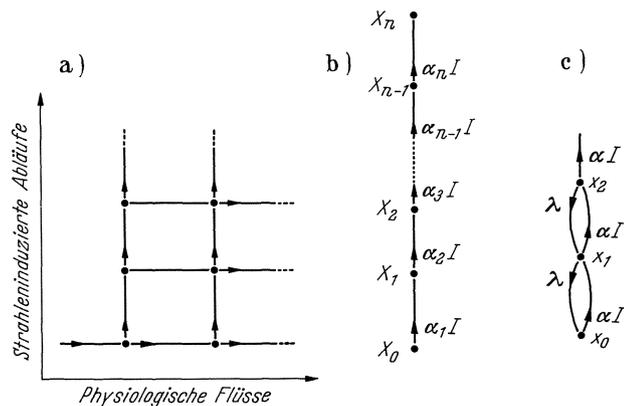


Abb. 3. a Allgemeines Schema zur Darstellung strahleninduzierter und physiologischer Abläufe. b Schema eines Mehrtreffervorganges, unter Vernachlässigung der physiologischen Abläufe. c Schema eines 3-Treffervorganges unter Berücksichtigung rückläufiger Prozesse

### b) Berücksichtigung des Zeitfaktors im mathematischen Modell

Ist die Schädigung auf irgendeiner Stufe der zum Endeffekt führenden Ursachenkette reversibel, so verringert sich die Wirkung einer Strahlendosis mit Verlängerung der Bestrahlungszeit. Rekombinationsvorgänge können in dem graphischen Schema durch nach unten gerichtete Pfeile symbolisiert und durch entsprechende Übergangskoeffizienten in die mathematische Analyse eingeschlossen werden.

Man kann auf die analytische Lösung der zugeordneten Gleichungen verzichten und das graphische Schema eines beliebigen Ansatzes in das Schaltschema eines Analogrechners übersetzen. Als Beispiel sei die Erweiterung des Ansatzes von SWANN und DEL ROSARIO auf einen Dreitreffervorgang gewählt. Das graphische Schema dafür ist in der Abb. 3c dargestellt. Die Zwischenstadien der Schädigung sind reversibel; die

Rekombinationskonstante ist mit  $\lambda$  bezeichnet. Die entsprechende Matrixgleichung für diesen Fall hat die Form

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} x_0 \\ x_1 \\ x_2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -\alpha I & \lambda & 0 \\ \alpha I & -\alpha I & \lambda \\ 0 & \alpha I & -\alpha I \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x_0 \\ x_1 \\ x_2 \end{pmatrix}$$

und die Dosiswirkungskurven lassen sich unmittelbar vom Analogrechner aufzeichnen.

Die halblogarithmische Darstellung dieser Kurven in Abb. 4 zeigt, daß sich die Dosiswirkungskurven nach einer anfänglichen „Schulter“ einer Exponentialfunktion anschmiegen, und daß sich mit abnehmender Dosisleistung die Schulter und damit die „Extrapolationsnummer“<sup>1</sup> verringert bei gleichzeitiger Verflachung des gesamten Kurvenverlaufs. Dies ist auch der Fall bei Ungleichheit der Übergangskoeffizienten oder Re-

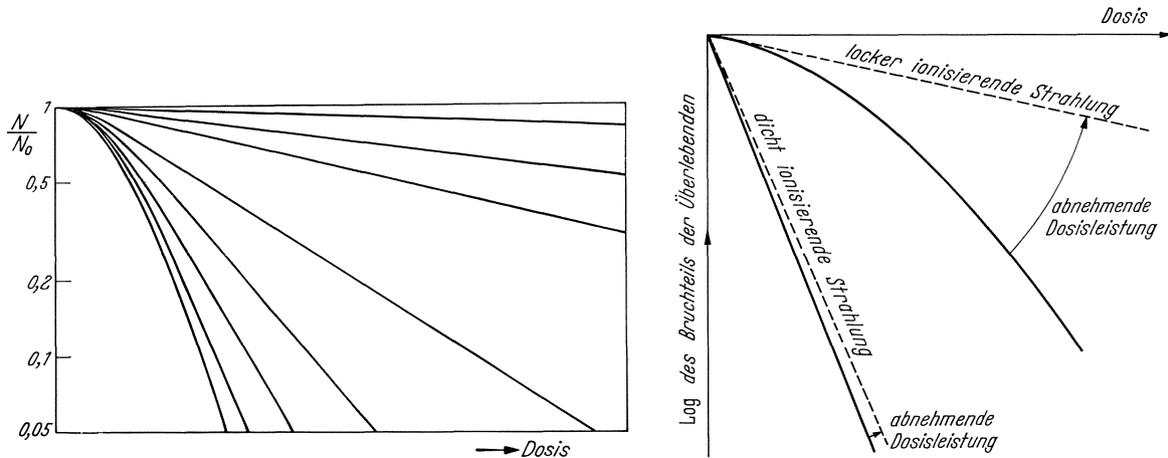


Abb. 4

Abb. 5

Abb. 4. Dosiswirkungskurven für einen 3-Treffer-Vorgang unter Berücksichtigung rückläufiger Prozesse (nach dem Schema der Abb. 3c, mittels des Analogrechners gewonnene Kurven; die Kurven gehören von unten nach oben zu den Werten:  $\frac{\alpha I}{\lambda} = \infty, 1, 0.32, 0.15, 0.075, 0.032, 0.015, 0.0075$ ). (KELLERER und HUG)

Abb. 5. Vor allem aus strahlencytologischen Studien abgeleitetes Schema des Zeitfaktors bei locker und bei dicht ionisierenden Strahlen. (Nach Report of the RBE Committee to the International Commissions on Radiological Protection and on Radiological Units and Measurements, p. 357—384)

kombinationskonstanten. Es besteht also die Möglichkeit, daß manche der als Eintrefferkurven interpretierten, exponentiellen Dosiswirkungskurven in Wirklichkeit auf einer durch rückläufige Prozesse gehemmten Kumulation der Wirkung mehrerer Trefferereignisse beruhen.

Der spezielle Fall, daß sich exponentielle Dosiswirkungskurven ergeben, wenn die Erholungszeit klein gegenüber dem mittleren zeitlichen Abstand zweier Treffer ist, wurde bereits von DITTRICH und von SOMMERMEYER diskutiert.

Ermittelt man die Lösungskurven für einige spezielle Fälle des oben angegebenen Ansatzes, so zeigt sich auch ohne Einschluß des Zeitfaktors, daß scheinbare Mehrtrefferkurven und Mehrbereichskurven auf mannigfaltige Weise zustande kommen können; um so weniger kann man, wenn man auch noch den komplizierenden Zeitfaktor berücksichtigt, aus einem Kurvenverlauf auf den Inaktivierungsmodus schließen.

Aus Abb. 4 können die Zeitfaktoren in Abhängigkeit von der Dosisleistung und der Geschwindigkeit der rückläufigen Prozesse abgelesen werden. Es ergibt sich dabei, daß

<sup>1</sup> Verlängert man den geradlinigen Endteil einer halblogarithmischen Dosiswirkungskurve bis zur Ordinate, so gibt der Schnittpunkt mit dieser die Extrapolationsnummer an; sie wurde früher mit der Zahl der Trefferbereiche gleichgesetzt.

der Zeitfaktor nicht nur von  $\alpha I/\lambda$ , sondern auch vom Grad des Effektes abhängt. Tatsächlich ist diese Abhängigkeit meist ausgeprägter, als es aus der Abb. 4 hervorgeht. Dies erklärt sich dadurch, daß bisher alle Schädigungsschritte vor dem Endzustand als reversibel angesehen wurden. Eine irreversible Komponente der Strahlenwirkung, wie sie in vielen Experimenten zutage tritt, bestimmt vor allem den Verlauf des Anfangsteils der Dosiswirkungskurven. Die Kombination reversibler und irreversibler Veränderungen läßt sich am besten verstehen, wenn man zunächst von der cellulären Wirkung dicht ionisierender Strahlen ausgeht, bei der die irreversible Komponente bestimmend ist.

### e) Die reversible und die irreversible Komponente der Strahlenwirkung

Viele celluläre Strahleneffekte, die bei Einwirkung locker ionisierender Strahlen eine sigmoide Dosisbeziehung aufweisen, gehorchen bei dicht ionisierenden Strahlen einer Exponentialfunktion (BARENDSEN u. BEUSKER; BARENDSEN et al.) und sind nicht oder wenig von der zeitlichen Dosisverteilung abhängig (Abb. 5). Dies ergibt sich im theoretischen Modell, wenn man berücksichtigt, daß bestimmte Effekte, die bei locker ionisierender Strahlung erst nach dem Zusammenwirken mehrerer zeitlich getrennter Absorptionsereignisse zustande kommen, schon durch den Durchgang eines einzelnen dicht ionisierenden Teilchens ausgelöst werden können. In der Matrixformulierung drückt sich dies dadurch aus, daß weiter unterhalb der Diagonalen stehende Übergangskoeffizienten auftreten. Graphisch läßt es sich durch aufwärtsgerichtete Verbindungslinien darstellen, die weiter voneinander entfernte Zustandspunkte verbinden. Die reversiblen Zwischenschritte werden dabei also übersprungen und der durch sie bedingte Zeitfaktor wird ausgeschaltet.

Die Lösungskurven erhalten dann eine Form, die kleineren Trefferzahlen entspricht als bei locker ionisierender Strahlung. Nach den klassischen Mehrtreffer- und Mehrbereichsansätzen geht die Wirksamkeit der Strahlung sowohl für sehr kleine Dosen als auch für sehr kleine Dosisleistungen gegen Null. Im Experiment jedoch, beispielsweise bei der Inaktivierung von Zellkulturen, beginnen auch Dosiswirkungskurven für locker ionisierende Strahlen häufig mit einer endlichen Neigung (s. Abb. 5). Dies kann nunmehr dadurch erklärt werden, daß ein Teil der Gesamtwirkung durch Eintrefferereignisse zustande kommt. Man hat dabei insbesondere an die Wirkung der dicht ionisierenden Deltastrahlen zu denken. Schließt man in die der jeweiligen Strahlenart entsprechende Übergangsmatrix auch rückläufige Glieder ein, so zeigt sich, daß die Dosiswirkungskurven sich im Einklang mit der Erfahrung bei Protrahierung oder Fraktionierung der Exponentialfunktion annähern, die sie im Anfangspunkt tangiert.

Statt von Eintreffer- oder Mehrtrefferanteil der Strahlenwirkung zu sprechen, kann man dann auch rein formal von einer reversiblen und irreversiblen Komponente des Strahlenschadens sprechen, wobei jene bei locker ionisierenden, diese bei dicht ionisierenden Strahlen überwiegt. Die irreversible Komponente ist für die exponentielle Form oder den exponentiellen Anfangsteil der Dosiswirkungskurve verantwortlich, während die reversible Komponente die sigmoide Form der Dosiswirkungskurve bedingt. Die sigmoide Form der Dosiswirkungskurve ist ja Ausdruck einer allmählich akkumulierten Schädigung, und nur in diesem Fall können rückläufige Prozesse eine Rolle spielen. Der reversible Anteil kann durch Verringerung der Dosisleistung bzw. Verlängerung der Bestrahlungszeit beliebig verkleinert werden. Der irreversible Anteil zeigt im allgemeinen keinen Einfluß des Zeitfaktors. Schematisch werden diese Verhältnisse durch Abb. 5 wiedergegeben, die den geringeren Einfluß des Zeitfaktors bei dicht ionisierenden Strahlen dem ausgeprägten Zeitfaktor bei locker ionisierender Strahlung gegenüberstellt. Der obige Ansatz bezieht sich auf einfache Protrahierung. Im Fall protrahiert-fraktionierter Bestrahlung kompliziert sich das Bild, wie auf S. 277 beschrieben. Dort wird auch erläutert, unter welchen Umständen die Protrahierung von Bedeutung sein kann.

#### d) Die verschiedenen Wirkungsstufen, auf denen es zu einem Zeitfaktor kommen kann

Entsprechend dem in Abschnitt I Gesagten kann auf den verschiedenen kausal hintereinander liegenden Stufen strahleninduzierter Störungen eine Wechselwirkung stattfinden, die einen Zeitfaktor bedingt. Man pflegt dann zwar von einem „Mehrtreffervorgang“ zu sprechen, sollte aber lieber, wenn man sich nicht ausdrücklich auf die quantenhafte Natur der Energieabsorption bezieht, die allgemeinere Bezeichnung „Reaktion höherer Ordnung“ benützen. Das formale Schema ist auf den verschiedenen Stufen gleich gut anwendbar.

Eine Reaktion hängt um so stärker von der Konzentration der Reaktanten (z. B. der freien Radikale) ab, je höher ihre Ordnung ist. Es ist dann zu erwarten, daß der Zeitfaktor mit abnehmender Dosisleistung ansteigt. Jedoch kann dieser Zeitfaktor überdeckt werden, wenn auch die gegenläufigen Prozesse von höherer Ordnung sind.

Solche gegenläufigen Prozesse höherer Ordnung spielen vor allem bei höchster Dosisleistung eine Rolle, wenn nämlich, gemäß den Ausführungen auf S. 275, direkte Wechselwirkungen zwischen physikalisch angeregten Zuständen oder zwischen den primären freien Radikalen zur gegenseitigen Löschung führen können. Dementsprechend ist für höchste Dosisleistungen ein umgekehrter Zeitfaktor zu erwarten, und er ist auch tatsächlich beobachtet worden.

So steigt auf Grund der gegenseitigen Reaktion der strahleninduzierten freien Radikale die  $H_2O_2$ -Konzentration in bestrahltem Wasser nicht proportional der Dosisleistung an (GHORMLEY). Analoges gilt sicher für andere anorganische Radikale, und entsprechende Vorgänge sind selbst für so relativ komplexe Vorgänge wie die Polymerisation von Vinyl-Monomeren nachgewiesen worden (DAINTON). Ein Vinyl-Monomeres reagiert mit einem freien Radikal und wird dadurch befähigt, mit weiteren Monomeren zu reagieren und so zu polymerisieren. Diese Kettenreaktion wird aber durch das Auftreffen auf ein anderes freies Radikal beendet, so daß der Zeitfaktor mit steigender Dosisleistung wächst. Eine wesentliche Rolle kann bei extremer Dosisleistung auch die Tatsache spielen, daß die dann auftretende Sauerstoffverarmung den Strahleneffekt verringert.

HUBER u. BRASCH et al. konnten unter anderem nachweisen, daß die Strahlenwirkung auf Ergosterin, Casein, Eialbumin, Butan und Heptan, Styran, Ricinusöl, Tungöl, Holzöl, Aceton, Hämoglobin und pflanzliche Gewebe bei hoher Dosisleistung stark abfällt.

Die sehr speziellen Bedingungen der räumlichen und zeitlichen Dichte der Absorptionseignisse, die für eine Wechselwirkung auf primärer physiko-chemischer Ebene gegeben sein müssen, wurden bereits besprochen. Für strahlenchemische Reaktionen scheint ein Zeitfaktor demnach vor allem von Bedeutung zu sein, wenn entweder die Dosen und Dosisleistungen extrem hoch sind oder die Lebensdauer der für die Wirkung verantwortlichen freien Radikale als sehr groß angenommen werden darf (LOTZ, HÖFERT).

Bei den meisten Zeitfaktorexperimenten zur biologischen Strahlenwirkung sind dagegen die Dosen und Dosisleistungen so gering, daß die besprochenen komplizierten Wechselwirkungen verschiedener Absorptionseignisse auf der physiko-chemischen Ebene zu vernachlässigen sind. Zu den oben besprochenen *Rekombinationsvorgängen* physikalischer und chemischer Art, die man sich auch in einem toten System denken kann, kommen solche mehr biologischer Art an strahlengeschädigten komplexeren Strukturen und Funktionen. Auch das läßt sich im graphischen Schema symbolisieren und zwar durch abwärtsgerichtete Übergänge. Dazu aber kommt die *Restitution* geschädigter Einheiten im Zuge molekularer und cellulärer Umsätze.

#### e) Berücksichtigung der spontanen physiologischen Abläufe

Der physiologische Fluß molekularer oder cellulärer Einheiten in einem Organismus läßt sich in unserem Schema durch horizontal angeordnete Reihen von Zustandspunkten mit den zugehörigen Übergangswahrscheinlichkeiten beschreiben. Dabei entsprechen die Zustandspunkte innerhalb einer Stoffwechselkette den Anfangs-, Zwischen- und Endprodukten, bei einer Zellpopulation den verschiedenen Stadien des Mitoseablaufs oder bei einem Mausepithelgewebe den Differenzierungsstadien und Zellarten, von denen eine

aus der anderen hervorgeht. Auch Rückkopplungsvorgänge und Regelmechanismen lassen sich in solchen zweidimensionalen Flußsystemen darstellen.

Insbesondere ergibt sich in einem solchen Modell unmittelbar, daß immer dann, wenn die bestrahlten Objekte eine Reihe verschieden empfindlicher Phasen durchlaufen, ein bestimmtes Optimum der zeitlichen Verteilung der Dosis resultiert, so daß bei Unterschreitung einer gewissen Bestrahlungszeit die Wirksamkeit einer Strahlendosis abnimmt, wie dies den alten Beobachtungen an Mausergeweben entspricht.

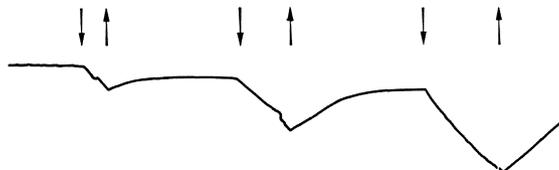


Abb. 6. Verlauf der Lumineszenz von Leuchtbakterienkolonien (*Bact. phosphorescens*) bei wiederholter Bestrahlung mit 16000 R/min. Abfall der Lichtintensität unter 1, 2 und 3 min langer Bestrahlung ( $\downarrow \uparrow$ ) bis auf ca. 45% des Ausgangswertes und partielle Erholung in den Pausen mit Einstellung eines jeweils niedrigeren stationären Zustandes. (HUG, unveröffentlicht)

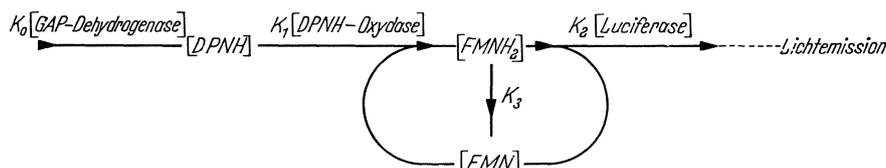


Abb. 7. Reaktionsschema der Biolumineszenz (Leuchtbakterien). *GAP* = Glycerinaldehydphosphat; *DPN* = Diphosphorpyridinnucleotid; *FMN* = Flavinmononucleotid = Luciferin;  $K_0, K_1, K_2, K_3$  Geschwindigkeitskonstanten der entsprechenden Fermentreaktionen. (KELLERER und HUG)

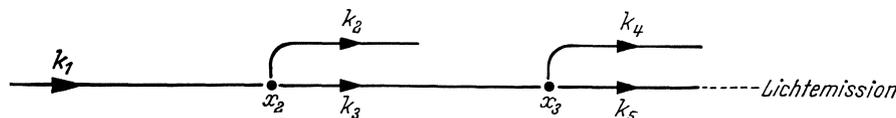


Abb. 8a. Vereinfachtes Schema der Enzymkette der Biolumineszenz.  $x_2 = [DPNH], x_3 = [FMNH_2], k_1 = C_1 \cdot [GAP\text{-Dehydr.}] \cdot [DPN], k_3 = C_3 \cdot [DPNH\text{-Oxyd.}] \cdot [FMN], k_5 = C_5 \cdot [O_2] \cdot [RCHO] \cdot [Luciferase], C_i$ , Geschwindigkeitskonstanten

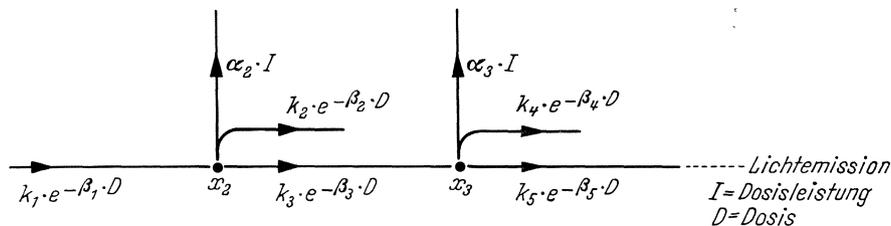


Abb. 8b. Das der Abb. 8a entsprechende Schema unter Berücksichtigung der Strahlenwirkung

Ein Beispiel für die Strahlenwirkung auf ein kinetisches System sind die von HUG und WOLF und HARDER und HUG durchgeführten Studien an Leuchtbakterien. Wie Abb. 6 zeigt, fällt unter Bestrahlung die Lichtintensität ab. Nach Ende der Bestrahlung steigt sie wieder an, doch ist nur ein Teil der Schädigung reversibel. Der nach Abschluß der Erholung erreichte stationäre Zustand liegt tiefer als der ursprüngliche. Man kann diese Vorgänge auf Grund des Schemas der zugrunde liegenden Enzymkette (Abb. 7) verstehen.

Das Reaktionsschema vereinfacht sich, wenn man berücksichtigt, daß sowohl  $[DPN]$  groß ist gegen  $[DPNH]$  als auch  $[FMN]$  gegen  $[FMNH_2]$ . Der Weg des reduzierenden Wasserstoffs in der chemischen Reaktionskette ist dann durch das graphische Schema der Abb. 8a dargestellt. Dieser Ansatz entspricht dem Fall des stationären Gleichgewichts.

Die gemessene Lichtintensität ist proportional der Größe  $k_5 x_3$ . Um einen allgemeinen Ansatz für das Verhalten des Systems unter Bestrahlung zu gewinnen, kann man annehmen, daß sowohl die die Reaktionskonstanten bestimmenden Fermente als auch die Substrate sich unter Bestrahlung nach einem Eintreffervorgang vermindern. Dann nimmt das graphische Schema die in Abb. 8 b dargestellte Form an.

Dem entspricht die Matrixgleichung:

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} 1 \\ x_2 \\ x_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 \\ k_1 \cdot e^{-\beta_1 \cdot D} & -\alpha_2 \cdot I - k_2 \cdot e^{-\beta_1 \cdot D} - k_3 \cdot e^{-\beta_3 \cdot D} & 0 \\ 0 & k_3 \cdot e^{-\beta_3 \cdot D} & -\alpha_3 \cdot I - k_4 \cdot e^{-\beta_4 \cdot D} - k_5 \cdot e^{-\beta_5 \cdot D} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 \\ x_2 \\ x_3 \end{pmatrix}$$

die — einem Analogrechner zugeführt — Kurvenverläufe ergibt, die mit den experimentellen Beobachtungen übereinstimmen. Dabei entspricht der irreversible Schädigung die Verminderung der die Reaktionskonstanten bestimmenden Fermente, während die reversible Komponente des Schadens der Verminderung der Substrate entspricht.

Der Ansatz enthält zu viele Freiheitsgrade, als daß bisher mit Sicherheit die Empfindlichkeit der einzelnen Komponenten ermittelt werden konnte. In den vereinfachenden Ansätzen von HUG und WOLF und HARDER und HUG, die Spezialfällen der obigen Gleichung entsprechen, wurde jedoch auch eine numerische Behandlung des Problems gegeben.

### 3. Mathematische Modelle für komplexere Strahlenreaktionen

Der Verlauf der Erholung wird im allgemeinen dadurch getestet, daß man Tiere mit einer subkritischen Dosis bestrahlt und in verschiedenen Zeitpunkten nach Bestrahlung bestimmt, um welchen Betrag die Dosis, die nunmehr noch nötig ist, um den Testeffekt zu erreichen, geringer ist als ohne Vorbestrahlung. Diese Differenz kann man „Residualdosis“ nennen, wobei man sich vorstellt, daß Erholungsvorgänge so wirken, als ob nur noch dieser Teilbetrag der Vorbestrahlungsdosis zu diesem Zeitpunkt „vorhanden“ sei. Selbstverständlich gilt das nur in bezug auf den jeweiligen getesteten Effekt. Bezieht man sich aber konsequent auf einen bestimmten Effekt, so ist der Begriff der Residualdosis eine nützliche Hilfsgröße für quantitative Überlegungen über den zeitlichen Verlauf der Erholung. Diesen theoretischen Überlegungen entspricht die „Sättigungsmethode“ nach KINGERY und PFAHLER.

Beobachtungen an totalbestrahlten Tieren verschiedener Species legen die Annahme nahe, daß das Abklingen der Schädigung bzw. der Residualdosis für jede Tierart in charakteristischer Weise erfolgt. Es ist zwar im allgemeinen nur in grober Näherung möglich, diese experimentell bestimmten Kurven durch einfache mathematische Funktionen auszudrücken; man pflegt aber für praktische Berechnungen solche Vereinfachungen zu wählen. Aus den Erholungskurven kann auf den Betrag der Residualdosis während und nach zeitlich ausgedehnter Bestrahlung geschlossen werden. Dafür wird vereinfachend angenommen, daß die Form der Erholungskurve unabhängig von der Höhe der Anfangsdosis sei. Wegen dieser Annahme pflegt man diesen Ansatz und die daraus abgeleiteten Formeln als „lineares Modell“ zu bezeichnen. Daraus folgt, daß die zur Zeit  $t$  wirksame Residualdosis gleich  $D \cdot \Phi(t)$  ist, wenn zur Zeit  $t=0$  die Dosis  $D$  zugeführt wurde.  $\Phi(t)$  bezeichnet in diesem Ausdruck die „Erholungsfunktion“ oder „Impulsfunktion“, wie sie SACHER nennt. Mit der Zusatzannahme, daß sich die wirksamen Dosen, die von den einzelnen Zeitpunkten der Bestrahlung herrühren, einfach addieren, erhalten wir für die gesamte zur Zeit  $t$  akkumulierte Dosis den Ausdruck:

$$D_k = \int_0^t I(\tau) \cdot \Phi(t-\tau) d\tau, \quad I(\tau) \text{ Dosisleistung zur Zeit } \tau.$$

Diese Formel gilt für beliebige zeitliche Verteilung der Dosis. Praktisch wichtig ist aber vor allem der Fall kontinuierlicher Bestrahlung; dann vereinfacht sich die Formel zu:

$$D_k = I \int_0^t \Phi(\tau) d\tau.$$

Die Funktion  $\int_0^t \Phi(\tau) d\tau$  wurde ebenfalls experimentell bestimmt (SACHER 1958) und wird als Kumulationsfunktion bezeichnet. Sie ist das Integral der Impulsfunktion.

Die vorstehenden Überlegungen ermöglichen das Verständnis des aus der Photochemie stammenden Schwarzschild'schen Ansatzes. Historisch kam man auf diesen Ansatz, indem man, um den Zeitfaktor zu berücksichtigen, das einfache Bunsen-Roskoesche Gesetz, nach dem die wirksame Dosis durch  $D_k = It$  gegeben ist, durch die Beziehung  $D_k = I \cdot t^\kappa$  ( $0 < \kappa < 1$ ) ersetzte.

Hat man es mit fraktionierter Bestrahlung zu tun und ersetzt man in der Schwarzschild'schen Formel die Zeit  $t$  durch die Anzahl der Tage, die zwischen der ersten und der letzten Bestrahlung liegen, so erhält man die Formel, die der in III, 1 und im klinischen Teil ausführlicher besprochenen „Strandquist-Geraden“ entspricht. Die dem Schwarzschild'schen Ansatz entsprechende Erholungsfunktion hat die Form  $\Phi(t) = ct^{\kappa-1}$ . Sie wird also unendlich, wenn  $t$  gegen Null geht, und das führt zu Widersprüchen, die sich beispielsweise in der Strandquist-Darstellung darin ausdrücken, daß der Punkt für die Einzeitbestrahlung willkürlich auf 8 Std festgelegt werden muß.

Wegen dieser Inkonsistenz des Schwarzschild'schen Ansatzes wird im allgemeinen, und insbesondere bei Mortalitätsuntersuchungen, der sog. Blairsche Ansatz vorgezogen.

Wie in II, 2, c erwähnt, kann die Strahlenwirkung formal in eine reversible und eine irreversible Komponente aufgespalten werden. Der Blairsche Ansatz besteht dann darin, daß die Erholungsgeschwindigkeit in jedem Moment der reversiblen Komponente der kumulierten Dosis proportional ist. Mit anderen Worten, die Blairsche Form der Erholungskurve ist exponentiell unter Berücksichtigung einer irreversiblen Komponente:

$$\Phi(t) = a_{\text{rev}} \cdot e^{-\beta t} + a_{\text{irrev}}.$$

Dabei ist  $\beta$  die Erholungskonstante,  $a_{\text{rev}}$  ein Maß für den reversiblen und  $a_{\text{irrev}}$  ein Maß für den irreversiblen Anteil des Schadens, und die Kumulationsfunktion hat dementsprechend die Form:

$$D_k(t) = I \int_0^t \Phi(\tau) d\tau = a_{\text{rev}} \cdot \frac{I}{\beta} (1 - e^{-\beta t}) + a_{\text{irrev}} \cdot I \cdot t.$$

Das heißt insbesondere, daß sich unter Bestrahlung ein „steady state“ der Schädigung einstellen kann, solange die irreversible Schädigung vernachlässigbar ist. Spielt die irreversible Komponente eine Rolle, so trägt sie nach einer gewissen Zeit allein zur Erhöhung der kumulierten Dosis bei.

Man muß sich bewußt sein, daß das beschriebene lineare Modell nur in einem gewissen Dosis- und Dosisleistungsbereich bedingt anwendbar ist. Wie im experimentellen Teil gezeigt, weichen die beobachteten Erholungsvorgänge oft erheblich von dem Blairschen oder Schwarzschild'schen Ansatz ab. Darüber hinaus zeigt sich immer wieder, daß auch die Erholungskonstante von der Höhe der Dosis abhängt (STORER 1961), und daß sich das Verhältnis von reversibler Schädigungskomponente zu irreversibler mit wachsender Dosis verändert, wie dies ja auch nach dem in II, 2 Gesagten zu erwarten ist.

Die bisherigen Untersuchungen sind aber noch so lückenhaft, daß auch übermäßig vereinfachte Ansätze einen gewissen heuristischen Wert haben.

### III. Experimenteller Teil

#### 1. Celluläre Strahlenwirkungen

Bei der Strahlenwirkung auf die Zelle kann, außer dem primären Zeitfaktor, der auch in einem ruhenden System vorstellbar ist, eine Reihe vitaler Prozesse die Abhängigkeit von der zeitlichen Dosisverteilung bedingen. Energie- und Stoffumsatz, Wachstum und Teilung der Zelle sind strahlenempfindliche Vorgänge, und sowohl die Ausbildung eines Strahlenschadens als auch die Erholungsfähigkeit der Zelle sind an diese Vorgänge

gekoppelt. So hat jede Behandlung der cellulären Strahlenwirkung von Anfang an die Dynamik des Lebendigen einzuschließen, und damit umfaßt jede Diskussion der Strahlenwirkung stets auch das Zeitfaktorproblem.

Es würde den Rahmen dieses Referats sprengen, wenn man die außerordentlich wichtigen mikrobiologischen Arbeiten einbeziehen würde, die in den letzten Jahrzehnten unsere strahlenbiologischen Grundvorstellungen erweitert und auch zum Problem der Erholung und des Zeitfaktors Wesentliches beigetragen haben; auf zusammenfassende Darstellungen der letzten Zeit, wie die von STAPLETON et al., sei verwiesen. Auch auf die Besprechung strahlenchemischer Reaktionen konnte nur kurz im theoretischen Teil eingegangen werden; das mag um so eher erlaubt sein, als die Brücke zwischen diesen und den biologischen Endeffekten auch bei der Deutung des Zeitfaktors noch außerordentlich schmal ist.

### a) Celluläre Sofortreaktionen

Es ist keineswegs so selbstverständlich, daß die Strahlendosis stets die zweckmäßigste physikalische Größe ist, zu der man den Effekt in Beziehung setzt, und daß ihre zeitliche Verteilung nur ein mehr oder weniger modifizierender Faktor ist. Eine Reihe strahleninduzierter Sofortreaktionen, also innerhalb von Sekunden und Minuten auftretende und meist reversible Funktionsstörungen von Zellen, Organen und pflanzlichen und tierischen Organismen im ganzen, denen die Strahlenbiologie erst in letzter Zeit stärkere Aufmerksamkeit geschenkt hat, weist darauf hin, daß ionisierende Strahlen — durchaus im Gegensatz zu bisherigen Lehrbuchmeinungen — als ein Stimulus im Sinn der Reizphysiologie wirken können und daß dabei, wie bei anderen Agentien, die Reizintensität und deren zeitlicher Gradient entscheidender sind als die Reizmenge. Das schon von BRANDES und von RÖNTGEN beobachtete, später von BORNSCHEIN et al. untersuchte „Röntgenphosphän“, eine Lichtwahrnehmung bei Bestrahlung des Auges, und seine elektrischen Begleiterscheinungen in der Retina und in einzelnen optischen Neuronen hat, wie bei jeder Erregung optischer Rezeptoren zu erwarten, eine ausgeprägte Abhängigkeit von der Reizintensität. LIPETZ fand für die Entladung eines einzelnen Neurons des Froschopticus bei Röntgenbestrahlung einen Schwellenwert der Dosisleistung von 0,2 R/sec, wobei die mindestnotwendige Expositionszeit 2 sec betrug. Wie bei sichtbarem Licht nimmt oberhalb der Schwellendosisleistung das Produkt aus Dosisleistung und mindestnötiger Bestrahlungszeit mit steigender Dosisleistung zunächst ab und erreicht dann einen konstanten Wert. Wie VENINGA an der Froschretina konnte NACHTIGALL am dunkeladaptierten Ommatidienauge der Schmeißfliege *Calliphora* und anderer Insekten durch Röntgenstrahlenimpulse charakteristische Potentialschwankungen hervorrufen, die in ihrem Ablauf durchaus dem Elektoretinogramm bei gepulster Belichtung entsprechen, wobei nur die längere Latenzzeit bei Röntgenbestrahlung auf einen anderen Wirkungsmechanismus hinweist. Zwischen 0,1 und 100 kR/min nimmt mit steigender Dosisleistung die Amplitude des „Eineffekts“ zu, die „Gipfelzeit“ zwischen Reizbeginn und Amplituden maximum ab. Bei Bestrahlung mit gleicher Dosisleistung nimmt die Amplitude des Eineffekts bis zu 10 msec Bestrahlungsdauer zu und bleibt dann konstant. Bei Bestrahlungen mit konstanter Dosis und variiert Dosisleistung nimmt die Größe des Eineffekts zwischen 50 und 0,5 kR/min ab, während der Auseffekt konstant bleibt (Abb. 9). Der Schwellenwert der wirksamen Dosisleistung läßt sich durch Extrapolation für eine Reihe von untersuchten Tagfaltern auf ca. 1,7 R/sec, für Nachtfalter auf einen vielleicht um das 10fache niedrigeren Wert schätzen.

Zahlreiche niedere Tiere, wie Schnecken, Actinien, Muscheln, Würmer und Crustaceen reagieren reflexartig auf Bestrahlung, indem sie innerhalb von Sekunden nach Bestrahlungsbeginn Sinnes- und Bewegungsorgane einziehen, spontane rhythmische Bewegungen zeitweilig einstellen, unter Zeichen motorischer Unruhe aus dem Bestrahlungsfeld entweichen oder sonstige Verhaltensstörungen zeigen (HUG 1958, 1960a). Der Schwellenwert der Dosisleistung zur Auslösung dieser Reaktionen variiert ganz erheblich; er liegt

für den besonders empfindlichen Seeigel bei 0,4 R/sec, für die empfindlichste Schneckenart bei 1,5 R/sec und für die relativ unempfindliche Weinbergschnecke bei 15 R/sec. Für einige dieser Reaktionen konnte eine hyperbelartige Beziehung zwischen der Dosisleistung und der zur Auslösung der Reaktion notwendigen Mindestbestrahlungszeit nachgewiesen werden,

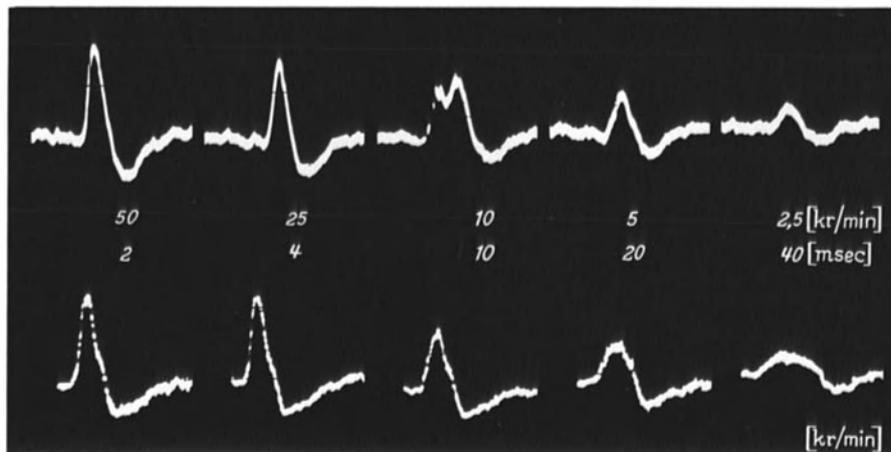


Abb. 9. Elektretinogramme von zwei Exemplaren von *Calliphora* unter Röntgenstrahlenimpulsen. Dosis pro Impuls 1,67 R. Dosisleistungen von links nach rechts: 50, 25, 10, 5 und 2,5 kR/min, die entsprechenden Bestrahlungszeiten: 2, 4, 10, 20 und 40 msec. Die Amplitude des „Eineffektes“ nimmt mit fallender Dosisleistung ab. (Originalkurve nach NACHTIGALL)

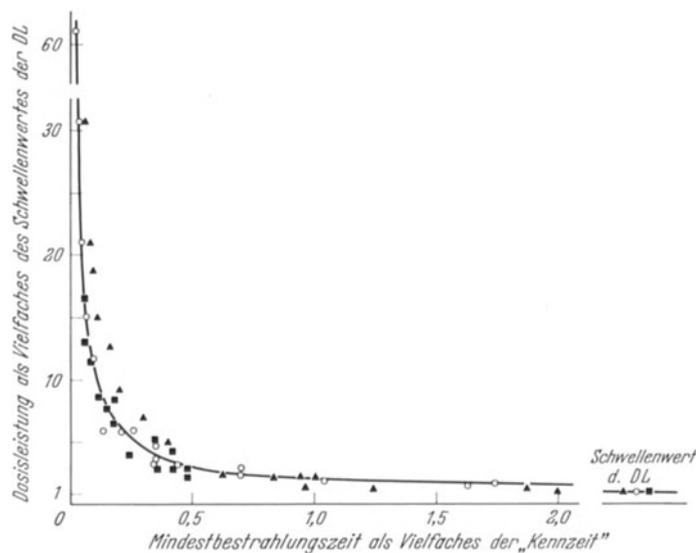


Abb. 10. Die Abhängigkeit der Mindestexpositionszeit von der Dosisleistung für die Fühlerretraktion von *Arion empiricorum* ○, die Füßchenretraktion des Seeigels ■, und die Kontraktion des Kaninchendarms ▲. Schwellenwert der Dosisleistung und „Kennzeit“ (Mindestbestrahlungszeit beim Doppelten des Schwellenwertes der Dosisleistung) sind für die verschiedenen Testreaktionen auf 1 normiert. Dabei gruppieren sich die Meßwerte um eine Hyperbel. (HUG 1960)

die an die bekannten Reizzeitspannungskurven der Elektrophysiologie erinnert, wobei der „Rheobase“ der Schwellenwert der Dosisleistung entspricht und die Mindestexpositionszeit beim Doppelten dieses Wertes als „Chronaxie“ oder „Kennzeit“ bezeichnet werden kann (Abb. 10). Unmittelbares Einsetzen der Reaktion mit einer jeweils charakteristischen Latenzzeit beim Schwellenwert der Dosisleistung, Verkürzung der Latenzzeit mit zunehmender Dosisleistung bis zu einem nicht mehr unterschreitbaren Minimalwert, die

gelegentlich ganz ausgeprägte Refraktärzeit und die Gewöhnung an den Reiz bei wiederholter Bestrahlung, alles das sind Charakteristika, welche die strahleninduzierten Sofortreaktionen als echte Reizantworten ausweisen. Dabei ist es noch nicht geklärt, ob alle oder ein Teil dieser Reaktionen auf Erregung von Photorezeptoren beruhen; ebensogut kann die Erregung über Chemorezeptoren oder sogar durch eine direkte Beeinflussung nervöser Elemente erfolgen.

Bei einer Reihe anderer Sofortreaktionen isolierter Zellen und Gewebe kann die Rolle spezifischer Photorezeptoren ausgeschlossen werden (HUG und SCHLIEP). Die spontane

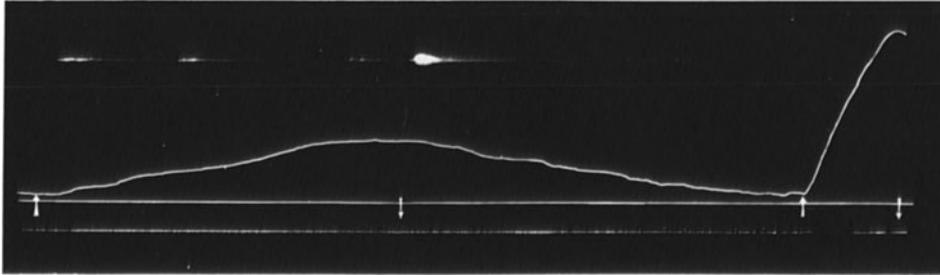


Abb. 11. Strahleninduzierte Kontraktur von Muskelpräparaten des Blutegels unter zwei verschiedenen Dosisleistungen. Unter Bestrahlung mit 594 R/min stellt sich der Tonus nach flachem Anstieg auf einen stationären Zustand ein und kehrt nach Bestrahlung zum Ausgangswert zurück. Unter der anschließenden Bestrahlung mit 4000 R/min steigt der Tonus mit kürzerer Latenzzeit steiler auf einen höheren Wert an. ↑ Beginn, ↓ Ende der Bestrahlung. 1 cm = 10 min. (HUG und SCHLIEP)

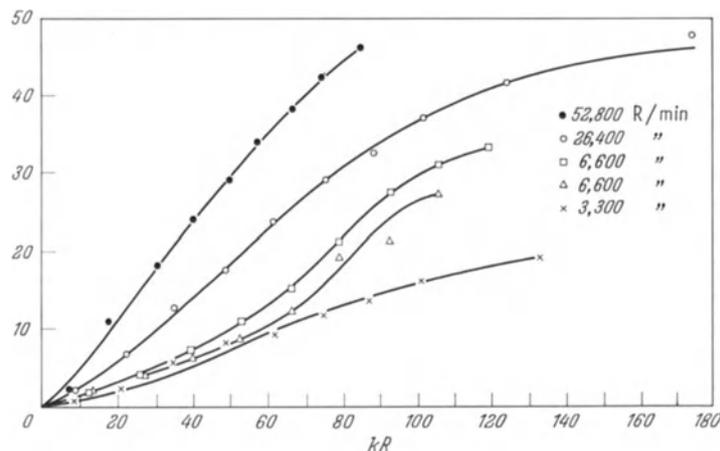


Abb. 12. Die strahleninduzierte Kontraktur von Muskelpräparaten des Blutegels in % der Ausgangslänge nach Ausschaltung der Relaxationsfähigkeit. (HUG und SCHLIEP)

Motilität von Nerv-Muskelpräparaten niederer Tiere oder des isolierten Kaninchendarms (HUG 1960a; NOVÁK) wird durch Röntgenstrahlung gestört, wobei wiederum ein Schwellenwert der Dosisleistung besteht, die Reaktion innerhalb von Sekunden nach Bestrahlung einsetzt, oft aber selbst bei fortgesetzter Bestrahlung nach der initialen Störung der physiologische Ausgangszustand wiederhergestellt wird. Der isolierte Muskel der Bauchwand von Blutegeln und Regenwürmern reagiert auf Bestrahlung mit einer Kontraktur, die unmittelbar nach Bestrahlungsbeginn einsetzt und sich innerhalb von Minuten nach Aussetzen der Bestrahlung wieder löst (Abb. 11). Infolge dieser Erholung, die schon unter Bestrahlung einsetzen kann, wird die Wirkung kleiner Dosisleistungen teilweise oder schließlich völlig kompensiert, so daß sich unter Bestrahlung ein quasi-stationärer Zustand der Kontraktur einstellen kann und sich nur infolge einer irreversiblen Schädigung, die sich erst bei sehr viel höheren Dosen bemerkbar macht, eine allmähliche Verschiebung dieses Gleichgewichts ergibt. Aber auch wenn man die Relaxationsfähigkeit

des bestrahlten Muskels, z.B. durch Säuerung des Außenmediums oder durch Dinitrophenol aufhebt, besteht noch eine Abhängigkeit der dann irreversiblen Kontraktur von der Dosisleistung (Abb. 12). Zahlreiche andere in letzter Zeit beobachtete strahleninduzierte Sofortreaktionen haben einen sehr ähnlichen Charakter, der an sich schon auf eine starke Abhängigkeit von der Dosisleistung hinweist, auch wenn diese nicht eindeutig durch Versuche mit variiertem Dosisleistung nachgewiesen ist. Unmittelbar bei Bestrahlung einsetzende temporäre Störungen des Wachstums von Pilzfäden (FORSSBERG), der rhythmischen Potentialschwankungen wachsender Pflanzenwurzeln (HELDE), des Elektrolytaustausches von Pflanzenzellen (TANADA) sowie strahleninduzierte reversible Funktionsstörungen von Nervenzellen (BACHOFER und GAUTEREAUX) und polysynaptischen Systemen höherer Organismen (s. Internationale Symposien Wien 1962 — IAEA — und Chicago 1960 — HALEY und SNIDER — sowie S. 302ff.) können als Indizien dafür angesehen werden, daß auch hierbei die Dosisleistung der determinierende Faktor ist, während für die irreversiblen Schädigungen die Dosis entscheidender ist. Insbesondere dann, wenn sich das System nach einer initialen Störung trotz fortgesetzter Bestrahlung weitgehend wieder erholt, kann die Dosis nicht die für den Effekt ausschlaggebende Größe sein.

In einer Übersicht über solche biologische Sofortreaktionen (HUG 1960b) wurde bereits die Vermutung ausgesprochen, daß ein großer Teil dieser Phänomene erklärt werden kann durch eine temporäre Änderung der Zellpermeabilität, deren Grad von der Dosisleistung abhängt, und die entsprechend ihrer Dauer zu Verschiebungen der Elektrolytgleichgewichte und Störungen der bioelektrischen Vorgänge führt. Neuere Studien haben weitere Belege für diese Ansicht gebracht (HUG und MILTENBURGER; HUG et al.; ESCH et al.). Mimosen und andere „sensitive“ Pflanzen, die zu rasch ablaufenden reaktiven Bewegungen befähigt sind, reagieren auf Röntgenstrahlung mit hohen Dosisleistungen innerhalb von Sekunden mit „Radionastien“ (in Anlehnung an Begriffe, wie Seismonastie, Geonastie oder Nyktinastie gewählte Bezeichnung für strahleninduzierte Turgorbewegungen sensitiver Pflanzen). Der Schwellenwert der Dosisleistung lag für *Mimosa pudica* bei 4500 R/min. Mit Erhöhung der Dosisleistung über diesen Schwellenwert verkürzt sich die Latenzzeit. Elektrophysiologische Messungen an Mimosen und Einzelzellen der Süßwasser-*Nitella* zeigten, daß unter Bestrahlung unmittelbar nach Bestrahlungsbeginn das Ruhepotential der Zellen sinkt, und zwar um so steiler, je höher die Dosisleistung ist, daß nach Erreichen eines Potentialminimums infolge kompensatorischer Prozesse eine Repolarisation z. T. über den Ausgangswert hinaus erfolgt — z. T. sogar noch unter anhaltender Bestrahlung —, und daß sich dann im Laufe von Stunden in Form einer gedämpften Schwingung allmählich das Ausgangspotential wieder herstellt. Erfolgt die strahleninduzierte Depolarisation bei genügend hoher Dosisleistung schnell genug, so wird innerhalb von Sekunden nach Bestrahlungsbeginn ein charakteristisches Aktionspotential ausgelöst. Der zeitliche Verlauf der langsamen Depolarisation von Pflanzenzellen in seiner Abhängigkeit von der Dosisleistung einerseits und dem physiologischen Zustand der Zelle andererseits ist dadurch charakterisiert, daß unmittelbar unter Bestrahlung die Depolarisation einsetzt, sehr schnell aber gegensinnig wirkende kompensatorische Mechanismen ausgelöst werden, so daß bei kleinen Dosisleistungen oft nur noch die hyperpolarisierende Wirkung registrierbar wird und schließlich jede Änderung des Ruhepotentials unterbleibt. Strahleninduzierte Störungen des Elektropotentials der Froschhaut (TROTT) haben eine auffallend ähnliche Dynamik. Dies und die Analogien zu den strahleninduzierten Tonusänderungen der Muskulatur niederer Tiere und glattmuskulärer Organe berechtigen zu der Annahme, daß ionisierende Strahlen imstande sind, prinzipiell in allen Zellen ähnlich verlaufende temporäre Funktionsstörungen hervorzurufen, und daß sich die verschiedenen Zelltypen nur quantitativ durch ihre Fähigkeit, den initialen Strahleneffekt zu kompensieren, unterscheiden. Die den Zellmembranveränderungen zugrunde liegenden Mechanismen sind unbekannt. Es ist aber zu erwarten, daß sich ähnliche Vorgänge nicht nur an der Lipoproteiddoppelschicht der Zellwandung sondern auch an identisch gebauten intracellulären Strukturen abspielen. Wir müssen also damit rechnen, daß eine Reihe cellulärer

Strahlenveränderungen, die wir im allgemeinen auf irreversible chemische Veränderungen zurückführen, Folgen temporärer physiko-chemischer Zustandsänderungen makromolekularer Strukturelemente darstellen, für die wir eine starke Abhängigkeit von der Dosisleistung postulieren.

### b) Mitosestörungen

Der Mechanismus der strahleninduzierten Mitosestörungen ist weitgehend unbekannt. Viele im folgenden beschriebene Phänomene sprechen dafür, daß ihnen nicht immer eine unmittelbare chemische Schädigung der an der Kernteilung beteiligten Substanzen zugrunde liegt, sondern daß sie möglicherweise, ähnlich wie die im vorigen Abschnitt besprochenen Sofortreaktionen, auf temporären Funktionsstörungen makromolekularer Komplexe beruhen.

Seit den ersten Arbeiten von GLOCKER et al. (1923) an *Vicia faba*, von ALBERTI und POLITZER (1923/24) am Cornealepithel von Urodelenlarven und von CANTI und SPEAR an Gewebekulturen versuchten zahlreiche Autoren bis heute an den gleichen und an anderen Objekten, die Abhängigkeit der Mitosestörungen und verwandter Phänomene, des mitosegekoppelten Zelltodes und der Strahlenschädigung teilungsaktiver Gewebe von der Strahlenintensität und der Bestrahlungsdauer zu erfassen. Außer den primären physikalischen und chemischen Prozessen und den intracellulären Erholungsvorgängen können in einer sich vermehrenden Zellpopulation zusätzlich noch folgende Umstände für eine Abhängigkeit der Wirkung von der zeitlichen Dosisverteilung verantwortlich sein: 1. Innerhalb des Mitosecyclus sind bestimmte Phasen besonders strahlenempfindlich, so daß bei Variation der Bestrahlungszeit ein unterschiedlich großer Anteil der Gesamtdosis in die kritische Phase fällt und wirksam wird. Das kann zu einer optimal wirksamen Dosisverteilung führen — einem seit Jahrzehnten bekannten Phänomen. 2. Eine Einzeitbestrahlung löst einen phasenförmigen Ablauf der Mitoseaktivität einer Zellpopulation aus, indem einer temporären Hemmung der Teilung der in kritischer Phase getroffenen Zellen eine Erholungsphase, z.T. mit überschießenden Werten, aber auch mit anormalen Mitosen und degenerativen Zellformen folgt. Es muß angenommen werden, daß diese zeitlichen Abläufe mit Änderungen der Strahlenempfindlichkeit verbunden sind (LANGENDORFF 1943; LUTHER 1939). Somit wird sich unter entsprechend langer Bestrahlung die Empfindlichkeit des Systems laufend ändern. Daraus ergibt sich ein zweiter Grund für ein Optimum der Wirksamkeit bei bestimmter Dosisleistung oder bei einem bestimmten Fraktionierungsplan in Abhängigkeit von Gesamtbestrahlungszeit, Höhe der Einzeldosen und Pausendauer.

#### *α) Mitosehemmung*

##### *αα) Kontinuierliche Bestrahlung*

HENSHAW hatte 1932 und 1940 zeigen können, daß Bestrahlung von Spermien und Eiern des Seeigels die Dauer der ersten Teilung nach Befruchtung, und zwar insbesondere der Prophase, in einem mit der Dosis zunehmenden Maße verlängert, und daß bei genügend langem Intervall zwischen Bestrahlung und Befruchtung die Eier eine erhebliche, die Spermien aber praktisch keine Erholungsfähigkeit haben, was auf die Koppelung von Erholungsprozessen an die im Ei lebhafteren Stoffwechselforgänge hinweist. Eine Verringerung der Dosisleistung auf ein Achtel setzte die teilungshemmende Wirkung bei Eiern erheblich, bei Spermien überhaupt nicht herab (HENSHAW und FRANCIS). Nach KOLLER (1953) nimmt auch die durch 200 R hervorgerufene Verzögerung der Mitose in *Tradescantiapollen* bei Verlängerung der Bestrahlungszeit von 4 auf 400 min ab und bleibt bei einer Bestrahlungsdauer von 800 und 2000 min ganz aus.

CANTI und SPEAR zählten in Hühnerfibroblastenkulturen die Mitosen 80 min nach einer Gammabestrahlung mit verschiedenen Dosisleistungen aus. Die notwendige Dosis zur Reduktion der Mitosen auf 50% der Kontrollen war über 20 R/min unabhängig von der Dosisleistung, nahm aber mit niedrigeren Dosisleistungen zu. SPEAR und GRIM-

METT, welche die Dosisleistung zwischen 4 und 20 R/min variierten, fanden ein Wirkungsmaximum um 8,7 R/min. LASNITSKI beobachtete keine Abhängigkeit der mitosevermindernden Wirkung von 100 R auf Zellkulturen von der Dosisleistung zwischen ca. 10 und 100 R/min, sondern nur eine schnellere Erholung bei höheren Dosisleistungen. Bei 2500 R jedoch fanden sich nach 24 Std bei einer Dosisleistung von ca. 100 R/min 0% Mitosen, bei 30 R/min 0,4%, bei 10 R/min 1% gegenüber 2—8% in den Kontrollen. FRIEDENWALD und SIGELMAN studierten den Einfluß ionisierender Strahlen auf die Zellteilungsaktivität im Cornealepithel der Ratte und fanden zwischen 6,5 R/min und 430 R/min keine signifikante Abhängigkeit des Effekts von der Dosisleistung. CARLSON, der diese früheren Arbeiten 1954 zusammenfassend beschrieb, wies darauf hin, daß die Resultate schwer interpretierbar sind, wenn nur zu einem einzigen festgehaltenen Zeitpunkt nach Bestrahlungsende die Mitosenzahl ermittelt wird, da dann, besonders bei den kleinen Dosisleistungen, längst Erholungsprozesse abgelaufen sein können. In eigenen Experimenten an Neuroblastenkulturen von Heuschrecken bezog er seine in 20minütigen Abständen gemessenen Mitosewerte auf den Mittelpunkt der Bestrahlungszeit und fand dabei keine signifikant verschiedenen Kurvenverläufe für die Wirksamkeit von 8 bzw. 64 R bei 2 und 32 R/min. Auch Dosen von 128 bzw. 256 R bewirkten bei beiden Dosisleistungen einen gleich starken und gleich langen Mitosestop; jedoch verlief die Rückkehr zum Normalwert bei der hohen Dosisleistung langsamer. CARLSON et al. (1949) haben deshalb die Summe aller Mitosezahlen während einer bestimmten Nachbestrahlungsperiode bei verschiedenen Dosisleistungen gemessen. Die durch 8, 32 und 63 R Gammastrahlung hervorgerufene Verminderung der während einer 7 Std-Periode in Pro-, Meta- und Anaphasestadien befindlichen Zellen war annähernd die gleiche bei 2 und 32 R/min; bei höherer Dosis (218—256 R) war jedoch die höhere Dosisleistung wirksamer. Bei nicht zu hohen Dosisleistungen kann sich sogar nach einem initialen Mitoseabfall unter der Bestrahlung ein neuer stationärer Zustand der mitotischen Aktivität einstellen, wie das CARLSON et al. 1953 wiederum an Neuroblasten unter 0,8 R/h beobachtet haben. Auf dieses Phänomen der „Adaptation“ der Zellkinetik werden wir bei Besprechung der Strahlenwirkungen auf Mausergewebe zurückkommen.

### *ββ) Fraktionierung*

Die meisten älteren Arbeiten befassen sich mit der Wirkung fraktionierter Bestrahlung auf teilungsaktive Gewebe, werden aber deswegen erst jetzt besprochen, weil hier die Verhältnisse noch komplizierter sind als bei kontinuierlichem Dosiszufluß; denn der Effekt kann von der Gesamtdosis, der Gesamtbestrahlungszeit, der Größe der Einzeldosis und der Länge der Intervalle abhängen, und diese Parameter können bei jedem Objekt wechselnde Wirksamkeit bedingen. ALBERTI und POLITZER (1923/24) hatten an der Cornea von Urodelenlarven und JÜNGLING und LANGENDORFF (1932) an *Vicia faba*-Wurzeln festgestellt, daß wiederholte Bestrahlung nicht in jedem Zeitintervall nach der vorhergehenden Bestrahlung gleich wirksam ist, sondern von den durch die Erstbestrahlung ausgelösten Mitosemaxima und -minima abhängt. Bei geeigneter Fraktionierung — nämlich, wenn die Teildosis jeweils in ein Mitosemaximum fällt — kann der Effekt 2—3mal größer sein als bei einer Einzeitbestrahlung. JÜNGLING und LANGENDORFF stellten bei Gesamtdosen von 80—350 R und Aufteilung in zwei Fraktionen fest, daß hinsichtlich der Mitoseverminderung bei Intervallen von weniger als 1 Std einfache Summation stattfindet, da das System in dieser Zeit noch nicht auf die Erstbestrahlung reagiert hat; bei größeren Intervallen kommt es zu einer Steigerung des Effekts gegenüber der Einzeitbestrahlung. Bei Intervallen von mehr als 200 Std addiert sich die (geringere) Wirkung der Einzeldosen. Spätere Studien an Pflanzenzellen bestätigten immer wieder diesen Fraktionierungseffekt. Diese Beobachtungen, zusammen mit solchen an Säugertiergeweben, vor allem an der Haut, sind eine wesentliche Stütze für die Entwicklung der heute noch üblichen Fraktionierungspläne gewesen. Die besonders eindrucksvollen

Experimente von SPEAR an Fibroblastenkulturen ergaben ebenfalls eine Abhängigkeit der Effekte gleicher Einzeldosen von der Intervalldauer. SPEAR und GLÜCKSMANN fanden 1941 ähnliche Verhältnisse an Augen- und Hirnzellen von embryonalen Kaulquappen, ebenso LASNITSKI an Hühnerfibroblasten, bei denen die Aufteilung von 2500 R in zwei Fraktionen mit 5stündigem Intervall wirksamer war als die Einzeitbestrahlung. Wie früher an *Vicia faba*, stellte LANGENDORFF 1943 am Cornealepithel von Salamandern fest, daß die Aufteilung einer Dosis in zweimal 150 R in ihrer Wirksamkeit von der Intervalllänge abhängt. Eine in den Wiederanstieg der Mitosekurve fallende Bestrahlung ist wirksamer als eine in der mitosearmen Zeit der Erstbestrahlung.

### c) Zelltod

Bereits in einem Teil der bisher referierten Arbeiten wurden außer der Mitosehemmung auch die mit der Zellteilung gekoppelten degenerativen Zellveränderungen bis zum Zelltod erfaßt. Im folgenden soll zunächst über solche Arbeiten berichtet werden, bei denen der Zelltod selbst, d.h. in den meisten Fällen die Unfähigkeit einer bestrahlten Zelle zur Zellteilung und ihr schließliches Absterben, als Testreaktion zur Erfassung des Zeitfaktors verwendet wurde. Zahlreiche strahlenbiologische Untersuchungen seit den zwanziger Jahren bis heute bedienten sich dabei der Eier von Ascariden und Insekten, wie *Drosophila* oder dem Seidenspinner. Grundlegende Einsichten hatte bereits HOLTHUSEN (1921) gewonnen; später folgten nicht immer in ihren Ergebnissen übereinstimmende Studien von DOGNON, KAHLSTORF (1928), ZUPPINGER (1928) und LIECHTI an Ascariden-eiern, von LAMARQUE und BÉTOULLIERES an Eiern von *Bombyx mori*, von PACKARD, SIEVERT und FORSSBERG, ROESLER und HENSHAW, LANGENDORFF und SOMMERMEYER an *Drosophilaeiern* bzw. -embryonen. Im Prinzip haben die bereits von HOLTHUSEN zusammengefaßten Regeln ihre Gültigkeit bewahrt. Der biologische Zeitfaktor, wie er in den früheren Arbeiten fast ausschließlich erfaßt wurde, ist eine Folge der cellulären Erholungsvorgänge. Diese bewirken unter physiologischen Verhältnissen eine geringere Wirkung protrahierter oder fraktionierter Bestrahlung. Nicht nur die Strahlenempfindlichkeit, sondern auch die Zeitabhängigkeit des Effekts variiert mit dem Entwicklungsstadium der Eier (vor allem bei *Drosophila*). Dies kann bei günstiger zeitlicher Dosisverteilung zu einer größeren Wirkung kleiner Dosisleistungen führen. Der Zeitfaktor äußert sich nicht in allen Bereichen der Dosisleistung bzw. der Bestrahlungszeiten, sondern erst dann, wenn die Gesamtbestrahlungszeit genügend verlängert wird. Der Erholungsvorgang und damit der Zeitfaktor ist durch Änderung der Stoffwechselverhältnisse der Objekte beeinflussbar. Der ausgeprägte Zeitfaktor verschwindet, wenn die Zellen während der Bestrahlung und in der Nachbestrahlungszeit unter anoxischen Bedingungen gehalten werden, völlig oder ist sehr gering.

### d) Ultrafraktionierung

Im folgenden sollen einige neuere Arbeiten besprochen werden, bei denen die gleichen Objekte benutzt wurden, um die Wirkung ultrafraktionierter Bestrahlung zu studieren, von der wir sprechen, wenn der zeitliche Abstand zwischen zwei Bestrahlungsimpulsen nur Bruchteile von Sekunden beträgt. Der Einfluß der zahlreichen Parameter, die bei ultrafraktionierter Bestrahlung den Effekt mitbestimmen, ist allerdings noch so wenig geklärt, daß die vorliegenden Ergebnisse nur Anhaltspunkte geben. ABELE konnte an *Drosophilaeiern* keinen Unterschied zwischen einer kontinuierlichen Bestrahlung und einer gepulsten Bestrahlung, deren Intervalle zwischen  $\frac{1}{13}$  und  $\frac{1}{2}$  sec variiert wurden, feststellen; die Abtötungsrate bei 150 R war stets die gleiche. Andere Untersucher stellten einen deutlichen Unterschied in der Wirkung ultrafraktionierter Bestrahlung gegenüber kontinuierlicher Bestrahlung fest. HOFMANN und MÜLLER bestrahlten *Ascariseier* mit Betastrahlen des Radium. Die ultrafraktionierte Bestrahlung führte zu einer geringeren Abtötungsrate als die kontinuierliche Bestrahlung. Für jedes Impuls-Pausenverhältnis

ergibt sich eine charakteristische, maximal wirksame Frequenz. Das Maximum wandert zu höheren Frequenzen, wenn die Pause gegenüber der Bestrahlungszeit vergrößert wird. Dieselben Autoren wiederholten die Versuche an Drosophilaeiern und fanden auch dabei alle genannten Effekte. HOFMANN studierte mit KEPP und MÜLLER an Drosophilaeiern den Einfluß der Protrahierung bei ultrafraktionierter Bestrahlung. Die Impulsfrequenz wurde festgehalten, das Impuls-Pausenverhältnis aber so variiert, daß bei Veränderung der Dosisleistung die Gesamtbestrahlungszeit konstant blieb. Für die Betastrahlung des  $^{90}\text{Sr}$  ergaben sich Protrahierungsfaktoren kleiner als 1. Im Fall der Röntgenstrahlen liegen die Protrahierungsfaktoren über 1. HOFMANN und KEPP stellten bei vergleichender Verwendung kontinuierlicher und ultrafraktionierter Röntgen- und Betastrahlung auf Mäuseimpftumoren fest, daß die Ultrafraktionierung bei  $^{90}\text{Sr}$ -Betastrahlen zu einer gleichsinnigen Verschiebung der Tumor- und Hautwirkung führt, während bei weichen Röntgenstrahlen die Ultrafraktionierung eine größere Tumorelektivität hat. Vor kurzem haben auch KÜNKEL und OBERHEUSER Drosophilaeier ultrafraktioniert mit einer Mikrosekunde Pulsdauer und 2, 25 und 50 Pulsen pro Sekunde mit 15 MeV-Elektronen bestrahlt. Sie erhielten dabei schulterförmige Dosiswirkungskurven, deren Steilheit mit der Pulsfrequenz zunahm, aber bei 50 Hz immer noch geringfügig unter der Wirkung einer kontinuierlichen Gammabestrahlung lag. Dabei betrug in allen Fällen die mittlere Dosisleistung 17 rad/min. Auch bei einer konstanten Pulsdosis von 140 mrad, d.h. also bei einer Bestrahlung, bei der die Gesamtexpositionszeit reziprok zur Pulsfrequenz zunahm, waren die höheren Frequenzen wirksamer; die Gesamtexpositionszeit variierte in den Versuchen zwischen 0,25 und 35 min. Die kürzesten Intervalle betragen dabei 20 msec. JOHANSEN fand ebenfalls an Drosophilaembryonen bei Verkürzung der Intervalle auf 40 msec keinen Unterschied zu einer kontinuierlichen Bestrahlung, aber eine geringe Änderung der Wirksamkeit bei Variation der Dosisleistung zwischen 25 und 470 R/min; dabei nahm die Extrapolationsnummer (s. S. 280) der Schulterkurven von 14 auf 3 ab.

#### e) Neuere Zeitfaktorstudien an Zell- und Gewebekulturen

Auf die Besprechung zahlreicher, an verschiedensten Zelltypen angestellten Studien, die wegen der Unvergleichbarkeit der Versuchsbedingungen keine sicheren Schlüsse auf den Zeitfaktor erlauben, kann um so eher verzichtet werden, als uns neuere Zeitfaktorstudien an Zellkulturen nach den weitgehend standardisierten Methoden von PUCK et al. und ELKIND und SUTTON entscheidende Einsichten gebracht haben. Alle bisher nach dieser Methode untersuchten Zellen normaler und maligner Säugetiergewebe ergeben bei Bestrahlung mit locker ionisierenden Strahlen gleichartige, in halblogarithmischer Darstellung „schulterförmige“ Dosiswirkungskurven (Abb. 13). Die Neigung der Kurve an jedem Punkt  $\frac{d \log N}{d D}$  ist ein Maß für die Wirksamkeit der Strahlung oder die „Reaktivität“ (HUG und KELLERER). Diese nimmt also mit der Dosis zu, bis die Kurve in den exponentiellen Teil übergeht. ELKIND und SUTTON (1960) konnten nun durch fraktionierte Bestrahlung mit verschiedenen langen bestrahlungsfreien Intervallen nachweisen, daß die nach einem bestimmten Dosisbetrag noch überlebenden Zellen eine ausgeprägte Erholung zeigen, die aus dem Kurvenverlauf nach dem bestrahlungsfreien Intervall ablesbar ist. Mit Verlängerung des Intervalls bildet sich mehr und mehr wieder eine „Schulter“ aus. Die Erholungskurve hat einen oszillierenden Verlauf. Nach etwa 16 Std hat sich, gemessen an der Reaktivität, die überlebende Zellpopulation völlig erholt, d.h. nach einem Intervall von 16 Std oder mehr beginnt die Dosiseffektkurve wieder mit derselben Schulter wie bei der Erstbestrahlung (Nebenkurven der Abb. 13). Man kann die Schulter dieser Dosiswirkungskurve als Ausdruck einer Kompensationsfähigkeit der Zellen ansehen, die sich mit zunehmender Dosis erschöpft. Das beschriebene Elkind-Phänomen bedeutet also, daß sich die ursprüngliche Kompensationsfähigkeit der Zelle innerhalb von spätestens 24 Std wiederherstellen kann. Bei Bestrahlung in Intervallen von mehr als 24 Std Dauer wirkt jede Einzeldosis unabhängig von der anderen. Trägt man die Überlebensquote für eine

Anzahl von Einzeldosen halblogarithmisch gegen die akkumulierte Dosis auf, so ergeben sich Gerade, die um so flacher verlaufen, je kleiner die Einzeldosis ist. Bei sehr kleinen Einzeldosen aber, die noch im linearen Anfangsteil der Schulter liegen, ergibt sich schließlich eine flach verlaufende Gerade, deren Neigung sich durch weitere Unterteilung der Dosis nicht mehr ändert. Die Steigung einer jeden dieser Geraden ist ein Maß für die Wirksamkeit der Strahlung bei der jeweiligen Fraktionierungsart. Aus der Steigung kann man den Faktor errechnen, mit dem die Gesamtdosis zu multiplizieren ist, wenn sie statt in einer einzigen Portion in mehreren Fraktionen mit mindestens 24 Std Abstand verabreicht wird. Der Verlauf dieses Dosismultiplikationsfaktors, wie er sich ergibt, wenn nur

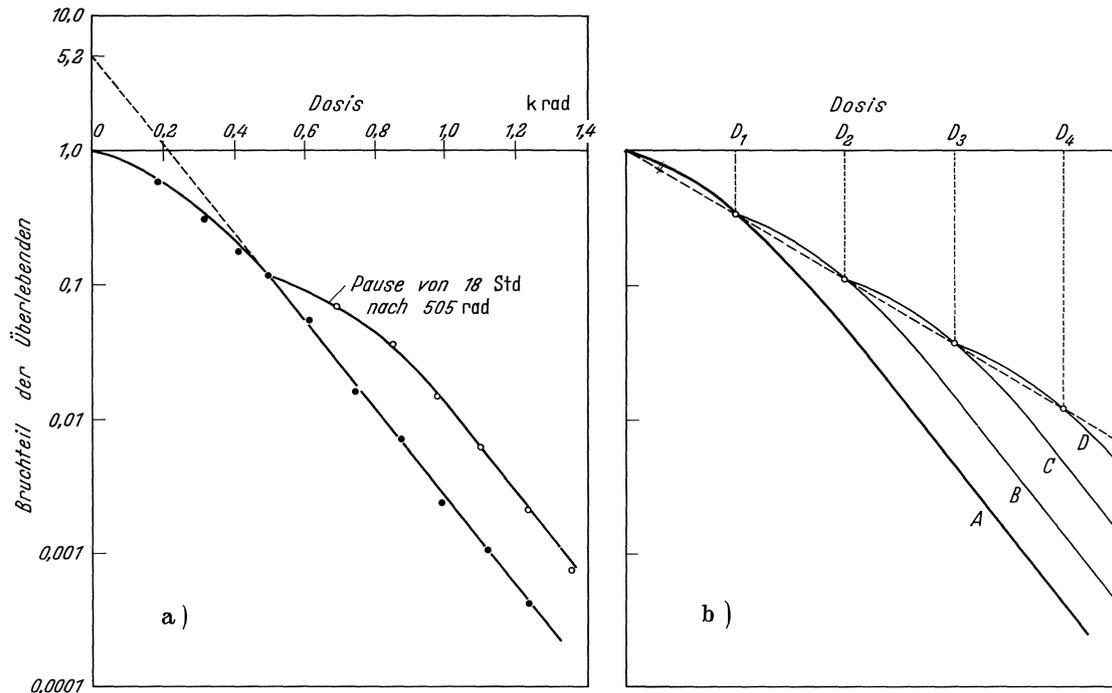


Abb. 13a u. b. Inaktivierungskurven für isolierte Säugetierzellen (aus Lungengewebe des chinesischen Hamsters) in vitro. (ELKIND und SUTTON 1960.) a Nicht fraktionierte und einmal fraktionierte Bestrahlung. b Schema für mehrfach fraktionierte Bestrahlung mit Erholung während der Pausen

das Elkinsche Phänomen zeitfaktorbestimmend ist, ist durch Abb. 19 (S. 321) dargestellt, wobei eine Dosiseffektkurve wie in Abb. 13 zugrunde gelegt wurde.

Unter den Zellkulturbedingungen haben die überlebenden Zellen nach einer von der Dosis abhängigen Mitosehemmung eine praktisch ungestörte Wachstumspotenz (ELKIND und SUTTON 1960) (Abb. 14). Aus dem Nachwachsen der Überlebenden einer bestrahlten Zellpopulation resultiert somit eine zweite Art von Zeitfaktor. Unter Bestrahlung mit konstanter Dosisleistung ergibt sich die Änderung der Zellzahl aus der Differenz der dosisleistungsabhängigen Abtötungsrate und der natürlichen Wachstumsrate. Wir haben hierin also ein ideales Modell, an dem in geeigneten Experimenten die Zellkinetik unter verschiedenartig zeitlich verteilter Bestrahlung studiert werden kann. Wenn bei fraktionierter Bestrahlung die Intervalle zwischen den Einzelbestrahlungen so groß sind, daß die strahlenbedingten Verluste immer wieder in nennenswertem Maße aufgeholt werden, so wird die Gesamtdosis, die zum gleichen Endeffekt führen soll, mit der Länge der Intervalle oder der Gesamtbestrahlungszeit zunehmen. Der Berechnung des Zeitfaktors sind dann die Kurven der Abb. 14 zugrunde zu legen. Ist dagegen die Gesamtbestrahlungsperiode so kurz, daß das Nachwachsen der Zellen vernachlässigt werden kann, so beruht, wie oben gezeigt, der Fraktionierungsfaktor allein auf dem Elkinschen Erholungsphänomen und ist bestimmt durch die Höhe der Einzeldosis (s. auch S. 321).

### f) Zeitfaktor und RBW bei cellulären Strahlenwirkungen

In Generalisierung zahlreicher Beobachtungen an den verschiedensten Zelltypen kann man sagen, daß bei dicht ionisierenden Strahlen eine wesentlich geringere Abhängigkeit des cellulären Effekts von der zeitlichen Dosisverteilung besteht als bei locker ionisierenden Strahlen (Abb. 5). GRAY und READ bestrahlten die Meristemzellen der Wurzelspitze von *Vicia faba*. Während sich für harte Röntgenstrahlen bei Verlängerung der Expositionszeit von 8 min auf 12 Std ein deutlicher Zeitfaktor ergab, trat dieser bei Alphastrahlen auch dann nicht auf, wenn die Bestrahlungszeit auf 24 Std erhöht wurde.

GÄRTNER (1961) hat Hühnerherzfibroblasten und HeLa-Zellen in Kultur mit schnellen Elektronen und Röntgenstrahlen bestrahlt und dabei auch die Abhängigkeit von der zeitlichen Dosisverteilung studiert. Für Fibroblastenkulturen wurde sowohl bei Bestrahlung mit schnellen Elektronen als auch bei Röntgenbestrahlung kein Protrahierungsfaktor beim Übergang von 40 R/min zu 1000 R/min deutlich (Dosen 250—2000 R). Krebszellen dagegen wiesen im Bereich höherer Dosen einer Röntgenbestrahlung den größeren Effekt bei 1000 R/min auf, während bei Elektronenbestrahlung der größere Effekt bei 40 R/min erzielt wurde. Diese Befunde sind schwer zu deuten und bedürfen noch der weiteren detaillierten Untersuchung. Auf die unterschiedliche Wirkung einer Ultrafraktionierung bei Beta- und Röntgenstrahlen wurde bereits hingewiesen.

Insbesondere in den Studien an Zellkulturen wird die Beziehung zwischen Zeitfaktor und RBW, die auf Grund biophysikalischer Überlegungen zu erwarten ist, deutlich. BARENSEN konnte bei Alphabestrahlung von Säugetierzellen *in vitro* keine Erholung und eine völlige Summation fraktionierter Dosen feststellen. Auch der bekannte Sauerstoffeffekt, der bei fraktionierter Röntgenbestrahlung ausgeprägt ist, tritt bei Alphastrahlen nicht auf. Allein die Tatsache, daß bei dicht ionisierenden Alphastrahlen und Neutronen die Dosiseffektkurven von Zellkulturen einen exponentiellen Verlauf haben, weist darauf hin, daß das Elkinsche Phänomen in diesen Fällen nicht zur Wirkung kommen kann. Wir müssen uns vorstellen, daß — entsprechend dem Modell im theoretischen Teil — die lokale Energiedichte in der Zelle oder ihrem empfindlichen Bereich, vermutlich dem Zellkern, schon beim Durchgang eines einzigen dicht ionisierenden Teilchens so hoch ist, daß die zum Tode führende Veränderung irreversibel ist<sup>1</sup>.

## 2. Der Zeitfaktor bei geweblichen Strahlenwirkungen

Wenn wir von der Betrachtung rein cellulärer Zeitfaktorprobleme übergehen zu solchen, die bei Strahlenveränderungen vielzelliger gemischter Gewebe auftreten, so können wir erwarten, daß zwar die zeitfaktorbestimmenden Prozesse der niedrigeren Organisationsstufe ihre Bedeutung behalten, aber Modifikationen unterliegen und überlagert werden

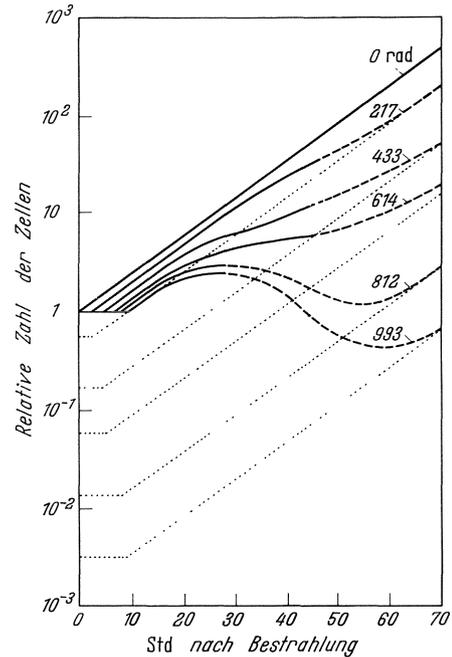


Abb. 14. Verlauf der Zellzahlen von während der exponentiellen Wachstumsphase bestrahlten Kulturen in Abhängigkeit von der Zeit nach Bestrahlung für verschiedene Strahlendosen. Ausgezogene Linien: Tatsächlich beobachtete Zellzahlen nach Meßwerten von ELKIND und SUTTON. Gestrichelte Linien: Extrapolierte Werte. Punktierete Linien: Zahl der vermehrungsfähigen Zellen

<sup>1</sup> Weitere Daten über den Zeitfaktor bei cellulären Strahlenwirkungen finden sich in den eben erschienenen Proceedings of the Conference on Mechanisms of the Dose Rate Effect of Radiation at the Genetic and Cellular Levels (The Genetics Society of Japan, 1965, Suppl. to the Jap. J. of Genetics Vol. 40).

von komplexeren Sachverhalten. Alle früheren Versuche, die Strahlenreagibilität und den Zeitfaktor der Gewebe ausschließlich nach ihrer cellulären mitotischen Aktivität zu gruppieren, wären nur dann berechtigt, wenn alle anderen Eigenschaften des Gewebes, die zum Zeitfaktor beitragen, zu vernachlässigen oder konstant wären, was sicher nicht der Fall ist.

#### a) Mausergewebe

Die sog. Mausergewebe, wie Haut, Schleimhäute, blutbildende Organe, Keimdrüsen, sind durch einen jeweils charakteristischen Cyclus der Zellerneuerung und -differenzierung gekennzeichnet, bei dem sich unter physiologischen Verhältnissen ein über lange Zeit als konstant zu betrachtender Wert der Zellzahlen ergibt — bedingt durch das Gleichgewicht zwischen Neubildung und Abbau. Wir haben also Fließgleichgewichte vor uns, die sich in unserem Modell auf S. 279 durch horizontal gerichtete Pfeile zwischen den Zustandspunkten beschreiben lassen. Zu allen bereits besprochenen cellulären Zeitfaktoren kommen also bei Bestrahlung von Mausergeweben die Besonderheiten ihrer Zellkinetik, die Grad und Ablauf des Schadens bei unterschiedlicher Dosisverteilung bestimmen können.

Es kann nicht Aufgabe des Referats sein, aus der Unzahl von Studien über die Strahlenreaktion dieser Gewebe alle Fakten herauszulesen, die in irgendeiner Weise Wirkungsunterschiede bei unterschiedlicher zeitlicher Dosisverteilung belegen; wir können nur Beispiele für das Wechselspiel von Zeitfaktor und Zellkinetik geben. Wir stützen uns dabei vorwiegend auf jüngere Arbeiten; denn erst in letzter Zeit hat sich unter Heranziehung von Indicatormethoden (z.B.  $^3\text{H}$ -Thymidin-Markierung) unsere Kenntnis der Zellkinetik verbessert, und damit bürgert sich auch erst allmählich die kinetische Betrachtungsweise in der Strahlenpathologie ein. Gegenüber diesen ersten Ergebnissen nehmen sich die früheren Arbeiten, in denen die Wirkungsunterschiede zeitlich unterschiedlich verteilter Dosen auf Mausergewebe untersucht wurden, wie Momentaufnahmen gegenüber einem Film aus.

Der Zeitfaktor der Haut wird, da die meisten und wichtigsten Ergebnisse im klinischen Experiment gewonnen wurden, im Zusammenhang mit den übrigen klinischen Problemen besprochen (s. S. 326ff.).

#### *α) Blutbildende Organe und peripheres Blut*

Bei den besonders strahlenempfindlichen Geweben, dem Knochenmark und dem lymphatischen System, ist die Ausprägung des Strahlenschadens und seine Spiegelung im peripheren Blut an sich schon bestimmt durch die jeder Zellreihe eigentümliche Kinetik. Mitosehemmung und Untergang strahlenempfindlicher Stammzellen führen in einem jeweils charakteristischen zeitlichen Verlauf zu einer Verminderung der Zellzahlen. Die Geschwindigkeit des Einsetzens und Verlaufs der Regeneration bestimmt den zeitlichen Ablauf des Strahlenschadens. Somit tritt zu den rein cellulären Erholungsvorgängen der Zeitfaktor, der durch den Ersatz untergegangener Zellelemente aus den erhaltenen Stammzellen zustande kommt.

Den Arbeiten von PETERS, der schon 1910/11 die Wirkung lokalisierter, in Intervallen erfolgender Röntgenbestrahlung auf blutbildende Organe und Blut und außerdem auf Nieren und Hoden untersucht hatte, folgten viele andere, die BAUER 1940 kritisch besprochen hat. In eigenen Studien verglich er die Wirkung einmaliger, protrahierter, fraktionierter und protrahiert-fraktionierter Bestrahlung auf die Knochenmarkhistologie und das periphere Blut mit der Wirkung zeitlich ähnlich verteilter Dosen auf die Kaninchenhaut, um zu zeigen, daß ein teilungsaktives Gewebe, wie das Knochenmark (und Geschwülste), einen anderen Zeitfaktor aufweist als die Haut.

#### *αα) Kontinuierliche Bestrahlung*

Schon aus den Arbeiten von LANGENDORFF (1938) und MARDERSTEIG ging hervor, daß eine Bestrahlung mit geringerer Dosisleistung und längerer Dauer eine stärkere

Wirkung auf die Reticulocytenwerte der Maus bzw. des Kaninchens haben kann als Kurzzeitbestrahlung mit höherer Dosisleistung. BAUER beobachtete bei Einzeitbestrahlung mit Dosen von 50—9000 R (Dosisleistung 52 R/min) einen wellenförmigen Verlauf der Blutzellzahlen, resultierend aus der Interferenz von Schädigungs- und Reparationsprozessen. Bei 1000 und 2000 R hatten Dosisleistungen von 7,5 R/min und 153 R/min keine wesentlich verschiedene Wirkung; jedoch zeigte sich bei fraktionierter Bestrahlung, wobei die Einzelfractionen mit diesen beiden Dosisleistungen verabreicht wurden, daß hinsichtlich des Ausmaßes der Schädigung während oder am Ende der Bestrahlungsperiode und hinsichtlich der Reparationsfähigkeit die hohen Dosisleistungen wirksamer waren. Nach 3 Monaten aber hatte sich der Unterschied weitgehend ausgeglichen.

In den übrigen, außerordentlich zahlreichen Arbeiten, in denen — meist nach Ganzkörperbestrahlung — die Reaktion des peripheren Bluts, des Knochenmarks oder der lymphatischen Gewebe in Abhängigkeit von der zeitlichen Dosisverteilung studiert wurde, beobachtete man meist eine geringere Wirkung bei größerer zeitlicher Streckung der Dosis. Die zeitliche Dosisverteilung wurde dabei aber gewöhnlich so variiert, daß nur eine Auswirkung biologischer Erholungsvorgänge zu erwarten war. Nur aus Ultrafraktionierungsversuchen von HEEREN, der bei gepulster Bestrahlung mit 9 Pulsen/sec und einem Impuls-Pausenverhältnis von 1:2 einen etwas geringeren Reticulocytenabfall fand als bei kontinuierlicher Bestrahlung mit gleicher mittlerer Dosisleistung, kann man folgern, daß auch für den Zellschaden des hämopoietischen Systems ein primärer Zeitfaktor eine Rolle spielen könnte.

Obwohl uns die älteren Arbeiten schon wesentliche Aufschlüsse über den Zeitfaktor der Strahlenwirkung auf die Hämopoese gegeben hatten, beginnen sich unsere Vorstellungen erst zu konsolidieren, seitdem versucht wird, unter zellkinetischen Aspekten und unter Einsatz neuerer cytologischer Techniken den Ablauf des Strahlenschadens bei verschiedener zeitlicher Dosisverteilung zu erfassen. Dabei sind besonders die Arbeiten von LAMERTON et al. (1960) zu nennen. Sie bestrahlten Mäuse kontinuierlich mit den Gammastrahlen einer  $^{137}\text{Cs}$ -Quelle mit 16, 50, 84, 176 und 415 rad/Tag, wobei die Tiere, entsprechend der Höhe der Tagesdosis, 320 — 12 Tage lebten. Bei Dosisleistungen von 84 rad/Tag und weniger kam es *unter* Bestrahlung nach einem initialen Abfall der peripheren Blutzellzahl zu einer Erholung der Leukocyten und Blutplättchen nach ca. 20 Tagen. Diese ist bei 84 rad/Tag passager, erreicht aber selbst noch bei 50 rad/Tag nahezu normale, für lange Zeit aufrechterhaltene Werte. Der mitotische Index des Knochenmarks fällt bei 50 rad/Tag nur anfangs und steigt in 20—30 Tagen über den Normalwert an. Dabei ist aber die Zahl der kernhaltigen Zellen im Knochenmark verringert. Der initiale Abfall der Zellzahl ist auf Mitosehemmung, Zelltod oder Verlängerung der Regenerationszeit zurückzuführen. Die Depression der Zellproduktion ruft aber offenbar Regulationsmechanismen hervor, die zur Einstellung eines neuen Gleichgewichts führen. Die Milz scheint dabei eine entscheidende Rolle zu spielen. Während bei 84 rad/Tag und höheren Dosisleistungen die Tiere frühzeitig mit einer hämorrhagischen Diathese infolge Plättchenverarmung sterben, beruht die lebensverkürzende Wirkung kleinerer Dosisleistungen sicher auf einem anderen, nicht hämatogenen Letalmechanismus.

Diese Art der Adaptation auch gegenüber relativ hohen Dosisleistungen infolge übergeordneter Regulationsmechanismen, die zu einer Akkumulation des Vielfachen der letalen Kurzzeitdosis führt (bis zu 10000 rad bei 50 rad/Tag), ist außerordentlich eindrucksvoll. Bei lebenslänglicher Bestrahlung mit sehr viel kleineren Dosisleistungen war die Einstellung eines lang anhaltenden Gleichgewichtszustandes des hämopoietischen Systems schon früher beobachtet worden. CLEMEDSON und NELSON haben in einem größeren strahlenpathologischen Referat die Arbeiten über die Wirkung einzelner, fraktionierter oder jahrelanger täglicher oder kontinuierlicher Bestrahlung verglichen. Demnach rufen z.B. einzeitige, kurzzeitig gegebene Dosen von 25—100 R in den meisten Tierspecies schon einen temporären Abfall der Leukocytenwerte hervor, während unter 0,25 R/a g

für 1 Jahr bei der Ratte keine Veränderungen in Knochenmark und peripherem Blut auftreten und eine vorübergehende reaktive Gewichtszunahme von Milz und Thymus auf eine kompensatorische extramyeloische Hämopoiese hinweist. Auch NEARY et al. und MOLE (1955) haben bereits die Einstellung eines lang anhaltenden stationären Zustandes des hämopoietischen Systems bei kleinen Tagesdosen beobachtet.

### *ββ) Fraktionierung*

BAUER stellte in der bereits zitierten Studie fest, daß kleine tägliche Einzeldosen von  $30 \times 50$  R oder  $20 \times 100$  R am Ende der Bestrahlungsperiode eine geringere Schädigung des Knochenmarks und des peripheren Bluts bewirken als gleich große Einzeildosen, daß jedoch die anschließende Erholung langsamer verläuft und deshalb im Endresultat im histologischen und im Differentialblutbild die fraktionierte Bestrahlung wirksamer ist; histologisch fiel die stärkere Marksklerosierung auf. Bei größeren Einzeldosen ( $30 \times 200$  R,  $30 \times 300$  R) besteht eine noch stärkere Störung der Regenerationsfähigkeit im Vergleich zur Einzeitbestrahlung, so daß eine „Sterilisierung“ des Knochenmarks auftritt, die bei einmaliger Kurzzeitbestrahlung selbst mit 9000 R nicht zu erreichen ist. Mit den gleichen Methoden wie bei kontinuierlicher Bestrahlung haben PONTIFEX und LAMERTON die Zellkinetik des Knochenmarks bei Verabreichung geteilter Dosen untersucht.

Weitere größere Arbeiten über die Zellkinetik des hämopoietischen Systems im allgemeinen, seine erstaunliche Erholungs- und Anpassungsfähigkeit, aber auch über den irreversiblen Restschaden und den daraus resultierenden Zeitfaktor stammen von LANGENDORFF (1942), PAPE (1951), PEARSE et al., RUGH und CLUGSTON, MAISIN et al., BAUM et al., SMITH et al., THOMAS et al., MORCZEK und BUTTENBERG, SOKOLOV und insbesondere von FLIEDNER sowie FLIEDNER und STODTMEISTER, die vor allem auch die DNS-Synthese des hämopoietischen Systems und den zeitlichen Ablauf der Strahlenschädigung behandeln.

Eine Reihe von Autoren hat bereits versucht, den hämatologischen Strahlenschaden und den damit verbundenen Strahlentod auf der Basis der neueren strahlencytologischen *in vitro*-Studien zu erklären, auch in bezug auf den dabei beobachteten Zeitfaktor. TILL und McCULLOCH studierten die Aktivität des hämopoietischen Gewebes der Maus bei fraktionierter  $^{60}\text{Co}$ -Gammabestrahlung *in vivo*. Sie fanden eine rasche Erholung von der Erstdosis während des ersten Tages mit einem phasenförmigen Verlauf, ähnlich dem von ELKIND und SUTTON *in vitro* beobachteten, und einen langsam verlaufenden Erholungsprozeß, der im Laufe von Tagen und Wochen, möglicherweise infolge der Zellnachlieferung, zustande kommt. So kehrt die Zahl der zur Kolonienbildung fähigen Zellen der Milz innerhalb von ca. 10 Tagen nach Bestrahlung zur Norm zurück. Auch KALLMAN und SILINI sehen im Ablauf des Strahlenschadens bei fraktionierter Bestrahlung eine auffällige Analogie zwischen dem Verhalten von Zellen *in vitro*, Knochenmarkszellen *in vivo*, spontanen Mäusetumoren und der Letalität total bestrahlter Tiere (s. auch MOLE 1963). In all diesen Fällen besteht insofern ein gemeinsamer cellulärer Mechanismus, als während der ersten 48 Std eine phasische Änderung der Strahlenempfindlichkeit nach der ersten Dosis eintritt.

Die gleichzeitige Erfassung der Lymphocytenzahlen in mancher der zitierten Arbeiten zeigte schon, daß — wenn auch mit anderen Zeitkonstanten — im Prinzip die gleichen zeitfaktorbestimmenden Prozesse wie im Knochenmark auch im lymphatischen Gewebe wirken. Mit den Erholungsvorgängen und dem Zeitfaktor des lymphatischen Systems haben sich LANGENDORFF (1938, 1942), LANGENDORFF und SAURBORN, HARRIS, PAPE und PIRINGER-KUCHINKA, KURNICK und NOKAY, DEBRUYN und TORNOVA-SVEHLIK befaßt. Auch hierbei wurde mehrfach, wie von LANGENDORFF, die außerordentlich hohe Anpassungsfähigkeit des Gewebes nach initialen Schadenszeichen unter fortgesetzter Bestrahlung selbst bei Tagesdosen von 5 und 10 R und bei Erreichen von Gesamtdosen von einigen hundert R beobachtet.

*β) Schleimhäute*

FRIEDMANN hat 1945 die Einwirkung der Strahlung auf Reifung und Differenzierung des Dünndarmepithels studiert, BLOOM sogar eine gelinde Adaptation gegenüber wiederholter Bestrahlung mit 60—80 R/Tag gefunden, und CZERWENKA et al. haben die Teilungsaktivität des Darmepithels von Albinoratten und ihre Rolle bei den Erholungsprozessen nach Röntgenbestrahlung beschrieben. Eine der eindrucksvollsten zellkinetischen Studien, bei der sich gerade ionisierende Strahlung als hervorragendes Instrument zur Aufklärung der physiologischen und pathologischen Mechanismen erwies und wenigstens einige der zeitfaktorbestimmenden Prozesse aufgeklärt werden konnten, stammt von QUASTLER et al. Sie bestrahlten den Rattendarm kontinuierlich mit 84—415 R/Tag und verglichen seine Reaktion mit dem Effekt der gleichen Dosis, die in wenigen Minuten verabreicht wurde. Das Dünndarmepithel befindet sich in einer kontinuierlichen Zellerneuerung, die von den Lieberkühnschen Krypten ausgeht. Der Mitosecyclus dauert ca. 36 Std; die neugebildeten Zellen wandern unter gleichzeitiger Differenzierung zur Spitze der Zotten, wo sie schließlich abgestoßen werden. Einzeitbestrahlungen mit Dosen über 1000 R führen bei zunächst ungestörtem Weiterwandern der Zellen infolge Mitosehemmung und Zelluntergang in den Krypten zur völligen Entblößung der Darmwand und damit innerhalb von ca. 3—5 Tagen zum intestinalen Strahlentod. Schon eine Verlängerung der Bestrahlungszeit auf 24 Std erhöht die Schwellendosis des intestinalen Todes auf 1500 rad (CORP und NEAL). Kleinere Dosen bewirken nur eine Reduktion der Zellzahl. Bei Dosisleistungen von 84—176 rad/Tag, zeitweilig sogar noch bei 415 rad/Tag, stellt sich, nach einem anfänglichen Abfall der Zellzahlen in den Krypten in den ersten 5 Tagen, ein stationärer Zustand ein, der um so niedriger liegt, je höher die Tagesdosis ist. Die Zahl der abgestorbenen Zellen nimmt in den ersten Stunden stark zu, wird dann aber wieder geringer. Auch die Zahl der Zellteilungen zeigt nach einem steilen Abfall in den ersten Tagen eine partielle Erholung unter fortgesetzter Bestrahlung, selbst bei 115 rad/Tag. Im stationären Zustand ist die DNS-Synthese der Zellen erhöht, was als eine Art Adaptation und Erhöhung der Strahlenresistenz angesehen werden kann.

Nach MOLE und TEMPLE ist der DNS-Phosphor der Dünndarmschleimhaut bei Mäusen 12 Std nach einer Einzeitbestrahlung verringert. Die Erholung ist nach 1000 R exponentiell; nach kleineren Dosen weicht die Erholungskurve von einer Exponentialfunktion ab. Bei Dauerbestrahlung mit wöchentlichen Dosen von 100 und 110 R für 10—19 Wochen treten nur ein mäßiger Gewichtsverlust des Darms und eine fragliche bis mäßige Abnahme der DNS-Konzentration auf. Auch hier also spielt sich unter chronischer Bestrahlung das System mit einer Art Anpassung auf die Dauerbestrahlung ein. Es ist verständlich, daß dieser durch die Zellerneuerung gegebene Zeitfaktor auch altersabhängig ist, da die Erneuerungsgeschwindigkeit mit dem Alter abnimmt. Weitere Studien über die Zellkinetik des Dünndarmepithels von Ratten unter kontinuierlicher Bestrahlung stammen von WIMBER und LAMERTON. Angaben über Strahlenschäden und Reparation im Gastrointestinaltrakt nach supraletalen Dosen finden sich auch bei HAGER et al. Über den Zeitfaktor bei der Schädigung der übrigen Darmwandung und der anderen Teile des Magendarmkanals, die wesentlich strahlenresistenter sind als die Dünndarmschleimhaut, liegen mehr klinische als experimentelle Erfahrungen vor.

*γ) Gonaden**αα) Hoden*

Auch beim tierischen Hoden, dem ersten Objekt für Zeitfaktorstudien an einem Mausergewebe, erklärt sich der Zeitfaktor weitgehend aus dem charakteristischen Zellcyclus des Keimepithels und der mit seinen Phasen wechselnden Strahlenempfindlichkeit der Zellen.

**Protrahierung.** Bei insgesamt kurzen Bestrahlungszeiten ergaben die bisher durchgeführten Versuche mit Variation der Dosisleistung zwischen ca. 0,1 R und 100 R/min

keine Wirkungsunterschiede hinsichtlich der Histopathologie des Hodens, der Abnahme des Hodengewichts oder der Fertilität. KIRCHHOFF und KELBLING erzielten bei fraktionierter Bestrahlung des Kaninchenhodens mit 200—1800 R, aufgeteilt in 1—10 Tagesportionen, den gleichen Effekt mit aktuellen Dosisleistungen von 2 bzw. 73 R/min. KOHN und KALLMAN (1954, 1955), die das Hodengewicht zu einer Art biologischer Dosimetrie ausnutzten und den Kurvenverlauf nach Bestrahlung aus der jeweils exponentiell mit der Dosis zunehmenden Schädigung zweier unterschiedlich strahlenempfindlicher Zelltypen erklärten, finden keine Unterschiede bei Dosisleistungen von 1,6 und 64 R/min. Sie folgern daraus, daß die Zellinaktivierung im Keimepithel auf einem einzigen cellulären Absorptionseignis beruht.

Bei stärkerer Protrahierung kann sich der von REGAUD 1922 erstmalig am Widderhoden beobachtete Effekt ergeben, daß sich das Keimepithel bei Protrahierung mit kleineren Dosen oder bei gleicher Dosis unter besserer Schonung des umgebenden Gewebes inaktivieren läßt als bei Kurzzeitbestrahlung.

In den Dauerbestrahlungsversuchen an Mäusen von LORENZ et al. (1947) und ESCHENBRENNER et al., in denen die Mäuse während des ganzen Lebens mit 0,1 bis 8,8 R/Tag bestrahlt wurden, blieb der Hoden selbst bei 1,1 R/Tag über 16 Monate unverändert. Bei 4,4 R/Tag trat ein stärkerer Gewichtsabfall nur in den ersten 2 Monaten und ein wesentlich langsamerer in den folgenden Bestrahlungszeiten auf. Die Fertilität blieb bei Bestrahlung mit 4,4 R/Tag bis zu einer Gesamtdosis von 1100 R ungestört. Erst bei 8,8 R/Tag machte die gleiche Dosis einen größeren Effekt und führte zu zeitweiliger Verkleinerung der Wurfgröße, und erst nach Erreichen einer Dosis von 1760 R kam es zu monatelanger Sterilität. Histologische Untersuchungen zeigten an diesem Organ wiederum, daß sich die Zahl der Zellen im Keimgewebe auf einen stationären Zustand einstellt, dessen Höhe von der Dosisleistung abhängt. Es kommt dabei zu einer Verschiebung der relativen Zahl der verschiedenen Zelltypen.

LANGENDORFF (1952) fand bei 320 Tage langer Bestrahlung männlicher Mäuse mit 2,5 R/Tag bis zu 800 R und anschließender Paarung keine Veränderung der Zahl der Würfe. Von 300—400 R an nahm das Verhältnis von Wurfzahl und Paarungszahl ab. Die Wurfgröße blieb gleich. CARTER et al. bestrahlten Mäuse mit ca. 1,6, 8 oder 33 R/Woche, wobei die mittlere der benutzten Dosisleistungen die stärkere sterilisierende Wirkung hatte. Wir haben hier also wieder ein Beispiel für ein Wirkungsoptimum bei einer bestimmten zeitlichen Dosisverteilung. Nach ELY et al. scheint beim Rattenhoden sogar eine Art Dosisleistungsschwelle zu bestehen, da bei chronischer täglicher Bestrahlung mit 0,1—10 R/Tag nur die höchsten Tagesdosen einen merklichen Effekt zeitigten. (Das alles bezieht sich natürlich nicht auf die hereditäre Strahlenwirkung.)

Nach CASARETT und CASARETT war eine Dosis von 325 R bei chronischer Bestrahlung mit 3,25 R/Tag zweimal so wirksam wie eine kurze Einzeitbestrahlung hinsichtlich der Verminderung der Prä spermatozyten vor Wiedereinsetzen der Erholungsphase; die Erholung war ebenfalls stärker gehemmt. Bei Kaninchen erzielten METCALF et al. bei fraktionierter Bestrahlung permanente Sterilität nur bei Dosisleistungen von 10 R/Tag nach Erreichen von 3100 R, nicht aber bei kleineren Dosisleistungen bis herab zu 0,1 R/Tag.

**Fraktionierung.** Die Fraktionierungsversuche von REGAUD und FERROUX und von SCHINZ und SLOPOLSKI an Widderhoden beeinflussten die Strahlentherapie entscheidend (s. S. 271), da man die Beobachtung einer stärkeren Wirkung geeigneter Fraktionierung gegenüber einer Einzeitbestrahlung auf die Reaktionsweise anderer teilungsaktiver Gewebe und insbesondere maligner Tumoren übertrug. Spätere Untersuchungen von SARTORY et al. und FERROUX et al. zeigten, daß es offenbar ein günstigstes Fraktionierungsschema gibt, daß aber bei größerer zeitlicher Unterteilung, kleineren Einzeldosen und langen Intervallen die Wirkung wieder abnimmt. KOHN und KALLMAN (1955) stellten an Hand des Hodengewichtes fest, daß eine Aufteilung von Dosen zwischen 80 und 240 R in 2—3 über 1—4 Tage verteilte Fraktionen den Effekt nicht beeinflusst, dagegen stärkere Fraktionierung zu einer Verminderung des Schadens führt. Neuere Arbeiten

von TRAUTMANN et al. sind insofern interessant, als eine 80—100 Tage lange Vorbestrahlung mit  $\frac{1}{4}$  R/Tag die Letalwirkung und die histologische Wirkung einer anschließenden massiven Dosis von 600—3000 R auf das Keimepithel herabsetzt.

Somit läßt sich sagen, daß eine Variation der Dosisleistung im Bereich von 0,1 bis ca. 100 R/min keine wesentliche Änderung der Wirksamkeit bedingt, daß Fraktionierung oder Protrahierung über Tage und Wochen im ganzen gesehen den Effekt infolge biologischer Erholungsvorgänge verringert, daß aber wegen der mit Bestrahlungsbeginn einsetzenden Störungen des Zellcyclus und phasischen Verschiebungen der Strahlenempfindlichkeit unter bestimmten Bedingungen eine Fraktionierung auch einen größeren Effekt als eine Einzeitbestrahlung haben kann. Auch beim Hodengewebe erklärt sich die unterschiedliche Wirksamkeit zeitlich verschieden verteilter Dosen weitgehend aus der organspezifischen Zellkinetik, und deshalb können auch die Beobachtungen an diesem Organ nicht, wie das früher angenommen wurde, generell für alle Mausergewebe gelten.

### *ββ) Ovar*

Wenn auch das Ovar des erwachsenen Organismus nur bedingt als Mausergewebe angesprochen werden kann, sei es doch im Anschluß an den Hoden diskutiert.

Die Eizelle des erwachsenen Weibchens nimmt insofern eine Sonderstellung unter den verschiedenen Zelltypen des Säugetierorganismus ein, als sie sich nicht mehr teilt, der Zelltod vor einer Befruchtung also sicher nicht mit Mitoseabläufen gekoppelt ist und der unreife Oocyt dennoch eine hohe Strahlenempfindlichkeit hat und rasch nach Bestrahlung der Degeneration anheimfällt.

WINTZ hatte schon 1931 im Tierexperiment bei fraktionierter Bestrahlung ( $1 \times 34\%$  HED,  $2 \times 17\%$  HED in viertägigen Intervallen) eine Abnahme der Wirkung auf die Graafischen Follikel, aber eine volle Akkumulation hinsichtlich der Schädigung der Primordialfollikel festgestellt. LANGENDORFF und LANGENDORFF (1957) bestrahlten weibliche Mäuse 40 Tage lang mit 2,5 R/Tag und fanden keinen Unterschied gegenüber Einzeitbestrahlungen bei Dosen zwischen 50 und 450 R hinsichtlich des Prozentsatzes steriler Tiere. Die Wurfgröße war bis zu 200 R im Fall akuter und chronischer Bestrahlung unverändert. Die sorgfältigsten und ausführlichsten Studien stammen von L. B. RUSSELL et al. (1959). Die Autoren bestrahlten weibliche Mäuse, beginnend im Alter von 6 Wochen, kurzzeitig, fraktioniert und kontinuierlich, setzten nach Ende der Bestrahlungsperiode die Tiere für das weitere Leben sofort mit Männchen zusammen und bestimmten über die ganze weitere Lebenszeit in 3-Wochen-Perioden den Prozentsatz der Weibchen, die in dieser Periode wenigstens einen Wurf hatten, sowie die Gesamtzahl der Jungen pro Weibchen. Infolge der größeren Strahlenempfindlichkeit der unreifen Oocyten und der während der Eireifung abnehmenden Strahlenempfindlichkeit setzten Sterilität und Veränderung der Geburtenzahl erst nach einer gewissen Latenzzeit ein. Mit dieser Testmethode konnte gezeigt werden, daß 1. fraktionierte Röntgenbestrahlung über Wochen weniger wirksam ist als eine einzeitige Bestrahlung, 2.  $2 \times 25$  R/Woche wirksamer waren als  $5 \times 10$  R/Woche, 3. langdauernde kontinuierliche Gammabestrahlung weniger wirksam war als eine Einzeitbestrahlung, 4. die Wirkung kontinuierlicher Bestrahlung bei gleicher insgesamt akkumulierter Dosis mit der Dosisleistung zwischen 88,2 R/Woche und 10,1 R/Woche abnahm. Die Autoren glauben mit einem gewissen Recht, die Widersprüche zu älteren Arbeiten und dieser Arbeiten untereinander folgenderweise erklären zu können: 1. wurden oft nur die Fertilität und Wurfgröße kurz nach Applikation getestet, während sie die Fertilität über das ganze weitere Leben verfolgten, 2. wurde die Änderung der Strahlenempfindlichkeit während längerer Expositionszeiten infolge des Heranwachsens der Tiere nicht genügend berücksichtigt, 3. kann bei großen Unterschieden der Bestrahlungsperioden a) die mit dem Alter sich ändernde Strahlenempfindlichkeit mitspielen und können b) bei kurzen Bestrahlungsperioden z. T. nur die im unempfindlichen reifen Stadium bestrahlten Eier zur Ovulation kommen, bei längeren solche, die noch im strahlenempfindlichen unreifen Stadium einen Teil der Strahlendosis abbekommen

haben. Die Abhängigkeit von der zeitlichen Dosisverteilung wird mit der erheblichen Erholungsfähigkeit der Oocyten erklärt. Zu bedenken ist allerdings, daß all diese Überlegungen auf der histologisch begründeten, aber nicht absolut sicheren Annahme aufbauen, daß es sich bei den beschriebenen Effekten um eine reine Direktwirkung auf die Eizelle handelt. Es ist jedoch bekannt, daß das Ovar hinsichtlich sowohl akuter als auch chronischer Schäden auch indirekt durch die Allgemeinschädigung des Organismus in Mitleidenschaft gezogen werden kann. Gerade beim Ovar bestehen außerordentliche Speciesunterschiede der Strahlenempfindlichkeit, so daß es sehr schwierig ist, von den Tierexperimenten Rückschlüsse auf die menschlichen Verhältnisse zu ziehen.

Auch die cellulären Effekte sind im Ovar bei dicht ionisierenden Strahlen weniger von der Dosisleistung abhängig als bei locker ionisierenden Strahlen. RUGH (1954), L. B. RUSSELL et al. (1959) und KITAEVA haben weitere Literatur zur Dosisleistungsabhängigkeit der Ovarschädigungen ausführlich besprochen.

### b) Nervensystem

Das lange Zeit — vorwiegend vom morphologischen Standpunkt aus — für sehr strahlenresistent angesehene ZNS ist aus mehreren Gründen in den letzten Jahren stärker in den Vordergrund des strahlenbiologischen Interesses gerückt. Erstens zeigt sich bei genügend langer Beobachtung und mit neueren Untersuchungsmethoden, daß auch morphologische Schäden schon bei Einzeitdosen unter 2000 R auftreten, zweitens übernimmt das ZNS bei sehr hohen Strahlendosen die führende Rolle für den akuten Strahlentod, und drittens wurden in den letzten Jahren mehr und mehr funktionelle Störungen des Nervensystems aufgedeckt, die z.T. schon bei sehr kleinen Strahlendosen und sehr frühzeitig — z.T. schon unter der Bestrahlung — einsetzen. Gerade diese beanspruchen hinsichtlich des Zeitfaktorproblems, entsprechend den Ausführungen im Abschnitt III, 1, a, besonderes Interesse.

#### *α) Funktionelle Störungen*

Eine ganze Reihe von Momentanreaktionen höherer Organismen auf ionisierende Strahlen, die in letzter Zeit beschrieben wurden, erwecken den Verdacht, daß dabei die Dosisleistung eine wichtige, wenn nicht die entscheidende Rolle spielt. Es sind dies, außer den bereits erwähnten Beobachtungen an niederen Tieren (HUG), Verhaltensstörungen von Säugetieren, wie sie insbesondere von GARCIA et al. und OVERALL et al. beschrieben wurden, Veränderungen bedingter und unbedingter Reflexe, wie sie vor allem im russischen Schrifttum behandelt wurden (LEBEDINSKIY und NAKHIL' NITSKAYA) und strahleninduzierte elektrophysiologische Veränderungen. Die wichtigsten Ergebnisse finden sich in den Berichten internationaler Symposien über die Strahlenwirkung auf das Nervensystem (Wien 1962 — IAEA; Chicago 1960 — HALEY und SNIDER; Los Angeles 1962 — HALEY) und in Übersichten von FURCHTGOTT sowie HUG (1960).

Der Verdacht auf eine ausgeprägte Dosisleistungsabhängigkeit ist immer dann gegeben, wenn die Veränderungen unmittelbar bei Bestrahlungsbeginn einsetzen, unter fortgesetzter Bestrahlung keine weitere Steigerung des Effekts erfolgt und die strahleninduzierte Veränderung sehr rasch nach Bestrahlung wieder zum Ausgangswert zurückkehrt. In einigen Fällen wurde die Dosisleistungsabhängigkeit bereits geprüft. So haben charakteristische „Arousal“-Reaktionen im Elektroencephalogramm eine Dosisleistungsabhängigkeit (LIVANOV). Auf einige Arbeiten, die auch bei den Funktionsstörungen des peripheren Nervensystems eine starke Dosisleistungsabhängigkeit vermuten lassen, wurde bereits hingewiesen. Auch Sofortreaktionen des vegetativen Nervensystems scheinen z.T. ähnlichen Bedingungen zu unterliegen. Wie bei isolierten Nerv-Muskelpräparaten niederer Tiere (s. S. 288), ändern sich auch Tonus und Motilität glattmuskulärer, vegetativ innervierter Organe der Wirbeltiere unter Bestrahlung. Zahlreiche ältere und neuere Beobachtungen über sofort unter Bestrahlung auftretende Störungen der Funktion des

Herzens, der Lunge, des Magendarmkanals, des Uterus sollten genauer als bisher auf die Dosisleistungsabhängigkeit geprüft werden. So ist durchaus zu erwarten, daß die Verzögerung der Magenentleerung, die nach HULSÆ bei Ratten schon bei Dosen um 20 R auftritt, ebenfalls dosisleistungsabhängig ist. Die Schwelle der Dosisleistung für solche funktionellen Störungen kann sehr wohl gerade in dem Bereich liegen, der üblicherweise bei therapeutischer Strahlenapplikation verwendet wird.

Ein Teil dieser Veränderungen wird möglicherweise durch eine unmittelbare Änderung der Zellpermeabilität verursacht, verbunden mit Potentialänderungen und Elektrolytverschiebungen, die auf S. 289 beschrieben sind, und für die HUG et al. bereits eine starke Abhängigkeit von der Dosisleistung ermittelten. Es ist durchaus möglich, daß diese funktionellen Störungen zum Symptomenkomplex der akuten Strahlenkrankheit beitragen, und daß dabei Änderungen der Dosisleistung, die üblicherweise keine Effektänderungen bedingen (z.B. zwischen 10 und 100 R/min), von Bedeutung sind. Noch ist es verfrüht, eine Brücke zwischen temporären Funktionsstörungen und irreversiblen Strahlenschäden herzustellen, außer bei außerordentlich hohen Strahlendosen, bei denen die schwere Störung des ZNS unmittelbare Todesursache wird. Es erhebt sich die Frage, ob die funktionellen Störungen auf cellulärer und komplexerer Ebene nicht bei der sog. Entzündungsbestrahlung und sog. Schwachbestrahlung, bei den initialen Störungen der Gefäßfunktion, bei der Freisetzung toxischer Substanzen selbst aus nicht abgetöteten aber geschädigten Zellen eine Rolle spielen, und ob nicht in diesen Fällen die Dosisleistung ein entscheidender Faktor ist.

#### *β) Morphologisch faßbare Veränderungen*

Vom strahlentherapeutischen Standpunkt aus studierte BODEN die Abhängigkeit der Strahlenschäden des Gehirns von der zeitlichen Dosisverteilung und fand bei täglicher Fraktionierung, daß sich die Toleranzdosen des Hirnstammes im relativ engen geprüften Bereich nach einer Strandquist-Geraden (s. S. 325) auftragen lassen. Auch BERG und LINDGREN haben sich bei ihren Studien an das Strandquistsche Konzept angelehnt und die Zeit-Dosiseffekt-Beziehung für die Strahlenschädigung des Hirngewebes und der Haut bei Einzeit- und fraktionierter Bestrahlung behandelt. Die Dosen für bestimmte Stufen morphischer Schäden des Hirngewebes lagen — in der Strandquistschen Art aufgetragen — auf parallelen Geraden, ebenso die für Hautreaktionen. Man sollte aber diese Tatsache nicht überbewerten, schon im Hinblick darauf, daß die Streubreite der Ergebnisse außerordentlich groß ist und leicht zu einer scheinbaren Übereinstimmung führt. Außerdem waren die Beobachtungszeiten relativ kurz (30 und 42 Wochen), so daß der klinisch wichtige Spätzustand nicht oder nur unvollständig erfaßt wurde. ERNST bestrahlte 1959 mit einem 31 MeV-Betatron fraktioniert die Köpfe von sechs Kaninchen, und zwar mit 12000—15000 R und Einzeldosen von 250 R. Er fand, daß das Ausmaß des Schadens bei diesen Dosen und Fraktionierungsarten in das Strandquist-Schema paßt. MCLAURIN et al. stellten fest, daß der Früheffekt auf das Rückenmark von Affen stark dosisleistungsabhängig ist.

Eine Arbeitsgruppe um SCHOLZ (SCHOLZ et al., BREIT 1958) bestrahlte das Thorakalmark von Kaninchen mit 250 R/Tag, wobei Dosen von 3000—11000 R innerhalb von 12—40 Tagen verabreicht wurden. Neurologische Zeichen der Schädigung traten nach 6½—33 Wochen auf. Bei Einzeitbestrahlung des syrischen Goldhamsters entwickelte sich der akute Strahlenschaden nach 20—30 R innerhalb von 7 Tagen. Verlängerung der Bestrahlungszeit verzögerte den Eintritt der Nekrose. BREIT (1964) hat in einer größeren Arbeit, in Fortsetzung dieser Studien am Rückenmark des Kaninchens, das Auftreten von Paraplegien in Abhängigkeit von der Dosis und dem Fraktionierungsschema untersucht und dabei die Beobachtungszeiten auf über 4 Jahre ausgedehnt. Dabei zeigte sich, daß die Zahl der Paraplegien mit letalem Ausgang mit der Dosis, aber auch mit der Dauer der Beobachtungszeit zunimmt und der Effekt bei gleichen Dosen im ganzen bei einer Fraktionierung mit 2×500 R/Woche häufiger ist und

früher einsetzt als mit  $5 \times 200$  R/Woche. Die höhere Einzeldosis scheint also eine stärkere Wirkung zu haben. Dies gilt sowohl für die Gesamtzahl der Lähmungen wie für ihr zeitliches Auftreten. Analoge Verhältnisse ergaben sich bei isolierter Bestrahlung des Rückenmarks vom Hund. Die Dosen, bei denen noch Strahlenspät Schäden in 20—30 % der Tiere beobachtet wurden, liegen wesentlich niedriger, als man früher auf Grund kürzerer Beobachtungszeiten für Einzeitbestrahlung annahm, und sicherlich niedriger, als man bei Ableitung aus einer fälschlicherweise generalisierten Strandquist-Funktion annehmen würde. Es sei ferner auf die histopathologischen Studien von HICKS und WRIGHT und HICKS et al. hingewiesen, die den Zeitfaktor bei der Strahlenschädigung des Rattenhirns durch 250 kV-Röntgenstrahlen und hochenergetische Röntgen- und Elektronenstrahlen auch bei sehr hohen Dosen und Dosisleistungen beschreiben.

Nach HICKS et al. ist die akute Granulosazellnekrose des Kleinhirns von Mäusen nach Bestrahlung mit 10000 R ausgeprägter, wenn die Dosisleistung von 100 R auf 2000 R erhöht wird.

#### *γ) Das zentralnervöse Syndrom bei sehr hohen Strahlendosen*

Der akute zentralnervöse Tod und die damit verbundenen morphologischen und elektroencephalographischen Veränderungen scheinen bei insgesamt kurzen Bestrahlungszeiten von Stunden und weniger eine erhebliche Abhängigkeit von der Dosisleistung zu haben, wenn auch die verschiedenen Arbeiten schwer vergleichbar sind, weil gerade in dieser Hinsicht große Speciesunterschiede bestehen. Während bei kleinen Laboratoriumstieren der zentralnervöse Tod erst von 10000 R an das Krankheitsbild beherrscht, erzielten KUHN und BROWN sowie RUST bei Eseln schon mit über 200 rad letale cerebrale Veränderungen und beobachteten eine starke Abhängigkeit von der zeitlichen Dosisverteilung. KUHN und BROWN schließen aus anderen und ihren eigenen Experimenten bei Kopfbestrahlung an Eseln mit Neutronen-Gammastrahlung, daß der cerebrale Früh Tod bei diesen Tieren durch relativ niedrige Gesamtdosen hervorgerufen werden kann, vorausgesetzt, daß die Dosisleistung genügend hoch ist. Es kann mit ziemlicher Sicherheit angenommen werden, daß die durch hohe Dosen und mit sehr hohen Dosisleistungen erzielten schwersten zentralnervösen Veränderungen mit elektroencephalographischen Störungen und Beeinträchtigungen des gesamten vegetativen Nervensystems, wie sie von RAJEWSKY et al., BROOKS, MOOS et al. u. a. beschrieben wurden, ganz entscheidend von der Dosisleistung abhängen, indem mit abnehmender Dosisleistung die Überlebenszeit immer länger wird und schließlich die zentralnervösen Symptome überhaupt zurücktreten.

RUGH und CLUGSTON beobachteten, daß unter einer Dosisleistung von 1500 R/min der Tod von Mäusen in etwa 85 min, also nach Erreichen einer Dosis von 125000 R, eintritt, während die Tiere bei 365 R/min nach etwa 3 Std sterben, wenn erst eine Dosis von 66000 R erreicht wurde. Wird diese Dosis mit der höheren Dosisleistung, also in etwa 44 min, verabreicht, so leben die Tiere etwa 7 Std länger. Die Autoren schließen aus dieser Beobachtung, daß es hinsichtlich des akuten zentralnervösen Todes eine wirksamste Dosisleistung gibt, was vielleicht darauf hinweist, daß unter der Bestrahlung im Zentralnervensystem verschiedenartige pathologische Prozesse mit unterschiedlichen Zeitkonstanten ablaufen, von denen ein früher zum Tode führender bei geringerer Dosisleistung das Geschehen bestimmt.

### **3. Die akute Strahlenmortalität**

Die Komplexität der Vorgänge, die durch Ganzkörperbestrahlung in höheren Organismen ausgelöst werden, die Mannigfaltigkeit der primären Angriffsorte und der strahlensensiblen Elementareinheiten, die Überschneidung und Verzweigung zahlreicher Ursachenkette bis zum manifesten Schaden, das Eingreifen von Regulationen und Gegenregulationen, Kompensationen und Überkompensationen lassen nicht erwarten, daß sich einheitliche, für den Zeitfaktor entscheidende Prinzipien herauschälen lassen, und wir müssen uns deshalb sehr oft auf das Phänomenologische beschränken.

### a) Die Erholung bei Totalbestrahlung (Fraktionierungsversuche)

Die Großzahl der Arbeiten befaßt sich mit dem Vergleich kurzzeitiger Einzeitbestrahlung und kontinuierlich oder fraktioniert über Stunden, Tage oder Wochen ausgedehnter Ganzkörperbestrahlung, meist bei kleinen Laboratoriumstieren und in dem Dosisbereich der  $LD_{50}$ , in dem der hämopoietisch bedingte Strahlentod im Vordergrund steht. In allen diesen Versuchen kommt die ausgeprägte Erholungsfähigkeit des Organismus dadurch zum Ausdruck, daß der Grad der Strahlenschädigung, die Latenzzeit bis zum Eintreten einer bestimmten Allgemeinreaktion und des Strahlentodes, die Zahl der Todesfälle oder die Absterbeordnung im allgemeinen einen mit der Zunahme der Bestrahlungsdauer abnehmenden Effekt erkennen lassen. Mehrere Studien dienten speziell dem Ziel, diese Erholungsfähigkeit quantitativ zu erfassen.

Seit HAGEN u. SIMMONS besteht die gebräuchlichste Methode darin, daß die Tiere zunächst eine Dosis erhalten, die unter der  $LD_{50}$  für eine Einzeitbestrahlung liegt, und daß zu verschiedenen Zeitpunkten nach dieser Erstbestrahlung ermittelt wird, welche zusätzliche Dosis notwendig ist, um 50 % der Tiere innerhalb eines festgelegten Zeitraums abzutöten (s. dazu S. 284). Vieles wies zunächst auf eine annähernd exponentiell verlaufende Erholung hin. Die Halbwertszeit dieser Erholung ist abhängig von der Tierspecies und innerhalb der gleichen Tierart vom Stamm, zeigt aber auch erhebliche Variationen mit dem Geschlecht, dem Alter der Tiere und schließlich auch dem Stoffwechszustand. Zusammenstellungen über die Halbwertszeiten der Erholung bei verschiedenen Tieren finden sich bei BRAUER et al., KOHN und KALLMAN (1957), HUG (1959), MICHAELSON und ODLAND, KREBS und BRAUER und bei LEONG et al. Sie beträgt z. B. in den Experimenten verschiedener Autoren bei der Maus 1,6—7,4 Tage, beim Hamster 6 Tage, bei der Ratte 5—9 Tage, beim Hund 7—14 Tage, beim Affen 4,8 Tage, beim Esel 20—28 Tage. MICHAELSON und ODLAND glaubten, daß im großen und ganzen die Halbwertszeit umgekehrt proportional zum Logarithmus des Grundumsatzes der betreffenden Tierspecies ist. Wenn diese Regel allgemeine Gültigkeit hätte, müßte man annehmen, daß die Halbwertszeit der Erholung vom akuten allgemeinen Strahlenschaden beim Menschen zwischen 15 und 22 Tagen liegt. Nach LEONG et al. haben große Tiere, wie Esel, Schafe, Ziegen, eine wesentlich längere, nämlich bis auf 60 Tage ausgedehnte Halbwertszeit der Erholung als kleine Laboratoriumstiere. Die Erholungskurven des peripheren Blutes weisen auf eine speciesverschiedene Regenerationsfähigkeit des Knochenmarks hin. Die Granulocytenzahlen von Eseln und Schafen erreichen ein Minimum erst 170—200 Tage nach Bestrahlung, und auch die mononuclearen Zellen sind noch nach 200—300 Tagen vermindert. Hier liegen die ersten Versuche vor, den artspezifischen Zeitfaktor, wie er sich bei der Ganzkörperbestrahlung manifestiert, mit der Zellkinetik des jeweiligen kritischen Organs in Beziehung zu setzen.

Detaillierte Untersuchungen haben allerdings gezeigt, daß die beschriebene exponentielle Erholung nur dem Ablauf in großen Zügen entspricht, und daß eine ganze Reihe von Besonderheiten besteht. Zunächst einmal wurde festgestellt, daß in den ersten 6 Std bei vielen Tieren eine sehr rapide Erholung erfolgt (MOLE 1956, 1957; HURSH und CASARETT), und daß ein phasenförmiger Verlauf den Erholungsvorgang besser beschreibt als eine einfache Exponentialfunktion (SACHER, STORER 1964). Eine phasenförmige Erholung wird auch von KALLMAN und SILINI und von LEONG et al. erwähnt. AURAND hatte schon vorher mit größeren Gesamtdosen (1200 R) durch Aufspaltung in zwei Teildosen von 350 und 850 R, die in verschiedenen Intervallen gegeben wurden, zeigen können, daß nach der Erstbestrahlung eine phasenförmig wechselnde Empfindlichkeit der Maus gegenüber der zweiten Bestrahlung besteht. Auch zeigte sich, daß die Erholungsgeschwindigkeit von der Dosis abhängt. Nach STORER (1961) soll die Erholungskonstante umgekehrt proportional zum Quadrat der Dosis sein. Die Angaben darüber sind jedoch nicht einheitlich; so beträgt umgekehrt nach SPALDING et al. die Halbwertszeit der Erholung von weiblichen Mäusen bei 205 R 181 Std (bei einem

insgesamt linearen Abfall) und bei 600 R 161 Std (mit einem exponentiellen Abfall). Bei sechs weiteren, mit 205—692 R bestrahlten Mäusegruppen bestand keine wesentliche Abhängigkeit von der Höhe der Erstdosis, und die Halbwertszeit betrug stets ca. 7 Tage. MOLE (1957) bestrahlte CBA-Mäuse fünfmal wöchentlich mit täglich 25,5 und 100 und 200 R und bestimmte die Todesfälle und die jeweilige  $LD_{50}$  innerhalb von 30 Tagen nach Bestrahlungsende. Dabei stieg die  $LD_{50}$  von 1444 bei täglich 200 R in einer Woche auf 3600 bei täglich 25 R in 29 Wochen, und unter Annahme einer exponentiellen Erholung sank die entsprechende Erholungskonstante von 12 % auf 2,5 % ab. Nach CLAUS nimmt die Erholungskonstante bei höheren Testdosen zwischen der  $LD_{50}$  und der  $LD_{84}$  zu. Auch hier scheinen zu kleine Einzeldosen die übergeordneten regulatorischen Prozesse, die für die Erholung verantwortlich sind, nicht genügend stark anzuregen. Wie nach allen sonstigen strahlenbiologischen Erfahrungen zu erwarten, ist die Erholungsfähigkeit bei Neutronenbestrahlung und anderen dicht ionisierenden Strahlen wesentlich geringer und der Residualschaden, getestet durch erneute Bestrahlungen, größer (STORER 1959).

### b) Protrahierung

Bei keinem der uns bekannt gewordenen Experimente zur Ermittlung des Zeitfaktors beim akuten Strahlentod wurde mit so hohen Dosisleistungen gearbeitet, daß ein primärer Zeitfaktor hätte aufgedeckt werden können.

Am ehesten wäre noch bei den Versuchen von LINDOP und ROTBLAT damit zu rechnen gewesen. Sie fanden aber, daß bei einer gepulsten Elektronenbestrahlung (400 Hz und 1,5 msec Pausendauer), selbst bei einer Variation der mittleren Dosisleistung zwischen 1,3 und 2600 rad/sec, die  $LD_{50}$  von Mäusen sich um nicht mehr als 10 % änderte.

Bei allen anderen, ebenfalls an Mäusen durchgeführten Versuchen kommt der offenbar auf die biologischen Erholungsvorgänge zurückzuführende Zeitfaktor erst hinreichend zur Geltung, wenn sich die protrahierte Bestrahlung über mehr als eine Stunde erstreckt.

Die experimentellen Resultate zeigen weitgehende Übereinstimmung, wenn man berücksichtigt, daß in manchen Versuchen die Dosisleistung zu geringfügig variiert wurde, als daß sich ein deutlicher Effekt hätte bemerkbar machen können. Die meist als Testgröße verwendete  $LD_{50}$  oder die mittlere Überlebenszeit nach Letaldosen nahm bei Mäusen nur wenig ab, wenn die Dosisleistung im Bereich zwischen ca. 10 und 100 R/min sogar um den Faktor 5—10 erhöht wurde (BROWN et al., DACQUISTO und BLACKBURN, FOWLER und LAWREY, LEITCH). Erst beim Übergang zu kleineren Dosisleistungen bis zu 1 R/min — also bei protrahierter Bestrahlung während mehr als 1 Std — wurde der Zeitfaktor ausgeprägter; so bei Versuchen von MAURER und MINDER, die zwischen Dosisleistungen von 50 und 500 R/min noch keine, bei 5 R/min jedoch eine deutliche Wirkungsabnahme — gemessen an der Überlebenszeit der Mäuse — sahen. Nach CORP und NEAL erhöht sich die  $LD_{50}$ , die bei Kurzzeitbestrahlung ermittelt wurde, bei einer über 24 Std protrahierten Bestrahlung schon um den Faktor 1,66. Einen Zeitfaktor  $> 1$  beobachteten auch THOMSON und TOURTELLOTTE bei Mäusen, wenn die Bestrahlungszeit von 0,3 auf 3,3 Std oder gar auf 576 Std erhöht wurde.

Bei Protrahierung über Tage und Wochen schließlich werden, selbst wenn die Tagesdosen schon erhebliche Bruchteile der  $LD_{50}$  ausmachen, außerordentlich hohe Dosen akkumuliert, bevor der Tod eintritt. Nach LAMERTON et al. beträgt die bei 415 R/Tag während zehntägiger Überlebenszeit der Mäuse akkumulierte Dosis 4150 R, bei 176 R/Tag während 20tägiger Überlebenszeit 3520 R. Die geringere Dosisakkumulation bei kleinerer Dosisleistung erklärt sich wohl dadurch, daß bei den höheren Dosisleistungen ein größerer Teil der Gesamtdosis vor Eintritt des Todes „verschwendet“ wird.

Vergleichende Studien zeigen, daß der Zeitfaktor der akuten Strahlenkrankheit auf Grund der unterschiedlichen Erholungskonstanten speciescharakteristisch ist. STEARNER und TYLER verglichen die Zeitfaktorabhängigkeit der akuten  $LD_{50}$  bei drei Vogelspecies und Mäusen zwischen 7 und 30 Tagen. Bei kontinuierlicher Bestrahlung nahm die  $LD_{50}$

in allen vier Species bei Verlängerung der Bestrahlungszeit von 10 min auf 6 Std deutlich, bei Verlängerung von 6 auf 24—25 Std nur noch wenig zu. Diese starke Änderung der  $LD_{50}$  bei Protrahierung auf 6 Std ist nach MOLE (1963) als ein generelles Phänomen zu betrachten und steht möglicherweise in einem gewissen Zusammenhang mit dem Elkind'schen Erholungsphänomen der Zellen im kritischen Gewebe, z. B. im Knochenmark. Der in den ersten 2 Tagen bei Küken zu beobachtende kreislaufbedingte Tod hat eine wesentlich größere Dosisleistungsabhängigkeit als die in späteren Zeiten nach Bestrahlung auftretenden Todesfälle, weil dieser perakute Schaden offenbar einer kompletten und schnelleren Erholung unterliegt.

Die von STEARNER u. TYLER durchgeführten mathematischen Analysen ihrer Resultate stellen den ersten erfolgreichen Versuch dar, die summarische Behandlung des Zeitfaktors beim akuten Strahlentod durch eine Einsicht in die Erholungsprozesse zu ersetzen, die für den Zeitfaktor der verschiedenen pathogenetischen Mechanismen entscheidend sind. Auf die unterschiedlichen Zeitfaktoren beim gastrointestinalen und beim zentralnervösen Strahlensyndrom wurde bereits in den betreffenden Kapiteln hingewiesen. Daraus folgt, daß der Zeitfaktor auch von der Größe der Dosis abhängt, weil in den verschiedenen Dosisbereichen ganz unterschiedliche Letalmechanismen determinierend sind.

Somit ist also sowohl bei Protrahierungs- als auch bei Fraktionierungsversuchen, mittels derer die Erholungsvorgänge studiert wurden, im großen und ganzen der Zeitfaktor durch species-eigentliche, aber auch für die verschiedenen Letalmechanismen unterschiedlichen Erholungsprozesse zu erklären. Allerdings können auch bei gleichen Gesamtbestrahlungszeiten Unterschiede zwischen Fraktionierung und Protrahierung bestehen, wie das theoretisch nach dem Schema auf S. 277 zu postulieren ist. Sie werden in der Praxis recht verschieden gedeutet. Meist wird beobachtet, daß die Fraktionierung um so stärker gegenüber der kontinuierlichen Bestrahlung wirkt, je höher die Dosis der Einzelfraktionierungen ist. Gelegentlich — so in der zitierten Studie von STEARNER und TYLER an Küken — wurde auch eine stärkere Wirkung der kontinuierlichen Bestrahlung beschrieben.

Bei sehr stark protrahierter kontinuierlicher Bestrahlung kann es schließlich soweit kommen, daß infolge der verschiedenartigsten Erholungsprozesse überhaupt kein akutes Strahlensyndrom und kein akuter Strahlentod nach den üblichen Mechanismen eintreten, sondern daß sich mit der Zeit in bezug auf die einzelnen geschädigten Systeme wiederum — wie bereits mehrfach gezeigt — ein stationärer Zustand einstellen kann. Dies gilt hinsichtlich der Zahl der weißen Blutzellen, der Organgewichte, der Fertilität der männ-

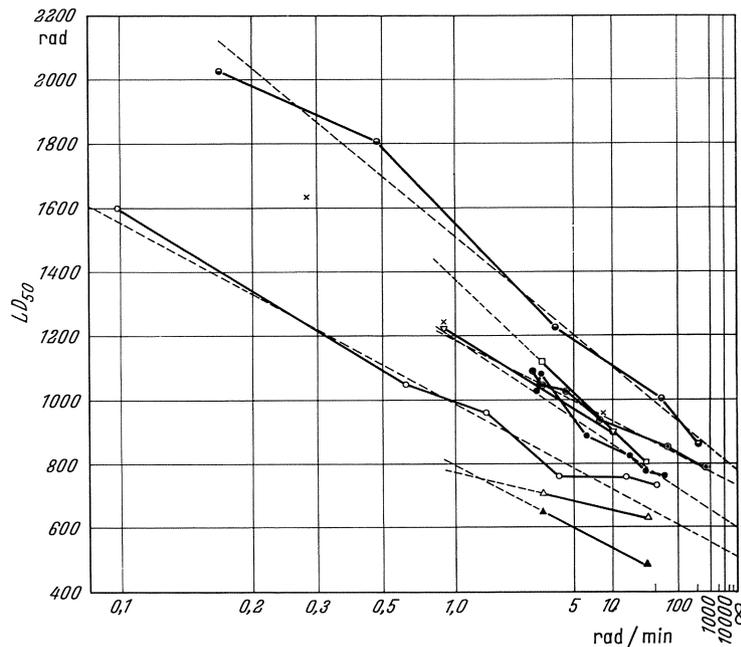


Abb. 15. Die  $LD_{50}$  von Mäusen und Ratten in Abhängigkeit von der Dosisleistung. Zusammenstellung von BATEMAN et al. (1962) nach Daten von THOMSON und TOURTELLOTTE ○, LOGIE et al. ●, NEAL ●, BROWN et al. ●, VOGEL et al. ▽, HENSHAW et al. (1947) □, und DACQUISTO und BLACKBURN △ und ▲. Zum Vergleich einige Werte von MACCOMB und QUIMBY ◆ über die Strahlenreaktion der menschlichen Haut

lichen Maus und verschiedener anderer Testreaktionen. Diese Veränderungen können weitgehend durch die celluläre Strahlenreaktion bestimmter empfindlicher Organe erklärt werden. Bei sehr kleiner mittlerer Tagesdosis wird schließlich jegliche Form der akuten Strahlenkrankheit und des akuten Strahlentodes ausbleiben, und die Tiere werden mit mehr oder weniger langen Latenzzeiten an chronischen Strahlenschäden sterben.

Vor kurzem haben BATEMAN et al. (1962) die wichtigsten Arbeiten zum Problem des Zeitfaktors bei der akuten Strahlenmortalität zusammengestellt, wobei es sich meist um kontinuierliche Röntgen- und Gammabestrahlung an Mäusen oder Ratten und um einzelne Studien mit fraktionierter Bestrahlung handelt. In der ihrer Arbeit entnommenen Abb. 15 ist die  $LD_{50}$  gegen die reziproke dritte Wurzel der Dosisleistung aufgetragen. Dabei

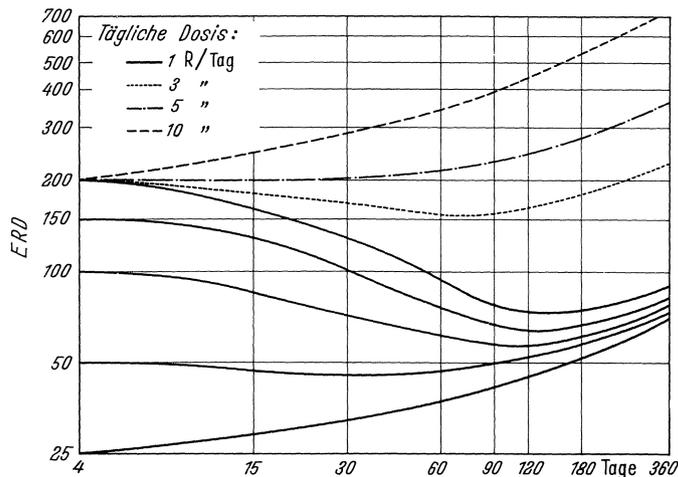


Abb. 16. Äquivalente Dosis (ERD) für Zeiten bis zu einem Jahr nach kombinierter Kurzzeit- und Dauerbestrahlung. Es ist dabei angenommen, daß die Kurzzeitbestrahlung am Ende des 4. Tages abgeschlossen ist, und daß dann die ERD gleich der zugeführten Dosis ist. Die Kurven zeigen den Einfluß der Erholung von der anfänglichen kurzzeitigen Bestrahlung und der kontinuierlichen Bestrahlung mit konstanter täglicher Dosis. (Nach LEROY)

resultate bzw. die Formeln anderer Autoren, in denen bisher eine Abhängigkeit der Effektdosis von der Dosisleistung bzw. Gesamtbestrahlungszeit dargestellt wurde, mit ihren eigenen und fanden, daß viele experimentelle Ergebnisse ganz gut auf ihren Kurven liegen, aber die Extrapolationen zu kleinen und großen Dosisleistungen z.T. grundsätzlich differieren.

LEROY hat für die Praxis der Strahlenmedizin, z.B. für den Fall einer nuclearen Katastrophe, Faustregeln für den Zeitfaktor bei wiederholter oder protrahierter Bestrahlung und einigen typischen Kombinationen beider, wie sie bei Kernexplosionen wahrscheinlich sind, aufgestellt. Er geht von einer Reihe vereinfachender Annahmen aus, darunter folgenden: 1. 10 % der Wirkung einer Dosis sind irreparabel und akkumulieren sich ohne Abhängigkeit von der zeitlichen Verteilung. 2. Von den restlichen 90 % der Wirkung erholt sich der Körper in einem Monat zur Hälfte und in ca. 3 Monaten völlig. 3. Diese Erholung ist ein kontinuierlicher Prozeß und kann auch gleichzeitig mit der Addition weiterer Strahlenwirkungen verlaufen. 4. Die Erholungsrate in den ersten 4 Tagen kann außer acht gelassen werden.

LEROY führt, entsprechend dem Blairschen Ansatz (s. S. 285), den Begriff der äquivalenten Residualdosis (ERD) ein, stellt graphisch ihren Verlauf nach einer subletalen Einzeitbestrahlung dar und ermittelt Multiplikationsfaktoren für protrahierte Bestrahlung bis zu 400 Tagen und den Verlauf der ERD nach einer Einzeitbestrahlung mit 25 bis 200 R, wenn anschließend eine tägliche Bestrahlung mit 1—10 R/Tag im Lauf von 1 Jahr

liegen die Meßwerte auf einer durch folgende Formel beschriebenen Geraden:

$$ED_{50}(I) = ED_{50}(\infty) (1 + K \cdot I^{-\frac{1}{3}})$$

$ED_{50}(I) = ED_{50}$  bei Dosisleistung  $I$ ,

$ED_{50}(\infty) =$  auf unendlich große Dosisleistung extrapolierte  $ED_{50}$ ,  $K =$  Konstante, in den meisten Versuchen bei 0,95, wenn  $I$  in rad/min gemessen ist.

Transformiert man die Kurven, indem man die Dosen in Prozent der bei 1 R/min ermittelten  $LD_{50}$  angibt, so liegen alle Werte annähernd auf einer Geraden und fächern nur gegen sehr hohe Dosisleistungen hin auf. Bei 0,1 R/min beträgt dann die  $LD_{50}$  etwa 150 %, bei 10000 R/min etwa 60 % der  $LD_{50}$  bei 1 R/min. Die Autoren verglichen die Re-

erfolgen würde. Daraus läßt sich ablesen (Abb. 16), daß z.B. die ERD einer 200 R-Einzeitbestrahlung durch eine tägliche Dosisleistung von 3 R mit mäßigen Fluktuationen ungefähr 1 Jahr lang aufrechterhalten wird, diejenige von 50 R durch eine Tagesdosis von 1 R. Der zusätzliche Schaden macht sich erst nach etwa 3 Monaten allmählich bemerkbar.

Wir können hier die Zeitfaktorabhängigkeit zahlreicher einzelner, bei Ganzkörperbestrahlung geschädigter Funktionen nicht angeben, verweisen aber noch einmal darauf, daß für die verschiedenartigsten Strahlenschäden keine gleichartigen Erholungskonstanten und damit Zeitfaktoren zu erwarten sind.

#### 4. Störungen der Embryonalentwicklung

Bekanntlich hängen die Art der intrauterinen Strahlenschädigung, ihre Schwere und die Wahrscheinlichkeit ihres Auftretens ganz entscheidend von dem Entwicklungsstadium des Keims zum Zeitpunkt der Bestrahlung ab, und zwar so, daß in den Anfangsstadien die Abtötung des Keims im Vordergrund steht und später, vom Beginn der Organogenese an, Mißbildungen bestimmter Gewebe- und Organsysteme z.T. überhaupt nur in einer schmalen, oft auf Stunden begrenzten Zeitspanne hervorgerufen werden können. Dadurch muß zwangsläufig eine Abhängigkeit von der zeitlichen Dosisverteilung auftreten, einfach deshalb, weil es ganz darauf ankommt, welche kritischen Phasen betroffen werden und welcher Betrag der Gesamtdosis bei einer bestimmten Zeitverteilung in diese fällt. Unterschiedliche zeitliche Dosisverteilung kann also qualitativ wie quantitativ verschiedene Wirkungen haben. Da man voraussetzen kann, daß sowohl die Keimabtötung als auch die Entstehung von Mißbildungen zustande kommen, wenn eine bestimmte kritische Zahl von Zellen abstirbt oder mutiert, muß man annehmen, daß alle bereits besprochenen intracellulären Vorgänge, welche zeitfaktorbestimmend sein können, auch bei der Strahlenwirkung auf den Embryo mitspielen. Das embryonale Gewebe hat aber eine erhebliche Fähigkeit zur Reparation, Regeneration und Restitution, indem Zelluntergänge durch vermehrte Zellteilung gleichartiger Zellen und durch das Einspringen undifferenzierter, pluripotenter Zelltypen kompensiert werden können. Auch diese Kompensation muß sich nach Art und Grad während der Keimentwicklung ändern.

Man kann also unterscheiden zwischen Versuchen, bei denen die Dosisleistung innerhalb von Zeiträumen variiert wurde, die insgesamt sehr klein sind gegenüber den kritischen Phasen der Keimentwicklung und solchen, bei denen die Dosis über größere Zeiträume verteilt ist.

Nur wenige Untersucher haben sich um die Erfassung der Dosisleistungsabhängigkeit bei insgesamt kleinen Bestrahlungszeiten bemüht. Nach BOLAND wurden 6 Tage alte Hühnerembryonen (bei denen die meisten Organe bereits angelegt sind) durch 887 R zu 50% in 6 Std und durch 717 R zu 50% innerhalb von 10 Tagen abgetötet; eine Erhöhung der Dosisleistung von 36 auf 151 R/min erhöhte die Sterblichkeit nur um etwa 9%. AUERBACH zeigte, daß bei Bestrahlung von 9½ Tage alten Mäuseembryonen die Teilung einer Gesamtdosis in drei Fraktionen mit 30 min-Intervallen die Häufigkeit der Spina bifida-Bildung erhöht und erklärte dies durch die cyclische Wiederkehr sensibler Phasen, z.B. der Mitose. Die meisten anderen Autoren untersuchten die Wirkung einer Protrahierung und Fraktionierung über wesentlich größere Zeiträume, und stellten dabei, wie SIKOV und LOFSTROM, eine geringere Wirkung bei stärkerer zeitlicher Streckung der Dosis fest. Nach RUGH (1960) erzeugen 50 R bei Mäuseembryonen sowohl 2,5 Tage nach Konzeption (wenn sich die Keime noch im Stadium der Gastrulation befinden) als auch 8,5 Tage nach Konzeption (während die Zellen des sich entwickelnden Gehirns als Neuroblasten vorliegen) Fälle von Exencephalie, während 25 R zu einem der beiden Zeitpunkte keine drastischen Effekte hervorrufen. Wird jedoch eine Dosis von 50 R in zwei Fraktionen von 25 R an diesen beiden Tagen gegeben, so treten schwerere Veränderungen auf. Diese Beobachtungen sprechen gegen die übliche scharfe Abgrenzung

kritischer Phasen für ganz spezifische Mißbildungen und weisen auf eine Zusammenwirkung von Strahlenschäden der Frucht in den verschiedenen Entwicklungsstadien hin. Die ausführlichste Studie über die Wirkung akuter kontinuierlicher und fraktionierter Bestrahlung während der Embryonalentwicklung wurde von L. B. RUSSELL et al. (1960) vorgelegt. Sie verglichen bei Mäusen die Wirkung von etwa 200 R in den ersten 2 Wochen der pränatalen Entwicklung a) bei einer kontinuierlichen Gammabestrahlung während dieser 2 Wochen mit 8,6 mR/min, b) bei einer Kurzzeitbestrahlung zu sieben verschiedenen Zeitpunkten der gleichen Periode und c) bei einer täglich fraktionierten Bestrahlung in diesen 2 Wochen, wobei die Einzeldosis mit 83 R/min verabreicht wurde. Sie erfaßten dabei die Mortalität vor, bei und nach Geburt, das Gewicht bei Geburt und nach 36 Tagen, die Fertilität und morphologische Veränderungen. Kurzzeitbestrahlung rief die bekannten Mißbildungen, entsprechend den verschiedenen Stadien der Strahlensensibilität, hervor. Kontinuierliche Bestrahlung und täglich fraktionierte Bestrahlungen erzeugten keine Mißbildungen, sondern hatten nur eine Wirkung auf die spätere Fertilität der geborenen Weibchen. Zu beachten ist, daß die Aufteilung in Tagesportionen auch keine sonstigen Veränderungen im Embryo hervorrief, obwohl die aktuelle Dosisleistung dabei etwa 350mal größer war als bei kontinuierlicher Bestrahlung. Die Autoren nehmen an, daß die Dosen, die bei kontinuierlicher und fraktionierter Bestrahlung jeweils in die kritischen Phasen fielen, zu gering waren, um überhaupt einen Effekt hervorzurufen, so daß die möglichen Wirkungsunterschiede verschiedener aktueller Dosisleistungen nicht erfaßt werden konnten. Die Schlußfolgerung ist, daß zwar schon Dosen von 25 R und möglicherweise auch darunter, in den kritischen Zeitpunkten der Embryonalentwicklung gegeben, durchaus imstande sind, einen erheblichen Prozentsatz von Mißbildungen hervorzurufen, daß aber selbst Dosen von 200 R, über größere Zeiträume der Gestationsperiode verteilt, mit der Entwicklung normaler Früchte vereinbar sind.

### 5. Wachstumsstörungen des Skelettsystems

Über die unterschiedlichen Zeitfaktorverhältnisse des jugendlichen gegenüber dem erwachsenen Organismus ist sehr wenig bekannt. Man kann nur vermuten, daß die unterschiedliche Stoffwechsel- und Zellaktivität nicht ohne Einfluß auf den Zeitfaktor bleibt, ohne daß wir dafür eindeutige experimentelle oder klinische Bestätigungen haben. Aus therapeutischem Interesse wurden einige Studien über den Zeitfaktor bei der Schädigung des wachsenden Knochens unternommen. Anfangs glaubte man, daß Bestrahlung des wachsenden Knochens mit wiederholten kleinen Dosen das Wachstum fördere. SCHWARZ hat 1914 gezeigt, daß die Knochenschädigung bei Unterteilung der Dosis geringer ist, und empfahl deshalb eine Therapie mit kleineren Tagesdosen, wenn Teile des Skelettsystems im Strahlenkegel liegen. Auch DAHL (1935) stellte fest, daß eine Unterteilung der Bestrahlungsdosen eine schwächere Wirkung auf das Knochenwachstum hat. Nach MONTAG rufen bereits Herddosen von 420—440 R am wachsenden menschlichen Knochen Hemmungen oder Verzögerungen des Wachstums hervor, während Herddosen von 225—300 R auch bei wiederholter Verabreichung ohne Wirkung bleiben. CANEGHEM und SCHIRREN haben 1956 am wenige Tage alten Hahnenküken den Einfluß der Fraktionierung auf die Störung der Wachstumszonen im Tarsometatarsalgelenk untersucht. Bei Kurzzeitbestrahlung traten erst von 1200 R an deutliche Schädigungen des Wachstums auf. Bei einer Gesamtdosis von 2000 R und täglicher Bestrahlung machte eine Aufteilung in vier Portionen einen wesentlich geringeren Effekt als Einzeitbestrahlung, während die Wirkung von  $8 \times 500$  R überhaupt nicht mehr erfaßt werden konnte. GAUWERKY hat in einer großen Studie bei jugendlichen Ratten, beginnend im Alter von 20 Tagen, das rechte Knie mit einer aktuellen Dosisleistung von 125 R/min einmalig oder fraktioniert bestrahlt und in der Nachbestrahlungsperiode das Längenwachstum von Femur und Tibia im Vergleich zum unbestrahlten Bein gemessen. Einzeitdosen von 700—2500 R wurden mit verschiedenen Fraktionierungsarten verglichen, die in

Anlehnung an das Strandquistsche Schema aufgestellt worden waren. Die bei langen Bestrahlungszeiten auftretenden altersbedingten Sensibilitätsänderungen wurden bei entsprechenden Versuchen berücksichtigt. Für jede Dosis der Einzeitbestrahlung wurde ein Fraktionierungsversuch mit 2—40 Tagesfraktionen angelegt, bei dem mit dem Grade der Fraktionierung, in Anlehnung an STRANDQUIST, die Dosis erhöht wurde, also z. B. von 700 R bis auf 1960 R oder von 2500 R bis auf 7040 R. Der Autor ging dabei zunächst davon aus, daß das Strandquist-Schema auch für die Störung des Knochenwachstums gelten könne. Die so gewählten Fraktionierungsfaktoren waren aber nicht groß genug, um auch am Knochen gleiche Schädigungen wie bei Einzeitbestrahlungen hervorzurufen. Die Kurven der gleich wirksamen Dosen verlaufen steiler als die Strandquist-Gerade und werden bei stärkerer Fraktionierung immer steiler (s. Abb. 17). Sie laufen im ganzen und besonders gegen Ende um so steiler, je höher die Einzeitdosis ist, von der ausgegangen wurde. Es besteht also eine Dosisabhängigkeit des Zeitfaktors,

und zwar in umgekehrtem Sinn wie nach WACHSMANN (1943) bei Hauttumoren. Man kann annehmen, daß es sich hierbei um einen Kompensationsmechanismus handelt, der — ähnlich wie bei der Strahlenwirkung auf das Knochenmark (s. S. 297) — um so wirksamer wird, je größer der Anfangsschaden und die Gesamtbestrahlungszeit sind. Außerdem läßt sich aus den Kurven ablesen, daß bei wachsendem Gewebe schließlich bei

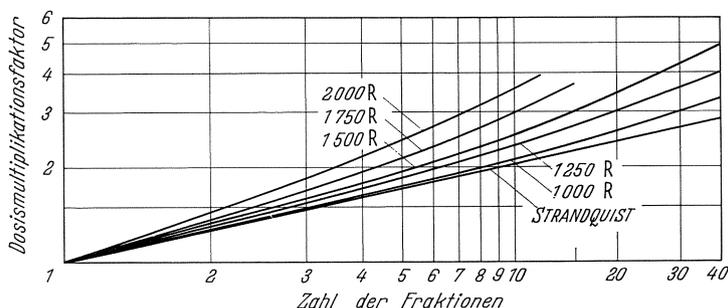


Abb. 17. Dosismultiplikationsfaktor für verschieden schwere Schädigung des Längenwachstums der Rattentibia bei täglicher Bestrahlung bezogen auf Einzeitdosen von 1000—2000 R. Zum Vergleich die Strandquist-Gerade. (GAUWBECKY 1956)

sehr kleinen Einzeldosen die pro Zeiteinheit gesetzte Schädigung des Wachstums völlig kompensiert wird. Es sei dies verglichen mit der Abweichung von der Strandquist-Geraden nach unten, wie sie etwa von ZUPPINGER für Spät Schäden der Haut (vgl. Abb. 27) festgestellt wurde. Beide Möglichkeiten liegen in der Art des jeweiligen Gewebes begründet: Im ersten Fall kein Residualschaden, völlige Erholungsfähigkeit und eine Schwelle für die Höhe der Einzeldosis; im anderen Fall ein reversibler Schaden, der bei Verlängerung der Bestrahlungszeit immer weniger zur Auswirkung kommt und schließlich ganz unbemerkt bleibt, aber außerdem ein nicht erholungsfähiger Schaden, der voll akkumuliert wird und im Bereich sehr großer Bestrahlungszeiten schließlich eine konstante Wirksamkeit, unabhängig von der Fraktionierung, ergibt.

## 6. Strahlenspät Schäden unter besonderer Berücksichtigung des Strahlenkrebses

Ganz generell kann man sagen, daß auch Strahlenspät Schäden eine wesentlich größere Abhängigkeit von der zeitlichen Dosisverteilung haben, als man früher annahm, vor allem unter der Vorstellung, daß z. B. der Strahlenkrebs auf somatische Mutationen zurückzuführen ist, und diese, nach klassischen Vorstellungen, unabhängig von der Dosisleistung sein sollen. Zwei Formen von Spät Schäden können schematisch unterschieden werden: die chronischen Folgen einer schweren akuten Strahlenschädigung und die Folgen latenter „Engramme“ in Zellen und Geweben, die auch bei Dosen und Dosisleistungen auftreten können, die zu keinerlei akuten, lokalen oder generalisierten Schädigungen führen. Dementsprechend haben wir auch verschiedene Möglichkeiten einer Zeitfaktorabhängigkeit. Erstere sollten, wie die akuten Schäden selbst, eine ausgeprägte Dosisleistungsabhängigkeit haben; aber auch bei der zweiten Form ist nach den cytologischen Überlegungen, die in diesem Referat bereits angestellt wurden, eine Abhängigkeit

von der zeitlichen Dosisverteilung möglich. Zusammenfassend kann man mit ODELL et al. sagen, daß hohe Dosen in bezug auf die meisten Spätfolgen, wie Lebensverkürzung (BLAIR), Leukämieinduktionen (MOLE 1958), Kataraktbildung (MERRIMAN und FOCHT), ca. 2—5mal wirksamer sind, wenn sie in einer einmaligen kurzen Exposition gegeben werden, als wenn sie in aufeinanderfolgenden kleinen Inkrementen über eine Periode von Wochen oder Monaten verabreicht werden.

### a) Der Strahlenkrebs

Bei der Entwicklung des Strahlenkrebses scheint eine außerordentlich verwickelte Zeit-Effektbeziehung zu bestehen. Sehr kurze Expositionszeiten sind sicherlich wirksamer als eine Protrahierung über Monate oder Jahre oder eine Fraktionierung über solche Zeiten mit kleinen Einzeldosen. Dagegen gibt es eine Reihe von Untersuchungen, nach denen eine Aufteilung der großen Dosis in wenige Einzeldosen, die über Tage und Wochen verteilt sind, die Wirkung gegenüber einer Einzeitbestrahlung erhöhen. Das gilt besonders für die strahleninduzierte Leukämie, wobei allerdings fast nur Mäuse untersucht wurden. Nach BRUES et al. sind 400 R Ganzkörperbestrahlung leukämogener, wenn sie fraktioniert innerhalb von 10 Tagen gegeben werden, als bei Einzeitbestrahlung oder Fraktionierung über 40 Tage. Nach COLE et al. ist eine fraktionierte Bestrahlung mit 85 R alle 8 Tage bis zu 680 R wirksamer als die gleiche Dosis einzeitig oder in 2 bzw. 4 Fraktionen innerhalb von 4 Wochen gegeben. Zu nennen sind die Studien von KAPLAN und BROWN und von MOLE (1958, 1959) über das Mäuselymphom, in denen ein optimal wirksamer Fraktionierungsmodus nachgewiesen wurde. Die Induktion der Leukämie in der Maus variiert nicht nur mit der Dosis sondern auch mit der Dosisleistung und der Art der Fraktionierung. Alles, was imstande ist, die akute Strahlenwirkung herabzusetzen, mindert auch die Häufigkeit der Lymphominduktion. Die Unterteilung der Tagesdosis ist dabei relativ wenig wirksam. Intervalle von 4—8 Tagen sollen eine höhere Incidenz geben und eine kürzere Latenzperiode bewirken. Bei Intervallen über 16 Tage ist der Effekt wieder verringert. KRÖNING und SIGMUND bestrahlten Mäuse (C57-Black) a) wie KAPLAN und BROWN mit  $5 \times 160$  R in zweitägigem Abstand; b) in 322 Tagen mit  $79 \times 50$  R = 3950 R und c) im gleichen Zeitraum mit  $8 \times 500$  R. Die Incidenz lymphatischer Tumoren betrug bei a) 95%, bei b) 62%, bei c) 40%. Nur bei b) traten außerdem in 35% der Tiere nichtlymphatische, nichtepitheliale Tumoren auf. Auch bei lebenslanger Bestrahlung mit  $^{60}\text{Co}$ -Gammastrahlen besteht für die leukämogene Wirkung eine optimale mittlere Dosisleistung (LESHER et al.). In einer ausführlichen Studie untersuchte MOLE 1959 die Rolle der Dosisleistung und der Bestrahlungszeit für die lebensverkürzende und tumorerzeugende Wirkung verschiedener Strahlenarten an Mäusen. Auch hierbei zeigte sich, daß eine Verlängerung der Gesamtexpositionszeit die Wirksamkeit einer Strahlendosis erhöhen und die aktuelle Dosisleistung ebenfalls eine Rolle spielen kann. UPTON et al. stellten fest, daß die Incidenz der myeloischen Leukämie bei Mäusen nach Kurzzeitbestrahlung sigmoidförmig mit der Dosis bis zu einem Maximum von 40% bei 300 R ansteigt, um bei höheren Dosen abzufallen. Fraktionierung mit großen Einzeldosen, die über Monate verteilt sind, verringert den Effekt. Die Dosiseffektkurve für kontinuierliche Bestrahlung mit 15 R/Tag verläuft wesentlich flacher, und die für 3 R/Tag hebt sich kaum mehr von der Spontanincidenz ab. Auch für andere Tumoren scheint zu gelten, daß die carcinogene Wirkung mit sehr starker Protrahierung und Fraktionierung der Dosis abnimmt, daß aber bei Aufteilung der Dosis über wenige Tage und eventuell Wochen auch einmal eine stärkere Wirkung gegenüber einer Einzeitbestrahlung erzielt werden kann.

Nach HENSHAW et al. besteht für die Induktion von verschiedenen Typen von Hauttumoren durch die Betastrahlen von  $^{32}\text{P}$  in Ratten nicht nur eine optimale Dosis im Bereich von 4000—6000 R sondern auch eine optimale Fraktionierung mit der höchsten Ausbeute bei 59 R/Tag. Zu erwähnen sind in diesem Zusammenhang auch die Arbeiten

von SCHUBERT et al., die bei Implantation von  $^{90}\text{Sr}$ -Perlen bei Ratten feststellten, daß die Tumorrates proportional zum Logarithmus der Aktivität und die Latenzperiode umgekehrt proportional zur Aktivität waren. Allerdings ist bei den meisten dieser Versuche, die mit Dauerbestrahlung angestellt wurden, insofern keine eindeutige Aussage möglich, als meistens nicht nach Erreichung einer bestimmten Gesamtdosis mit verschiedenen Dosisleistungen und Fraktionierungsarten die Bestrahlung abgebrochen wurde, so daß die Aufstellung echter Dosiswirkungskurven für die verschiedenen Dosisleistungen nicht möglich ist. STUTZ et al. bestrahlten Ratten mit einer Gesamtdosis von 900 R, beginnend am 100. Lebenstag, wobei in einer Serie wöchentlich 6mal und insgesamt 90mal 10 R, und in einer anderen in etwa monatlichen Abständen 3mal 300 R appliziert wurden. Während die mittlere Lebenszeit durch die größeren Einzeldosen stärker verkürzt wurde, war der Anfall von benignen und malignen Tumoren, einschließlich Leukämien, bei beiden Fraktionierungsarten praktisch gleich. Am Rattenschwanz konnte von STUTZ und BLÜTHGEN nur dann ein Carcinom erzeugt werden, wenn die Fraktionierung so gewählt wurde, daß es zu Erythem und Entzündung kam und dann weiter bestrahlt wurde — eine Analogie zum UV-Krebs der Haut.

Besonders komplizierte Zeit-Dosis-Effekt-Verhältnisse bestehen bei der carcinogenen Wirkung inkorporierter radioaktiver Nuclide. Sind schon die Berechnungen der mittleren, in einem Organ zustande kommenden Dosen außerordentlich schwierig, so ist es noch schwieriger festzustellen, wie sich diese Dosis zeitlich auf die verschiedenen, für die carcinogene Wirkung verantwortlichen Gewebe und Zellen, z.B. im Knochen auf die Osteoblasten, verteilt. BENSTED et al. führten Ratten einmalig und wiederholt Dosen von  $^{32}\text{P}$  zu, bestimmten die Dosen und Dosisleistungen in verschiedenen Gewebearealen und studierten das Auftreten von histologischen Veränderungen und von Knochentumoren. Die Einzeldosen betragen 0,25—3  $\mu\text{ci/g}$  Körpergewicht. Die wiederholten Dosen erstreckten sich über mehr als 1 Jahr. Die Schwierigkeiten liegen darin, daß schon bei einer einmaligen Zufuhr infolge der Bewegung der  $^{32}\text{P}$ -Depots innerhalb des Knochens während des Wachstums wandernde Zonen unterschiedlich starker Strahlenbelastung auftreten und dieses Bild bei wiederholter Injektion noch komplizierter wird. Da bei der höchsten Einzeldosis eine relativ hohe, durch die Schädigung des Knochenmarks bedingte Mortalität besteht, ist natürlich die Ausbeute an Tumoren bei aufgesplitterten Dosen größer. Im histologischen Bild sind bei wiederholten Dosen die akuten Veränderungen geringer und von frühzeitig einsetzenden regenerativen Prozessen überlagert. Im ganzen aber sind bei wiederholter Injektion die Tumorinzidenz und die allgemeinen histologischen Schäden größer als bei einmaliger Injektion. Wiederholte Dosen erzeugen praktisch keine Wachstumsstörungen, werden aber in einem größeren Knochenbereich abgelagert, so daß die maximalen Dosisleistungen und die in einem bestimmten Gewebsvolumen maximal akkumulierte Dosis kleiner, das insgesamt bestrahlte Volumen aber größer sind. Somit resultiert eine größere Zahl subletal bestrahlter Zellen, und es ist sehr wohl möglich, daß die Ursache der größeren Tumorinzidenz darin zu suchen ist. In einer Arbeit von BLACKETT wurde die Beziehung zwischen zeitlicher Programmierung der Isotopenzufuhr und dem Effekt noch detaillierter untersucht. Es läßt sich aus der Arbeit noch kein quantitatives Modell der Zeitfaktorverhältnisse bei Isotopeninkorporation ableiten; sie weist aber auf einige relevante Faktoren hin. FINKEL und BISKIS zeigten bei Mäusen, daß wiederholte Injektionen von  $^{90}\text{Sr}$  keine größere Wirkung haben als einmalige. Diskutiert wird noch, ob bei der sarkomogenen Wirkung osteotroper Nuclide die Gesamtdosis oder die Höhe der initialen Dosisleistung entscheidend ist.

### b) Strahlenkatarakt

Der Zeitfaktor der kataraktogenen Strahlenwirkung wurde unter anderem von ROHR-SCHNEIDER und GLAUNER, MOSES et al., MERRIMAN und FOCHT, FAVRE und ZUPPINGER, RILEY et al. und EVANS et al. untersucht. Summarisch kann man aus diesen Arbeiten

ableiten, daß bei locker ionisierenden Strahlen bei genügender zeitlicher Streckung der Dosis die karaktogene Wirkung abnimmt, und zwar sowohl bei Protrahierung wie bei Fraktionierung der Dosis. Demgegenüber besteht bei dicht ionisierenden Strahlen, vor allem Neutronen, eine sehr geringe oder keine Abhängigkeit von der zeitlichen Dosisverteilung, wie aus den vergleichenden Arbeiten von RILEY et al., EVANS et al., BROWN et al., UPTON et al. und BATEMAN et al. (1964) hervorgeht. Das bestätigt wieder die im theoretischen Teil vorgelegten Regeln über den Zusammenhang von RBW und Zeitfaktor (s. Abb. 5). Praktisch bedeutet es, daß man bei beruflicher Strahlenbelastung mit relativ geringen Einzeldosen und Dosisleistungen locker ionisierender Strahlen das Auge nicht als kritisches Organ anzusehen braucht, bei Neutronenbestrahlung aber stets an eine Summation der kataraktogenen Strahlenwirkung zu denken ist.

### c) Andere degenerative Strahlenspätchäden, Lebensverkürzung und vorzeitige Alterung

Sehr wenig ist bekannt über die Zeitabhängigkeit anderer degenerativer Strahlenspätchäden. Nephrosklerose tritt bei Mäusen nach einmaliger Bestrahlung mit 690 R häufiger auf als bei Fraktionierung über 8 Wochen (COLE et al.).

Zahlreiche Studien hatten jedoch gezeigt, daß auch nach Abzug der akuten Mortalität sowohl Einzeit- wie chronische Bestrahlungen eine Verringerung der mittleren Lebenserwartung bedingen, teils im Gefolge der besprochenen malignen Neubildungen, teils auf Grund einer unspezifischen Schädigung mit der Entwicklung degenerativer Erkrankungen und erhöhter Anfälligkeit gegenüber interkurrenten Krankheiten, so daß man von einer vorzeitigen Alterung durch ionisierende Strahlen spricht. BLAIR sowie SACHER haben sich in den bereits unter II, 3 zitierten Arbeiten bemüht, die Lebensverkürzung und den Grad des chronischen Strahlenschadens mathematisch zu fassen, indem sie einerseits Erholungsfähigkeit des Organismus, andererseits einen irreversiblen Restschaden annehmen (s. auch BRUES und SACHER). Nach SACHER sowie GOWEN und STADLER nimmt die lebensverkürzende Wirkung mehr als linear mit der Dosis zu. Fraktionierte Bestrahlungen weisen darauf hin, daß sich diese Kurve aus einem flach verlaufenden, linear mit der Dosis ansteigenden Anteil und einer Komponente zusammensetzt, die annähernd mit dem Quadrat der Dosis zunimmt. Im kleinen Dosisbereich scheint der lineare Anteil zu überwiegen. Es ist anzunehmen, daß dieser nur wenig durch Variation der Dosisleistung beeinflußt wird. Der annähernd quadratisch mit der Dosis ansteigende Effektanteil, der im höheren Dosisbereich bestimmend wird, scheint erheblich von der Dosisleistung abhängig zu sein und mit abnehmender Dosisleistung mehr und mehr zu verschwinden. Bei dicht ionisierenden Strahlen, insbesondere bei Neutronen, ist die Wirkung wesentlich weniger abhängig von der zeitlichen Dosisverteilung. Im folgenden seien einige Arbeiten, die dieses generelle Schema bestätigen, zitiert.

Nach HURSH beträgt bei Ratten die lebensverkürzende Wirkung von 1000 R Röntgen- oder Gammastrahlung bei Einzeitbestrahlung 25—50 %, bei chronischer Bestrahlung ca. 10 %. LINDOP und ROTBLAT studierten am gleichen Tiermaterial, an dem sie die Dosisleistungsabhängigkeit der akuten  $LD_{50}$  untersuchten, die Lebensverkürzung bei den Tieren, welche die akute Phase überlebt hatten, und lasen aus den Ergebnissen eine Abhängigkeit des Effekts von der mittleren Dosisleistung ab. BOONE und RIVERA untersuchten ebenfalls die lebensverkürzende Wirkung, und zwar von 1500 R Gesamtdosis a) bei täglicher Röntgenbestrahlung mit 50 R/min, b) bei 21 Tage dauernder kontinuierlicher Bestrahlung mit 0,05 R/min und c) bei fraktionierter Gammabestrahlung mit 13 rad/min und drei Sitzungen in monatlichem Intervall. Eine nach c) fraktionierte Bestrahlung mit 800 R bewirkte eine größere Lebensverkürzung als die tägliche und kontinuierliche Bestrahlung. LAMSON et al. erzielten bei weiblichen Ratten mit 120, 240 und 480 R, einzeln gegeben, eine signifikante Lebensverkürzung von 13 %, ca. 20 % und 33 %. Fraktionierung der Dosen in drei bis sechs gleich große Portionen mit 3, 5, 7 und 14 Tagen Intervall hatte insgesamt eine geringere lebensverkürzende Wirkung; dabei war eine sechs-

fache Fraktionierung weniger lebensverkürzend als eine dreifache. Schließlich kommt die Zeitabhängigkeit der lebensverkürzenden Wirkung besonders deutlich bei den zahlreichen Versuchen zum Ausdruck, in denen die Tiere mit unterschiedlicher Tagesdosis oder unterschiedlicher Dosisleistung einer kontinuierlichen Bestrahlung über viele Monate und z.T. während des ganzen Lebens unterworfen wurden. Es sei auf die Arbeiten von BLAIR, SACHER, MOLE (1959), NEARY (1960), VOGEL und JORDAN, HENSHAW et al., LORENZ et al. (1946), RAJEWSKY und SCHRAUB, BOONE und RIVERA, CURTIS und GEBHARD, HAGEN und SIMMONS verwiesen.

Der Zeitfaktor bei dicht ionisierenden Strahlen ist auch in Hinblick auf die lebensverkürzende Wirkung wesentlich geringer (VOGEL et al.; STORER 1958). Nicht immer aber kommt eine höhere RBW von Neutronen bei geringerer mittlerer Dosisleistung zustande. So war nach CURTIS und GEBHARD die RBW schneller Neutronen gegenüber locker ionisierenden Strahlen sowohl für die akute wie für die chronische Letalität in Mäusen stets 1,7, gleichgültig, ob mit großen Einzeldosen oder kleinen Dosen mit 7—14tägigem Intervall bestrahlt wurde.

Die Gesamtheit der Beobachtungen unter 6. können wir unter Vernachlässigung einiger abweichender Feststellungen folgendermaßen zusammenfassen:

1. Die initiiierende carcinogene Strahlenwirkung auf die Zelle kann, wie manche anderen cytotogenetischen Wirkungen, dosisleistungsabhängig sein.

2. Sehr hohe Dosisleistungen können, wie zu hohe Dosen, die Zahl der überlebenden, potentiell malignen Zellen herabsetzen.

3. Geeignet fraktionierte oder protrahierte Bestrahlung kann deshalb eine stärkere Wirkung haben, weil schon während längerer Bestrahlungszeiten regenerative Prozesse einsetzen, durch die das Gewebe für den carcinogenen Strahleninsult empfänglicher werden kann.

4. Es ist noch ungeklärt, ob bei extrem langen Expositionszeiten die carcinogene Strahlenwirkung generell abnimmt, wenn auch bestimmte Formen des Krebses (auf dem Boden eines schweren lokalen Strahlenschadens) dabei seltener zu sein scheinen.

5. Es kann noch nicht entschieden werden, ob allgemein oder für gewisse maligne Strahlenkrankheiten ein Schwellenwert der Dosis und der Dosisleistung besteht. Auf Grund allgemeiner strahlenbiologischer Vorstellungen über die Kumulation irreversibler Strahlenschäden muß die Möglichkeit offengehalten werden, daß eine Komponente der carcinogenen Strahlenwirkung unabhängig von der mittleren Dosisleistung ist.

6. Solange über die Natur degenerativer lebensverkürzender Strahlenspätchäden nicht mehr bekannt ist, können auch über die entsprechenden Zeitfaktoren nur empirische Angaben gemacht werden. Sollten somatische Mutationen dabei eine Rolle spielen (CURTIS und CROWLEY), so wären die bei cytotogenetischen Strahlenwirkungen auftretenden Zeitfaktoren zu beachten.

## 7. Strahlengenetik

### a) Punktmutationen

Die Strahlengenetik hatte die besten Bestätigungen für die Konzeption der Treffertheorie erbracht, indem sich Genmutationen zunächst als Eintreffervorgänge erwiesen und — wie zu erwarten — keine Abhängigkeit von den zeitlichen Dosisleistungen zeigten. MULLER hat 1954 die älteren Arbeiten über die Rolle der Dosisleistung bei der mutagenen Strahlenwirkung zusammengefaßt, bei denen vor allem reife *Drosophila*-Spermatozoen untersucht wurden und zwischen 0,002—2000 rad/min kein Zeitfaktor nachgewiesen worden war. Der erste Verdacht gegen die Allgemeingültigkeit dieser Regel erhob sich auf Grund einer Arbeit von CASPARI und STERN, die allerdings nicht unwidersprochen blieb. Sie hatten bei einer 21 Tage dauernden täglichen Bestrahlung mit 2,5 R Gammastrahlen, nicht wie bei einmaliger Verabreichung von 52,5 R, eine Erhöhung der Mutationsrate

in männlichen Drosophilafliegen gefunden. Zunächst wurde dies durch eine unterschiedliche Empfindlichkeit der Spermien in den verschiedenen Reifestadien gedeutet.

KIMBALL, dessen Arbeiten an *Paramecia aurelia* entscheidende Aufschlüsse über die Erholungsvorgänge bei der Ausbildung recessiv-letaler Mutationen brachten, konnte einen unterschiedlichen Zeitfaktor in den verschiedenen Wachstumsphasen der Protozoen feststellen. In der stoffwechselträgen stationären Wachstumsphase hatte die Änderung der Dosisleistung einer kontinuierlichen Bestrahlung zwischen 0,03 und 1,7 kR/min keine

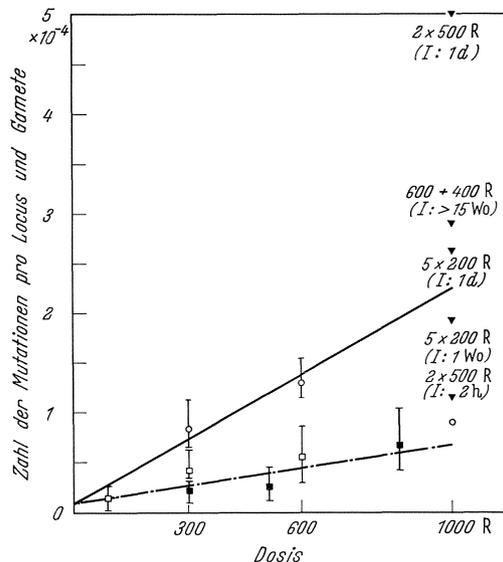


Abb. 18. Die Mutationen von sieben spezifischen Loci in den Keimzellen der männlichen Maus in Abhängigkeit von Dosis und zeitlicher Dosisverteilung nach RUSSELL (1963). Die eingetragenen Versuchspunkte entsprechen einmaliger oder fraktionierter Bestrahlung, wobei Dosis und Zahl der Einzelfraktionen und die Dauer der Intervalle I angegeben sind. Die eingezeichneten Geraden geben die Dosiswirkungsbeziehungen bei kontinuierlicher Bestrahlung wieder, und zwar die durchgezogene für eine Dosisleistung von 90 R/min (Meßpunkt [○]), die unterbrochene für 0,009 R/min, also ca. 90 R/Woche (Meßpunkt [□]) und 0,001 R/min (Meßpunkt [■])

keine weitere effektreduzierende Wirkung. Wurde eine Dosis von 1000 R, die — vermutlich wegen des stärkeren zelltötenden Effektes — bei Einzeitbestrahlung eine geringere mutagene Wirkung hat als etwa 600 R, in zwei Fraktionen zu 600 und 400 R mit 15 Wochen Abstand gegeben, so entsprach der mutagene Effekt wieder dem bei einer linearen Dosiswirkungsbeziehung zu erwartenden. Eine extrem hohe Mutationsausbeute resultierte, wenn  $2 \times 500$  R mit einem Intervall von 1 Tag gegeben wurden, so daß bei diesem Abstand die Erstbestrahlung wohl die Zellpopulation in einen empfindlichen Zustand versetzte. Noch ausgeprägter war der Dosisleistungseffekt bei den Oocyten der Maus. Diese Effekte betrafen Versuche, bei denen Keimzellen zur Befruchtung kamen, die während der Bestrahlungszeit als Spermatogonien vorlagen. Demgegenüber war bei Bestrahlung der Spermatocyten keine Dosisleistungsabhängigkeit der Mutationsrate feststellbar.

Inzwischen wurde, angeregt durch die Arbeiten der RUSSELLS, auch an Insekten erneut die Dosisabhängigkeit der mutagenen Strahlenwirkung geprüft, so von PURDOM, von TAZIMA und KONDO (1963), BALDWIN sowie MULLER et al., die ihre Ergebnisse in einer von SOBELS herausgegebenen Monographie veröffentlichten.

signifikant verschiedene mutagene Wirkung, während die Teilung einer mit hoher Dosisleistung verabreichten Dosis in mehrere, auf 2 Tage verteilte Fraktionen die mutagene Wirkung der Gesamtdosis herabsetzte. In der stoffwechselaktiven logarithmischen Wachstumsphase hatte die Fraktionierung einen geringeren Effekt; bei kontinuierlicher Einzeitbestrahlung war jedoch die größere Dosisleistung signifikant wirksamer. KIMBALL schloß daraus und aus seinen früheren Arbeiten auf zwei Erholungsprozesse, die im prämitotischen Stadium die endgültige Fixierung des Schadens verhindern können und folgerte, daß die Punktmutationen ein erholungsfähiges Stadium haben.

Die bedeutsamsten Schlußfolgerungen für unsere Vorstellungen über die genetischen Strahlenwirkungen wurden aus den Versuchen der beiden RUSSELLS gezogen, die ihre seit 1958 laufenden Beobachtungen 1963 zusammenfaßten (s. Abb. 18). Bei Bestrahlung von Mäusen mit 300—600 R ist die Zahl der induzierten Mutationen sieben spezifischer Loci bei einer Dosisleistung von 0,009 R/min (90 R/Woche, <sup>60</sup>Co-Gammastrahlung) um den Faktor 4 geringer als bei 90 R/min (Röntgenstrahlen). Die Autoren konnten dabei ausschließen, daß die Ergebnisse durch eine unterschiedliche Wirksamkeit beider Strahlenarten bestimmt sind. Eine weitere Verringerung der Dosisleistung auf 0,001 R/min hatte

PURDOM und McSHEEHY (1961) und PURDOM (1963) glaubten zunächst, auch an unreifen männlichen Drosophilakeimzellen eine Dosisleistungsabhängigkeit feststellen zu können, schlossen dies aber bei einer systematischen Fortsetzung ihrer Studien an Spermatiden und Spermatogonien aus (PURDOM und McSHEEHY 1963). Eine Dosis von 800 rad  $^{60}\text{Co}$ -Gammastrahlung ergab bei 0,05, 0,5 und 5 rad/min die gleiche Zahl rezessiver Letalmutationen.

Das Ergebnis der Untersuchungen von MULLER et al. an *Drosophila*, von TAZIMA et al. und TAZIMA und KONDO (1962) an männlichen Seidenspinnern und von BALDWIN an *Dahlbomius*-Oogonien erlaubt bisher entweder keine eindeutigen Aussagen über den Zeitfaktor oder läßt sich durch stärkere Selektion mutierter Zellen bei höheren Dosisleistungen erklären. RUSSELL et al. glauben eine Erklärung durch Zellselektion bei ihren Mäuseexperimenten ausschließen zu können. PURDOM hält allerdings in seiner jüngsten Veröffentlichung daran fest, daß sich die Russellschen Beobachtungen doch durch Selektionsmechanismen erklären lassen; es sei durchaus möglich, daß ein bestimmter Teil der Zellpopulation im Keimgewebe bei höheren Dosisleistungen bevorzugt abgetötet wird, und daß dieser Teil zugleich weniger empfindlich für die mutagene Strahlenwirkung ist.

Nach wie vor ist also die Frage noch nicht eindeutig entschieden, ob strahleninduzierte Punktmutationen dosisleistungsabhängig sind oder nicht. Die erwähnten Beobachtungen, die auf einen prämutativen, reparablen Schaden schließen lassen, könnten einen Zeitfaktor verständlich machen. Eine Übersicht über die bei der genetischen Strahlenwirkung mitspielenden Erholungsvorgänge gab WOLFF (1961). Zu beachten ist, daß es sich bei den zitierten Arbeiten noch um Einzelbeobachtungen handelt, so daß aus ihnen — insbesondere hinsichtlich der Bedeutung dieses Zeitfaktors für den genetischen Strahlenschaden beim Menschen — noch keine bindenden Schlüsse gezogen werden können. Nach wie vor steht ihnen eine außerordentlich große Zahl von Experimenten gegenüber, bei denen für die Erzeugung von Punktmutationen das einfache  $I \times t$ -Gesetz gültig ist, wie das aus einer großen tabellarischen Zusammenstellung aller bisherigen Daten über Zeitabhängigkeit von Mutationen im 2. Report des United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation hervorgeht. Erst weitere sorgfältige Studien können dazu führen, das genetische Strahlenrisiko des Menschen, das ja im allgemeinen aus Experimenten mit hohen Dosen und Dosisleistungen abgeleitet wurde, geringer als bisher anzusetzen.

### b) Chromosomenaberrationen

Chromosomenaberrationen stellen einen der wenigen strahleninduzierten Vorgänge da, bei denen die Zeitfaktorabhängigkeit einigermaßen befriedigend auf erkannte biologische Vorgänge zurückführbar ist. Es kann als bekannt vorausgesetzt werden, daß Aberrationen, die auf einen einzigen Bruch zurückgehen, linear, und solche, die zwei und mehr Brüche erfordern, annähernd mit dem Quadrat der Dosis zunehmen. Seit langem war bekannt, daß letztere eine Dosisleistungsabhängigkeit haben, da der initiale Bruch heilen kann, bevor der zweite eintritt. So erklärte SAX auf Grund seiner Studien an *Tradescantia* die geringere Wirkung fraktionierter und protrahierter Bestrahlung in diesem Sinne und stellte fest, daß sich die Rate der Austauschaberrationen, die bei hohen Dosisleistungen quadratisch mit der Dosis zunehmen, erniedrigt und die Dosiseffektkurven sich einem linearen Verlauf annähern. Er stellte ferner fest, daß bei entsprechenden Intervallen zwischen den Dosisfraktionen die Zahl der Zweitreffereaberrationen abnimmt, die der Eintreffereaberrationen dagegen nicht. Dies dürfte nach neueren Untersuchungen nur noch bedingt richtig sein. NEWCOMBE stellte 1942 fest, daß alle Typen von Chromosomenaberrationen, gleichgültig, ob auf ein oder zwei Brüchen beruhend, dosisleistungsabhängig sind und postulierte, daß dies auf besonderen Verhältnissen der Heilungsmechanismen (rejoining) beruht, die — wie sich später zeigte — nur bei erhaltenem ADP- und Proteinstoffwechsel erfolgen, und die unter physiologischen Bedingungen einen gewissen Prozentsatz der initialen Brüche innerhalb einer begrenzten Zeit zur Heilung

bringen, die aber mit zunehmender Dosis und Dosisleistung geschwächt werden. Für die Erzeugung einer Art von somatischen Mutationen in Maispflanzen — das Auftreten gelber Streifen in den grünen Blättern nach Bestrahlung der Pflanzenembryonen —, welche auf einfache Chromosomenbrüche mit Verlust eines spezifischen Locus zurückzuführen sind, hat H. H. SMITH für Dosen zwischen 1500 und 12000 rad eine annähernd lineare Wirkungsbeziehung ermittelt und dabei keine Änderung der Ausbeute erzielt, wenn die Dosisleistung zwischen ca. 10 und 1800 rad variiert wurde. Nach WOLFF (1959) fällt die geringere Wirksamkeit fraktionierter Bestrahlung hinsichtlich der Erzeugung von Zweitrefferaffektionen in *Vicia faba* weg, wenn die Proteinsynthese während der Bestrahlungsintervalle mit Chloramphenicol inhibiert wird. Er postuliert zwei Arten von Chromosomenbrüchen: rapid und vermutlich über Metallionenbrücken ausheilende und solche, deren Reparatur mit der Proteinsynthese gekoppelt ist. Auf Grund dieser Annahmen, die sich in weiteren Studien bestätigten, kann man sich folgende Möglichkeiten für das Zustandekommen eines Zeitfaktors bei der Ausbildung von Chromosomenaberrationen vorstellen: 1. Der Vorgang der initialen Chromosomenbrüche kann — zumindest bei locker ionisierenden Strahlen — im Sinne eines primären Zeitfaktors dosisleistungsabhängig sein, wenn eine genügend hohe lokale Energiedichte erst durch das Zusammenwirken einer gewissen Anzahl ionisierender Teilchen zustande kommt. 2. Aberrationen, die mehr als einen Bruch erfordern, werden um so unwahrscheinlicher, je kleiner die Dosis ist, müssen aber auch mit der Dosisleistung abnehmen, wenn die Brüche innerhalb einer begrenzten Zeit ausheilen können. 3. Die Zahl der Eintrefferaffektionen könnte auch dann abhängig von der zeitlichen Dosisverteilung sein, wenn sich das Verhältnis zwischen restitutio ad integrum und persistenten Brüchen mit der Dosisleistung verändern würde. Dies kann dadurch zustande kommen, daß sich die Schädigung des Heilungssystems bei Kurzzeitbestrahlung stärker auswirkt als bei protrahierter Bestrahlung. Bei Kurzzeitbestrahlung würden alle Heilungsvorgänge gleich stark gehemmt, während bei Verteilung der Dosis über längere Zeit die bei Bestrahlungsbeginn erzeugten Brüche noch mit nahezu ungestörten Mechanismen ausheilen können. Es braucht nicht erwähnt zu werden, daß der aus solchen komplexen Vorgängen resultierende Zeitfaktor von zahlreichen Parametern, wie Zellart, Reifestadium, Stoffwechselaktivität, O<sub>2</sub>-Gehalt, Temperatur, abhängt und auch durch artifizielle Eingriffe unter und während der Bestrahlung beeinflussbar ist. Auch in Säugetierzellen wurde inzwischen mit neuen cytologischen Techniken die Dosisleistungsabhängigkeit von Chromosomenaberrationen geprüft, wenn auch immer noch nicht so, daß daraus Schlüsse über die Wirkung sehr kleiner Strahlendosen gezogen werden könnten. BENDER und GOOCH fanden, daß die Chromosomenbrüche in Knochenmarkzellen des chinesischen Hamsters linear mit der Dosis zunehmen, daß aber die Neigung der Geraden flacher wird, wenn das Intervall zwischen Bestrahlung und Untersuchung von 2 auf 6 Std verlängert wird. BREWEN bestrahlte das Cornealepithel von chinesischen Hamstern mit 2, mit 60 und mit 600 R/min und fand sowohl für Chromosomenbrüche als auch für Chromatidaustausch bei jeder Dosisleistung eine annähernd lineare Zunahme mit der Dosis, jedoch eine um so steilere Gerade, je höher die Dosisleistung war. Bei Inaktivierung der Proteinsynthese verschwand dieser Dosisleistungseffekt. NOWELL und COLE interessierten sich für den Zeitfaktor bei der Entstehung persistenter Chromosomenaberrationen in Knochenmarkzellen von weiblichen LAF<sub>1</sub>-Mäusen bei Bestrahlung im Alter von 2—3 Monaten. Sie bestrahlten a) mit 300 rad Röntgenstrahlen einmalig bei 30 rad/min, b) mit 100 rad täglich bis 900 rad bei 30 rad/min und c) mit kontinuierlicher <sup>60</sup>Co-Gammastrahlung mit 1,45 rad/h bis 935 oder 926 rad. 4—76 Wochen nach Bestrahlung wurden Chromosomenpräparationen hergestellt. In den Blutzellen der Tiere fanden sich meist nur ein oder zwei Typen von Aberrationen, was darauf hinweist, daß sich Stämme von einzelnen strahlengeschädigten Zellen ausbilden und daß diese persistieren. Solche Stämme abnormaler, aberrierender Zellen konnten bei a) und b), jedoch nicht in der Gruppe der Tiere, die kontinuierlich mit kleinen Dosisleistungen bestrahlt worden waren, nachgewiesen werden.

Hier finden sich Ansätze für eine systematische Erfassung der Zeitabhängigkeit der Chromosomenaberrationen, die nicht nur genetisch, sondern auch im Hinblick auf somatische Strahlenspätchäden mehr und mehr an Bedeutung gewinnen. Über die Dosisleistungsabhängigkeit strahleninduzierter numerischer Chromosomenaberrationen, wie sie in den letzten Jahren ebenfalls wachsende Bedeutung erlangen, liegen noch keine Untersuchungen vor.

Wie zu erwarten, bestehen engste Beziehungen zwischen RBW, LET und Zeitfaktor, auch hinsichtlich der verschiedenen genetischen und cytogenetischen Strahlenwirkungen. Dies geht besonders klar aus den Arbeiten von NEARY (1962, 1963) an *Tradescantia* hervor. Das generelle Modell des theoretischen Teils (Abb. 5) stützt sich weitgehend auf diese Studien und die Arbeiten an Zellkulturen.

Abschließend kann festgestellt werden, daß die neueste Entwicklung der Strahlen-genetik zu der Vermutung Anlaß gibt, daß bei sehr kleinen Dosisleistungen, wie sei bei der natürlichen Strahlenbelastung, der derzeitigen Falloutkonzentration oder der üblichen beruflichen Strahlenbelastung zustande kommen, die gesamte genetische Wirksamkeit der Strahlung geringer ist, als aus Experimenten mit hohen Dosen und Dosisleistungen geschlossen wurde<sup>1</sup>.

## 8. Zeitfaktorstudien an Tiertumoren

Obwohl eigentlich in den ersten Jahrzehnten das Hauptanliegen aller strahlenbiologischen Forschung zum Zeitfaktorproblem die Ermittlung eines günstigen Behandlungsplans für maligne Tumoren war, waren bis etwa 1950 direkte Studien an experimentellen Tiertumoren relativ spärlich. Als Nachteil erwies sich, daß man oft glaubte, auf Grund der Untersuchungen an *einem* Objekt durch eine bestimmte Variation der zeitlichen Dosisverteilung generelle Aussagen machen zu können, die sich unmittelbar auf die Strahlentherapie übertragen ließen.

Die früheren Arbeiten von WOOD und PRIME, NATHER und SCHINZ, SAMSSONOW, LASER, JUUL u.a. an soliden Tumoren, Ehrlich-Ascitestumoren oder Tumortransplantaten haben zunächst immer wieder eine stärkere Wirkung bei einer Fraktionierung oder Protrahierung der Dosis über Stunden und Tage oder zum mindesten eine bessere elektive Wirkung auf die Tumoren ergeben. Diese und andere ältere Arbeiten wurden in den eingangs erwähnten Übersichtsarbeiten zum Zeitfaktor immer wieder zitiert.

Im folgenden seien einige neuere Arbeiten besprochen.

LUTHER (1943) bestrahlte Ehrlich-Mäusecarcinome mit je  $5 \times 1000$  R und unterschiedlich langen Zeitabständen zwischen den Fraktionen und beobachtete die Verkleinerung der Geschwulst, die Mitosezahl und die Zahl der ungeschädigten Telophasezellen. Die stärkste Rückbildung fand er bei einzeitiger Verabreichung von 5000 R. Mit einer Verlängerung der Pause von 12 Std auf 2 Tage nahm die Wirkung deutlich und mit einer weiteren Verlängerung auf 4 Tage nur wenig ab. Bestrahlungen während der Mitosemaxima, die nach den jeweils vorhergehenden Bestrahlungen auftraten, hatten keine stärkere Wirkung. TIMOFEEVSKIJ et al. bestrahlten Explantate von menschlichem Fettgewebe und verschiedenen menschlichen Tumorgeweben mit  $1 \times 2000$  und 3000 R oder täglich 500 R. Sie fanden keinen signifikanten Unterschied zwischen einmaliger und fraktionierter Bestrahlung bei Normalgeweben. Bei verschiedenen Tumorgeweben (Melanoblastom, Rundzellensarkom, Lymphom, Fibrosarkom, Osteosarkom) war zwar die Wachstumshemmung nach einmaliger und fraktionierter Bestrahlung unterschiedlich stark, aber doch war im ganzen die Fraktionierung nicht wirksamer. BARTH et al. fanden am relativ langsam wachsenden Ehrlich-Carcinom ein Optimum der Wirkung bei 48stündiger Pausendauer und ein ähnliches bei einem schnell wachsenden Sarkom. Beim Sarkom wurde die Bestrahlungsdauer konstant gehalten und zweimal täglich 150 R, einmal täglich 300 R und jeden zweiten Tag 510 R und jeden dritten Tag 675 R miteinander verglichen.

<sup>1</sup> Im übrigen wird auf die Literatur in der Fußnote S. 295 verwiesen.

Auch dabei hatte die Bestrahlung mit 48stündigem Intervall die günstigsten Erfolge, wenn man Zahl der überlebenden Tiere und Reduktion des Tumolvolumens in Relation setzte.

DUSAULT (1962) und DUSAULT et al. (1959) bestrahlten das spontane Mammacarcinom der Maus mit 2000 R pro Woche bis zu 6000 R und 8000 R unter Variation der Sauerstoffspannung, deren Erhöhung stets einen günstigeren Heilungserfolg hat. Eine Aufsplitterung der Wochendosis in drei Fraktionen war dabei wirksamer als eine tägliche Bestrahlung. Sonst aber waren die Dosiswirkungskurven bei konstanter Bestrahlungszeit für alle Fraktionierungsarten ziemlich gleich; die Strandquist-Geraden (s. S. 325) für die verschiedenen Effektgrößen liefen parallel.

Schließlich knüpfte sich an die von ELKIND eingeleiteten Zeitfaktorstudien an Kulturen isolierter Zellen (s. Abschnitt A, III, 1, c) eine Reihe von Studien an, die sehr ähnliche Vorgänge bei Bestrahlung maligner Zellen *in vivo* nachwiesen.

KALLMANN und TAPLEY konnten die Wirkung einzeitiger Strahlendosen auf spontane Mammatumoren der Maus und ihre Transplantabilität mit der Annahme in Einklang bringen, daß die Zellinaktivierung *in vivo* annähernd nach der gleichen Dosiseffektrelation erfolgt wie *in vitro*. Bei Bestrahlung in zwei Fraktionen konnten die Autoren eine phasische Erholung feststellen, wenn auch die zeitlichen Verhältnisse anders waren als *in vitro*. Die Nachwirkung einer Erstdosis von 1120 R wies — getestet mit einer zweiten Bestrahlung — bereits am zweiten Tag ein Minimum auf und war nach 6 Tagen auf die Hälfte abgesunken.

BEER et al. haben die Strahlenempfindlichkeit von Mäuseleukämiezellen *in vitro* in ihrer Abhängigkeit von verschiedenen Milieubedingungen getestet. Sie erhielten unter optimalen Verhältnissen die übliche Dosiswirkungskurve mit anfänglicher Schulter. In einem reduzierten Nährmedium erhöhte sich die Strahlenempfindlichkeit erheblich, und die Kurven verliefen exponentiell; ähnliche Verhältnisse liegen nach BERRY und ANDREWS bei der Strahlenwirkung auf die lymphatische Mäuseleukämie vor, wenn die Überlebensrate der Zellen durch Überimpfung getestet wird. Bei 1—4fach fraktionierter Bestrahlung mit eintägigem Intervall resultierten exponentielle Dosiswirkungskurven, die wesentlich flacher verliefen als die Schulterkurven bei Einzeitbestrahlung.

Es ist durchaus möglich, daß im Hinblick auf den akuten cellulären Effekt auch bei Bestrahlung menschlicher Tumoren das Elkind'sche Phänomen für den therapeutisch auszunutzenden Zeitfaktor maßgeblich ist. Unter einer Reihe sehr einengender Annahmen haben ELKIND sowie WILSON versucht, die Brücke von den cytologischen Effekten zur Strahlentherapie maligner Tumoren zu schlagen. Sie nahmen unter anderem an, daß eine Heilung nur dann erfolgt, wenn auch die letzte Zelle im Tumor abgetötet wird, eine Vorstellung, die wohl kaum mit den üblichen radiotherapeutischen Erfahrungen über die kurative Wirkung ionisierender Strahlen im Einklang steht. LAJTHA, OLIVER, ELLIS (zit. bei OLIVER) haben sich in dieser Richtung bemüht und bei ihren Kalkulationen verschiedene Faktoren berücksichtigt, wie die größere Strahlenresistenz der Zellen in anoxischen Tumorbereichen oder die unterschiedlichen Reproduktionsraten normaler und maligner Gewebezellen, die zu einem Wiederanstieg der Zellzahlen während der Bestrahlungsintervalle führen können. FOWLER und STERN (1963) haben versucht zu prüfen, ob sich die klinisch-empirischen Strandquist-Geraden erklären lassen, wenn man ausschließlich das Elkind'sche celluläre Erholungsphänomen berücksichtigt. Sie verglichen theoretische Kurven, die bei Annahme verschiedener Extrapolationsnummern und verschiedener Werte der  $D_0$  gewonnen wurden, kamen aber nur dann zu einer befriedigenden Deckung mit den empirischen Strandquist-Geraden, wenn außergewöhnlich hohe Extrapolationsnummern (um 10) zugrunde gelegt wurden. Das Prinzip dieses Vergleichs ist in der Abb. 19 dargestellt. Die ausgezogenen Kurven geben für verschiedene Überlebensfraktionen an, in welcher Weise die Gesamtdosis mit zunehmender Zahl der Fraktionen erhöht werden müßte, wenn die Inaktivierung der Zellen nach dem Kurventyp der

Abb. 13 erfolgen würde und nur das Elkindische Erholungsphänomen zeitfaktorbestimmend wäre. Wenn auch die mittlere Neigung dieser Kurven einigermaßen der Neigung der Strandquist-Geraden entspricht, so wird doch deutlich, daß noch wesentlich mehr experimentelle Daten gewonnen werden müssen, bevor entschieden werden kann, welche cellulären Zeitfaktoren der Strandquist-Funktion zugrunde liegen, und ob und in welchem Ausmaß zu ihrer Erklärung Erholungsvorgänge auf geweblicher Ebene herangezogen werden müssen. BURNS hat, ausgehend von einer cellulären Dosiseffektkurve WILSONs, ein Nomogramm für die äquivalenten therapeutischen Dosen in Abhängigkeit von der Größe und Zahl der Fraktionen angegeben. Man muß sich jedoch auch bei diesem Versuch darüber klar sein, daß solche hypothetischen Anleitungen aus einem der vielen zeitfaktorbestimmenden Mecha-

nismen nur Anregungen zu klinisch-empirischen Überprüfungen geben können. Es sei noch einmal darauf hingewiesen, daß bei einem 24stündigen oder längeren Intervall zwischen den Einzelbestrahlungen der auf dem Elkindischen Phänomen beruhende Fraktionierungsfaktor ausschließlich von der Höhe der Einzeldosis abhängt. In gewissem Gegensatz dazu hängt aber bei den üblichen therapeutischen Erfahrungen der Zeitfaktor eher von der Gesamtbestrahlungszeit ab und ist auf Erholungsprozesse zurückzuführen, die sich über einen wesentlich längeren Zeitraum als 24 Std erstrecken. Möglicherweise beruht dieser Zeitfaktor auf dem Nachwachsen des Tumors aus den überlebenden Zellen.

Auch die Tatsache, daß die von Dosiswirkungskurven an Zellkulturen abgeleiteten Kurven (Abb. 19) bei ausgedehnter Fraktionierung flacher und schließlich horizontal werden, liegt daran, daß sich in der endlichen Anfangsneigung der Dosiswirkungskurve eine irreversible Komponente der Schädigung ausdrückt, die bei genügend ausgedehnter Bestrahlungszeit allein den Effekt bestimmt. Die nötige Gesamtdosis erhöht sich dann nicht mehr bei weiterer Ausdehnung der Bestrahlung. Jedoch kann die Schädigung durch die bei extremer Fraktionierung sicher weiterlaufende Zellvermehrung ausgeglichen werden. Man kann annehmen, daß ein gewisser Mindestwert der täglichen Dosis auch bei beliebiger Ausdehnung der Bestrahlung notwendig ist, um einen Tumor irreversibel zu schädigen. Die Tatsache aber, daß von einer gewissen Ausdehnung der Bestrahlungszeit ab die tägliche Dosis nicht mehr vermindert werden kann, bedeutet, daß von da ab die Gesamtdosis proportional der Bestrahlungszeit ist, oder anders ausgedrückt, daß sich die Strandquist-Gerade auf  $45^\circ$  aufsteilt. Kommen auch aus praktischen Gründen nicht derartig ausgedehnte Bestrahlungen in Frage, daß dies tatsächlich der Fall ist, so haben doch HOLTHUSEN und HAMANN sowie REISNER, wie im klinischen Teil ausführlicher erörtert, gezeigt, daß die Fraktionierungsfaktoren für höhere Anzahl der Einzelfraktionen verstärkt ansteigen.

Von einer Ableitung therapeutischer Bestrahlungspläne aus der Kenntnis cellulärer Strahlenwirkungen sind wir noch weit entfernt, und wenn man im Auge behält, daß an der strahlenbedingten Tumoregression keineswegs nur der primäre Zelluntergang, sondern in äußerst komplizierter Weise Tumorbett und -stroma mit dem versorgenden Gefäßsystem beteiligt sind, wird man überhaupt bezweifeln müssen, ob die celluläre Betrachtungsweise allein zum Ziel führt.

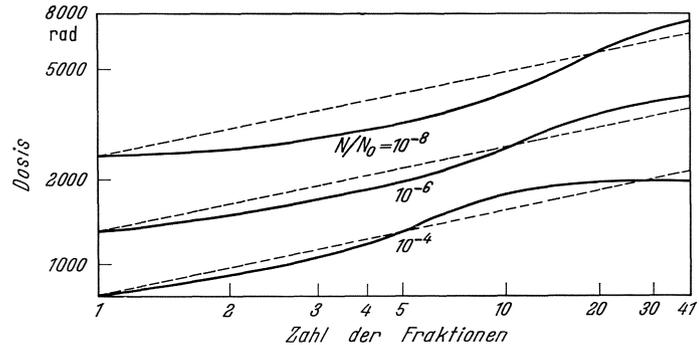


Abb. 19. Dosis zur Erreichung eines bestimmten Zellabtötungsgrades in Abhängigkeit von der Anzahl der Einzelfraktionen, abgeleitet aus der Dosiswirkungsbeziehung der Abb. 13 nach ELKIND und SUTTON. (Gestrichelte Kurven: Fraktionierungsschema nach STRANDQUIST) (s. S. 325)

Dagegen erscheint es aussichtsreich, dann die rein cellulären Aspekte in den Vordergrund zu rücken und die geweblichen Faktoren zu vernachlässigen, wenn wie etwa bei der präoperativen Tumorbestrahlung, nur temporär die Zahl der vitalen Zellen und damit die Gefahr ihrer Streuung vermindert werden soll. HUG (1964) hat vor kurzem auf die prospektive Bedeutung dieser Studien für Dosierungspläne zur präoperativen Tumorbehandlung hingewiesen, also für eine Therapie, bei der es darauf ankommt, entweder die Operabilität zeitweilig zu verbessern oder die Streuung vitaler Zellen zu verhindern. Hierbei können durchaus die cellulären Verhältnisse ausschlaggebend sein, während für die kurative Wirkung viel komplexere, den Zeitfaktor bestimmende Prozesse mitspielen. Zu bedenken ist dabei immer, daß sich nicht alle Zellen eines Tumors während der Bestrahlungszeit in Teilung befinden oder sich zur Teilung anschicken, und daß bei Inaktivierung von ruhenden Zellen, die sicherlich hohe Dosen erfordert, ein ganz anderer Zeitfaktor auftreten kann. Die Bedeutung der räumlichen Variation der Sauerstoffspannung innerhalb einer Geschwulst für die Strahlenempfindlichkeit der Geschwulstzellen ist von GRAY et al. ausführlich diskutiert worden. Auch dabei bestehen gewisse Zusammenhänge mit dem Zeitfaktorproblem.

## IV. Klinischer Teil

### 1. Einleitung

Seit den Anfängen der Strahlentherapie wird über den Einfluß des Zeitfaktors diskutiert. Es mag den praktisch tätigen Radiologen, der sich tagtäglich mit diesem Problem auseinandersetzen muß, erstaunen, daß trotz intensiver Arbeit noch wenig Klarheit in dieser Frage besteht. Der Grund ist einfach: Wir besitzen nur spärliche Methoden zur Beurteilung der biologischen Wirkung auf die menschlichen Gewebe, die zudem sehr ungenau sind.

Unsere Kenntnisse beruhen vor allem auf Beobachtungen an der menschlichen Haut, wobei insbesondere das Erythem und nur ausnahmsweise schwerere Hautreaktionen oder Spätveränderungen der Beurteilung zugrunde gelegt sind. Daneben gibt es viele Beobachtungen über die Ansprechbarkeit bösartiger Tumoren. Wir besitzen ferner Angaben über die Toleranzen verschiedener Gewebe, die vornehmlich auf dosimetrischer Auswertung und Beobachtung von Schäden basieren. Wenn wir an der Haut noch die Möglichkeit haben, unter bestimmten Voraussetzungen zu experimentieren, so gestattet uns doch die Berufsethik nur ausnahmsweise, von den als optimal betrachteten Bestrahlungsbedingungen abzuweichen. Erschwerend kommt hinzu, daß neben der zeitlichen Verteilung der Dosis noch eine ganze Reihe anderer Parameter, die vielfach schwierig oder überhaupt nicht quantitativ zu erfassen sind, das endgültige Resultat beeinflussen. Noch heute ist das Problem der unterschiedlichen Reaktionsweise verschiedener Objekte, auf das ZUPPINGER schon 1928 hingewiesen hat, offen oder noch größtenteils unbefriedigend gelöst.

### 2. Übliche Methoden der Protrahierung und Fraktionierung

Die Frage der *Protrahierung* wurde besonders durch die Empfehlungen von COUTARD, der neben der Fraktionierung eine intensive Protrahierung mit Dosisleistungen von etwa 4 R/min verlangte, in den Vordergrund gestellt. COUTARD stützte sich dabei auf Erfahrungen, die man bei Bestrahlungen mit Radium gemacht hatte. Die ausgedehnte Protrahierung hatte zur Folge, daß man stundenlang bestrahlen mußte, was für den Patienten sehr mühsam und für den Betrieb kostspielig war. Obwohl schon frühzeitig erkannt wurde, daß die Heraufsetzung der für das normale Gewebe zulässigen Dosen im Vergleich zur einmaligen Höchstdosis im wesentlichen auf die Fraktionierung zurückzuführen war, wagten es viele Kliniker nicht, auf die Protrahierung vollständig zu verzichten, da sie annahmen, daß ein gewisser Grad der Protrahierung die Zahl der Spätschäden doch reduzieren könnte. Sie stützten sich, abgesehen von ihren klinischen Eindrücken, vor

allein auf die Untersuchungen von HOLTHUSEN und HAMANN, die für das Erythem der menschlichen Haut bei Dosisleistungen unter 50 R/min. eine wesentliche Abhängigkeit von der Dosisleistung feststellten (s. S. 327), sowie auf die Experimente von REISNER. In gewissem Gegensatz zum Ergebnis dieser Untersuchungen, glaubte später doch die Mehrzahl der Therapeuten, gestützt vor allem auf die Publikationen von McWHIRTER (s. S. 328), daß die Protrahierung bei der Tumorbehandlung von untergeordneter Bedeutung oder gar vollständig zu vernachlässigen sei.

Die in den folgenden Abschnitten zusammengefaßten Beobachtungen zeigen, daß Untersuchungen mit verbesserter Methode, die genauere quantitative Aussagen gestatten, unbedingt erforderlich sind, daß aber der Fraktionierungsfaktor in der Therapie zweifellos von größerer Bedeutung ist als der Protrahierungsfaktor.

Während der ersten drei Dezennien des 20. Jahrhunderts bemühte man sich, die zur Sterilisation des Tumors notwendige Dosis möglichst auf einen Schlag zu verabreichen.

Das typische Beispiel ist die Behandlung mit einmaliger Höchstdosis. Sie hatte bei Haut- und Lippentumoren beachtliche Erfolge. Bei tieferliegenden Geschwülsten konnte man aber die Dosis wegen der schweren Beeinträchtigung des Allgemeinzustandes nicht an einem einzigen Tag applizieren. Man mußte zwangsläufig die beabsichtigte Carcinom- oder Sarkomdosis (SEITZ und WINTZ) auf einige Tage oder 1—2 Wochen verteilen. So kam man, gegen die Intention der Therapeuten, auf eine über kurze Zeit sich erstreckende Fraktionierung, die in der Gesamtdosierung

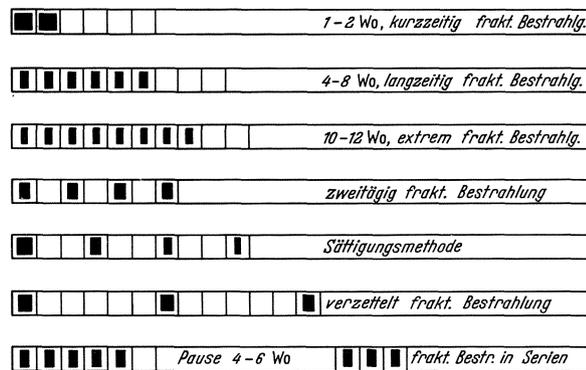


Abb. 20. Schema der häufigsten Fraktionierungstypen

berücksichtigt werden mußte. Die Fraktionierung über 1—2 Wochen wurde von HOLTHUSEN „Kurzzeitbestrahlung“, von SCHINZ und ZUPPINGER „Kurzbestrahlung“ genannt. Besser erscheint uns die Bezeichnung *kurzzeitig fraktionierte Bestrahlung*. Dieser Typ der Fraktionierung ist heute nur noch bei Haut- und Lippentumoren und bei palliativer Tumorbestrahlung, bei der keine voll-kurative Dosis verabreicht wird, üblich.

Es gibt zwar viele Möglichkeiten der Fraktionierung; weitaus am häufigsten ist jedoch heute die kurative Bestrahlung, über 4—6 Wochen fraktioniert, gelegentlich auch über 6—8 Wochen, bei täglicher oder fünfmaliger Bestrahlung pro Woche. In Abb. 20 sind die häufigsten klinisch verwendeten Fraktionierungstypen zusammengestellt. Diese Behandlung wurde als Lang- oder Langzeitbestrahlung bezeichnet. Wir glauben, daß der Ausdruck *langzeitig fraktionierte Bestrahlung* besser ist. Bei dieser Behandlung erzeugt man mit Absicht eine kräftige Gewebereaktion.

Bei weiterer Ausdehnung der Bestrahlung und gleichzeitig mäßiger Heraufsetzung der Gesamtdosis lassen sich die bisherigen unangenehmen und das Allgemeinbefinden erheblich belastenden Gewebereaktionen vermeiden. In dieser Absicht hat BACLESSE die Bestrahlung über 10—12 Wochen fraktioniert. Wir möchten dies die Methode der *extrem fraktionierten Bestrahlung* nennen.

Man kann auch das Intervall zwischen den einzelnen Bestrahlungen vergrößern. Wird jeden zweiten oder dritten Tag bestrahlt, spricht man von einer zwei- oder dreitägig fraktionierten Bestrahlung. Bei der Wahl eines größeren Intervalls entstehen Verzettlungseffekte; wir sprechen dann von verzettelt-fraktionierter Bestrahlung.

Modifikationen dieser Fraktionierungstypen ergeben sich, wenn die Tagesdosis auf zwei Einzeldosen aufgeteilt oder wenn die Einzeldosis bei auftretenden Gewebereaktionen herabgesetzt wird. Eine Behandlungsmethodik, die kurze Zeit vor der Einführung der protrahiert fraktionierten Bestrahlung von COUTARD große Beachtung fand, ist die

Sättigungsmethode (KINGERY, PFÄHLER, HOLFELDER), bei der initial eine hohe Dosis und nach regelmäßigen Intervallen Zusatzdosen verabreicht werden, die so hoch gewählt sind, daß sie die einsetzende Erholung des Tumors kompensieren. Der Effekt einer Volldosis soll damit über etwa 14 Tage aufrechterhalten werden.

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, daß man die Bestrahlung in zwei oder drei Serien aufteilt. Dies ist gewöhnlich der Modus bei palliativer Bestrahlung, doch auch bei einer besonderen Form der kurativen Behandlung.

Grundsätzlich können all diese Fraktionierungstypen mit der Protrahierung kombiniert werden, was häufig bei der langfristig fraktionierten Bestrahlung geschah, heute aber — zumindest in dem von COUTARD empfohlenen Maß — aufgegeben worden ist.

Da es sich gezeigt hat, daß bei den meisten Tumorsituationen eine fraktionierte Behandlungsweise derjenigen mit einmaliger Höchstdosis überlegen ist, mußte für die praktischen Bedürfnisse die Größe des Fraktionierungseinflusses auf die Haut, auf die den Tumor umgebenden tieferen Gewebe sowie auf den Tumor selbst bestimmt werden. Zunächst werden die praktisch wichtigsten quantitativen Schemata besprochen, deren Kenntnis zur Beurteilung der klinischen Erfahrungen an Haut und Tumoren notwendig ist.

### 3. Formales zur graphischen Darstellung äquivalenter Röntgendosen

Da im folgenden bei der Besprechung der Strahlenwirkung sowohl auf die Haut als auch auf Tumoren immer wieder auf mathematische Ansätze bezug genommen werden muß, werden die gebräuchlichsten Modelle, insbesondere das sog. Strandquist-Schema, zunächst unabhängig von der historischen Einordnung und ohne auf die experimentellen Resultate einzugehen, vorweg besprochen.

STRANDQUIST versuchte eine dem sog. Schwarzschild'schen Gesetz der Photochemie (S. 285) analoge Formel für wirkungsäquivalente Gesamtdosen  $D$  bei verschiedener Bestrahlungszeit  $T$  anzugehen. Er nahm an, die nötige Gesamtdosis sei proportional einer Potenz der Bestrahlungszeit.

$$D = k \cdot T^n \text{ mit } n > 0.$$

Die Beziehung stellt sich in doppellogarithmischer Darstellung, also wenn man den Logarithmus der Bestrahlungszeit gegen den Logarithmus der nötigen Dosis aufträgt, als Gerade dar (Abb. 21). Diese Darstellung hat sich bei Zeitfaktoruntersuchungen allgemein eingebürgert. Man spricht von der Strandquist-Geraden. Empirisch ergab sich für die kurative Wirkung auf Hautcarcinome ein  $n$  von 0,22. STRANDQUIST setzt die Dauer der Bestrahlung gleich der Anzahl der Tage zwischen der ersten und der letzten Bestrahlung. Einer Bestrahlung in Fraktionen mit 24stündiger Pause wird demnach die Bestrahlungszeit von 1 Tag zugeordnet, und  $k$  ist also gleich der in diesem Falle erforderlichen Gesamtdosis. Offenbar kann man jedoch der Bestrahlung in einer Sitzung nicht einfach die Bestrahlungszeit Null Tage zuordnen; dann ergäbe sich nämlich auch die Dosis Null. Hier versagt die Formel. STRANDQUIST suchte daher auf seiner Geraden den Abszissenwert, der der empirisch ermittelten Einzeitdosis entspricht, und fand den Wert 0,35. Dieser Wert entspricht einer Zeitdauer von 8 Std. Die Einzeitdosis ist also nach STRANDQUIST:

$$D_1 = k \cdot 0,35^{0,22} = 0,79 \cdot k$$

also gleich 79 % der Dosis, die bei einer Bestrahlung in zwei Fraktionen nötig ist.

Schon STRANDQUIST betonte, daß die angenommene Beziehung durchaus keine absolute Gültigkeit besitze, sondern nur innerhalb eines gewissen Bereichs eine praktisch brauchbare Darstellung des Fraktionierungsfaktors gibt. Keinesfalls darf man die Strandquist-Gerade über die experimentell getesteten Bereiche hinaus extrapolieren.

Bei extrem ausgedehnter Fraktionierung sind Abweichungen zu erwarten und auch klinisch beobachtet worden. Auch im Bereich weniger Einzelfraktionen wird die Strandquist-Darstellung problematisch, und zwar deswegen, weil der Einfluß der Protrahierung

nicht mehr zu vernachlässigen ist. Auch kann man nicht annehmen, daß die Neigung  $n$  der Strandquist-Geraden, der sog. Winkelkoeffizient, ganz unabhängig von der Art des bestrahlten Gewebes und, wie bei STRANDQUIST, immer gleich 0,22 ist. In der Möglichkeit, daß die Strandquist-Gerade für das maligne Gewebe weniger steil ansteigt als für das normale, könnte eine Rechtfertigung der fraktionierten Bestrahlung liegen (s. auch S. 338).

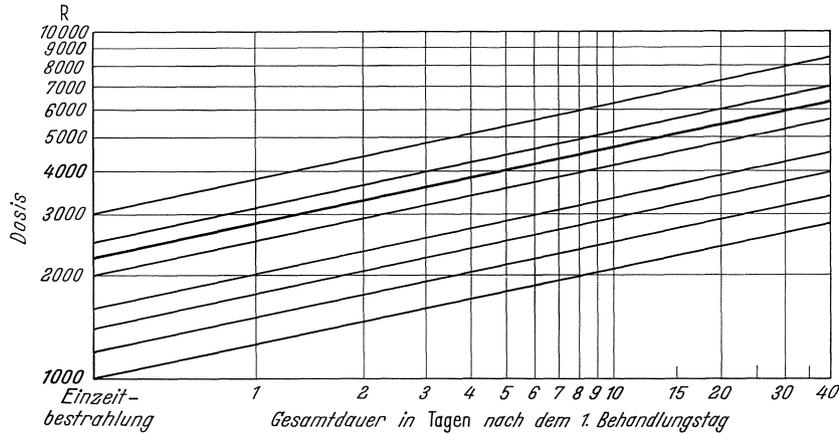
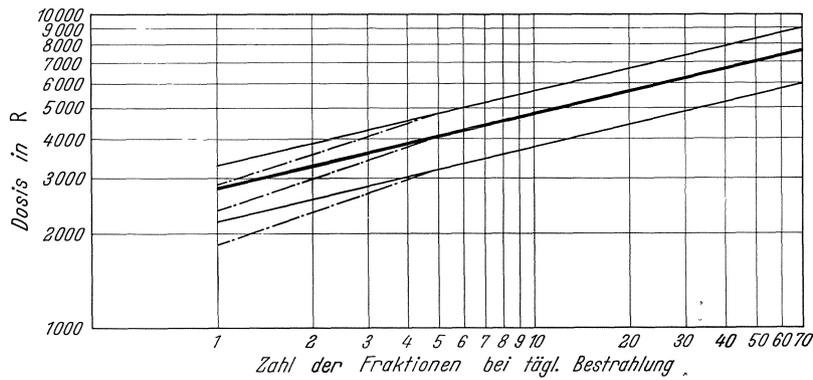
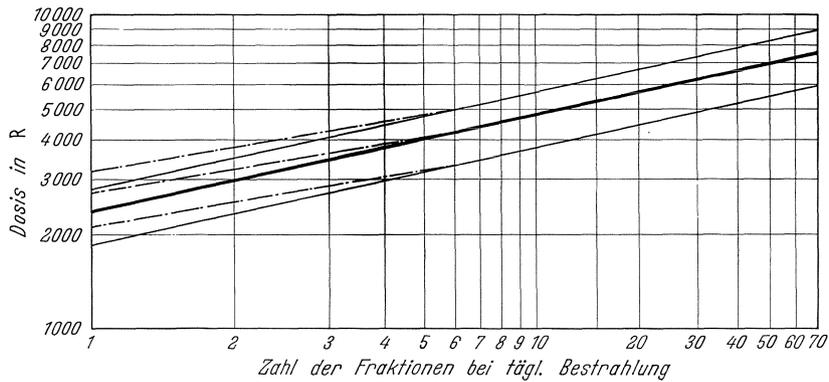


Abb. 21. Fraktionierungsdiagramm zur Berechnung äquivalenter Röntgendosen nach STRANDQUIST. Einzeldosis 3000 R Hautnekrose; Einzeldosis 2250 R Heilung von Hautcarcinomen; Einzeldosis 2000 R Epidermitis exsudativa; Einzeldosis 1600 R Epidermitis sicca; Einzeldosis 1000 R Erythem



a



b

Abb. 22a u. b. a Modifizierte Strandquist-Darstellung (gestrichelt: ursprüngliches Fraktionierungsschema von STRANDQUIST nach Abb. 22b). b Strandquist-Darstellung (gestrichelt: modifiziertes Fraktionierungsschema nach Abb. 22a)

Die Strandquistsche Formel ist eine zu einem gewissen Grade willkürliche Interpolation der empirischen Daten; andere Formeln können die Erfahrungen ebensogut wiedergeben. Es ist auch tatsächlich eine von der Strandquistschen Formel etwas abweichende Darstellung im Gebrauch; sie wird meist als *modifizierte Strandquist-Darstellung* bezeichnet und ergibt sich, wenn man anstelle des Intervalls zwischen erster und letzter Bestrahlung auf der Abszisse einfach den Logarithmus der Zahl der Fraktionen aufträgt, wenn man also

$$D = k \cdot N^n$$

setzt, wobei  $N$  die Anzahl der Fraktionen ist. Eine solche Darstellung wurde schon vor STRANDQUIST in der ersten Aufzeichnung im doppellogarithmischen Raster von WITTE, der die Werte von REISNER analysierte, gewählt. Für therapeutische Anwendung wurde diese Darstellung insbesondere von ANDREWS und MOODY eingeführt. Wir möchten deswegen, um der Historie gerecht zu werden, für diese modifizierte Strandquist-Darstellung die Bezeichnung Witte-Strandquist-Darstellung vorschlagen.

Eine gewisse Schwierigkeit besteht darin, daß in der Literatur nicht immer klar zwischen diesen beiden ähnlichen, aber doch nicht ganz äquivalenten Darstellungen unterschieden wird. Es ist darauf hinzuweisen, daß die modifizierte Strandquist-Darstellung insbesondere bei kurzzeitig fraktionierter Bestrahlung zu etwas höheren Dosen führt.

In Abb. 22b ist in das ursprüngliche Strandquistsche Fraktionierungsdiagramm gestrichelt die modifizierte Strandquist-Gerade eingezeichnet, entsprechend den Werten für die optimale Dosis-Zeit-Beziehung für die Zerstörung von Plattenepithelcarcinomen der Haut mit der  $\pm 20\%$ igen Abweichung nach ANDREWS und MOODY. Abb. 22a zeigt umgekehrt die modifizierte Strandquist-Darstellung und darin gestrichelt die ursprüngliche Strandquist-Gerade. Eine Gerade in der einen Aufzeichnung entspricht nicht mehr der Geraden in der anderen, also sind die beiden Arten der zeitlichen Applikation der Dosen nicht völlig äquivalent.

Die Streuung der empirischen Werte ist allerdings noch so groß, daß man sich für die eine ebenso wie für die andere Darstellung entscheiden kann. Problematisch ist aber insbesondere noch die Frage, ob es in erster Linie auf die Gesamtdauer der Bestrahlung oder auf die Anzahl der Fraktionen ankommt. Möglicherweise spielt es keine große Rolle, ob die Bestrahlungspausen 1 Tag oder 2 oder 3 Tage lang sind (s. S. 323). Längere Pausen machen aber sicherlich eine Erhöhung der Gesamtdosis nötig. Es ist jedoch ein noch ungelöstes Problem, nach welchem formalen Schema in solchen Fällen verfahren werden könnte.

#### 4. Der Zeitfaktor bei der Strahleneinwirkung auf Haut und Tumoren und seine Bedeutung für die Strahlentherapie

##### a) Haut

Die akuten und chronischen Strahlenreaktionen der Haut sind ein besonders eindrucksvolles und dazu ein seit langem gut untersuchtes Beispiel dafür, daß die Strahlenreaktion eines Gewebes nicht ausschließlich durch den Zelluntergang entsteht. Die cellulären Schäden sind mit komplizierten funktionellen Störungen verbunden, deren Entstehung zusätzlich von der zeitlichen Dosisverteilung abhängt. Die zahlreichen Studien zum Zeitfaktor der Haut sind in mehreren zusammenfassenden Arbeiten von HOLT-HUSEN (1926), PACK und QUIMBY, CHAULOU u. Mitarb., ZUPPINGER (1941/42 und 1949), GRAY u. Mitarb., STRANDQUIST, DUSAULT (1958), FOWLER und STERN (1960) übersichtlich publiziert worden, wobei das Problem der Hautschonung bei der Strahlentherapie maligner Tumoren im Vordergrund stand. Bei der Hochvolttherapie tritt die

Hautreaktion als Kriterium zurück, dafür gewinnt die Beobachtung der Reaktionen tieferliegender Gewebe an Bedeutung. Da ihre quantitative Erfassung noch schwieriger ist als diejenige der Haut, gewinnen die zahlenmäßigen Überlegungen, wie sie sich aus den Studien der Hautreaktion sowie der Tumorrückbildung ergeben, noch größere Bedeutung. Wenn auch nicht erwiesen ist, daß diese Analogieschlüsse erlaubt sind, so weisen die bisherigen Erfahrungen doch in diese Richtung.

*α.) Protrahierung, Fraktionierung mit veränderter aktueller Dosisleistung, Ultrafraktionierung*

Den ersten Arbeiten von KRÖNIG und FRIEDRICH und von SEITZ und WINTZ, bei denen eine Abnahme der Wirksamkeit mit geringerer Strahlenintensität festgestellt worden war, folgte eine Reihe anderer, in denen der Protrahierung wechselnd starke Bedeutung zugesprochen wurde. So glaubte MIESCHER (1930), den Einfluß der Dosisleistung relativ gering einschätzen zu müssen. Retrospektiv kann man sagen, daß wohl die meisten Widersprüche in den Ergebnissen nur scheinbar sind. Sie erklären sich dadurch, daß damals angenommen wurde, daß ein Zeitfaktor nur vom Verhältnis der Dosisleistungen abhängt, obwohl SCHWARZ bereits 1924 darauf hingewiesen hatte, daß der Zeitfaktor für ein bestimmtes Dosisleistungsverhältnis in den verschiedenen Dosisleistungsbereichen durchaus verschieden sein kann. Richtungweisend wurden, und zwar nicht nur für das Zeitfaktorproblem der Haut, die Untersuchungen von HOLTHUSEN und HAMANN (s. Abb. 23). Bei kontinuierlicher Bestrahlung mit Dosisleistungen zwischen 0,5 und 50 R/min nahm die Schwellendosis für die verschiedenen Hautreaktionen mit abnehmender Dosisleistung und entsprechend zunehmender Bestrahlungsdauer zu, und zwar war die Zunahme im Bereich kleiner Dosisleistungen besonders ausgeprägt. Die Abbildung zeigt ferner, daß die Zunahme für die

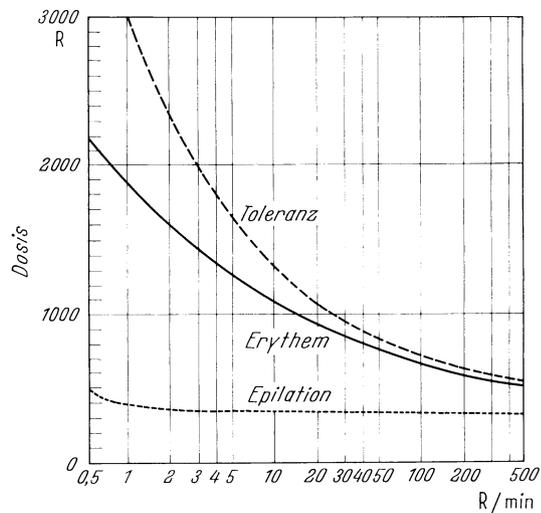


Abb. 23. Die Änderung der Epilations-, Erythem- und Toleranzdosis mit der Dosisleistung. (Nach HOLTHUSEN und HAMANN)

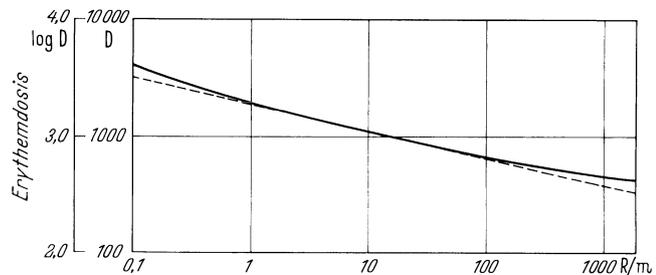


Abb. 24. Erythemdosis als Funktion der Dosisleistung. (Nach WITTE)

Erythemdosis wesentlich geringer ist als für die Hauttoleranzdosis und daß schließlich für die Epilation ein ganz anderer Kurvenverlauf besteht. WITTE hat die Erythemversuche erstmals doppellogarithmisch aufgetragen und stellte im praktisch wichtigen mittleren Abschnitt einen geradlinigen Verlauf fest (Abb. 24) mit deutlichen Abweichungen bei geringen und sehr hohen Intensitäten. Weitere Arbeiten anderer Autoren mit Variationen der Dosisleistung in ähnlichen Bereichen fügen sich leidlich gut in das generelle Bild ein, wenn man davon ausgeht, daß die Streubreite solcher Versuche relativ groß ist, der Zeitfaktor mit der Effektgröße variiert und in manchen Versuchen das gewählte Dosisleistungsverhältnis zu klein war, um eine unterschiedliche Wirksamkeit nachzuweisen. Bei Untersuchungen von CHAOUÛL u. Mitarb. blieb

unter Kontaktbestrahlungsbedingungen und Kleinfeldbestrahlung die Wirksamkeit der Strahlung bei Dosisleistungen zwischen 5000 und 25 R/min annähernd konstant und fiel erst bei Bestrahlungsdauern von 250 min merklich ab. Nach KEPP (1952) ist bei schnellen Elektronen im Dosisleistungsbereich über 100 R/min kein wesentlicher Zeitfaktor zu bemerken; zwischen 200 und 20 R/min steigt der Zeitfaktor eben bemerkbar, unter 20 R/min sehr stark an.

Auch bei Protrahierung mit Fraktionierung kann sich ein Zeitfaktor bemerkbar machen. WITTE hat die Werte von REISNER (Abb. 25) logarithmisch aufgetragen und gelangt bei 40 R/min für das Erythem, unter Einengung seiner früheren Schlußfolgerungen (1939), zum Schluß, daß mit einer Vergrößerung der Sitzungszahl die aktuelle Dosisleistung eine immer kleinere Rolle spielt. Bei zwölf und mehr Sitzungen war das Erythem praktisch unabhängig von der Dosisleistung. Die Kombination mit den Protrahierungsergebnissen von HOLTHUSEN und HAMANN ergibt die im Bild dargestellte Kurvenschar. Die meisten Autoren (MCWHIRTER, STRANDQUIST, KEPP, SCHÖTTELNDREYER)

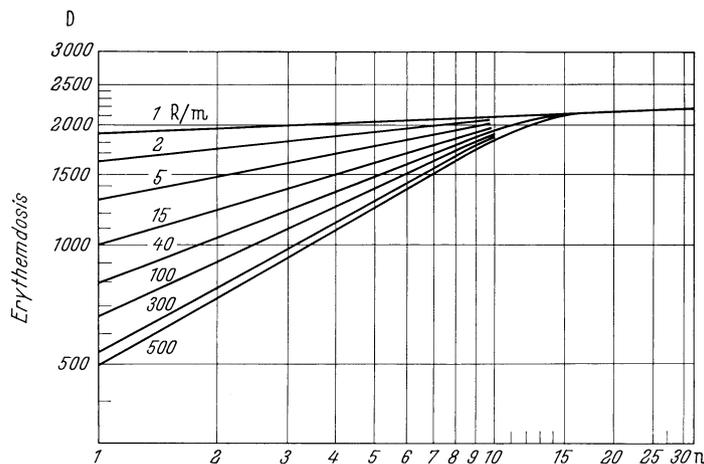


Abb. 25. Erythemdosis D als Funktion der Sitzungszahl nach WITTE (1943; nach Werten von REISNER) in Abhängigkeit von der Dosisleistung

konnten keine oder nur eine geringe Abhängigkeit der Wirksamkeit von der aktuellen Dosisleistung feststellen. Als Kriterium wurde fast ausschließlich das Hauterythem oder ausnahmsweise die exsudative Hautreaktion bei kurzzeitiger Fraktionierung gewählt. Ob diese Schlußfolgerung aber bei stärkeren Hautreaktionen und Fraktionierung über mehrere Wochen ihre Gültigkeit beibehält, ist noch nicht erwiesen. PAPE (1931) fand, wenn er 1400 R, aufgeteilt in zwei gleiche Dosen, mit 24stündigem Intervall verab-

reichte, bei 4 R/min eine schwächere Wirkung auf die Haut als bei 10,7 R/min. Schließlich hat KEPP (1942) Erythemversuche mit fraktionierter Röntgenbestrahlung verschiedener Dosisleistungen angestellt. Die erythmeerzeugende Einzeitdosis betrug für 92,5 R/min 660 R, für 40 R/min etwa 800 und für 5,55 R/min etwa 1300 R. Bei Fraktionierung mit 24stündigem Intervall ergaben sich in doppellogarithmischer Darstellung — und zwar in der sog. modifizierten Strandquist-Darstellung — für die drei untersuchten Dosisleistungen Gerade, die nach einem Punkt hin konvergieren, der bei etwa 2000 R für eine zwölf-tägige Fraktionierung liegt.

Wird innerhalb kurzer Gesamtbestrahlungszeiten das Muster der zeitlichen Dosisverteilung variiert, wie das bei der *Ultrafraktionierung* der Fall ist, so treten deutliche Unterschiede der Wirksamkeit zutage. HOLFELDER machte schon 1915 die Beobachtung, daß Bestrahlung mittels einer Röhre mit Spar- und Sperrschaltung, die Röntgenstrahlung in einzelnen Impulsen emittierte, einen ungewohnt großen Effekt hervorrief. DENIER fand ebenfalls einen verstärkten Effekt bei Bestrahlung der Haut mit Impulsdauern von jeweils 4 sec und Pausendauern von 2 sec. BELLUCCI bestrahlte die Haut ultrafraktioniert und fand eine deutliche Abhängigkeit der Wirkung von der Frequenz der Impulse. Bei Verwendung von Röntgenstrahlen ergab sich die größte Verstärkung des Erythems bei 10—20 Impulsen/sec, bei Bestrahlung mit UV-Licht bei 5 Impulsen/sec.

HEEREN und MÜLLER zeigten in histologischen Untersuchungen an Haut- und Hodengewebe des Kaninchens, daß bei gleicher Dosis und Bestrahlungszeit Ultrafraktionierung

den Effekt von 180 kV-Röntgenstrahlen beeinflusst. Für die Haut ergab sich ein Maximum des Effekts bei 53 Unterbrechungen/sec, bei Hodengewebe bei 28 Unterbrechungen/sec. Bei einem Bestrahlungszeit-Pausen-Verhältnis von 1:1 erhielten die Autoren stärkere Effekte als bei einem solchen von 1:5. KEPP u. Mitarb. (1950, 1951, 1952) bestrahlten die Haut mittels ultrafraktionierter Elektronenstrahlung eines Betatrons. Sie fanden, daß 500 R bei 1800 R/min und 15 sec Impulsdauer äquivalent waren einer Dosis von 1000 R bei 300 R/min und einer Impulsdauer von 20 sec.

Die Zusammenfassung der vorliegenden Resultate protrahierter Bestrahlung mit variierter Dosisleistung, fraktionierter Bestrahlung mit Variation der momentanen Dosisleistung und der Ultrafraktionierungsversuche ergibt folgendes Bild: Allenfalls bei Ultrafraktionierung zeigte sich, daß bei insgesamt sehr kurzen Bestrahlungszeiten die Mikrostruktur der zeitlichen Dosisverteilung die Wirksamkeit beeinflusst. Es ist dabei dann denkbar, daß ein auf primäre Rekombinationsvorgänge zurückzuführender Mechanismus zeitfaktorbestimmend ist. In dem Dosisleistungsbereich, in dem HOLTHUSEN seine grundlegenden Zeitfaktorversuche anstellte und vermutlich auch beiderseits dieses Bereichs — also etwa zwischen 1000 und 0,1 R/min — erhöht sich die gleich wirksame Dosis mit abnehmender Dosisleistung bzw. zunehmender Bestrahlungszeit. Der bei Bestrahlung über größere Zeiten auftretende ausgeprägte Zeitfaktor wird seit KINGERY auf Erholungsprozesse zurückgeführt. Dieser Autor stellte sich eine Art Entgiftungsvorgang mit einem exponentiellen Verlauf vor. Allerdings stimmen spätere experimentelle und klinische Befunde mit dieser vereinfachten Annahme nicht überein (MACCOMB und QUIMBY). Auch REISNER (1933) ist es nicht gelungen, seine Versuchsergebnisse durch ein einfaches chemisch-kinetisches Gesetz darzustellen. Es ist anzunehmen, daß für die verschiedenen Strahlenreaktionen der Haut ganz verschiedenartige Erholungsvorgänge von Bedeutung sein können. Das erklärt die Abhängigkeit des Zeitfaktors von der Art und Stärke des Effekts, aber auch von physiologischen Bedingungen, wie etwa der Stoffwechsel- und Zellaktivität oder dem Sauerstoffgehalt. Geht es ausschließlich um die Erfassung reversibler akuter Effekte, wie etwa des Erythems, so wird es auf Grund solcher Erholungsvorgänge verständlich, daß im Bereich sehr kleiner Dosisleistungen und sehr großer Bestrahlungszeiten schließlich überhaupt nicht mehr die notwendige „Konzentration“ der latenten Schädigung erreicht wird, die zur Auslösung des Effekts nötig ist.

ZUPPINGER (1944, 1945) hatte bei sehr ausgedehnter Fraktionierung, selbst mit Dosen von 6500 bis 10000 R, keine exsudative Hautreaktion und keine Schleimhautreaktion mehr erzeugen können. Bei geeigneter zeitlicher Dosisverteilung ist es sogar möglich, daß sich nach einer initialen Schädigung, trotz fortgesetzter Bestrahlung, keine Zunahme des Effekts, sondern sogar ein Abklingen ergibt, wie MARTIUS bei einer Fraktionierung in 56 Tagesdosen zu 150 R festgestellt hat. Für andere Effekte dagegen, für die es eine irreversible Wirkungskomponente gibt, müßte im Bereich sehr kleiner Dosisleistungen, bei denen durch die Erholungsprozesse die reversible Komponente völlig ausgeschaltet ist, eine weitere Variation der Dosisleistung schließlich keinen Wirkungsunterschied mehr machen.

### *β) Zeitfaktor bei Fraktionierung*

Das Verständnis für die Wirkung unterschiedlich fraktionierter Bestrahlung wird dadurch erschwert, daß meistens zu viele Parameter gleichzeitig variiert werden müssen und damit schwer entschieden werden kann, ob die Wirkungsunterschiede auf Variation der Gesamtbestrahlungszeit, der Zahl und Dosis der Einzelfractionen oder der Dauer der bestrahlungsfreien Intervalle beruhen.

Im allgemeinen nimmt bei Fraktionierung über Tage und Wochen die Wirksamkeit der gleichen Dosen mit zunehmender Gesamtbestrahlungszeit infolge biologischer Erholungsvorgänge ab. Aus dem jeweiligen Muster der zeitlichen Dosisverteilung ergeben

sich jedoch Besonderheiten. Wenn man das Schema der Abb. 2 im Auge behält, erscheint es wenig sinnvoll, bei jedem Zeitfaktorexperiment entscheiden zu wollen, welche der variierten Parameter — Gesamtbestrahlungszeit, integrale Dosisleistung, Zahl und Dosis der Einzelfractionen oder aktuelle Dosisleistung — bestimmend sind und dann generelle Aussagen über die zeitfaktorbestimmenden Mechanismen zu machen. Zu beachten ist jedoch, daß die dem Zeitfaktor zugrunde liegenden Erholungsvorgänge ihrerseits durch die Bestrahlung verändert werden können.

Da bei allen Strahlentherapeuten ein großes Bedürfnis bestand, die Dosierung zum mindesten annähernd zu standardisieren und nicht allein nach Beobachtung der biologischen Reaktion vorzunehmen, haben QUIMBY und MACCOMB und MACCOMB und QUIMBY, vor allem im Hinblick auf die Pfahlersche Sättigungsmethode, unter Verwertung eigener und der Ver-

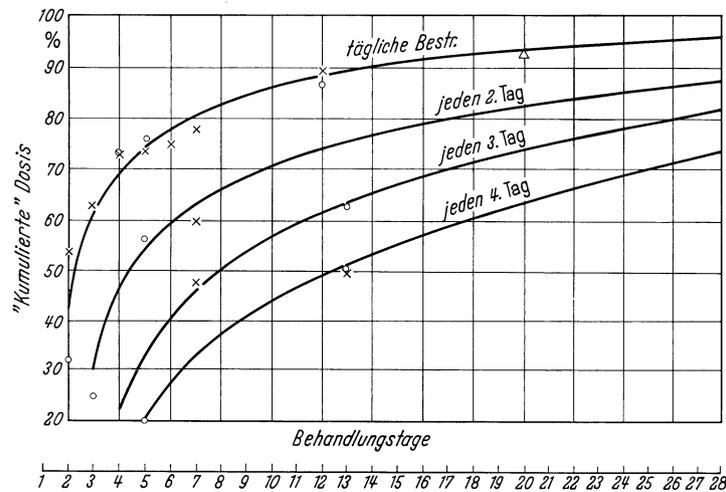


Abb. 26. Die kumulativen Dosen nach QUIMBY und MACCOMB auf Grund ihrer Versuche (○), der Versuche von REISNER (+) und eines Wertes von LÖW-BEER und REDISCH (Δ)

suche von REISNER (1933) sowie eines Wertes von LÖW-BEER und REDISCH, ein Kurvensystem (Abb. 26) publiziert, um bei verschiedenen Fraktionierungen die kumulativen Dosen zu berechnen. Diese kumulativen Dosen sind als der in einem beliebigen Zeitpunkt nach der Bestrahlung in der Haut zurückbleibende Strahleneffekt zu betrachten. In bezug auf die klinische Verwertung sei auf die Originalarbeit verwiesen. Die Autoren betonen ausdrücklich, daß sich diese Angaben nur auf die Hautreaktion bezie-

hen und machen auf die Bedeutung der Beobachtung der Tumorregression und der Allgemeinreaktionen während der Behandlung aufmerksam.

MACCOMB und QUIMBY benutzten, ähnlich wie DUFFY u. Mitarb., die Dosis als Kriterium, die bei 80 % der Patienten sichtbare Pigmentierung in einem Monat herbeiführt. Bei Bestrahlung mit 200 kV und 40—60 R/min stellten sie schon bei einem dreistündigen Intervall und Zerteilung der Dosis ein Absinken der Residualdosis um etwa 25 % fest. Eine Dosis von 525 R fällt nach 24 Std auf die Hälfte ab, innerhalb von 72 Std sinkt die Residualdosis noch etwas weiter ab, um anschließend fast gleich zu bleiben. Die Autoren haben ihre Resultate, diejenigen von DUFFY u. Mitarb. sowie von REISNER mathematisch auszudrücken versucht und kommen zum Schluß, daß die Erholungsfunktion keine einfache Exponentialfunktion ist, hingegen — wie dies bei derartigen Kurven sehr häufig der Fall ist — eine Summe verschiedener Exponentialfunktionen, wobei die einzelnen Summanden allerdings nicht zu deuten sind. Die Ergebnisse sind in den ersten 2 Wochen experimentell durch Beobachtungen der Hautreaktionen gut belegt, im weiteren aber größtenteils hypothetisch, da nach 2 Wochen nur ein einziger experimenteller Wert vorliegt. Sie waren vor allem als Basis für die Sättigungsmethodik gedacht und berücksichtigten keineswegs eine über die Zeit von 4 Wochen hinausgehende Fraktionierung, sind aber für kurzzeitig fraktionierte Bestrahlung auch heute noch wertvoll.

Die ersten systematischen Untersuchungen über Fraktionierungseffekte hat REISNER (1933) angestellt. Er bestrahlte mit verschiedenen Einzeldosen bis zum gleichen Erythemgrad, wobei das Erythem mit dem Erythemmesser von SCHALL und ALIUS bestimmt wurde, oder bis zur Dermatitis II. Grades (Blasenbildung). Als Resultat zahlreicher

Untersuchungen erhielt er die in Tabelle 2 und 3 dargestellten Werte für Erythem und Dermatitis II. Grades. Man sieht, daß bei einer Fraktionierung auf 27 Tage die Gesamtdosen auf das 2,7fache erhöht werden müssen, bis ein gleiches Erythem auftritt, während eine 2,6fache Erhöhung schon bei einer Verteilung auf 16 Tage zu einer gleichen Reaktion II. Grades führt. Bei verschiedenen Kriterien der Frühreaktion der Haut wurden demnach unterschiedliche Werte des Fraktionierungsfaktors erhalten.

WITTE hat 1943 als erster die Werte von REISNER in ein doppellogarithmisches Raster eingetragen, und zwar entsprechend der modifizierten Strandquist-Darstellung. Er findet im großen und ganzen einen geradlinigen Verlauf der Kurve mit deutlichen Abweichungen bei zunehmender Sitzungszahl, im gleichen Sinn wie bei der Darstellung der Dosisleistungsabhängigkeit (Abb. 25).

REISNER kommt ferner zu folgenden Feststellungen: Bei gleicher Gesamtdosis und Gesamtbestrahlungszeit ist die Höhe der Einzeldosis viel wichtiger als die Länge der

Tabelle 2. *Gleiches Erythem trat auf nach täglichen Bestrahlungen* (nach REISNER)

(Die Einzeildosis für das Erythem wurde gleich 100% gesetzt.)					
mit 10 %	27mal = 270 %	in 27 Tagen	mit 50 %	3mal = 150 %	in 3 Tagen
mit 20 %	12mal = 240 %	in 12 Tagen	mit 65 %	2mal = 130 %	in 2 Tagen
mit 30 %	7mal = 210 %	in 7 Tagen	mit 100 %	1mal = 100 %	in 1 Tag
mit 40 %	4mal = 160 %	in 4 Tagen			

Tabelle 3. *Dermatitis II. Grades trat auf nach täglichen Bestrahlungen* (nach REISNER)

mit 20 %	etwa 16mal = 320 %	in 16 Tagen	mit 60 %	etwa 3mal = 180 %	in 3 Tagen
mit 30 %	etwa 9mal = 270 %	in 9 Tagen	mit 70 %	etwa 2mal = 140 %	in 2 Tagen
mit 40 %	etwa 6mal = 240 %	in 6 Tagen	mit 120 %	etwa 1mal = 120 %	in 1 Tag
mit 50 %	etwa 4mal = 200 %	in 4 Tagen			

Pausen. Seine Ergebnisse weisen darauf hin, daß die Haut sich schon nach 4 Std zu erholen beginnt und daß der Erholungsprozeß nach 24 Std zur Hauptsache abgelaufen ist. Wenn aber die Pause über die zweite Erythemwelle hinaus verlängert wird, resultiert ein stärkeres Erythem, womit eine Änderung der Empfindlichkeit des Substrats nachgewiesen ist. Der Abschluß des Erholungsvorgangs nach etwa 24 Std ist insofern von einem gewissen Interesse, als die von ELKIND und SUTTON (1960) beschriebene celluläre Erholung in annähernd gleichem Zeitraum abgeschlossen ist.

Schließlich hat STRANDQUIST seine bekannten Studien zum Zeitfaktor der Haut durchgeführt, die hinsichtlich ihrer theoretischen Konsequenzen bereits besprochen wurden. Hier sei nur noch einmal hervorgehoben, daß zahlreiche weitere Studien, die in Anlehnung an STRANDQUIST gemacht wurden, gezeigt haben, daß eine Verlängerung der Geraden in doppellogarithmischer Darstellung über die experimentell belegten Punkte hinaus nicht ohne weiteres zulässig ist, daß aus biophysikalischen Gründen anzunehmen ist, daß bei sehr langen und sehr kurzen Bestrahlungszeiten Abweichungen von dieser Geraden auftreten, und zwar bei verschiedenen Testreaktionen durchaus verschiedenartig, und daß die Neigung  $n$  dieser Geraden für verschiedene Gewebereaktionen und selbstverständlich für die verschiedenen Gewebeararten durchaus verschieden sein kann.

Die den praktischen Strahlentherapeuten längst bekannte Tatsache, daß unterschiedliche Zeitfaktoren bei Epilation, Erythem und stärkerer Reaktion bestehen, ohne daß man die exakten Relationen kannte, sind durch zahlreiche Untersuchungen bestätigt und präzisiert worden (REISNER und WACHSMANN, JUUL, KAHLSTORF, MIESCHER, DAHL, FABER u. a. m.). Trotzdem sind unsere Kenntnisse noch ungenügend und besonders für tiefergelegene Gewebe, die der direkten Beobachtung nicht zugänglich sind, sehr lückenhaft.

Auf das deutlich von anderen Reaktionen abweichende Verhalten der Epilation sei hingewiesen. Ähnlich wie bei der Protrahierung, stellten SCHIRREN und ÇAN sowohl tierexperimentell als auch klinisch bei Änderung der zeitlichen Dosisverteilung

innerhalb gewisser Grenzen eine weitgehende Summation der epilierenden Strahlenwirkungen fest. Auf Grund von 1000 Epilationen an der Kopfhaut konnten sie nachweisen, daß diese weitgehend unabhängig von der Fraktionierung sind, wenn die Fraktionierung nicht über mehr als 10—12 Tage ausgedehnt wird. Bei Fraktionierung auf 20 Tage mußte die Dosis auf 500 R erhöht werden. Bei Fraktionierung auf 10 Tage fanden sie sogar einen unter 1 liegenden Zeitfaktor, indem bei 360 R die Epilation erst nach 31 Tagen, bei  $5 \times 60$  R schon 14 Tage nach der letzten Bestrahlung auftrat. Diese Feststellungen sind wichtig, da die fraktionierte Technik der Epilation anscheinend die übrigen Gewebe schont.

Über die Abhängigkeit der *Strahlenspätchäden* der Haut von der zeitlichen Dosisverteilung kann wenig Quantitatives gesagt werden. Nur einige Autoren bezogen die Spätchäden in ihre Untersuchungen ein. ZUPPINGER (1941) fand für Spätveränderungen der Epidermis und Subcutis eine erhebliche Abweichung von der Strandquist-Funktion (s. Abb. 27). Die Kurve verläuft bei stärkerer Fraktionierung erheblich steiler und entspricht viel mehr den Werten für die exsudative Hautreaktion, wie sie später von ANDREWS und MOODY festgestellt wurden. In bezug auf die praktischen Folgerungen sei auf S. 335 verwiesen. LÖW-BEER und REDISCH stellten einen geringeren Effekt bei fraktionierter

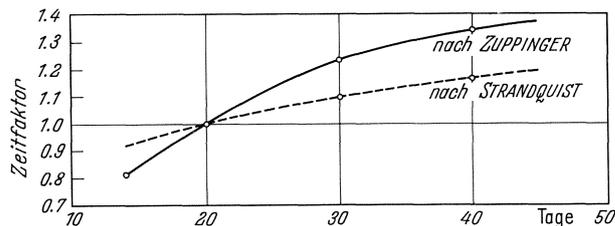


Abb. 27. Zeitfaktor für Fraktionierung über 20—40 Tage

Bestrahlung auf die Capillaren des Bestrahlungsgebietes fest. TRÄNKLE und MULAY, die sich in einer klinischen Studie mit den Teleangiectasien als Spätsymptom beschäftigten, fanden nach 7 und mehr Jahren geringere Effekte bei fraktionierter Bestrahlung. QUEVEDO und GRAHN untersuchten die Pigmentierung bei Mäusen unter lebenslänglicher Bestrahlung mit 6—1650 R/Tag (täglich 12—14 Std Bestrahlungszeit). Bei Dosisleistungen von 6—170 R/Tag bestand eine starke Abhängigkeit von der Dosisleistung.

Wie bei der Protrahierung, scheint also bei den in der Strahlentherapie üblichen Fraktionierungsarten der Zeitfaktor vorwiegend auf Erholungsvorgänge der Haut zurückzugehen, wobei angenommen werden muß, daß die Erholungsgeschwindigkeiten für die verschiedenen Hautveränderungen verschieden groß sind, daß die Erholungskonstante aber auch durch die Bestrahlung und ihre zeitliche Verteilung beeinflusst werden kann, und zwar einerseits so, daß sie mit der Höhe der getesteten Effektstärke abnehmen kann (REISNER 1933, WACHSMANN 1943), daß aber andererseits auch Erholungsvorgänge erst durch genügend hohe Dosen und Dosisleistungen ausgelöst werden (CHAOUÏ et al.). Es gibt Erholungsvorgänge, die bei kleinen Dosen nicht auftreten; erst bei höheren Dosen setzen nachweisbare Regulations- und Kompensationsmechanismen ein. In bezug auf manche Effekte kann von einer kompletten Erholung gesprochen werden, so beim Erythem, für das man einen Schwellenwert der mittleren Dosisleistung annehmen muß. Vor allem im Hinblick auf Strahlenspätchäden ist mit einer irreversiblen Komponente der Strahlenwirkung zu rechnen, die dazu führt, daß zwar bei sehr kleinen Dosisleistungen die *Gesamtwirkung* geringer ist als bei Kurzzeitbestrahlung, daß aber auch bei äußerster Verringerung der mittleren Dosisleistung eine irreversible Komponente des Schadens auftritt. Ferner muß berücksichtigt werden, daß offenbar verschiedene Erholungsprozesse vorliegen, wie z.B. vom Elkind-Typ und andere, die mehr als 24 Std beanspruchen (FOWLER und STERN).

#### b) Andere Zeitfaktorbeobachtungen

Es liegen nur sehr wenig Beobachtungen über den Zeitfaktor bei anderen Geweben als der äußeren Haut vor. Für die *Schleimhaut* finden sich einige Angaben bei ZUPPINGER (1954). Er kommt zum Schluß, daß für den Zeitfaktor im Vergleich zu den Werten

bei der äußeren Haut keine großen Differenzen bestehen, doch scheint der Erholungsfaktor bei kürzerer Fraktionierung eher kleiner zu sein. Zahlenmäßige Angaben über die verschiedenen Erscheinungen an der Schleimhaut finden sich in Band XIX, Kapitel Pharynx-tumoren.

LUCILLE A. DUSAULT hat die für das normale Gewebe zulässigen Dosen auf Grund verschiedener Mitteilungen der Literatur zusammengestellt (Abb. 28). Auch diese Angaben dürfen nur als Richtlinien betrachtet werden. Die Kurven würden nämlich besagen, daß ein inneres Larynxcarcinom ohne Inkaufnahme eines Knorpelschadens gar nicht heilbar sei. Andererseits sind nach den neuesten Ergebnissen die Werte für den Hirnstamm eher etwas niedriger anzusetzen.

### c) RBW und Zeitfaktor

Die Beziehungen zwischen RBW und Zeitfaktor bei den Strahlenreaktionen der Haut sind zwar vorwiegend tierexperimentell untersucht worden, sollen aber wegen des sachlichen Zusammenhanges hier besprochen werden.

Die cellulären Vorgänge, die für den Zeitfaktor bei der Strahlenwirkung auf Tumoren entscheidend sind, müssen die bereits mehrfach besprochene Abhängigkeit von der LET haben. Nur wenige in vivo-Studien liegen vor. Eine Reihe von Autoren interessierte sich im Hinblick auf die Therapie für die Unterschiede des Zeitfaktors bei konventioneller Röntgenbestrahlung und bei Einwirkung hochenergetischer Quanten- und Elektronenstrahlung. CLEMENS et al. haben die Wirkung von 50 kV-Röntgenstrahlen

und den Betastrahlen eines  $^{90}\text{Sr}$ -Präparats bei Einzeitbestrahlung und 3-, 5- und 7facher Fraktionierung mit je 48 Std Intervall hinsichtlich der Hautreaktion am Rattenschwanz und hinsichtlich der Wirkung auf das Ascitescarcinom der Maus untersucht. Die Reaktion nahm mit zunehmender Fraktionierung ab, wobei Elektronenstrahlung im ganzen etwas schwächer wirkte. Der Ablauf der Reaktion nach Röntgenbestrahlung war jedoch schneller. Der Nekrosegrad wurde bei Fraktionierung geringer, bei Elektronen- noch mehr als bei Röntgenstrahlen, und bei 7facher Fraktionierung der Elektronenbestrahlung bildet sich überhaupt keine Nekrose mehr aus. Die Heilung des Ascitescarcinoms war nach Elektronenbestrahlung im ganzen langsamer; jedoch machte sich in bezug auf die gleichzeitige Schonung der Haut bei Elektronen ein günstigerer Fraktionierungseffekt bemerkbar. In dieser Arbeit finden sich auch Hinweise auf andere Beiträge zum Thema. Bei solchen Vergleichen ist zu berücksichtigen, daß bei einer Betatronbestrahlung auch ein Ultrafraktionierungseffekt auftreten kann. Es sei auf Zusammenstellungen von WITTE, CLEMENS, KEPP und auf die Ausführungen auf S. 329 verwiesen.

Auf Grund unserer generellen Erfahrungen, daß bei vielen Objekten die Erholungsfähigkeit gegenüber locker ionisierenden Strahlen ausgeprägter ist, könnte man annehmen, daß für hochenergetische Röntgen- und Elektronenstrahlen ein ausgeprägter Zeitfaktor besteht als für konventionelle Röntgenstrahlen. YIANNAKOPOULOS und SCHEER bestrahlten die Haut mit den Betastrahlen von  $^{90}\text{Sr}$ - $^{90}\text{Y}$ -Präparaten und zeigten, daß eine Dosisleistung von 4400 R/min nicht nur bei Einzeitbestrahlung, sondern auch bei einer über 5 Tage ausgedehnten Fraktionierung wirksamer ist als eine Dosisleistung von 180 R/min. KEPP (1952) fand, daß sich für schnelle Elektronen ein Zeitfaktor bereits in einem Dosisleistungsbereich bemerkbar macht, in dem für klassische Röntgenstrahlen die Wirkung konstant ist.

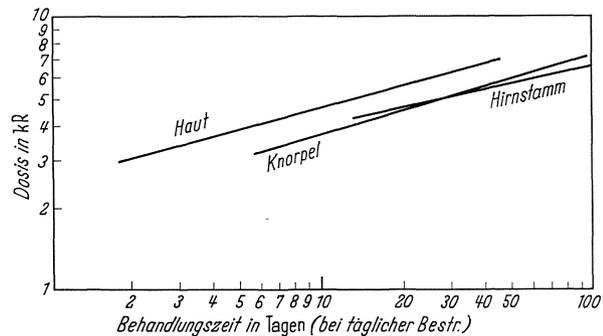


Abb. 28. Zulässige Dosen für normale Gewebe nach L. DUSAULT. Werte für Haut: ELLIS, JOLLES und MITCHELL, PATERSON; Hirnstamm: BODEN; Knorpel: BACLESSE

#### d) Klinische Beobachtungen über den Zeitfaktor an Tumoren

STRANDQUIST hatte seine Ausführungen vor allem auf die Beobachtungen von Hautreaktionen, die Rückbildung von Hautcarcinomen und die dabei auftretenden Schäden gestützt. In der Folge wurden vor allem Heilungsergebnisse und Fälle von Schädigungen bei malignen Tumoren ausgewertet.

NIELSEN wertete im Anschluß an STRANDQUIST die Ergebnisse an lymphoepithelialen Tumoren des Epipharynx aus und fand eine lineare Beziehung zwischen Dosis und Fraktionszahl (Abb. 29). Überträgt man diese Werte auf ein logarithmisches Raster, so findet man mit zunehmender Fraktionierung verstärkt steigende Endwerte. Würde man, entsprechend der logarithmischen Darstellung, bezogen auf die stärkere Fraktionierung, mit geradlinigem Kurvenverlauf dosieren, so wäre eine Unterdosierung mit Rezidiven die Folge. Diese Folgerungen sind aber wegen der geringen Zahl von Beobachtungen unsicher.

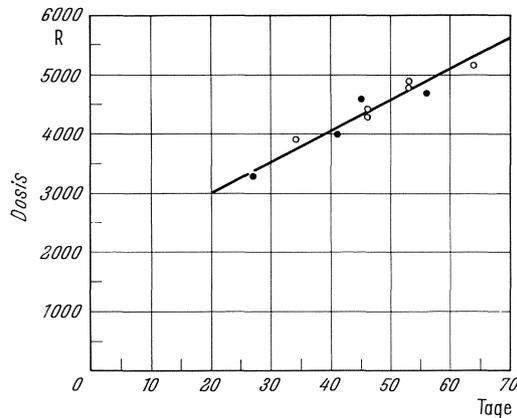


Abb. 29. Tumordosis und Gesamtbestrahlungszeit bei zehn lokal symptomfreien Fällen von Lymphoepitheliom des Nasopharynx. (Nach NIELSEN)

COHEN (1949, 1952) hat in mehreren Mitteilungen, in Anlehnung an die Untersuchungen von STRANDQUIST, Winkelkoeffizienten für Haut- und Epidermoidcarcinome und für die Hautreaktion aufgestellt und findet das bemerkenswerte Ergebnis, daß sich die Werte für die Hautreaktion und für die Epidermoidcarcinome wesentlich unterscheiden, indem der Wert für die Hautreaktion 0,33, für die Carcinome 0,22 beträgt. Dies könnte für die Fraktionierung sprechen.

COHENs Untersuchungen führten zu einem weiteren auffallenden Ergebnis, daß nämlich bei Mammacarcinomen die Dosis für einmalige Bestrahlung wesentlich tiefer liegt als bei Plattenepithelcarcinomen. Eigenartigerweise ergeben sich aber für Brustkrebs gleiche Winkelkoeffizienten wie für Hautreaktionen, nämlich ein  $n$  von 0,34. Konsequenterweise folgert COHEN, daß es beim Brustcarcinom keinen Sinn hat, über lange Zeit zu fraktionieren. Er verlangt — weil die Differenz zwischen den Dosen für Hautreaktion und Mammacarcinom nur gering ist — eine äußerst exakte Dosierung. Man könnte aber auch sagen, daß es noch unentschieden ist, ob kurz- oder langfristig zu fraktionieren ist, d.h. daß man nur deshalb größere Freiheiten in bezug auf die Fraktionierung besitzt, weil die vorliegenden Daten noch zu wenig genau sind.

Auch ANDREWS und MOODY haben die Werte verschiedener Autoren (HALE und HOLMES, JACOBSEN, STRANDQUIST, GARCIA, PATERSON) unter Berücksichtigung der RBE untersucht und fanden bei modifizierter Strandquist-Darstellung für Plattenepithelcarcinome ebenfalls die höheren Werte von  $n=0,32$  (Abb. 30).

NOLAN et al. und NOLAN und DUSAULT untersuchten die Ergebnisse bei Uteruscarcinomen und ermittelten daraus eine optimale Dosis, die bei  $6000 R \pm 1000 R$  in 8 Wochen liegt. DUSAULT fand später (1956) bei vergleichenden Untersuchungen über den Erholungsfaktor der Haut Werte für  $n$ , die zwischen 0,22 und 0,33 schwanken, also Dosischwankungen von ungefähr 50%. Für Larynxcarcinome wurde die gleiche Neigung der Reduktionswerte im logarithmischen Raster wie für die Hautreaktion festgestellt. Man sollte demnach den Schluß ziehen, daß es keinen Sinn hat zu fraktionieren, was allerdings der klinischen Erfahrung widerspricht.

Zu ähnlichen Werten kommt auch GARCIA auf Grund von 703 durchbehandelten Cervixcarcinomen. Seine auf einen Tag und eine Bestrahlung reduzierte Dosis beträgt 2575 R. Der Winkelkoeffizient liegt bei 0,23, also nahe demjenigen von STRANDQUIST.

ANDREWS und MOODY haben die Streubreite der für die Behandlung verschiedener Tumoren notwendigen Dosen untersucht und erhalten einen Streubereich von  $\pm 20\%$  um die modifizierte Strandquist-Gerade, in dem 82% der Werte liegen (Abb. 31). Aus praktischen Gründen interessiert besonders der für die einmalige Bestrahlung von Larynxcarcinomen erhaltene Wert von 2700 R (s. S. 337).

Exakte Untersuchungen über die Ansprechbarkeit der Schleimhäute mit dem Versuch einer quantitativen Aussage sind mit den bisherigen Methoden kaum möglich. FLETCHER hat aber eine sehr aufschlußreiche Kurvenschar publiziert, bei der — mit  $^{60}\text{Co}$ -Bestrahlung und Bestrahlungszeiten von 4—6 $\frac{1}{2}$  Wochen — die Tumorrückbildung in Abhängigkeit von der Schleimhautreaktion verglichen wird (Abb. 32a—c). Man erkennt einwandfrei, daß mit kräftigerer Schleimhautreaktion die Tumorrückbildung viel schneller und vollständiger ist als bei längerfraktionierter Bestrahlung und geringerer Schleimhautreaktion.

#### e) Kritik der klinischen Zeitfaktorbetrachtungen

ZUPPINGER zog aus der Beobachtung, daß bei sehr starker Fraktionierung schwere Spätveränderungen auftreten, auch ohne eine exsudative Hautreaktion, den Schluß, daß für die Aufstellung der Zeitfaktoren nicht die Frühreaktionen im Sinn des Erythems und der exsudativen Hautreaktion, sondern die Spätveränderungen maßgebend sein müssen. Auch hier sind — genau wie bei der exsudativen Reaktion oder beim Erythem — die Kriterien zur Beurteilung leider relativ wenig exakt. Trotzdem ließ sich einwandfrei eine Abhängigkeit der Spätveränderungen von der Fraktionierung feststellen. Die Werte wurden vor allem bei Pharynx-tumoren, Struma maligna und Geschwülsten im Bereich des Gesichts gewonnen. Bei Fraktionierung auf 20, 30 oder bis 40 Tage zeigten sich deutliche Differenzen. Der Autor äußerte Bedenken, die Kurve (Abb. 27) auf die Zeit Null, d.h. auf die einmalige Höchstdosis zu extrapolieren, weil bei Fraktionierung auf wenige Tage keine Beobachtungen mehr vorlagen und grundsätzliche Bedenken bestanden, die Veränderungen bei einmaliger Bestrahlung denjenigen bei Fraktionierung gleichzusetzen.

STRANDQUIST übertrug die Werte von ZUPPINGER in sein Kurvenschema. Es zeigte sich eine ziemlich starke Streuung, doch glaubte der Verfasser, die Kurven als Bestätigung seiner Auffassung interpretieren zu können, weil sie, unter Annahme einer beträchtlichen Streubreite, in der Fortsetzung der Geraden seiner Versuche lagen. Analysiert man die Werte etwas genauer, so fällt auf, daß bei stärkerer Fraktionierung deutlichere

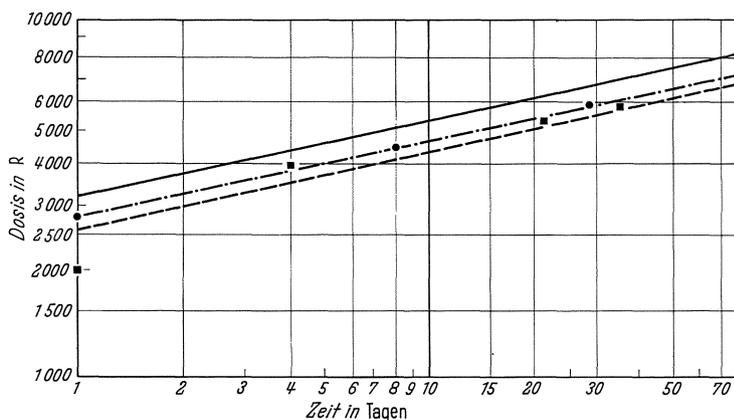


Abb. 30. Dosis-Zeit-Beziehung bei der Tumorthherapie nach ANDREWS und MOODY. — Modifizierte Darstellung für Hautkarzinome (STRANDQUIST); ● - - - - - Plattenepithelkarzinome nach HALE und HOLMES bei einmaliger Dosis, bei 7- und 28tägiger Fraktionierung nach JACOBSEN; - - - - - Regressionskurve von C. GARCIA; ■ Werte von PATERSON

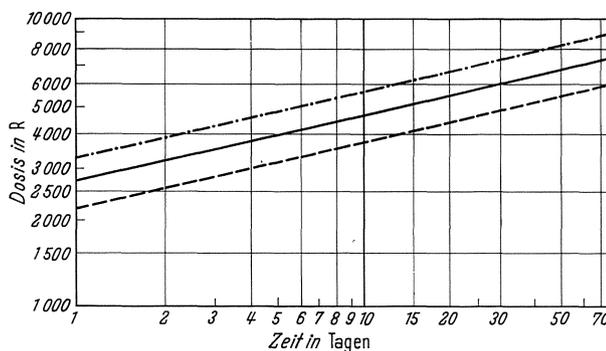


Abb. 31. Dosis-Zeit-Beziehung bei der Röntgentherapie nach ANDREWS und MOODY

Erholungsfaktoren auftreten. Die Werte stärkerer Fraktionierung liegen mehr als 20 % über den nach STRANDQUISTs Angaben zu erwartenden. Versucht man, die Werte in ein logarithmisches Raster einzutragen und sie kurvenmäßig darzustellen, so kommt man auf einen Wert von  $n$ , der bei 0,3, also ähnlich demjenigen von ANDREWS und MOODY,

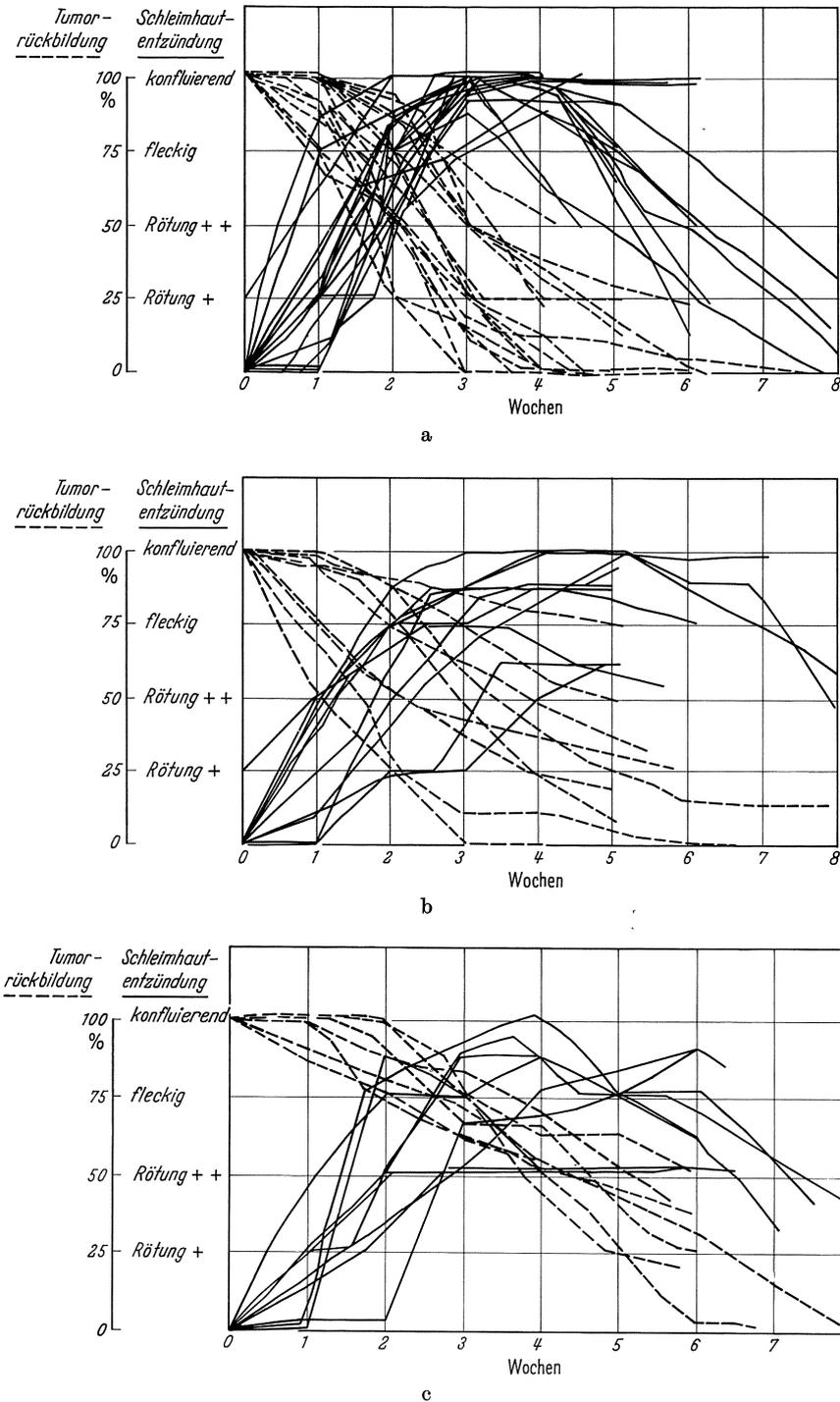


Abb. 32a—c. Tumorrückbildung in Abhängigkeit von der Schleimhautreaktion bei Fraktionierung über 4—6 $\frac{1}{2}$  Wochen. (Nach FLETCHER)

liegt und nicht bei 0,22 wie bei STRANDQUIST. 1949 hat ZUPPINGER deshalb Bedenken dagegen geäußert, die Beobachtungen von STRANDQUIST auf Fraktionierungen über mehr als 30 oder 40 Tage anzuwenden, weil es zu starken Unterdosierungen kommen muß. JOLLES und MITCHELL äußerten dieselben Bedenken gegen eine Weiterführung der Kurve gegen den Nullpunkt, weil auch sie keine Gleichheit der Veränderungen bei einmaliger Bestrahlung und Fraktionierung voraussetzen. Ihre Werte, in Abhängigkeit von verschiedenen Feldgrößen, sind für die Praxis so wertvoll, daß wir sie in Tabelle 4 wiedergeben (Abb. 33).

Eine weitere Beobachtung aus dem Radiumhemmet mahnt zudem zu großer Vorsicht, die Strandquistsche Interpretation bei Fraktionierung generell anzuwenden. JACOBSEN hat die Reaktionen von Pharynx-tumoren in bezug auf Heilung und Schädigung in Abhängigkeit von der Dosis untersucht. Er fand bei einer Fraktionierung auf 30 Tage einen optimalen Wert von 6000 R. Steigerte er die Dosen nur um 10%, so traten in allen Fällen schwere Schädigungen auf. Nimmt man aber für die Strandquistschen Kurven Schwankungsbreiten von bis zu 20% an — wie sie auch von ANDREWS und MOODY angenommen wurden — so kann man bereits in den Bereich schwerer Schädigungen geraten.

Wegen praktisch wichtiger Folgerungen müssen wir diese Frage weiterhin erörtern, besonders im Hinblick auf die unverkennbare Tendenz, das Zeitfaktorproblem zu simplifizieren.

STRANDQUIST hat bei seinen Beobachtungen an der Haut die Ergebnisse bei Einzeitbestrahlung und fraktionierter Technik bis etwa 14 Tage verglichen und kommt zum Schluß, daß sich „klinisch fast genau dieselben biologischen Wirkungen mit Einzeitbestrahlung wie mit fraktionierter Behandlung bei verschiedener Gesamtdauer erzielen lassen, wenn nur die Dosis richtig gewählt wird“. Dies mag wohl zutreffen, wenn man

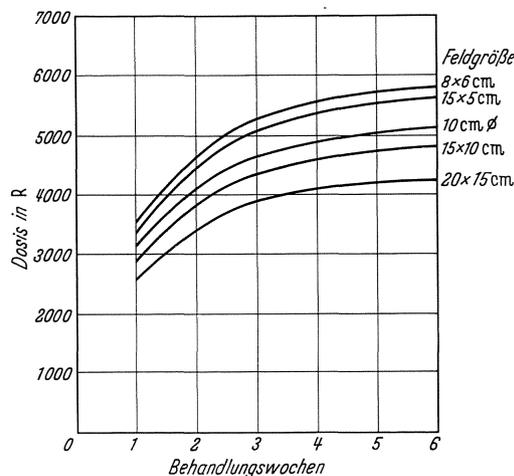


Abb. 33. Kurven der optimalen Toleranzdosis in Abhängigkeit von Feldgröße und Behandlungsdauer. (JOLLES und MITCHELL)

Tabelle 4. Toleranzdosen in Abhängigkeit von verschiedenen Feldgrößen (nach JOLLES und MITCHELL)

Duration of Treatment	Tolerance Dose—r					
	7 cm dia	8 x 6 cm	15 x 5 cm	10 cm dia	15 x 10 cm	20 x 15 cm
1 Woche	3430	3460	3350	3050	2850	2550
2 Wochen	4550	4580	4450	4050	3800	3400
3 Wochen	5160	5200	5050	4600	4300	3850
4 Wochen	5450	5500	5325	4850	4550	4050
5 Wochen	5600	5660	5500	5000	4700	4175
6 Wochen	5700	5750	5575	5075	4750	4250

mit kleinen Feldern und geringem Volumen (Kontaktbestrahlung) bestrahlt, wie dies STRANDQUIST getan hat. Es ist dann aber kaum mehr einzusehen, weshalb man überhaupt fraktionieren sollte. Hier müssen die schweren Bedenken aller Kenner der Entwicklung der fraktionierten Methode einsetzen. Betrachtet man die Werte zur Sterilisation eines Larynx- und Pharynx-tumors, wie sie sich aus der Regressionsgeraden mit einmaliger Dosis ergeben, so findet man nach ANDREWS und MOODY eine Dosis von 2700 R. Als Mahnung seien die Beobachtungen von JÜNGLING erwähnt: selbst die Applikation von 100—110% der Hauterythemdosis (600 bis höchstens 900 R konventioneller Strahlung) bedeuten für den Kehlkopf eine große Gefahr. Steigern wir diese Dosis auf mehr als das Doppelte, so wird ohne Zweifel eine Larynxnekrose entstehen. STRANDQUIST schrieb

zwar später, er meine nicht, daß eine fraktionierte Dosis durch eine Einzeildosis ersetzt werden könne und wolle den Begriff der kumulierten Dosis nur als die einfachste Art, den Schaden auszudrücken, angewandt wissen. Er sagt, daß eine Auseinandersetzung über Einzeit- und fraktionierte Bestrahlung aus dem Rahmen seiner Arbeit falle, und daß jedes Verfahren sein bestimmtes Anwendungsgebiet habe, begründet jedoch nicht, wann dieses oder jenes Verfahren anzuwenden sei. Aus seinen Ausführungen und auch aus

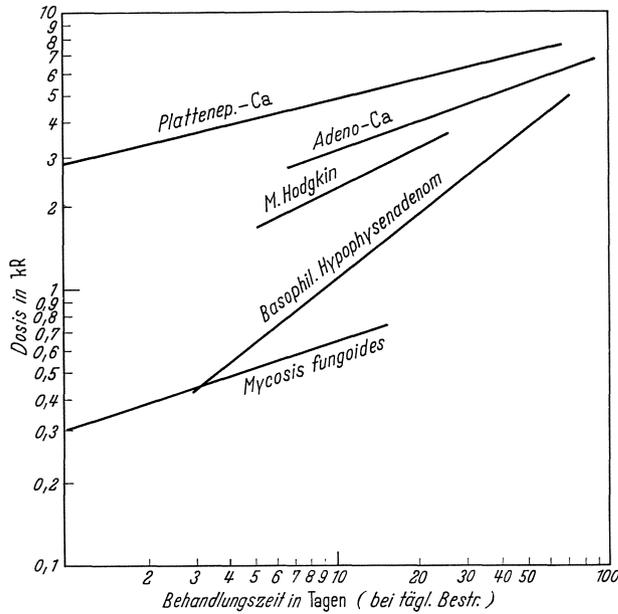


Abb. 34. Zeitfaktor bei verschiedenen Tumoren.  
(Nach LUCILLE DUSAULT)

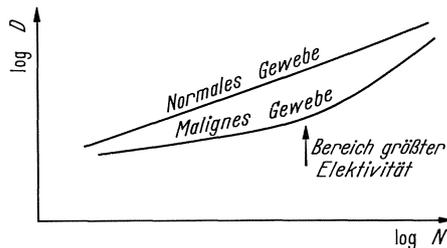


Abb. 35. Toleranzdosis und kurative Dosis in Abhängigkeit von der Anzahl der Einzelfraktionen; ein hypothetischer Fall, in dem sich ein Bereich maximaler Elektivität ergibt

herigen Beobachtungen größer wird. Dabei ist es, wie bereits bemerkt, keineswegs sicher gestellt, daß der Reaktionsverlauf bei Darstellung im doppellogarithmischen Raster tatsächlich einer Geraden entspricht.

Unter der vereinfachenden Annahme, daß in den unter gewöhnlichen Therapiebedingungen herrschenden Verhältnissen die Kurve für normale Gewebe geradlinig ansteigt, müßte bei ebenfalls geradlinigem aber flacherem Verlauf der Zeitfaktorkurve des malignen Gewebes mit zunehmender Fraktionierung die Situation immer günstiger werden. Dies widerspricht aber jeder Erfahrung. Der flachere Verlauf der „Regressionsgeraden“ bei einigen malignen Tumoren ist einwandfrei gezeigt worden. Die Auflösung dieses Widerspruchs kann offensichtlich nur durch die Annahme geschehen, daß bei

zahlreichen späteren Publikationen anderer Autoren gewinnt man den Eindruck, daß das Ausmaß der Fraktionierung entlang der Geraden beliebig gewählt werden könne. Unserer Auffassung nach ist dies aber nicht gestattet.

Wir glauben, daß man konsequenterweise der Diskussion dieser Fragen nicht aus dem Weg gehen darf. Allein schon der Vergleich der Ähnlichkeit der Reaktionen bei Einzeit- und fraktionierter Bestrahlung unter den Bedingungen von STRANDQUIST und den grundlegenden Differenzen bei Larynxbestrahlungen zeigt, daß eine generelle Übertragung der Strandquistschen Folgerungen auf die Klinik der fraktionierten Bestrahlung unstatthaft ist. Wenn der Winkelkoeffizient für die Reaktion der normalen Gewebe und für die Tumorrückbildung gleich ist, müßte man folgern, daß eine Fraktionierung sinn-

los ist. Spätere Untersuchungen haben — wie erwähnt — gezeigt, daß sich die Winkelkoeffizienten der Reaktionen von normalen Geweben und von Tumoren tatsächlich unterscheiden. Eine Fraktionierung ist unter gewissen Bedingungen also auch theoretisch zu begründen. Nach LUCILLE DUSAULT unterscheiden sich auch die Winkelkoeffizienten verschiedener Tumorarten (Abb. 34), selbst bei Berücksichtigung der großen Streubreite der mitgeteilten Resultate, sehr deutlich. Wir müssen bedenken, daß selbst Abweichungen von 10% von der optimalen Dosis schon zu schweren Schädigungen führen können, aber die Streubreite der bis-

weiterer Fraktionierung der Zeitfaktor für die malignen Geschwülste steiler ansteigt als für normale Gewebe. Konsequenterweise müssen wir zur Auffassung gelangen, daß es eine optimale Fraktionierung gibt. Diese Überlegungen sind schematisch in Abb. 35 angedeutet.

Mit dieser kritischen Einstellung wollen wir nicht sagen, daß die Bemühungen, Zeitfaktoren für die Reaktionen der normalen Gewebe und die Tumorrückbildung zu ermitteln, wertlos gewesen sind. Es sind ihnen wichtige Ergebnisse zu verdanken. Wir müssen aber wissen, daß die Streubreite der Werte sehr groß ist und die Zahlenwerte nur in erster Annäherung Gültigkeit haben können. Die in der Folge der Bestrahlung auftretenden Reaktionen sind durch noch weitgehend unbekannte Parameter bestimmt. Dies gilt vor allem für die individuellen Empfindlichkeitsdifferenzen, die von ZUPPINGER mit 10—15% veranschlagt werden, also ebenfalls von einer für die Erzeugung eines Schadens kritischen Größe sind.

*Somit ist konsequenterweise das formale Schema nur eine Richtlinie, die Reaktion des Patienten aber maßgebend für die individuelle Dosis.*

### 5. Verschiedene Fraktionierungsverfahren

An zahlreichen Kliniken hat sich zwischen 1940 und 1950 eine Behandlung eingebürgert, bei der in 4—6 Wochen eine Dosis von durchschnittlich 6000 R konventioneller Röntgenstrahlen oder das Dosisäquivalent für Hochvoltstrahlung appliziert werden. Wir möchten sie als *Standard-Fraktionierungsverfahren* bezeichnen. Diese Behandlung hat den entschiedenen Nachteil, besonders bei Bestrahlung im Gebiet des Larynx, daß ziemlich schwere Reaktionen auftreten, die oft nicht ungefährlich sind, auf alle Fälle aber eine erhebliche Belastung für den Patienten bedeuten. Zum Teil kommt es zu deutlichen Spätveränderungen in Form von Trockenheit, Atrophie und Narbenbildung der Schleimhäute. Die Hautveränderungen sind mehr lästig als gefährlich und treten bei Hochvoltphotonenbestrahlung stark zurück. Ulcerationen kommen nur ausnahmsweise vor, meistens bei unrichtiger Technik oder bei sehr fortgeschrittenen Geschwülsten. Sehr unangenehm und mit erheblicher Letalität verbunden war und ist noch die Komplikation der Kiefernekrose.

BACLESE hat versucht, durch eine neue Technik mit sehr langer Fraktionierung über 8, 10—12 Wochen und Steigerung der Dosis auf über 8000 R am Herd, sowohl die lästigen und teilweise gefährlichen Frühreaktionen zu vermeiden als auch die Zahl der Spätkomplikationen herabzusetzen. Im Bereich des *Pharynx* war die Steigerung auf hohe Dosen nur möglich, indem kleine Felder gewählt wurden, wobei das einzelne Feld vielfach nur jeden 2. Tag belastet wurde. Er konnte mit seiner Technik beim *Brustkrebs* bemerkenswerte Ergebnisse erzielen, die den operativen Resultaten gleichzusetzen sind. Beachtenswert sind auch seine Ergebnisse beim *inneren Larynxcarcinom*. Es bleibt hierbei allerdings fraglich, ob die Resultate denjenigen mit der üblichen auf 4—6 Wochen fraktionierenden Behandlungsmethode gleichzusetzen sind. Eine Analyse der Ergebnisse bei den *Hypopharynxtumoren* zeigt bei Fraktionierung über 8 Wochen (Tabelle 5) Resultate, die zum mindesten den Spitzenergebnissen der üblichen fraktionierten Therapie nachstehen. Deswegen wird bei Plattenepithelcarcinomen von den meisten Therapeuten der Standpunkt vertreten, daß das Optimum der lokalen Wirkung erzielt wird, wenn

Tabelle 5. *Fünfjahresresultate bei Pharynxumoren in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdauer (nach BACLESE)*

Bestrahlungsdauer in Wochen	Zahl der Fälle	Symptomfrei	%	Differenz
bis 2	98	2	2,0	} nicht gesichert } gesichert } nicht gesichert
2—4	112	11	9,8	
4—6	153	27	17,6	
6—8	167	28	16,8	
8—10	182	13	7,1	
10—12	251	14	5,6	

Die Werte von 2—4 und 4—6 Wochen wurden nicht verglichen, weil sie heute kein Interesse mehr beanspruchen.

eine mittelstarke Reaktion der Schleimhaut oder der Haut von 2—4 Wochen Dauer auftritt.

Eine Modifikation der Standard-Fraktionierungsmethode über 4—6 Wochen ist an vielen Orten gebräuchlich: gegen Abschluß der Bestrahlung werden die Einzeldosen herabgesetzt mit gleichzeitiger Verkleinerung der Felder. Die Verkleinerung der Felder ist möglich, weil periphere Partien ohne makroskopischen Tumorbefall zur Sterilisation nicht die volle Dosis benötigen. Eine Herabsetzung der Einzeldosen wurde von uns damit begründet, daß die Sensibilität der Haut und der Schleimhäute im Höhepunkt der Reaktion, wie bei Entzündungen infektiöser Ätiologie, erhöht wird. Wenn das Tumorbett reaktiv entzündlich reagiert, ist möglicherweise auch der Tumor selbst sensibler, so daß die anfängliche Einzeldosis jetzt zu hoch ist. ZUPPINGER glaubt, durch dieses Verfahren die Zahl der Komplikationen herabsetzen zu können.

Sehr aufschlußreich war der Versuch einer Dosissteigerung gegen Ende der Bestrahlung. Mit erhöhter Sensibilität bei sich einstellender Reaktion besteht die Möglichkeit, daß eine Steigerung der Dosis mit einem letzten Schlag zur verbesserten Heilung führen könne. Von dieser Überlegung ausgehend, hat ZUPPINGER 1943 bei einer Reihe von Patienten mit Pharynx-tumoren, die als hoffnungslos betrachtet werden mußten, eine Steigerung der Einzeldosis um 30—50 % vorgenommen, ohne Steigerung der Gesamtdosis. Das Resultat war sehr schlecht: Es traten keine vermehrten Heilungen, sondern in vielen Fällen perichondritische Symptome ein.

Der Versuch einer *extremen Fraktionierung* wurde 1943 von ZUPPINGER, ohne Kenntnis der Versuche von BACLESSE, gemacht. Er verabreichte 45—65 R zweimal am Tag und behandelte während 60—80 Tagen mit Herddosen von 6500—10000 R. Es traten ebenfalls keine nachteiligen Reaktionen auf. Die Frühergebnisse waren verblüffend gut, doch stellten sich viel mehr Rezidive als bei der üblichen Therapie ein, so daß dieses Behandlungsverfahren aufgegeben wurde.

Schließlich sei noch die früher vielfach angewandte *Zweiteilung der täglichen Dosis* kurz besprochen. Sie ist umständlich und steht in Widerspruch zu den meisten Auffassungen (McWHIRTER, WACHSMANN u. v. a. m.). Wenn aber die experimentelle und auch klinisch untermauerte Auffassung richtig ist, daß bei einem Intervall von mehr als 5 Std schon eine deutliche Erholung der Haut und der übrigen normalen Gewebe einsetzt und die Regressionsgerade für die Tumoren steiler verläuft als für die Hautreaktion, dann wäre die Unterteilung doch sinnvoll. ZUPPINGER wendet sie klinisch bei kritischen Fällen an, d. h. bei Larynx- und Hypopharynx-tumoren, wenn der Tumor ausgedehnt ist und schon Anhaltspunkte für perichondritische Veränderungen vorliegen. Er vermutet, daß die Unterteilung der täglichen Dosis wesentlich dafür verantwortlich ist, daß weniger perichondritische Veränderungen und damit auch weniger Spätveränderungen auftreten (s. Band XIX).

Es gibt selbstverständlich noch sehr viele andere Fraktionierungsmöglichkeiten: Das Intervall, die Dosis oder beide zusammen können variiert werden. Bei palliativen Bestrahlungen hat BOTSTEIN in einer größeren Serie nur jeden 2. Tag bestrahlt und günstige Effekte erzielt. Vergleichende Studien wurden von SAMBROOK et al. bei Hautcarcinomen und Mammatumoren vorgenommen. Bei Hautcarcinomen erzielten sie gute Resultate, wenn sie fünfmal 200 R pro Woche applizierten, bei Brusttumoren erwies sich aber die Behandlung mit zweimal 500 R pro Woche als günstiger.

In neuester Zeit nahm SCHUMACHER bei palliativer Bestrahlung der Lungencarcinome mit schnellen Elektronen nur eine Bestrahlung wöchentlich mit 1500 R vor und erzielte eine bedeutende Verlängerung der durchschnittlichen Überlebensdauer.

Schließlich kann auch in *Serien* behandelt werden. Im allgemeinen erweist sich eine Unterbrechung der Behandlung als ungünstig. Wird die Indikation weit gestellt, so ist bei der kurativen Standardbestrahlung wegen Verschlechterung des Allgemeinzustandes vielfach eine Unterbrechung nötig. Bei gefährdeten Patienten wurde nur bis zur beginnenden Schleimhautreaktion bestrahlt, was im allgemeinen bei einer Dosis von 4000 bis

5000 R am Herd erreicht wurde. Es folgte eine Pause von einem Monat, oder zum mindesten so lange, bis die Reaktion abgeklungen war. Anschließend wurde ein Zusatz von rund 3000 R am Herd gegeben. Obwohl es sich dabei um eine Auswahl schlechten Materials handelte, wurde bei Hypopharynx-tumoren (1959) die gleiche Zahl von lokalen Heilungen erzielt. Das Gesamtergebnis lag nur wenig unter demjenigen des Gesamtmaterials. Da die Zahl der Beobachtungen aber noch zu klein ist, möchte ZUPPINGER diese Behandlungsmethode mit Unterbrechungen vorläufig noch für Fälle mit schlechtem Allgemeinbefinden reservieren, bei denen man keine stärkere Reaktion wagen darf, bei denen die Reaktion spät auftritt und bei denen man praktisch fast sicher weiß, daß mit einer Serie keine Heilung erzielt werden kann.

Naheliegend ist es, die Bestrahlung jeweils in oder vor das Mitosemaximum zu legen und dabei möglichst die sensibelste Phase zu erfassen. Diese Idee geht von ALBERTI und POLITZER aus und wurde von KOLLER und SMITHERS, SPEAR und GLÜCKSMANN und vielen anderen aufgegriffen und auf ihre praktische Durchführbarkeit untersucht. Die verschiedenen darauf sich stützenden Methoden haben bisher aber zu keiner deutlichen Verbesserung der Ergebnisse geführt. Neuerdings setzten sich, zunächst auf der Beobachtung aufbauend, daß Patienten mit Behandlungsunterbrüchen bessere Ergebnisse aufwiesen als bei normalen 4—6wöchigen ununterbrochenen Fraktionierungen, SCANLON und SAMBROOK für eine neue zeitliche Verteilung ein, die sie als Split-dose Bestrahlungsmethode bezeichnen. Sie teilen die Dosen in 2—3 kleinere Serien (SCANLON) oder in größere Einzeldosen mit wöchentlicher Dosis (SAMBROOK) auf, zunächst mit dem Ziel, die empfindlichen Zellphasen besser zu treffen. Dieser zeitlichen Unterteilung der Dosen haftet noch ein großes Maß von Unsicherheit an, aber ihre Früherfahrungen sind günstig.

Als weiteres Extrem sei die Rückkehr zu hohen Dosen (ATKINS) mit Hochvoltstrahlen (22,5 MeV) bei Mammacarcinomen mit einer Totaldosis von 2500 R in zwei Sitzungen in 1 Woche erwähnt, mit guten Frühergebnissen aber doch auffallend starken Strahlenfolgen. Bei Pharynx-tumoren gibt derselbe Autor bei sehr fortgeschrittenen Fällen 1000 R in wöchentlichen Abständen bis total 4000 R mit guten palliativen Ergebnissen. Hier wie dort müssen bis zur möglichen Beurteilung des endgültigen Wertes der Methoden weiterhin Berichte abgewartet werden.

Die Sensibilität kann auch in Abhängigkeit von der Sauerstoffzufuhr eine Änderung erfahren. Weist der Tumor eine bessere Durchblutung auf, dann sollte er sensibler sein, weil die Sauerstoffspannung im Gewebe zunimmt. Nach Beginn der Bestrahlung sinkt der Sauerstoffdruck mit nachfolgender besserer Sauerstoffzufuhr. Entsprechend dem Vorschlag von GRAY und GRAY et al. sollte man nach der ersten Bestrahlung die günstigste Phase abwarten, doch sind die zeitlichen Verhältnisse noch keineswegs klar-gestellt.

Die Übersicht über die klinischen Erfahrungen zum Zeitfaktor zeigt, daß anscheinend bei vielen Geschwülsten eine Fraktionierung über 30—50 Tage zu den besten Ergebnissen führt. Es liegen aber Hinweise vor, daß bei bestimmten Geschwulstarten andere Fraktionierungsarten günstiger sind. Leider fehlen exakte Methoden, um am klinischen Material die Auswirkungen der verschiedenen Fraktionierungen zu messen, so daß wir bisher allein empirisch den besten Weg suchen müssen. Solange wir keine besseren Methoden besitzen, sind wir gezwungen, die Dosis approximativ nach den bekannten Verfahren zu berechnen, die Reaktion der Patienten genauestens zu beobachten und die Dosierung im Einzelfall individuell auf Grund der festzustellenden reaktiven Veränderungen am Tumor und an den normalen Geweben zu bestimmen.

Alle diese Ausführungen zeigen, daß wir noch weit davon entfernt sind, klare eindeutige Aussagen über die besten zeitlichen Dosisverteilungen in der Strahlenbehandlung der Tumoren machen zu können. Wir haben den Eindruck, in einer Zeit zu leben, in der die bisher als richtig anerkannten Basen in Zweifel gezogen werden, wobei man sich eifrig bemüht zu exakteren Erkenntnissen zu gelangen. Das den einzelnen Zentren zur Verfügung stehende Material ist zu klein und zu uneinheitlich, um in absehbarer Frist

eine Lösung auch nur der dringenden Fragen zu ermöglichen. Dem Geist der Zeit entsprechend müssen sich hier, wie schon auf anderen Gebieten der Tumorbekämpfung, größere Arbeitsgruppen zusammenschließen, um mit gezielten Großversuchen die Lösung der Zeitfaktorprobleme zu erleichtern und zu beschleunigen. Einen ersten Ansatz finden wir bereits in England, indem die Working Party of the British Institute of Radiology eine Umfrage an zahlreiche strahlentherapeutische Zentren gemacht hat, ob sie bereit wären, an einem klinischen Versuch teilzunehmen.

Zunächst sollen zwei verschiedene Fraktionierungstypen untersucht werden. Die bisher übliche Bestrahlung an 5 Tagen pro Woche soll mit einer 3mal wöchentlichen Bestrahlung verglichen werden, wobei die Einzelfälle durch ein Zufallsverfahren ausgewählt werden. Weitere derartige Versuche sind sehr zu begrüßen.

Die Hoffnung ist nicht unbegründet, daß sich in Zukunft eine tragfähige Brücke schlagen läßt zwischen dem theoretischen und experimentellen Teil der strahlenbiologischen Erkenntnisse und der klinischen Praxis.

Wir danken Fr. Annemarie Kuftner und Fr. Helen Griesemer für ihre fleißige und sorgfältige Unterstützung bei der Literatursammlung und der Korrektur des Manuskriptes.

### Literatur

- ABELE, A.: Versuche mit rhythmischer Bestrahlung von Eiern der *Drosophila mel.* Meig. *Strahlentherapie* **67**, 293—307 (1940).
- ALBERTI, W., u. G. POLITZER: Über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf die Zellteilung. *Arch. mikr. Anat.* **100**, 82—109 (1923); **103**, 284—307 (1924).
- — Das zweckmäßige Intervall bei mehrzeitiger Bestrahlung maligner Tumoren. *Strahlentherapie* **21**, 535—549 (1926).
- ANDREWS, I. R., and J. M. MOODY: The time-dose relationship in radiotherapy. *Amer. J. Roentgenol.* **75**, 590—596 (1956).
- ANDREWS, J. R., and T. O. COPPEDGE: Dose-time relationship for cure of squamous cell carcinoma. *Amer. J. Roentgenol.* **65**, 934—939 (1951).
- ATKINS, H. L.: Massive dose technique in radiation therapy of inoperable carcinoma of the breast. *Amer. J. Roentgenol.* **91**, 80—89 (1964).
- Massive single dose weekly fractionation technique in treatment of head and neck cancer. *Amer. J. Roentgenol.* **91**, 50—60 (1964).
- AUERBACH, R.: Effects of single and fractionated doses of X-rays on mouse embryos. *Nature (Lond.)* **177**, 574 (1956).
- AURAND, K.: Fraktionierte Ganzkörperbestrahlung der weißen Maus. *Fortschr. Röntgenstr.* **81**, Beih. 37, 50—51 (1955).
- BACHOFER, C. S., and M. E. GAUTEREAUX: Bioelectric response in situ of mammalian nerves exposed to X-rays. *Amer. J. Physiol.* **198**, 715—717 (1960).
- BACLESSE, F.: L'étalement ou le „fractionnement“ dans la roentgentherapie seule des epitheliomas du pharynx et du larynx, de l'uterus et du vagin, du sein. *Acta Un. int. Cancr.* **9**, 29—33 (1953).
- BACLESSE, H., and R. W. GUNDERSON: Report on 216 cases of cancer of larynx treated with x-rays only at Fondation Curie Paris. *Brit. J. Radiol., Suppl.* **3**, 22, 63—68 (1949).
- BALDWIN, W. F.: The effect of radiation dose rate on the production of eye colour mutations in the Chalcid *Dahlbomius*. *Radiat. Res.* **17**, 127—132 (1962).
- BARENSEN, G. W.: Modification of radiation damage by fractionation of the dose, anoxia and chemical protectors in relation to LET. *Proc. of the Conference on Physical Factors Modifying Response to Radiation*, ed. by H. E. WHIPPLE. New York: Annals of the Academy of Sciences, vol. 114, p. 96—114, 1964.
- , and T. L. J. BEUSKER: Effects of different ionizing radiation on human cells in tissue cultures. I. Modern technique and dosimetry. *Radiat. Res.* **13**, 832—840 (1960).
- — A. J. VERGOESEN, and L. BUDKE: Effects of different ionizing radiations on human cells in tissue culture. II. Biological experiments. *Radiat. Res.* **13**, 841—849 (1960).
- BARTH, G., D. BÖHMER u. F. WACHSMANN: Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Pausendauer bei der Strahlentherapie bösartiger Tumoren. *Strahlentherapie* **109**, 599—608 (1959).
- H. GRAEBNER u. F. WACHSMANN: Zur Frage der optimalen Pausendauer bei der Strahlentherapie schnell wachsender bösartiger Tumoren. *Strahlentherapie* **112**, 280—286 (1960).
- BATEMAN, J. L., V. P. BOND, and J. S. ROBERTSON: Dose-rate dependence of early radiation effects in small mammals. *Radiology* **79**, 1008—1014 (1962).
- —, and H. H. ROSSI: Lens opacification in mice exposed to monoenergetic fast neutrons. *Symposium on biological effects of neutron and proton irradiations*. Brookhaven National Laboratories. Internat. Atomic Energy Agency Wien 1964, vol. II, p. 321—336.
- BAUER, R.: Untersuchungen über die Einwirkung unterschiedlich verabfolgter Röntgenstrahlung auf das Knochenmark und seine Zellelemente.

- Zugleich ein Beitrag zum Zeitfaktorproblem. *Strahlentherapie* **67**, 424—501 (1940).
- BAUM, S. J.: Erythropoietic recovery and residual injury in rats exposed repeatedly to X-rays. *Amer. J. Physiol.* **200**, 155—159 (1961).
- , and E. L. ALPEN: Residual injury caused in the erythropoietic system of the rat by periodic exposures to X-radiation. *Radiat. Res.* **11**, 844—860 (1959).
- A. K. DAVIS, and E. L. ALPEN: Effect of repeated roentgen or neutron irradiation on the hematopoietic system. *Radiat. Res.* **15**, 97—108 (1961).
- BEER, J. Z., J. T. LETT, and P. ALEXANDER: Influence of temperature and medium on the X-ray sensitivity of leukemia cells in vitro. *Nature (Lond.)* **199**, 193—194 (1963).
- BELLUCCI, B.: Sull'importanza del fattore frequenza. *Ser. ital. Radiobiol. med.* **3**, 3 (1936).
- BENDER, M. A., and P. C. GOOCH: Spontaneous and X-ray induced somatic chromosome aberrations in the Chinese hamster. *Int. J. Radiat. Biol.* **4**, 175—184 (1961).
- BENSTED, J. P. M., N. M. BLACKETT, and L. F. LAMERTON: Histological and dosimetric considerations of bone tumour production with radioactive phosphorus. *Brit. J. Radiol.* **34**, 160—175 (1961).
- BERG, N. O., and M. LINDGREN: Time-dose relationship and morphology of delayed radiation lesions of the brain in rabbits. *Acta radiol. (Stockh.)*, Suppl. **167**, 5—118 (1958).
- BERRY, R. J., and J. R. ANDREWS: Quantitative relationship between radiation dose and the reproductive capacity of tumour cells in a mammalian system in vivo. *Radiology* **77**, 824—830 (1961).
- BLACKETT, N. M.: An effect of dose fractionation on the incidence of bone tumours using radioactive phosphorus. *Nature (Lond.)* **184**, 565—566 (1959).
- BLAIR, H. A.: Data pertaining to shortening of life span by ionizing radiation. US Atomic Energy Commission Unclassified Report UR-442 (1956).
- BLAU, M., u. K. ALTENBURGER: Über einige Wirkungen der Strahlen. II. *Z. Physik* **12**, 315—329 (1922).
- BLOOM, M. A.: Acquired radioresistance of the crypt epithelium of the duodenum. *Radiology* **55**, 105—115 (1950).
- BODEN, I.: Radiation myelitis of brain-stem. *J. Fac. Radiol. (Lond.)* **2**, 79—94 (1950).
- BOLAND, J.: The lethal effects of X-rays on the chick embryo: The mode and time of death and their bearing on the determination of the LD<sub>50</sub>. *Brit. J. Radiol.* **27**, 680—687 (1954).
- BOONE, I. U., and L. T. RIVERA: The effect of dose rate on the incidence of leukemia in several strains of mice. *Semiannual Report University of Los Alamos, January to June 1961*, p. 121.
- BORNSCHEIN, H., R. PAPE u. J. ZAKOVSKY: Über die Röntgenstrahlenempfindlichkeit der menschlichen Netzhaut. *Naturwissenschaften* **40**, 251 (1953).
- BOTSTEIN, CH.: Periodic fractionation of treatment. *Progress in Radiation Therapy*, Vol. II. New York and London: Grune & Stratton Inc. 1962.
- BRANDES, G.: Über die Sichtbarkeit der Röntgenstrahlen. *S.-B. preuß. Akad. Wiss.* **24**, 547—550 (1896), *Beibl. z. Ann. Physik* **20**, 718 (1896).
- BRASCH, A., W. HUBER, and A. WALY: Radiation effects as a function of dose rate. *Arch. Biochem.* **39**, 245—247 (1952).
- BRAUER, R. W., J. S. KREBS, and R. PESSOTTI: The "non-recuperable" fraction of X-irradiation injury as the basis for an experimental approach to the problem of delayed effects of ionizing radiation. In: *Progress in radiobiology*, ed. by J. S. MITCHELL, B. E. HOLMES and C. L. SMITH, p. 396—402. London: Oliver & Boyd 1955.
- BREIT, A.: Über die Wirkung fraktionierter Röntgenbestrahlung auf das Rückenmark beim Tier. *Strahlentherapie* **106**, 446—450 (1958).
- Spätschäden des Rückenmarks nach Röntgenbestrahlung. *Habil.-Schr. München* 1964.
- BREWEN, J. G.: Dependence of frequency of X-ray induced chromosome aberrations on dose rate in the Chinese hamster. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **50**, 322—329 (1963).
- British Institute of Radiology: *Brit. J. Radiol.* **36**, 382—383 (1963).
- BROOKS, P. M.: The prompt effects of whole-body irradiation at a high dose rate on the EEG of monkeys. *Radiat. Res.* **4**, 206—216 (1956).
- BROWN, J. A. H., M. J. CORP, and D. R. WESTGARTH: Effect of dose rate and fractionation of X-ray dose on acute lethality in mice. *Int. J. Radiat. Biol.* **2**, 371—383 (1960).
- BRUES, A. M., M. P. FINKEL, H. LISCO, and G. A. SACHER: Age and lymphoma incidence in CF-1 mice. *Cancer Res.* **9**, 604 (1949).
- , and G. A. SACHER: Analysis of mammalian radiation injury and lethality. In: *Symposium on radiobiology*, ed. by J. J. NICKSON, p. 441—465. New York: J. Wiley & Sons 1952.
- BURNS, J. E.: Nomogram for radiobiologically-equivalent fractionated doses. *Brit. J. Radiol.* **38**, 545—547 (1965).
- CANEGHEM, P. VAN, u. C. G. SCHIRREN: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der Röntgenstrahlenempfindlichkeit von Knochenwachstumszonen. *Strahlentherapie* **100**, 433—444 (1956).
- CANTI, R. G.: Biological effects of radium irradiation. *Acta radiol. (Stockh.)* **10**, 320—331 (1929).
- , and F. G. SPEAR: The effect of gamma irradiation on cell division in tissue culture in vitro. *Proc. roy. Soc. B* **102**, 92—101 (1927).
- CARLSON, J. G.: Immediate effects on division, morphology and viability of the cell. In: *Radiation Biology*, ed. by A. HOLLAENDER, vol. I, part II, p. 763—824. New York: McGraw-Hill Book Co. 1954.
- N. G. HARRINGTON, and M. E. GAULDEN: Mitotic effects of prolonged irradiation with low-intensity gamma rays on the *Chortophaga neuroblast*. *Biol. Bull.* **104**, 313—322 (1953).

- CARLSON M. L. SNYDER, and A. HOLLAENDER: Relation of gamma-ray dosage rate to mitotic effect in the grasshopper neuroblast. *J. cell. comp. Physiol.* **33**, 365—372 (1949).
- CARTER, T. C., M. F. LYON, and H. J. S. PHILLIPS: Induction of sterility in male mice by chronic gamma irradiation. *Brit. J. Radiol.* **27**, 418—422 (1954).
- CASARETT, A. P., and G. W. CASARETT: Comparative histological effects of acute and chronic X-irradiation on the rat testis. *Radiat. Res.* **9**, 99 (1958).
- CASPARI, E., and C. STERN: The influence of chronic irradiation with gamma rays at low dosages on the mutation rate in *Drosophila mel.* *Genetics* **33**, 75—95 (1948).
- CHAOU, H., F. WACHSMANN u. H. ROSENBERGER: Über den Einfluß der Protrahierung in der Strahlentherapie. *Strahlentherapie* **76**, 224—259 (1947).
- CLAUS, W. C.: *Radiation biology and medicine*, p. 287. Reading, Mass.: Addison-Wesley Publ. Co. 1958.
- CLEMEDSON, C. J., and A. NELSON: The adult organism. In: *Mechanisms in radiobiology*, ed. by M. ERRERA and A. FORSSBERG, vol. II, p. 95—205. New York and London: Academic Press 1960.
- CLEMENS, H., D. HOFMANN u. R. K. KEPP: Über die Auswirkung der Fraktionierung auf die Elektivität bei Bestrahlung mit schnellen Elektronen. *Strahlentherapie* **109**, 169—178 (1959).
- COHEN, L.: Clinical radiation dosage. *Brit. J. Radiol.* **22**, 160—163, 706—713 (1949).
- Radiotherapy in breast cancer. I. Dose-time in relationship: Theoretical considerations. *Brit. J. Radiol.* **25**, 636—642 (1952).
- , and T. G. KERRICH: Estimation of biological dosage factors in clinical radiotherapy. *Brit. J. Cancer* **5**, 180—194 (1951).
- COLE, L. C., P. C. NOWELL, and J. S. ARNOLD: Late effects of X-radiation. The influence of dose fractionation on life span, leukemia and nephrosclerosis incidence in mice. *Radiat. Res.* **12**, 173—185 (1960).
- CORP, M. J., and F. E. NEAL: The modification of acute mortality in mice by variation of the dose rate and the overall time of irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **1**, 256—265 (1959).
- COUTARD, H.: Zusammenfassung der Grundlagen der röntgentherapeutischen Technik der tiefgelegenen Krebse. *Strahlentherapie* **37**, 50—58 (1930).
- CROWTHER, J. A.: The action of X-rays on *Colipodium Colpoda*. *Proc. roy. Soc. B* **100**, 390—404 (1926/27).
- CURTIS, H. J., and C. CROWLEY: Chromosome aberrations in liver cells in relation to the somatic mutation theory of aging. *Radiat. Res.* **19**, 337—344 (1963).
- , and K. GEBHARD: The relative biological effectiveness of fast neutrons and X-rays for life shortening in mice. *Radiat. Res.* **9**, 278—284 (1958).
- CZERWENKA, C., J. GREGG, W. PARR, W. LUTHER, and A. KREBS: A study of mitotic activity in the intestine epithelium of the albino rat and its role in the recovery process after X-irradiation. NP 5116, 1950.
- DACQUISTO, M. P., and E. W. BLACKBURN: The influence of delivery rate of whole-body 250 kv-roentgen irradiation (30 or 3 R/min) on mice, rats and Guinea pigs. *Amer. J. Roentgenol.* **84**, 699—704 (1960).
- DAHL, B.: Die Strahlenbehandlung der osteogenen Sarkome und die Reaktion des Knochengewebes auf Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **54**, 35—51 (1935).
- Tierexperimentelle Untersuchungen über die epilatorische Wirkung der Röntgenstrahlen in ihrer Beziehung zur Röntgendermatitis sowie über den Einfluß der Bestrahlungstechnik auf diese Wirkung. *Strahlentherapie* **58**, 336—344 (1937).
- DAINTON, F. S.: On the existence of free atoms and radicals in water and aqueous solutions subjected to ionizing radiation. *J. phys. Chem.* **52**, 490—517 (1948).
- DEBRUYN, P. P.-H., and M. M. TORNOVA-SVEHLIK: Quantitative aspects of the effects of X-rays on lymphatic tissue. *Radiat. Res.* **6**, 573—584 (1957).
- DENIER, A.: *Atti 4. Congr. naz. radiobiol.*
- DITTRICH, W.: Reversible Treffer. *Z. Naturforsch.* **12b**, 536—541 (1957).
- DOGNON, A.: Influence of temperature on action of roentgen rays on ascaris eggs. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **92**, 1389—1392 (1925).
- Action of temperature on radiosensibility of ascaris eggs. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **94**, 466—468 (1926).
- DUFFY, T. T., A. N. ARNESON, and E. L. VOKE: The rate of recuperation of human skin following irradiation. A preliminary study. *Radiology* **23**, 486—490 (1934).
- DUSAULT, L.: The time-dose relationship. *Amer. J. Roentgenol.* **75**, 597—606 (1956).
- The time-dose relationship in radiotherapy. In: *F. BUSCHKE, Progress in Radiation Therapy*, p. 100—114. New York and London: Grune & Stratton 1958.
- The influence of the time factor on the dose-response curve. *Amer. J. Roentgenol.* **87**, 567—573 (1962).
- W. R. EYLER, and W. M. BURNS: Studies of time-dose relationship: The effect of fractionation. *Radiology* **71**, 709—715 (1958).
- and G. D. DOBBEN: The combination of oxygen and optimum fractionation in radiation therapy of adenocarcinoma. *Amer. J. Roentgenol.* **82**, 688—692 (1959).
- ELKIND, M.: Cellular aspects of tumor therapy. *Radiology* **74**, 529—541 (1960).
- , and H. SUTTON: X-ray damage and recovery in mammalian cells in culture. *Nature (Lond.)* **184**, 1293—1295 (1959).
- — Radiation response of mammalian cells grown in culture. I. Repair of X-ray damage

- in surviving Chinese hamster cells. *Radiat. Res.* **13**, 556—593 (1960).
- ELLIS, F.: Tolerance dosage in radiotherapy with 200 kv X-rays. *Brit. J. Radiol.* **15**, 348—350 (1942).
- ELY, J., M. H. ROSS, R. G. METCALF, F. A. INDA, T. B. BARNETT, and G. W. CASARETT: Clinical, pathological and hematological effects of chronic radiations. In: *Biological effects of external X- and gamma radiation*, ed. by H. BLAIR. Div. VI, vol. 2, p. 419—497. New York: McGraw Hill Book Co. 1954.
- ERNST, H.: Fraktionierte Bestrahlung des Kaminchengehirns mit dem 31-MeV-Betatron. *Strahlentherapie* **110**, 518—528 (1959).
- ESCH, H., H. MILTENBURGER u. O. HUG: Die Beeinflussung elektrischer Potentiale von Algenzellen durch Röntgenstrahlen. *Biophysik* **1**, 380—388 (1964).
- ESCHENBRENNER, A. B., E. MILLER, and E. LORENZ: Quantitative histologic analysis of the effect of chronic whole-body irradiation with gamma rays on the spermatogenic elements and the interstitial tissue of the testes of mice. *J. nat. Cancer Inst.* **9**, 133—147 (1948).
- EVANS, T. C., R. D. RICHARDS, and E. F. RILEY: Histologic studies of neutron and X-irradiated mouse lenses. *Radiat. Res.* **13**, 737—750 (1960).
- FABER, B.: Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung der Protrahierung und Fraktionierung. *Acta radiol. (Stockh.)* **20**, 170—184 (1939).
- FAVRE, M., u. A. ZUPPINGER: Experimentelle Untersuchungen über den Strahlenkatarakt. *Acta radiol. (Stockh.)*, Suppl. **188**, 81—86 (1959).
- FERROUX, R., C. REGAUD et N. SAMSSONOW: Comparaison des effets produits sur les testicules du lapin, au point de vue de la stérilisation de l'épithélium séminal, par une même dose de rayons X. Selon qu'elle a été administrée sans fractionnement ou bien fractionnée et étalée dans le temps. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **128**, 173—176 (1938).
- FINKEL, M. P., and B. O. BISKIS: The induction of malignant bone tumors in mice by radioisotopes. *Acta Un. int. Cancr.* **15**, 99—106 (1959).
- FLETCHER, G. H.: Clinical evaluation of super-voltage roentgentherapy. *Acta radiol. (Stockh.)*, Suppl. **188**, 86—110 (1959).
- FLIEDNER, T. M.: Strahlenwirkung und Hämo-poese. In: *Die Supervolttherapie*. Hrsg. J. BECKER und G. SCHUBERT, S. 209—224. Stuttgart: Georg Thieme 1961.
- , u. R. STODTMEISTER: Experimentelle und klinische Strahlenhämatologie. München: J. F. Lehmann 1962.
- FORSBERG, A.: Studien über einige biologische Wirkungen der Röntgen- und Gammastrahlen, insbesondere am *Phycomyces Blakesleeanus*. *Acta radiol. (Stockh.)*, Suppl. **49**, 1—143 (1943).
- FOWLER, J. F., and J. M. LAWREY: Dose-rate effects on mice and rats in the range 2 — 340 rad/min. *Brit. J. Radiol.* **33**, 382—389 (1960).
- FOWLER, J. F., and B. E. STERN: Dose-rate effects: Some theoretical and practical considerations. *Brit. J. Radiol.* **33**, 389—396 (1960).
- — Dose time relationship in radiotherapy and the validity of cell survival curves. *Brit. J. Radiol.* **36**, 163—173 (1963).
- FRIEDENWALD, J. S., and S. SIGELMAN: Influence of ionizing radiation on mitotic activity in rat's corneal epithelium. *Exp. Cell Res.* **4**, 1—31 (1953).
- FRIEDMAN, M., and B. W. PEARLMAN: Time-dose studies in irradiation of mycosis fungoides, its effect curve and tumor lethal dose. *Radiology* **66**, 374—379 (1956).
- FRIEDMANN, N. B.: Cellular dynamics in the intestinal mucosa. The effect of irradiation on epithelial maturation and migration. *J. exp. Med.* **81**, 553—557 (1945).
- FURCHTGOFF, E.: Behavioural effects of ionizing radiation. *Psychol. Bull.* **53**, 321—334 (1956).
- GÄRTNER, H.: Experimentalforschung an Gewebekulturen als Grundlage für die Behandlung mit energiereichen Strahlen. *Strahlentherapie* **114**, 1—13 (1961).
- GARCIA, J., N. A. BUCHWALD, B. H. FEDER, and R. A. KOELLING: Immediate detection of X-rays by the rat. *Nature (Lond.)* **196**, 1014—1015 (1962).
- D. J. KIMELDORF, and E. L. HUNT: The use of ionizing radiation as a motivating stimulus. *Psychol. Rev.* **68**, 383—395 (1961).
- GARCIA, M.: Further observations on tissue dosage in cancer of the cervix uteri. *Amer. J. Roentgenol.* **73**, 35—58 (1955).
- GAUWERKY, F.: Studien über die Strahlenschädigung des wachsenden Knochens unter besonderer Berücksichtigung des Zeitfaktoreinflusses. *Habil.-Schr. Hamburg* 1956.
- Über die Strahlenschädigung des wachsenden Knochens. *I. Mitt. Strahlentherapie* **113**, 325—350 (1960).
- GHORMLEY, J. A.: Lifetime of intermediates in water subjected to electron irradiation. *Radiat. Res.* **5**, 247—251 (1956).
- GLOCKER, R., H. LANGENDORFF u. A. REUSS: Gesetzmäßigkeiten der Zeitfaktorwirkung bei Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **42**, 148—156 (1931).
- O. ROTHACKER u. W. SCHÖNLEBER: Eine neue Methode zur Messung der Tiefendosis im Wasserphantom. *Strahlentherapie* **14**, 389—422 (1923).
- GOWEN, J. W., and J. STADLER: Life spans of different strains of mice as affected by acute irradiation with 100 pkv X-rays. *J. exp. Zool.* **132**, 133—155 (1956).
- GRAY, L. H.: Oxygen and radiotherapy. *Brit. med. J.* **1961** II, No 5253, 692—693.
- F. ELLIS, G. C. FAIRCHILD, and E. PATERSON: Dosage rate in radiotherapy. *Brit. J. Radiol.* **17**, 327—342 (1944).
- , and J. READ: The effects of ionizing radiations on the broad bean root. I. General notes. *Brit. J. Radiol.* **15**, 11—16 (1942).

- GRAY, L. H., and J. READ: II. The lethal action of gamma radiation. *Brit. J. Radiol.* **15**, 39—42 (1942).
- — III. The lethal action of neutron radiation. *Brit. J. Radiol.* **15**, 72—76 (1942).
- — IV. The lethal effect of alpha radiation. *Brit. J. Radiol.* **15**, 320—336 (1942).
- HAGEN jr., C. W., and E. L. SIMMONS: Effects of total-body X-irradiation in rats. Lethal action of single, paired, and periodic exposures. University of Chicago Report CH-3815 (MDDC-1210) 1947, p. 281—299.
- HAGER, E. B., J. W. FERREBEE, and E. D. THOMAS: Damage and repair of the gastrointestinal tract after supralethal radiation. *Radiobiol. Radiother.* **4**, 1—11 (1963).
- HALE, C. H., and G. W. HOLMES: Carcinoma of skin, influence of dosage on success of treatment. *Radiology* **48**, 563—569 (1947).
- HALEY, T. J.: 2nd International symposium on the response of the nervous system to ionizing radiation, Los Angeles 1963. New York and London: Academic Press (im Druck).
- , and R. S. SNIDER: International symposium on the response of the nervous system to ionizing radiation, Chicago 1960. New York and London: Academic Press 1962.
- HARDER, D., u. O. HUG: Über die Wirkung von Elektronenstrahlen auf das reaktionskinetische Verhalten. *Strahlentherapie* **106**, 245—252 (1958).
- HARRIGAN, W. D., H. L. ATKINS, and TAPLAY: Massiv-dose rapid palliative radiotherapy. *Radiology* **78**, 439—444 (1962).
- HARRIS, P. F.: Changes in thymus and lymph node activity and alterations in bone marrow lymphocyte levels during recovery of the Guinea pig from whole body gamma irradiation. *Brit. J. exp. Path.* **39**, 557—573 (1958).
- HEEREN, I. G.: Die Wirkung der diskontinuierlichen Röntgenbestrahlung auf die Retikulozytenwerte der Maus. *Strahlentherapie* **77**, 383—386 (1948).
- , u. E. MÜLLER: Die Wirkung diskontinuierlicher Röntgenbestrahlung. Experimentelle Untersuchungen auf Haut und Hoden. *Strahlentherapie* **64**, 449—463 (1939).
- HELDE, M.: Observations on rhythmical-potential difference fluctuations in onion roots and the radiosensitivity of this reaction. *Int. J. Radiat. Biol.* **6**, 523—527 (1963).
- HENSHAW, P. S.: Studies of the effect of roentgen rays on the time of the first cleavage in some marine invertebrate eggs. I. Recovery from roentgen-ray effects in *Arbacia* eggs. *Amer. J. Roentgenol.* **27**, 890—898 (1932).
- Further studies on the action of roentgen rays on the gametes of *Arbacia punctulata*. I. Delay in cell division caused by exposure of sperm to roentgen rays. *Amer. J. Roentgenol.* **43**, 899—906 (1940).
- II. Modification of the mitotic time schedule in the eggs by exposure of the gametes to roentgen rays. *Amer. J. Roentgenol.* **43**, 907—912 (1940).
- HENSHAW, P. S., and D. S. FRANCIS: The effect of X-rays on cleavage in *Arbacia* eggs: Evidence of nuclear control of division rate. *Biol. Bull.* **70**, 28—35 (1936).
- E. F. RILEY, and G. E. STAPLETON: The biologic effects of pile radiation. *Radiology* **49**, 349—359 (1947).
- R. S. SNIDER, and E. F. RILEY: Aberrant tissue development in rats exposed to beta rays. *Radiology* **52**, 401—414 (1949).
- HICKS, S. P., and K. A. WRIGHT: Variation of pathologic response to radiation with time-intensity factors. *Amer. J. clin. Path.* **24**, Suppl., 70 (1954).
- — and C. J. D'AMATO: Time-intensity factors in radiation response. II. Some genetic factors in brain damage. *Arch. Path.* **66**, 394—402 (1958).
- HÖFERT, M.: Versuche über strahleninduzierte Chemilumineszenz. Diss. München 1964.
- HOFMANN, D.: Bisherige Ergebnisse über die biologische Wirkung ultrafraktionierter Strahlungen. III. Mitt. *Strahlentherapie* **98**, 552—557 (1955).
- , u. R. K. KEPP: Bisherige Ergebnisse über die biologische Wirkung ultrafraktionierter Strahlungen. II. Mitt. *Strahlentherapie* **98**, 543—551 (1955).
- , u. K. MÜLLER: Über die Wirkung einer ultrafraktionierten Radium-Beta-Bestrahlung auf einzellige Eier von *Ascaris megaloccephala*. *Strahlentherapie* **95**, 296—301 (1954).
- — Mitteilung über erweiterte Untersuchungen des biologischen Effekts ultrafraktionierter Bestrahlungen. *Strahlentherapie* **96**, 402—407 (1955).
- HOHLFELDER, H.: Die geeignete zeitliche Verteilung der Röntgendosis „das Problem“ in der Strahlentherapie. *Langenbecks Arch. klin. Chir.* **134**, 647—661 (1925).
- Aktuelle Fragen in der biologischen Dosierung in der Tiefentherapie. *Strahlentherapie* **35**, 54—61 (1930).
- Die Röntgentiefentherapie. Leipzig: Georg Thieme 1938.
- HOLTHUSEN, H.: Beiträge zur Biologie der Strahlenwirkung. Untersuchungen an Askariden-eiern. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **187**, 1—24 (1921).
- Der Zeitfaktor bei der Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **21**, 275—305 (1926).
- Der Grundvorgang der biologischen Strahlenwirkung. *Strahlentherapie* **25**, 157—173 (1927).
- Biologische Wirkungen der Röntgenstrahlen bei besonderer Berücksichtigung des Einflusses der Wellenlänge, der Intensität und der Bestrahlungsdauer. *Strahlentherapie* **31**, 509—517 (1929).
- Die biologischen Grundlagen der Langzeitbestrahlung. *Strahlentherapie* **42**, 881—889 (1931).
- , u. R. BRAUN: Grundlagen und Praxis der Röntgenstrahlendosierung. Stuttgart: Georg Thieme 1933.
- , u. H. HAMANN: In: HOLTHUSEN, H., u. R. BRAUN.

- HUBER, W.: Ergebnisse und Analyse unterschiedlicher Mechanismen der Strahlenwirkungen bei einigen biologischen Systemen. *Naturwissenschaften* **38**, 21—29 (1951).
- HUG, O.: Abhängigkeit der Strahlenwirkung von der zeitlichen Dosisverteilung. In: *Die wissenschaftlichen Grundlagen des Strahlenschutzes* (Hrsg. B. RAJEWSKY), S. 164—176. Karlsruhe: K. Braun 1957.
- Die Auslösung von Fühlerreflexen bei Schnecken durch Röntgen- und Alphastrahlen. *Strahlentherapie* **106**, 155—160 (1958).
- Die akuten Allgemeinreaktionen bei Ganz- und Teilkörperbestrahlung. In: *Strahlenbiologie, Strahlentherapie, Nuklearmedizin und Krebsforschung* (Hrsg. H. R. SCHINZ et al.), S. 583—662. Stuttgart: Georg Thieme 1959.
- Reflex-like responses of lower animals and mammalian organs to ionizing radiation. In: *Immediate and low level effects of ionizing radiation*, ed. by A. A. BUZZATI-TRAVERSO, p. 217—226. London: Taylor and Francis Ltd. 1960a. A Suppl. to *Int. J. Radiat. Biol.*
- Biologische Sofortreaktionen auf schwache Strahlendosen. *Abhandl. IXth Int. Congr. of Radiology* (Hrsg. B. RAJEWSKY), p. 1181—1195. Stuttgart: Georg Thieme und München: Urban & Schwarzenberg 1960b.
- Hypotheses on the action mechanism of the effect of ionizing radiation on the nervous system. In: *Effects of ionizing radiation on the nervous system*. International Atomic Energy Agency, Wien 1962, p. 489—498.
- Cytologische Aspekte der Strahlentherapie. *Radiologia Austriaca* **XV/2**, 147—159 (1964).
- , u. A. KELLERER: Zur Interpretation der Dosiswirkungsbeziehungen in der Strahlenbiologie. *Biophysik* **1**, 20—32 (1963).
- , u. H. MILTENBURGER: Strahleninduzierte Turgorbewegungen (Radionastien) bei Mimosen und anderen sensitiven Pflanzen. *Naturwissenschaften* **49**, 499—500 (1962).
- — u. H. ESCH: Elektrophysiologische Begleiterscheinungen strahleninduzierter Bewegungen bei Mimosen. *Biophysik* **1**, 374—379 (1964).
- , and H.-J. SCHLIEP: Immediate reactions of nerves and muscles to ionizing radiation. In: *The initial effects of ionizing radiations on cells*, ed. by R. J. C. HARRIS, p. 287—300. London and New York: Academic Press 1961.
- , u. I. WOLF: Das Verhalten eines Ferment-systems unter und nach Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie*, Sdbd. **35**, 209—219 (1956a).
- — Kinetics of open systems applied in radiation biology. In: *Progress in radiobiology*, ed. by J. S. MITCHELL, B. E. HOLMES and C. L. SMITH, p. 23—31. London: Oliver & Boyd 1956b.
- HULSE, E. V.: Radiation "sickness" in the rat. *Brit. R. Radiol.* **31**, 339 (1958).
- HURSH, J. B.: The effect of ionizing radiation on longevity. US Atomic Energy Commission Report UR-506, 1957.
- , and G. W. CASARETT: The lethal effect of acute X-irradiation on rats as a function of age. *Brit. J. Radiol.* **29**, 169—171 (1956).
- International Atomic Energy Agency: Effects of ionizing radiation on the nervous system. *Proceedings of a symposium*. Wien 1962.
- JACOBSEN, F.: Carcinoma of the hypopharynx. *Acta radiol.* (Stockh.) **35**, 1—21 (1951).
- JOHANSEN, I.: The effect of fractionated irradiation under various oxygen concentrations on the radiosensitivity of the *Drosophila* embryo. *Zit. R. H. MOLE* in: *Radiation effects in physics, chemistry and biology*, ed. by M. EBERT and A. HOWARD, p. 22. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- JOLLES, B., and R. G. MITCHELL: Optimal skin tolerance dose levels. *Brit. J. Radiol.* **20**, 405—409 (1947).
- JÜNGLING, O.: Die praktische Verwendbarkeit der Wurzelreaktion von *Vicia faba equina* zur Bestimmung der biologischen Wertigkeit der Röntgenstrahlung. *Münch. med. Wschr.* **1920**, Nr 40, 1141.
- Röntgenbehandlung chirurgischer Krankheiten. Leipzig: S. Hirzel 1924a.
- Zur Frage der Latenz und Kumulierung der Röntgenwirkung. *Verh. dtsh. Röntg.-Ges.* **15**, 134—137 (1924b).
- , u. H. LANGENDORFF: Über die Wirkung zeitlich verteilter Dosen auf den Kernteilungsablauf von *Vicia faba equina*. *Strahlentherapie* **44**, 771—782 (1932).
- — Kann der Mitoserhythmus Bedeutung gewinnen für die Dosierung beim Krebs? *Quantitative Untersuchungen über das Verhalten der Mitosen bei bestrahlten Krebsen*. *Strahlentherapie* **69**, 181—230 (1941).
- JUUL, J.: Einmalige Höchstdosis, fraktionierte Bestrahlung oder Sättigungsmethode. *Strahlentherapie* **38**, 623—640 (1930a).
- Significance of the time factor in radium radiation: Studies on cancer mice. *Acta radiol.* (Stockh.) **11**, 226—236 (1930b).
- KAHLSTORF, A.: Experimentelle Untersuchungen an Ascariseiern über die Wirkung fraktionierter Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **31**, 199—206 (1928).
- Untersuchungen über die Hauttoleranz bei protrahiert-fraktionierter Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **38**, 499—520 (1930).
- KALLMAN, R. F., and G. SILINI: Some observations and an hypothesis concerning the early stages of radiation recovery. In: *Physical factors modifying response to radiation*, ed. by H. E. WHIPPLE. New York: Annals of the Academy of Science, vol. 114, p. 173—184, 1964.
- , and N. V. DU TAPLEY: The dose-cure relationships of spontaneous and isologously transplanted mouse tumours exposed to single and split X-ray doses. *Zit. R. H. MOLE* in: *Radiation effects in physics, chemistry and biology*, ed. by M. EBERT and A. HOWARD, p. 245. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- KAPLAN, H. S., and M. B. BROWN: A quantitative dose-response study of lymphoid tumour development in irradiated C 57-mice. *J. nat. Cancer Inst.* **13**, 185—208 (1952).

- KELLERER, A., u. O. HUG: Zur Kinetik der Strahlenwirkung. *Biophysik* **1**, 33—50 (1963).
- KENNETH, D. A., and J. H. FREED: Skin cancer: Correlation of field size and cancerocidal dose in roentgen treatment. *Amer. J. Roentgenol.* **75**, 581—589 (1956).
- KEPP, R. K.: Ergebnisse von Erythemversuchen mit fraktionierter Röntgenbestrahlung verschiedener Intensität. *Strahlentherapie* **72**, 195—201 (1942).
- Ergebnisse von Erythemversuchen mit fraktionierter Röntgenbestrahlung bei ungleicher Größe der Einzeldosen. *Strahlentherapie* **74**, 331—339 (1944).
- Der Erholungsverlauf in der Haut nach Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **78**, 273—276 (1949).
- Die Wirkung der Bestrahlung mit schnellen Elektronen auf die menschliche Haut. *Strahlentherapie* **81**, 201—214 (1950).
- Die Elektronenschleuder. *Dtsch. med. Wschr.* **77**, 1213—1215 (1952).
- , u. K. F. MICHEL: Elektrophoretische Untersuchungen über die Wirkung von Röntgenstrahlen auf wäßrige Proteinlösungen. *Strahlentherapie* **92**, 416—422 (1953).
- , u. K. MÜLLER: Zur Frage der physikalischen Erklärung verschiedener Zeitfaktorwirkungen am biologischen Objekt. *Strahlentherapie* **88**, 139—149 (1952).
- — u. H. REICH: Die Bedeutung des Zeitfaktors bei Bestrahlung der menschlichen Haut mit schnellen Elektronen. *Strahlentherapie* **84**, 225—244 (1951).
- , u. L. SEYFARTH: Die Beeinflussung der Hautreaktion durch längere Bestrahlungspausen bei fraktionierter Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **76**, 573—583 (1947).
- KIMBALL, R. F.: The effect of radiations on genetic mechanisms of *Paramecium aurelia*. *J. cell. comp. Physiol.* **35**, Suppl. 1, 157 (1950).
- KINGERY, L. B.: Saturation in roentgen therapy. Its estimation and maintenance. *Arch. Derm. Syph. (Chic.)* **1**, 423—433 (1920).
- KIRCHHOFF, H., u. W. KELBLING: Experimenteller Beitrag zum Zeitfaktorproblem. *Strahlentherapie* **60**, 444—465 (1937).
- KITAEVA, O. N.: The effect of fractionated X-ray treatment on the ovary of mice. *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **120**, 514—517 (1958).
- KOHN, H. I., and R. F. KALLMAN: Testes weight loss as a quantitative measure of X-ray injury in the mouse, hamster and rat. *Brit. J. Radiol.* **27**, 586—591 (1954).
- — The effect of fractionated X-ray dosage upon the mouse testis. I. Maximum weight loss following 80 to 240 R given in 2 to 5 fractions during 1 to 4 days. *J. nat. Cancer Inst.* **15**, 891—899 (1955).
- — Acute X-ray lethality studies with the hamster: The LD<sub>50</sub> death rate. Recovery rate. *Radiat. Res.* **6**, 137—147 (1957).
- KOLLER, P. C.: Chromosome breakage. In: *Progress in biophysics and biophysical chemistry*, ed. by J. A. V. BUTLER and J. T. RANDALL, vol. IV, p. 195—243. London: Pergamon Press Ltd. 1953.
- KOLLER, P. C., and D. W. SMITHERS: Cytological analyses of response of malignant tumors of irradiation as an approach to biological bases for dosage in radiotherapy. *Brit. J. Radiol.* **19**, 89—100 (1946).
- KREBS, J. S., and R. W. BRAUER: Comparative accumulation of injury from X-, gamma and neutron irradiation — the position of theory and experiment. Symposium on biological effects of neutron and proton irradiations, Brookhaven National Laboratories. Internat. Atomic Energy Agency Wien 1964, vol. II, p. 347—364.
- KRÖNIG, B., u. W. FRIEDRICH: Physikalische und biologische Grundlagen der Strahlentherapie. Sonderband Strahlentherapie 3. Hrsg. W. FALTA, C. J. GAUSS, H. MEYER und R. WERNER, S. 215. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1918.
- KRÖNING, F., u. R. SIGMUND: Die Induktion leukämischer und nicht-leukämischer Tumoren nach Röntgenganzbestrahlungen bei Mäusen des C 57-Black-Inzuchtstammes. *Strahlentherapie* **95**, 574—586 (1954).
- KÜNKEL, H. A., and F. OBERHEUSER: Ultrafractionation and biological efficiency of fast electrons, investigations on "eggs" of *Drosophila melanogaster* of different stages of development. Zit. R. H. MOLE in: *Radiation effects in physics, chemistry and biology*, ed. by M. EBERT and A. HOWARD, p. 21. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- KUHN, U. S. G., and D. G. BROWN: Head irradiation of the burro with Cobalt-60. *J. Amer. med. Ass.* **180**, 671—675 (1962).
- KURNICK, N. B., and N. NOKAY: Changes induced in the mouse spleen by graded doses of total-body X-irradiation. *Radiat. Res.* **17**, 140—144 (1962).
- LAMARQUE, P., and P. BÉTOULLIERES: New experimental researches on restoration in radiobiology. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **229**, 308—310 (1949).
- LAMERTON, L. F., A. H. PONTIFEX, N. M. BLAKETT, and K. ADAMS: Effects of protracted irradiation on the bloodforming organs of the rat. I. Continuous exposure. *Brit. J. Radiol.* **33**, 287—301 (1960).
- LAMSON, B. G., M. S. BILLINGS, and L. R. BENNETT: Effect of dose fractionation on longevity of irradiated rats. In: *Semiannual Progress Report University Los Angeles, UCLA* **460**, p. 32 (1960).
- LANGENDORFF, H.: Das Verhalten des Retikulozytenwertes der weißen Maus nach Röntgenbestrahlung. III. Mitt. *Strahlentherapie* **62**, 304—314 (1938).
- Biologische Reaktionen nach wiederholter Verabreichung kleiner Strahlendosen. I. Das Verhalten des Retikulozytenwertes der Maus. *Strahlentherapie* **71**, 275—284 (1942).
- Das Verhalten der Salamandercornea nach einzeitiger und fraktionierter Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **72**, 505—526 (1943).

- LANGENDORFF, H.: Die Wirkung chronisch verabreichter kleiner Strahlendosen auf die Fertilität der Maus. *Fortschr. Röntgenstr.* (Beiheft) **76**, 71—73 (1952).
- , and M. LANGENDORFF: The effect of repeated small doses on the fertility of the white mouse. In: *Advances in radiobiology*, ed. by G. HEVESEY, A. FORSSBERG and J. D. ABBATT, p. 257—260. Springfield: C. C. Thomas Publ. 1957.
- , u. G. SAURBORN: Biologische Reaktionen nach wiederholter Verabreichung kleiner Röntgenstrahlendosen. I. Beobachtungen am Milzgewebe der weißen Maus. *Strahlentherapie* **73**, 91—99 (1943).
- , u. K. SOMMERMEYER: Strahlenwirkung auf Drosophilaier. III. Zeitfaktoruntersuchungen mit Röntgenstrahlen. *Strahlentherapie* **67**, 119—129 (1940).
- — Die Abtötung von Drosophilaieiern durch energiereiche Strahlen als biophysikalisches Problem. *Strahlentherapie* **82**, 316—320 (1950).
- LASER, H.: Strahlenbiologische Untersuchungen an Gewebekulturen. *Strahlentherapie* **38**, 391—437 (1930).
- LASNITSKI, I.: The effect of dose rate variations on mitosis and degeneration in tissue cultures of avian fibroblasts. *Brit. J. Radiol.* **19**, 250—256 (1946).
- LEA, D. E.: *Actions of radiations on living cells*. New York: MacMillan Co. 1947.
- LEBEDINSKIY, A. V., and Z. N. NAKHIL-NITSKAYA: Effects of ionizing radiation on the nervous system. Amsterdam: Elsevier Publ. Co. 1963.
- LEITCH, J. L.: X-irradiation protection studies. I. Dose rate effect and statistical determination of significance in survival time curves. Report University Los Angeles UCLA-455, 3—17 (1960).
- LEONG, G. Y., W. G. WISECUP, and J. W. GRISHAM: Effects of divided doses of X-ray on mortality and hematology of small and large domestic animals. In: *Physical factors modifying response to radiation*, ed. by H. E. WHIPPLE. New York: Annals of the Academy of Sciences, vol. 114, p. 138—149, 1964.
- LEROY, G. V.: Emergency exposures. In: *Exposure of man to radiation in nuclear warfare*, ed. by J. H. RUST and D. J. MÉWISSEN, p. 5—33. Amsterdam: Elsevier Publ. Co. 1963.
- LESHER, S., D. GRAHN, and G. SACHER: Thymic lymphoma induction by duration-of-life daily doses Co-60 Gamma-irradiation. *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.* **2**, 230 (1958).
- LIECHTI, A.: Über den Zeitfaktor der biologischen Strahlenwirkung. *Strahlentherapie* **33**, 1—54 (1929).
- LINDOP, P. J., and J. ROTBLAT: The effect of anaesthesia on radiation sensitivity to whole-body exposure of mice. *Zit. R. H. MOLE* in: *Radiation effects in physics, chemistry and biology*, ed. by M. EBERT and A. HOWARD, p. 23. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- LIPETZ, L. E.: Electrophysiology of the X-ray phosphene. *Radiat. Res.* **2**, 306—339 (1955).
- LIVANOV, M. N., u. I. N. KONDRATIEVA: Über die Empfindlichkeit des Nervensystems gegen schwache Strahleneinwirkung. In: *Effects of ionizing radiation on the nervous system*. Wien: International Atomic Energy Agency 1962.
- LOGIE, L. C., M. D. HARRIS, R. E. TATSCH, and E. N. VAN HOOSER: Analysis of the LD<sub>50/30</sub> as related to radiation intensity. *Radiat. Res.* **12**, 349—356 (1960).
- LORENZ, E., W. E. HESTON, A. B. ESCHENBRENNER, and M. K. DERINGER: Biological studies in the tolerance range. *Radiology* **49**, 274—285 (1947).
- — L. O. JACOBSEN, A. B. ESCHENBRENNER, M. SHIMKIN, M. DERINGER, and J. DOMIGER: Biological effects of long continued whole-body irradiation with gamma rays on mice, Guinea pigs and rabbits. III. Effects on life span, weight, blood picture, and carcinogenesis, and the role of the intensity of radiation. Report University Chicago CH-3698 (1946).
- LOTZ, H. P., u. K. SCHMIDT: Reaktionskinetische Untersuchungen an einem strahlenchemischen System mit kontinuierlicher und impulsmodulierter Röntgenstrahlung. *Biophysik* **1**, 96—107 (1963).
- LÖW-BEER, B. V. A., u. W. REDISCH: Einfluß der Röntgenstrahlen auf die Hautkapillaren. *Strahlentherapie* **55**, 85—91 (1936).
- LUTHER, W.: Die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Zellteilung. *Strahlentherapie* **66**, 40—49 (1939).
- Über die Wirkung unterteilter Röntgenbestrahlungen auf das Ehrlichsche Mäusecarcinom. *Strahlentherapie* **73**, 671—692 (1943).
- MACCOMB, W. S., and E. H. QUMBY: The rate of recovery of human skin from the effects of hard or soft roentgen rays or gamma rays. *Radiology* **27**, 196—207 (1936).
- MAISIN, J., H. MAISIN, A. DUNJIC, and P. MALDAGUE: Cellular and histological radiolesions, their consequences and repair. *Proc. Int. Conf. Geneva Aug. 1955 (UN)*, vol. 11, p. 315—329.
- MARDERSTEIG, K.: Über die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Erythropoese. II. Mitt. Experimentelle Untersuchungen über die Retikulozyten nach Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **61**, 107—129 (1938).
- MARKOVITS, E.: Über die Einwirkung des Mesothorium auf Einzeller. *Fortschr. Röntgenstr.* **28**, 22—26 (1921/22).
- MARTIUS, H.: Bohnenversuche mit Röntgenstrahlen. *Fortschr. Röntgenstr.* **32**, 361—365 (1924).
- MATONI, H.-H.: Die Abhängigkeit der Stärke der biologischen Wirkung von der Intensität der Röntgenstrahlen bei gleicher Dosis. *Strahlentherapie* **18**, 375—394 (1924).
- MAURER, H. J., u. W. MINDER: Untersuchungen über die Bedeutung des Zeitfaktors bei Ganzkörperbestrahlungen. *Int. J. Radiat. Biol.* **2**, 171—176 (1960).
- MCLAURIN, R. L., O. T. BAILEY, G. R. HARSH, and F. D. INGRAHAM: Effects of gamma and roentgen radiation on intact spinal cord of

- monkey. *Amer. J. Roentgenol.* **73**, 827—835 (1955).
- MCWHIRTER, R.: Radiosensitivity relation to the time intensity factor. *Brit. J. Radiol.* **9**, 287—299 (1936).
- MERRIMAN jr., G. R., and E. F. FOCHT: A clinical study of radiation cataracts and the relationship to dose. *Amer. J. Roentgenol.* **77**, 759—785 (1957).
- METCALF, R. G., F. A. INDA, T. B. BARNETT, and G. W. CASARETT: Pathology in animals subjected to repeated daily exposure to X-rays. In: *Biological effects of external radiation*, ed. by H. A. BLAIR, p. 268—338. New York: McGraw-Hill Book Co. 1954.
- MICHAELSON, S. M., and L. T. ODLAND: Relationship between metabolic rate and recovery from radiation injury. *Radiat. Res.* **16**, 281—285 (1962).
- MIESCHER, G.: Das Röntgenerythem. *Strahlentherapie* **16**, 331—371 (1924).
- Karzinomtherapie mit superponierter (verzettelter) Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **36**, 434—471 (1930).
- Tierexperimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Fraktionierung auf den Späteeffekt. *Acta radiol. (Stockh.)* **16**, 25—38 (1935).
- I. PLÜSS u. B. WEDER: Die Röntgenteleangi-ektasie als Spätsymptom. *Strahlentherapie* **94**, 223—233 (1954).
- MOLE, R. H.: On wasted radiation and the interpretation of experiments with chronic irradiation. *J. nat. Cancer Inst.* **15**, 907—914 (1955).
- Quantitative observations on recovery from whole-body irradiation in mice. I. Recovery after single large dosis of radiation. *Brit. J. Radiol.* **29**, 563—569 (1956).
- Quantitative observations on recovery from whole-body irradiation in mice. II. Recovery during and after daily irradiation. *Brit. J. Radiol.* **30**, 40—46 (1957).
- The development of leukemia in irradiated animals. *Brit. med. Bull.* **14**, 174—177 (1958).
- Patterns of response to whole-body irradiation: The effect of dose intensity and exposure time on duration of life and tumour production. *Brit. J. Radiol.* **32**, 497—501 (1959).
- Dose rate and time factor. In: *Radiation effects in physics, chemistry and biology*, ed. by M. EBERT and A. HOWARD, p. 18—33. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- , and D. M. TEMPLE: The DNA content of the small intestine as a quantitative measure of damage and recovery after whole-body irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **1**, 28—42 (1959).
- MONTAG, C.: Über Schädigungen des wachsenden Knochens bei der Röntgenbestrahlung und ihre Vermeidung. *Strahlentherapie* **84**, 314—324 (1951).
- MOOS, W. S., H. C. MASON, and M. COUNELIS: Physiological effects of extremely high X-ray intensities and dosages on mice. *Amer. J. Physiol.* **199**, 1101—1104 (1960).
- MORCZEK, A., u. H. BUTTENBERG: Wiederherstellung des Blutbildes nach Schädigungen durch die Strahlenbehandlung. *Radiobiol. Radiother. (Berl.)* **1**, 286—292 (1960).
- MOSES, C., I. G. LINN, and A. J. ALLEN: Experimental production of radiation cataracts by fast neutrons. *Arch. Ophthalmol.* **50**, 609—612 (1953).
- MOTTRAM, J. C., G. M. SCOTT, and S. RUSS: Effects of gamma rays upon division and growth of cancer cells. *Proc. roy. Soc. B* **100**, 326—335 (1926).
- MULLER, H. J.: The nature of the genetic effects produced by radiation, p. 351—473. The manner of production of mutations by radiation, p. 475—626. In: *Radiation Biology*, ed. by A. HOLLAENDER, vol. I/1. New York: McGraw-Hill Book Co. 1954.
- I. I. OSTER, and S. ZIMMERING: Are chronic and acute gamma irradiation equally mutagenic in *Drosophila*? In: *Repair from genetic radiation damage*, ed. by F. H. SOBELS, p. 275—304. Oxford: Pergamon Press 1963.
- NACHTIGALL, W.: Untersuchungen am Elektroretinogramm über die Wirkung ionisierender Strahlen auf das Komplexauge von Insekten. *Biophysik* **2**, 145—165 (1965).
- NATHER, K., u. H. R. SCHINZ: Tierexperimentelle Röntgenstudien zum Krebsproblem. *Mitt. Grenzgeb. Med. Chir.* **36**, 620—660 (1923).
- NEAL, F. E.: Variation of acute mortality with dose rate in mice exposed to single large doses of whole-body X-irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **2**, 295—300 (1960).
- NEARY, G. J.: Ageing and radiation. *Nature (Lond.)* **187**, 10—18 (1960).
- in: Report of the RBE Committee to the International Commission on Radiological Protection and on Radiological Units and Measurements. *Hlth Phys.* **9**, 357—384 (1963).
- Dose rate dependence with radiations of different LET. In: Abstracts of the conference on physical factors modifying response to radiation. New York: Academy of Sciences 1962.
- R. J. MUNSON, and R. H. MOLE: Chronic irradiation of mice by fast Neutrons. In: *Chronic radiation hazards*, ed. by G. J. NEARY, R. J. MUNSON and R. H. MOLE. London: Pergamon Press 1957.
- NEWCOMBE, H. B.: The action of X-rays on the cell. II. The external variable. *J. Genet.* **43**, 237—248 (1942a).
- Effects of X-rays on chromosomes. *J. Genet.* **43**, 145—147 (1942b).
- NIELSEN, J.: Malignant tumors of the nasopharynx. *Acta radiol. (Stockh.)* **26**, 133—154 (1945).
- NOLAN, T. F., W. E. COSTOLOW, and L. DUSAULT: Radium treatment of carcinoma of the cervix uteri. *Radiology* **54**, 821—831 (1950).
- , and L. DUSAULT: Optimum dosage studies for radiotherapy of carcinoma of uterine cervix. *Radiology* **62**, 862—867 (1954).
- NOVÁK, R.: Die Latenzzeit der Strahlenwirkung. *Strahlentherapie* **103**, 125—128 (1957).
- NOWELL, P. C., and L. J. COLE: Reduced incidence of persistent chromosome aberrations in

- mice irradiated at low dose rates. *Science* **141**, 524—526 (1963).
- OBERHEUSER, F., u. H. A. KÜNKEL: Ultrafraktionierung und relative biologische Wirksamkeit schneller Elektronen. *Biophysik* **1**, 11—19 (1963).
- ODELL jr., T. T., G. E. COSGROVE, and A. C. UPTON: Modification of delayed somatic effects of ionizing radiation. In: *Radiation protection and recovery*, ed. by A. HOLLAENDER, p. 303—315. London: Pergamon Press 1960.
- OLIVER, R.: Theoretical implications of cell survival data in relation to fractionated radiotherapy treatments. *Brit. J. Radiol.* **36**, 178—182 (1963).
- OVERALL, J. E., W. L. BROWN, and L. C. LOGIE: Instrumental behaviour of albino rats in response to incident X-radiation. *Brit. J. Radiol.* **32**, 411—414 (1959).
- L. C. LOGIE, and W. L. BROWN: Changes in the shuttle-box behaviour in albino rats in response to X-irradiation at 1 R/min. *Radiat. Res.* **11**, 589—599 (1959).
- PACK, G. T., and E. H. QUIMBY: The time-intensity factor in irradiation. *Amer. J. Roentgenol.* **28**, 650—667 (1932).
- PACKARD, C.: Measurement of quantitative biological effects of X-rays. *J. Cancer Res.* **10**, 319—339 (1926).
- PAPE, R.: Zur Frage der Bedeutung des Minuten-R-Zuflusses für die Strahlenreaktion. *Fortschr. Röntgenstr.* **44**, 123—125 (1931).
- Die Hauttoleranz bei Langsambestrahlung in möglichst unfraktionierter Applikationsform (innerhalb 24 Stunden). *Strahlentherapie* **45**, 461—486 (1932).
- Biologische Effekte von 1 Jahr lang täglich wiederholten kleinsten Röntgendosen. *Strahlentherapie* **84**, 245—254 (1951).
- , u. A. PIRINGER-KUCHINKA: Über die Wiederherstellung des lymphoretikulären Gewebes nach Strahlenschäden. (Nach Untersuchungen am Follikelapparat der Rattenmilz.) *Strahlentherapie* **101**, 523—535 (1956).
- PATERSON, R.: *Treatment of malignant disease by radium and x-rays*. Baltimore: Williams & Wilkins Co. 1948.
- *Studies in optimum dosage*. *Brit. J. Radiol.* **25**, 505—516 (1952).
- , and S. THOMPSON: Time intensity factors in X-irradiation. *Brit. J. Radiol.* **21**, 414—419 (1948).
- PEARSE, M. L., M. A. GREENFIELD, and W. N. VALENTINE: Radiosensitivity of bone marrow. *Blood* **7**, 207—213 (1952).
- PETERS, E.: Die Wirkung lokalisierter, in Intervallen erfolgreicher Röntgenbestrahlung auf Blut, blutbildende Organe, Niere und Testikel. *Fortschr. Röntgenstr.* **16**, 31—56 (1910/11).
- PFAHLER, G. E.: Über die Sättigungsmethode in der Röntgenbestrahlung verschiedener tiefliegender Geschwülste. *Strahlentherapie* **25**, 597—610 (1927).
- PONTIFEX, A. H., and L. F. LAMERTON: Effects of protracted irradiation on the bloodforming organs of the rat. II. Divided doses. *Brit. J. Radiol.* **33**, 736—747 (1960).
- PUCK, TH., PH. MARCUS, and S. CIECIURA: Clonal growth of mammalian cells in vitro. Growth characteristics of colonies from single HeLa cells with and without a "feeder" layer. *J. exp. Med.* **103**, 273—289 (1956).
- D. MORKOVIN, PH. MARCUS, and S. CIECIURA: Action of X-rays on mammalian cells. *J. exp. Med.* **106**, 485—503 (1957).
- PURDOM, C. E.: The effect of intensity and fractionation on radiation-induced mutation in *Drosophila*. In: *Repair from genetic radiation damage*, ed. by F. H. SOBELS, p. 219—230. Oxford: Pergamon Press 1963.
- , and T. W. MCSHEEHY: Radiation intensity and the induction of mutation in *Drosophila*. *Int. J. Radiat. Biol.* **3**, 579—586 (1961).
- — Dose rate and the induction of mutation in *Drosophila*. *Int. J. Radiat. Biol.* **7**, 265—275 (1963).
- QUASTLER, H.: Cell renewal and acute radiation damage. *Radiology* **73**, 161—165 (1959).
- Time-dose relation in radiation effects. *Proc. Amer. Ass. Cancer* **4**, 100—109 (1960).
- J. P. M. BENSTED, L. F. LAMERTON, and S. M. SIMPSON: Effects of dose-rate and protraction. A symposium. II. Adaptation to continuous irradiation: Observations on the rat intestine. *Brit. J. Radiol.* **32**, 501—512 (1959).
- QUEVEDO jr., W. C., and D. GRAHN: Hyperpigmentation in mice. Effect of chronic gamma irradiation. Report No. 5696 Argonne National Laboratory, p. 57 (1956).
- QUIMBY, E., and W. S. MACCOMB: Further studies on the rate of recovery of human skin from the effects of roentgen or gamma rays irradiation. *Radiology* **29**, 305—312 (1937).
- RADOS, A., u. H. R. SCHINZ: Tierexperimentelle Untersuchungen über die Röntgenstrahlenempfindlichkeit der einzelnen Teile des Auges. *Albrecht v. Graefes Arch. Ophthalm.* **110**, 354—369 (1922).
- RAJEWSKY, B., u. H. DÄNZER: Über einige Wirkungen von Strahlen. *Z. Physik* **89**, 412—420 (1934).
- O. HEUSE u. K. AURAND: Weitere Untersuchungen zum Problem der Ganzkörperbestrahlung der weißen Maus. Sofortiger Tod durch Strahlung. *Z. Naturforsch.* **8b**, 157—158 (1953).
- , u. A. SCHRAUB: Allgemeine Schädigungskurven. *Naturforschung und Medizin in Deutschland 1939—1946*. *Biophysik* **21/I** (Hrsg. B. RAJEWSKY und M. SCHÖN), S. 123—131. Wiesbaden: Dieterich'sche Verlagsbuchhandlung W. Klemm 1949.
- REGAUD, C.: Influence de la durée d'irradiation sur les effets déterminés dans le testicule par le radium. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **86**, 787—790, 822 (1922).
- et R. FERROUX: Discordance de effets des rayons X, d'une part dans la peau; d'autre part dans le testicule, par le fractionnement de la dose; diminution de l'efficacité dans la peau,

- maintain de l'efficacité dans le testicule. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **97**, 431—434 (1927).
- REGAUD, C., et R. FERROUX: Über den Einfluß des Zeitfaktors auf die Sterilisation des normalen und des neoplastischen Zellwachstums durch Radiotherapie. *Strahlentherapie* **31**, 495—508 (1929).
- , et T. NOGIER: Les effets produits sur la peau par les hautes doses de rayons X sélectionnés par la filtration à travers 3 à 4 mm d'Aluminium Arch. *Élect. méd.* **21**, 49—97 (1913); **22**, 4—66 (1913).
- REISNER, A.: Der Hauterythemverlauf bei fraktionierter Verabreichung großer Strahlenmengen. *Strahlentherapie* **37**, 779—787 (1930).
- Untersuchungen über die Veränderungen der Hauttoleranz bei verschiedener Unterteilung der Strahlendosis. *Fortschr. Röntgenstr.* **45**, 293—307 (1932).
- Hauterythem und Röntgenbestrahlung. *Ergebn. med. Strahlenforsch.* **6**, 1—60 (1933).
- Die Bedeutung der Röntgen- und Radiumbehandlung für die Krankheiten der Haut. *Strahlentherapie* **67**, 584—603 (1940).
- Report of the RBE Committee to the International Commissions on Radiological Protection and on Radiological Units and Measurements. *Hlth Phys.* **9**, 357—384 (1963).
- of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. United Nations New York, 1962.
- RILEY, E. F., R. D. RICHARDS, and P. J. LEINFELDER: Recovery of X-irradiated rabbit lenses. *Radiat. Res.* **11**, 79—89 (1959).
- RÖNTGEN, W. C.: Weitere Beobachtungen über die Eigenschaften der X-Strahlen. *S.-B. preuß. Akad. Wiss.* **1**, 576—592 (1898).
- ROESLER, H., and P. S. HENSHAW: The influence of the time factor in the irradiation of *Drosophila* eggs. *Amer. J. Cancer* **16**, 631—63 (1932).
- ROHRSCHEIDER, W., u. R. GLAUNER: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung der fraktionierten und protrahierten Röntgenbestrahlung auf die Linse des Kaninchens. *Albrecht v. Graefes Arch. Ophthalm.* **140**, 700—708 (1939).
- ROSSI, H. H., M. H. BIAVATI, and W. GROSS: Local energy density in irradiated tissue. I. Radiobiological significances. *Radiat. Res.* **15**, 431—439 (1961).
- RUGH, R.: Chronic low level exposures of young mice to ionizing radiation and the effect on fertility. *J. Pediatr.* **44**, 248—257 (1954).
- General biology: Gametes, the developing embryo, and cell differentiation. In: *Mechanisms in radiobiology*, ed. by M. ERRERA and A. FORSSBERG, vol. II, p. 2—94. New York and London: Academic Press 1960.
- , and H. CLUGSTON: The time-intensity relations of whole body acute X-irradiation and protection by  $\beta$ -mercaptoethylamine. *Radiat. Res.* **1**, 437—447 (1954).
- RUSSELL, L. B., S. K. BADGETT, and C. L. SAYLORS: Comparison of the effects of acute, continuous and fractionated irradiation during embryo development. In: *Immediate and low level effects of ionizing radiations*, ed. by A. A. BUZZATI-TRAVERSO, p. 343—359. London: Taylor and Francis Ltd. 1960. A Suppl. to *Int. J. Radiat. Biol.*
- RUSSELL, L. B., K. F. STELZNER, and W. L. RUSSELL: Influence of dose rate on radiation effect on fertility of female mice. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **102**, 471—479 (1959).
- RUSSELL, W. L.: Effect of radiation dose rate on mutation in mice. *J. cell. comp. Physiol.* **58**, Suppl. 1, 183—187 (1961).
- The effect of radiation dose rate and fractionation on mutation in mice. In: *Repair from genetic radiation*, ed. by F. H. SOBELS, p. 205—217. Oxford: Pergamon Press 1963.
- L. B. RUSSELL, and E. M. KELLY: Dependence of mutation rate on radiation intensity. In: *Immediate and low level effects of ionizing radiations*, ed. by A. A. BUZZATI-TRAVERSO, p. 311—320. London: Taylor & Francis Ltd. 1960. A Suppl. to *Int. J. Radiat. Biol.*
- RUST, J. H.: Effects of 50 R and 25 R fractional daily total gamma irradiation in burro. *Radiat. Res.* **2**, 475—482 (1952).
- SACHER, G. A.: Reparable and irreparable injury. A survey of the position in experiment and theory. In: *Radiation biology and medicine*, ed. by W. D. CLAUS, p. 283—313. Reading, Mass.: Addison-Wesley Publ. Co. Inc. 1958.
- SAMBROOK, B. K., A. C. THACKRAY, and P. B. WOODYAT: Comparative study of radiotherapy techniques. *Brit. J. Cancer* **4**, 63—76 (1950).
- SAMBROOK, D. K.: Split-course radiation therapy in malignant tumours. *Amer. J. Roentgenol.* **91**, 37—45 (1964).
- SAMSSONOW, N.: Sur les conditions les meilleures pour stériliser par les rayons X, les greffes d'un sarcome de rats. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **92**, 575—577 (1925).
- SARTORY, A., R. SARTORY et J. MEYER: Phénomènes apportés par l'irradiation sur le tissu cutané et sur la glande génitale mâle de lapin en fonction du mode d'application du rayonnement. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **192**, 447—449 (1931).
- SAX, K.: The time factor in X-ray production of chromosome aberrations. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **25**, 225—233 (1939).
- SCANLON, P. W.: Initial Experience with split-dose periodic radiation therapy. *Amer. J. Roentgenol.* **84**, 632—644 (1960).
- SCHALL, L., u. H. J. ALIUS: Zur Biologie des Ultraviolettlichtes. IV. Mitt. Die Reaktion der menschlichen Haut auf wiederholte Ultraviolettbestrahlungen. *Strahlentherapie* **27**, 769—783 (1928).
- SCHINZ, H. R., u. B. SŁOTOPOLSKI: Der Röntgenhoden. *Ergebn. med. Strahlenforsch.* **1**, 445—526 (1925).
- SCHIRREN, C. G.: Über eine gefahrlosere Röntgenepilation des behaarten Kopfes. *Strahlentherapie* **101**, 393—399 (1956).
- Weitere Erfahrungen mit der fraktionierten Röntgenepilation des behaarten Kopfes. *Acta dermat.-venereol. (Stockh.)* **2**, 438—441 (1957).

- SCHIRREN, C. G., u. A. CAN: Über die Summationsfähigkeit der menschlichen Haarpapille des Kopfhaares gegenüber Röntgenstrahlen. *Arch. klin. exp. Derm.* **206**, 110—116 (1957).
- SCHÖTTELNDREYER, H.: Studies of the effects of the protraction of X-radiation by 12 fractionations on the erythema reactions. *Brit. J. Radiol.* **22**, 386—392 (1949). Diss. Göttingen 1943.
- SCHOLZ, W., E.-G. DUCHO u. A. BREIT: Experimentelle Röntgenspätschäden am Rückenmark des erwachsenen Kaninchens. *Psychiat. Neurol. jap.* **61**, 417—442 (1959).
- SCHUBERT, G., H. A. KÜNKEL, L. OVERBECK u. G. UHLMANN: Untersuchungen zur experimentellen Krebsauslösung durch lokale Betastrahleneinwirkung. *Strahlentherapie* **100**, 335—351 (1956).
- SCHUMACHER, W.: Reaction on skin and mucous membrane. *Electron-Symposium 1964 Montreux*. (Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1965.)
- SCHWARZ, G.: Mitteilung über merkwürdige Schwankungen der Röntgenstrahlenempfindlichkeit. *Münch. med. Wschr.* **61**, 1317 (1914).
- Zur Kenntnis der Röntgenreaktion der Haut, Reversion und Allergie. *Strahlentherapie* **18**, 483—485, 845—848 (1924).
- Die fortgesetzte Kleindosis und deren biologische Begründung. *Strahlentherapie* **19**, 325—332 (1925).
- SEITZ, L., u. H. WINTZ: Unsere Methode der Röntgentiefentherapie und ihre Erfolge. *Strahlentherapie, Sdbd. 5*. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1920.
- SIEVERT, R., and A. FORSSBERG: The time factor in the biological action of X-rays. *Acta radiol. (Stockh.)* **12**, 535—550 (1931).
- SIKOV, M. R., and J. E. LOFSTROM: Influence of energy and dose rate on the responses of rat embryos to radiation. *Radiology* **79**, 302—310 (1962).
- SMITH, H. H.: Cytogenetic efficiency of different ionizing radiations. 6<sup>th</sup> IBM Medical Symposium, Brookhaven Natl. Lab., Oct. 1964 (unveröffl.).
- , W. W., R. Q. MARSTON, and J. CORNFIELD: Patterns of hemopoietic recovery in irradiated mice. *Blood* **14**, 737—747 (1959).
- SOBELS, F. H.: *Repair from genetic radiation damage*. Oxford: Pergamon Press 1963.
- SOKOLOV, V. V.: Restoration of hematopoiesis in rabbits in varying severity of acute radiation sickness. *Med. radiol.* **6**, H. 2, 27—32 (1961) [Russisch mit engl. Zus.fass.].
- SOMMERMEYER, K.: Die Entwicklung der Treffertheorie seit dem Jahre 1946 unter besonderer Berücksichtigung ihrer Anwendung auf die biologische Wirkung energiereicher Strahlen. In: *Strahlenbiologie, Strahlentherapie, Nuklearmedizin und Krebsforschung* (Hrsg. H. R. SCHINZ et al.), S. 1—65. Stuttgart: Georg Thieme 1959.
- SPALDING, J. F., T. T. TRUJILLO, and W. L. LESTOURGEON: Dependence of rate of recovery from acute gamma ray exposure on size of the conditioning dose. *Radiat. Res.* **15**, 378—389 (1961).
- SPEAR, F. G.: Immediate and delayed effects of radium (gamma rays) on tissue cultures in vitro. *Brit. J. Radiol.* **4**, 146—165 (1931).
- The effect of spaced radiation on tissue cultures in vitro. *Proc. roy. Soc. B* **110**, 224—234 (1932).
- , and A. GLÜCKSMANN: The effect of gamma radiation on cells in vivo. III. Spaced radiation. *Brit. J. Radiol.* **14**, 65—76 (1941).
- , and L. G. GRIMMETT: The biological response to gamma rays of radium as a function of the intensity of radiation. *Brit. J. Radiol.* **6**, 387—402 (1933).
- STAPLETON, G. E., A. J. SBARRA, and A. HOLLAENDER: Some mutational aspects of bacterial recovery from ionizing radiation. *J. Bact.* **70**, 7—14 (1955).
- STEARNER, S. P., and S. A. TYLER: Comparative aspects of the acute radiation response. *Zit. R. H. MOLE in: Radiation effects in physics, chemistry and biology*, ed. by M. EBERT and A. HOWARD, p. 24. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- STENSTRÖM, W., and W. MATTICK: Study of skin reactions after divided roentgen-ray dosage. *Amer. J. Roentgenol.* **15**, 513—519 (1926).
- STORER, J. B.: Late recovery from radiation damage and its possible relationship to life shortening of mice. Report University Los Angeles LA-2224, 45 (1958).
- Rate of recovery from radiation damage and its possible relationship to life shortening in mice. *Radiat. Res.* **10**, 180—196 (1959).
- Effect of dose size on rate of recovery from radiation damage in mice. *Radiat. Res.* **14**, 206—212 (1961).
- Evaluation of radiation response as an index of aging in mice. *Radiat. Res.* **17**, 878—902 (1962).
- Recovery from radiation injury in mammals. In: *Physical factors modifying response to radiation*, ed. by E. H. WHIPPLE. New York: Annals of the Academy of Sciences, vol. 114, p. 126—137, 1964.
- STRANDQUIST, M.: Studien über die kumulative Wirkung der Röntgenstrahlen bei Fraktionierung. *Acta radiol. (Stockh.)*, Suppl. 55, 1—300 (1944).
- STUTZ, E., u. U. BLÜTHGEN: Krebserzeugung am Rattenschwanz durch fraktionierte Röntgenbestrahlungen. *Strahlentherapie* **102**, 559—562 (1957).
- W. HUNSTEIN u. U. REINCKE: Zur Frage der Summation der kanzerogenen Strahlenwirkung bei fraktionierten Röntgenganzbestrahlungen weißer Ratten. *Naturwissenschaften* **48**, 505 (1961).
- SWANN, W. F. G., and C. DEL ROSARIO: The effect of radioactive radiations upon *Euglena*. *J. Franklin Inst.* **211**, 303 (1931).
- TANADA, T.: A short-lived effect of X-irradiation on rubidium absorption by excised mung bean roots. *Radiat. Res.* **9**, 552—559 (1958).
- TAZIMA, Y., and S. KONDO: Further studies on two types of dose-rate dependence of radiation-induced mutation rates in spermatogonia and

- oogonia of the silkworm. 2nd Int. Congr. of Radiation Research Harrogate 1962, Abstracts S. 7.
- TAZIMA, Y., and S. KONDO: Differential radiation sensitivity of germ cells as a possible interpretation of sex difference in dose-rate dependence of induced mutation rates in the silkworm. In: Repair from genetic radiation damage, ed. by F. H. SOBELS. Oxford: Pergamon Press 1963.
- and T. SADO: Two types of dose-rate dependence of radiation-induced mutation rates in spermatogonia and oogonia of the silkworm. *Genetics* **46**, 1337—1345 (1961).
- THOMAS, E. D., H. I. LOCHTE, J. MANNIK et J. FERREBEE: Etudes récentes sur la restauration médullaire après irradiation. *Sang* **30**, 766 (1959).
- THOMSON, J. F., and W. W. TOURTELLOTTE: The effect of dose rate on the LD<sub>50</sub> of mice exposed to gamma radiation from Co-60 sources. *Amer. J. Roentgenol.* **69**, 826—829 (1953).
- TILL, J. E., and E. A. MCCULLOCH: A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat. Res.* **14**, 213—222 (1961).
- — Repair processes in irradiated mouse hematopoietic tissue. In: Physical factors modifying response to radiation, ed. by E. H. WHIPPLE. New York: Annals of the Academy of Sciences, vol. 114, p. 115—125, 1964.
- TIMOFEEVSKIJ, A. D., A. A. GORODECKIJ u. M. CALAJA: Vergleichende Untersuchung der Wirkung von Röntgenstrahlen bei ein- und mehrmaliger Bestrahlung von Explantaten von normalem und Tumorgewebe des Menschen. *Vestn. Rentgenol. Radiol. H.* **6**, 15—22 (1953) [Russisch].
- TOD, M.: Optimum dosage in the treatment of cancer of the cervix by radiation. *Acta radiol. (Stockh.)* **28**, 564—575 (1947).
- TRÄNKLE, H. L., and D. MULAY: Further observations on late radiation necrosis following therapy of skin cancer. The results of fractionation of the total dose. *Arch. Derm. Syph. (Chic.)* **81**, 908—913 (1960).
- TRAUTMANN, J., J. G. FREY u. J. SCHAAF: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung kleinster Röntgendosen auf das Keimepithel des Rattenhodens. *Strahlentherapie* **91**, 602—616 (1953).
- TROTT, K.-R.: Unveröffentlichte Arbeit aus dem Strahlenbiologischen Institut München.
- UPTON, A. C., V. K. JENKINS, and J. W. CONKLIN: Myeloid leukemia in the mouse. In: Physical factors modifying response to radiation, ed. by E. H. WHIPPLE. New York: Annals of the Academy of Sciences, vol. 114, p. 189—202, 1964.
- VENINGA, T. S.: The frog's electroretinogram as an immediate X-ray effect. *Proc. kon. ned. Akad. Wet., Ser. C* **64**, 208—211 (1961).
- VOGEL, H. H., J. W. CLARK, and B. L. JORDAN: Comparative mortality after 24-hours whole-body exposures of mice to fission neutrons and Co-60 gamma rays. *Radiat. Res.* **6**, 460—468 (1957).
- VOGEL, H. H., and D. L. JORDAN: Fractionated, low-dose rate irradiation of mice with fission neutrons and Co-60 gamma rays. In: Physical factors modifying response to radiation, ed. by E. H. WHIPPLE. New York: Annals of the Academy of Sciences, vol. 114, p. 185—188, 1964.
- WACHSMANN, F.: Grundsätzliches zur Frage der Fraktionierung bei der Röntgenbehandlung bösartiger Geschwülste. I. Mitt. *Strahlentherapie* **73**, 636—648 (1943).
- II. Mitt. Experimentelle Untersuchungen an einem Fall von multiplem Hautkarzinom unter besonderer Berücksichtigung der Frage der Zweckmäßigkeit der Fraktionierung. *Strahlentherapie* **73**, 649—662 (1943).
- III. Mitt. Auswirkungen der Dosisabhängigkeit des Zeitfaktors auf die fraktionierte Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **73**, 663—670 (1943).
- WILSON, C. W.: Possible implications of recent radiobiological observations for tumour-dose-fractionation schedules. *Radiology* **77**, 940—947 (1961).
- Cell-survival data and the irradiation. Response of some normal tissues. *Amer. J. Roentgenol.* **83**, 120—130 (1964).
- WIMBER, D. R., and L. F. LAMERTON: Cell population studies on the intestine of continuously irradiated rats. *Radiat. Res.* **18**, 137—146 (1963).
- WINTZ, H.: Untersuchungen über den Zeitfaktor. *Strahlentherapie* **42**, 591—598 (1931).
- WITTE, E.: Über die Umrechnung der r-Dosis auf Einheiten biologischer Wirkung bei der protrahiert-fraktionierten Bestrahlung unter besonderer Berücksichtigung der Bestrahlung mit kleinen Raumdosen. *Strahlentherapie* **65**, 630—638 (1939).
- Dosierung in biologischem Maß. *Strahlentherapie* **72**, 177—194 (1943).
- WOLFF, S.: Interpretation of induced chromosome breakage and rejoining. *Radiat. Res., Suppl.* **1**, 453—462 (1959).
- Radiation genetics. In: Mechanisms in radiobiology, ed. by M. ERRERA and A. FORSSBERG, vol. I, p. 419—475. New York and London: Academic Press 1961.
- WOOD, F. C., and F. PRIME jr.: The action of radium on transplanted tumors of animals. *Ann. Surg.* **62**, 751—765 (1915).
- YIANNAKOPOULOS, A., u. K. E. SCHEER: Der Einfluß der Protrahierung und Fraktionierung auf das Hauterythem bei Bestrahlung mit Sr-90. *Strahlentherapie* **100**, 165—168 (1956).
- ZUPPINGER, A.: Radiobiologische Untersuchungen an Ascariseiern. *Strahlentherapie* **28**, 3—122, 639—758 (1928).
- Spätveränderung nach protrahiert-fraktionierter Röntgenbestrahlung im Bereich der oberen Luft- und Speisewege. *Strahlentherapie* **70**, 361—442 (1941); **71**, 183, Nachtrag (1942).
- Die Strahlentherapie der Larynx- und Pharynx-tumoren. *Strahlentherapie* **78**, 481—500 (1949).
- Die heutige Indikationsstellung bei der Behandlung der Mundhöhlen-, Larynx- und Pharynx-tumoren. *Strahlentherapie* **95**, 161—177 (1954).

## G. Some aspects of the effects of radiations on the metabolism of tissues and tumours

by

**J. S. Mitchell**

With 1 Figure

A large and rapidly increasing body of knowledge is available concerning the effects of ionizing radiations on the metabolism of normal tissues and malignant tumours (see Bibliography, especially reviews and books). Nevertheless it is clear that a great deal of essential evidence is still lacking. There is inadequate detailed knowledge of the fundamental biology of living cells, including molecular biology in a wide sense. Moreover, there is insufficient relevant biochemical information concerning differences between the effects of radiations on proliferating normal tissues and malignant tumours, particularly for malignant tumours which show cellular differentiation and for irradiation at therapeutic levels of dose.

The subject has passed from the early stage of apparently satisfactory simple hypotheses into a period of accumulation of detailed and often seemingly conflicting evidence. At the present time, although it is not possible to give a generally acceptable and coherent explanation of the most important aspects of the metabolic effects of radiations, it appears that unifying conceptions are beginning to emerge. These concern particularly the molecular and macromolecular basis of the observed effects of ionizing radiations.

In studies of the biological effects of ionizing radiations, from a scientific point of view the most valuable use of these radiations has probably been as a tool for investigation. Moreover, it seems likely that the examination of the influence of ionizing radiations on living cells is a useful approach to the fundamental problem which may be described as the elucidation of a characteristic chemical physics of living cells.

Most investigations of the biochemical effects of radiations on normal tissues and malignant tumours have been associated with the two relevant subjects of scientific and practical interest in contemporary medicine and radiology. These are the cure of human malignant tumours by *radiotherapy* and the understanding, prevention and possibilities of treatment of the somatic and genetic injuries produced by radiations, especially after *total body irradiation*. It is to be hoped that the understanding of the details of the biochemical mechanisms of the actions of ionizing radiations on proliferating tumour cells and on normal tissues will contribute toward the provision of a rational basis for the development of the chemotherapy of neoplastic diseases. Perhaps it may also contribute to the development of immunological methods of treatment.

The most important recent trends in research in this field are associated with the rapid development of molecular biology and cell biology.

Of particular interest in relation to the macromolecular lesion, produced by ionizing radiation, is the finding of the high degree of radiosensitivity of an artificial nucleoprotein complex of the polyribonucleotide, polyadenylic acid — polyuridylic acid and bovine gamma-globulin [Poly(A+U):BGG] by ARMENTROUT and MILLS (1964). Effects of radiation on DNA acting as a primer in RNA synthesis have been demonstrated by HARRINGTON (1964) and by WEISS and WHEELER (1964); further, HARRINGTON (1964)

demonstrated that the activity of DNA as a primer for DNA-polymerase is radiosensitive. These experiments will be discussed in further detail below.

Attention must be drawn to the increased recognition of the importance of immune mechanisms in relation to the biochemical aspects of the actions of ionizing radiations; see e.g., the recent book by TALIAFERRO, TALIAFERRO and JAROSLOW (1964), a review of recent studies in auto-immunity by DAMASHEK (1964) and MUNRO (1964).

Evidence for immunological injury to leucocytes exposed to ionizing radiation has been given by PUGH et al. (1964). Ionizing radiations may induce antigenic changes in cells which are then immunologically rejected. Radiosensitization of experimental tumours in mice and rats to local irradiation with Roentgen rays by immunological methods has been demonstrated by COHEN and COHEN (1957) and HADDOW and ALEXANDER (1964). The importance of host cells, especially lymphocytes, in the killing of tumour cells is emphasized by the elegant experiments of TEICHMANN (1964) using diffusion chambers with walls containing membrane filters with different pore size.

**Historical survey.** The great majority of the investigations which are considered in this review were published since 1945 and particular emphasis is laid on recent work. However, to understand the present position, it may be of value, as well as of interest, to consider briefly some of the earlier developments before 1945. This year was a turning point in radiobiology. After 1945, the results of intensive wartime research in connection with the atomic bomb became available (STONE 1946; ZIRKLE 1954) and there was a tremendous increase in research in radiobiology throughout the world.

One of the most important results obtained in the early days was the discovery by BENJAMIN and SLUKA (1908) of the reduction of the primary antibody response by single sub-lethal and lethal doses of Roentgen rays in rabbits. The inhibition of formation of antibodies was associated with damage to the haemopoietic system. Independently, LÄWEN (1909) found that total body roentgen irradiation depressed the formation of antibodies in rabbits if bacterial antigen was given after the exposure. It seems that these remarkable observations were forgotten and that the phenomena were rediscovered subsequently first by HEKTOEN (1915, 1918) and then again many years later (CRADDOCK and LAWRENCE 1948; TALIAFERRO and TALIAFERRO 1951).

The first attempts to modify radiation response were reported by SCHWARZ (1909), who demonstrated the effect of ischaemia in reducing the radiosensitivity of human skin. Reduction of the radiosensitivity of cells in the absence of oxygen was first demonstrated experimentally by HOLTHUSEN (1921) who found that the radiosensitivity of *Ascaris* eggs in an atmosphere of nitrogen is only about a third of that in air. CRABTREE and CRAMER (1933, 1934) showed that the radiosensitivity of tumour cells is reduced by anaerobiosis. In 1942, LACASSAGNE reported that anoxia increased the survival time of newly-born mice after irradiation. However, it appears that it was not until the experiments of THODAY and READ (1947) using root-tips of *Vicia faba* that the importance of oxygen in increasing radiosensitivity became generally recognized.

The problem of the significance of metabolism in relation to radiosensitivity was considered by many workers and was widely discussed; see e.g. HOLTHUSEN (1931). Nevertheless, it came to be accepted that doses of ionizing radiations of the order of magnitude used in radiotherapy had little or no effect on the biochemical processes occurring in the living cells of normal tissues and of malignant tumours. This position was summarised in a report by C. M. SCOTT (1937, p. 55) in the following words: "The main conclusions of the preceding discussion are: (1) The primary biological action of roentgen and  $\gamma$ -rays is entirely independent of the metabolic processes of the living cell. (2) The action is primarily exerted on the nucleus of the cell and thereby on the cell processes that control growth".

These views were based mainly on studies of respiration and glycolysis for which as a rule, changes are only demonstrable after much larger doses, in the region of 10,000 R to

100,000 R or even higher. From his own experiments, SCOTT (1937, p. 74) found that "A large dose of X-rays, 16,500 R, has no action on the respiration of the frog's heart, nor on the power of the tissue to cause the breakdown of carbohydrate to lactic acid" A particularly interesting example of the work at that time is the investigation by HUBERT (1929) of the effects of irradiation of the 5-day chick embryo. A dose of 2,000 R of roentgen rays completely stopped the growth of the embryo and led to its death, but had no detectable effect on respiration or glycolysis. A dose of 12,000 R caused only a 15 per cent decrease of respiration but reduced glycolysis by 45 per cent. This type of result has been abundantly confirmed by subsequent investigations.

However, further studies, mainly of other biochemical processes, demonstrated that many important cellular metabolic effects are produced in normal and embryonic tissues and malignant tumours by doses of Roentgen and  $\gamma$ -radiation in the therapeutic range.

A selection of the earlier biochemical investigations is summarised in Table 1. One of these, which was probably among the most important in leading to the recognition of the metabolic effects of relatively small doses of radiation, is the systematic study of the changes in cholesterol metabolism in the mouse after total body irradiation with doses of 300 to 2,000 R, published by LÖW-BEER (1933) from Professor A. BIEDL's Department in Prague. The experiments of REIS and KLUGE (1936) showing the accumulation of uric acid in the JENSEN rat sarcoma 24 hours after irradiation with doses of 500—1,800 R pointed the way to the study of the effects of radiation on cellular nucleic acid metabolism.

The work of SYLVÉN (1940; see also 1945) emphasised the part played by connective tissues and by chemical mediators, especially heparin, in the biochemical effects of radiation. This work was largely duplicated apparently independently in the U.S.A. in the course of war time research; an increase in a heparin-like anticoagulant was demonstrated in the circulating blood in dogs after total body irradiation with doses of 200 R and 450 R (ALLEN et al. 1948; see PROSSER 1947).

The rapid developments in the years 1940 to 1942 appear to have been due largely to the application in this field of the techniques of radioactive isotopic tracer methods, using  $P^{32}$  and of ultra-violet microscopy, together with the influence of contemporary advances in general biochemistry and cytology (e.g. CASPERSSON 1936; BRACHET 1941).

Emphasis came to be placed on *the role of deoxyribonucleic acid* (DNA) in the effects of therapeutic doses of radiation on proliferating cells in normal tissues and malignant tumours. Although it is now clear that the early studies attributed too great a significance to the process of inhibition of synthesis of DNA *per se*, it has come to be accepted that in general in proliferating human and mammalian cells, irradiation with therapeutic doses is followed by an inhibition of synthesis of DNA and a profound disturbance of cellular nucleic acid metabolism affecting both DNA and RNA. These processes were demonstrated by EULER and HEVESY (1942, 1944) in the JENSEN rat sarcoma using radiophosphorus  $P^{32}$  as a tracer and by MITCHELL (1940, 1942a—c, 1943, 1944), mainly in human tumours and also the JENSEN rat sarcoma, by the use of ultraviolet photomicrography combined with photographic photometry and histochemical studies. It is of great interest that EULER and HEVESY (1942) found that after 2 hours, "The irradiation of the sarcoma with 1,000 international Roentgen units and even with a dose of 450 R or less causes a decrease of the formation of (deoxyribo) nucleic acid, in the great majority of cases, to an average of half to one-third of the value found in an unirradiated sarcoma. Individual sarcomas (five of fortyfive), which presumably are particularly resistant to radiation, exhibit normal formation of nucleic acid even after irradiation".

As often happens in scientific investigations, the relatively simple picture suggested by these early experiments has proved to be very incomplete. As QUASTLER (1962) wrote "It was established at an early stage of this work that roughly half the rate of tracer uptake can be much more easily suppressed than the remaining portion; because

Table 1. *Some earlier investigations of the cellular metabolic effects of irradiation*  
 A summary of the results of studies before 1945.

Effect studied	Dose of radiation	Animal or material examined	Reference
Reduction of primary antibody response	14 X units (ca. 500 R) and higher	Rabbit	BENJAMIN and SLUKA (1908)
Inhibition of precipitin formation			
Inhibition of production of various antibodies	Sub-lethal and lethal	Rabbit, rat and dog	LÄWEN (1909), HEKTOEN (1915, 1918)
Complete inhibition of growth	2,000 R	} 5-day chick embryo	HUBERT (1929)
15 per cent decrease in respiration	12,000 R		
45 per cent decrease in glycolysis	12,000 R		
Reduction of respiration	Large doses	Jensen rat sarcoma <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> , rat testis and spleen <i>in vitro</i>	CRABTREE (1932)
Inhibition of utilization of glucose (no consistent effect on N metabolism and no effect on outwandering)	140,000 R	Rat embryo kidney in culture	HOLMES (1933)
Fall in blood cholesterol 4 h after irradiation and later increase in total body cholesterol	300—1000 R	Mice	LÖW-BEER (1933)
Accumulation of uric acid	500—1,800 R	Jensen rat sarcoma	REIS & KLUGE (1936)
Inhibition of glycolysis at low physiological temperatures (0—10° C)	1,000 R	Rat retina	CRABTREE and GRAY (1939)
	18,000 R	Crocker tumour and Tumour 113	HOLMES (1939)
Decrease in activity of the lactic dehydrogenase system: the decrease was corrected, at least partially, by addition of coenzyme I	17,000 R	Brain of 8-day chick embryo	HOLMES (1939)
Liberation of ester sulphuric acids of high molecular weight (heparin) from mast cells	1000 R	Human subcutaneous connective tissue and stroma of malignant tumours	SYLVÉN (1941, 1945)
Altered distribution of <sup>32</sup> P-increased concentration in nucleus and decreased concentration in cytoplasm	200 R	Lymphoma (mouse)	MARSHAK (1941)
Accumulation of organic acid soluble phosphorus compounds	3 R (total body) 20 R (local) or 1.4 mcs <sup>32</sup> P	Leucocytes and erythrocytes in patients with chronic myeloid and chronic lymphatic leukaemia	ABELS <i>et al.</i> (1941)
Disturbance of nucleic acid metabolism, accumulation of pentose nucleotides and RNA and	40—4400 R	Human carcinoma and sarcoma and normal and hyperplastic epithelium and Jensen rat sarcoma	MITCHELL (1940, 1942, 1943, 1944)
Inhibition of synthesis of DNA (ultra-violet photomicrographic method)			
Inhibition of synthesis of DNA (uptake of <sup>32</sup> P)	460—7,000 R	Jensen rat sarcoma	EULER and HEVESY (1942, 1944), HEVESY (1945)

the radiosensitive portion is often suggestively close to 1/2, some investigators speak of a "50 % effect". However, it must be mentioned here that many subsequent experiments especially using relatively low doses of radiation and studying different types of proliferating cells, have revealed the exceedingly great complexity of the disturbance of cellular nucleic acid metabolism and of the associated far-reaching influences upon the cell. It is now generally accepted that under many conditions, the inhibition of synthesis of DNA observed is to be regarded as *secondary* to the mitotic inhibition produced by irradiation by means of some highly radiosensitive mechanism (HOWARD 1956; KELLY 1957; CASPERSSON, KLEIN and RINGERTZ 1958; WHITMORE et al. 1960). These observations refer of course to experimental conditions in which there is negligible breakdown and loss of cells. It is evident that the DNA content of an organ or tissue will decrease after irradiation as a result of cell depletion.

Although much of the earlier work has been forgotten, some of the investigations, especially those summarised in Table 1, are still relevant. A general conclusion which can be drawn from the earlier work is that it is reasonably certain that the biochemical changes observed in tissues and tumours after irradiation indicate the existence of a number of different mechanisms of action of ionizing radiation. The evidence suggests that even though it appears that the biological functions of DNA play an important part, many other biochemical mechanisms are involved.

## Basic mechanisms

### 1. Effects of radiations on metabolic processes in relation to radiosensitivity

#### a) Introductory discussion

Probably the best approach to this problem is by consideration of the evidence now available concerning highly radiosensitive processes of relevance to metabolic studies, not only from the strictly biochemical point of view but also in relation to the general biological phenomena and to the associated physiological and biophysical processes. All these aspects of the problem are closely interrelated and must be taken into account in trying to place the biochemical processes in correct perspective. Special attention must be paid to the experimental results obtained after irradiation with doses in the region from about 0.1 rad up to about 100—150 rads. However, by way of introduction, it is necessary to discuss some general aspects of the problems and to refer to the results of a number of relevant studies, often with higher doses, many of which will be considered again in detail.

The most reliable and least ambiguous biochemical information is likely to be obtained by the observation of *initial effects* (cf. ERRERA 1955; HARRIS 1961) especially immediately after and at short intervals, in the region of minutes after irradiation. Experiments using high intensities of radiation in order to minimise the time of exposure are particularly valuable. It is suggested that attempts should be made to study biochemical changes within microseconds after the end of high-intensity irradiation; experiments of this type are made possible by the use of a linear accelerator.

With increasing intervals of time after irradiation, and with prolonged periods of irradiation, the part played by biological processes — which may be described as *secondary biological processes* — almost invariably tends to increase. As a rule, highly radiosensitive cells especially those of thymus and lymphoid tissue show gross degenerative changes on histological examination at several hours after irradiation. At this stage it is often quite impossible to interpret the biochemical changes observed (HEINEKE 1904; SCHREK 1948; TROWELL 1952; TROWELL, CORP and LUSH 1957; HJORT 1959; SCAIFE and ALEXANDER 1961; HAGEN and BRAUN 1961; HAGEN 1963). It is important to relate biochemical changes after irradiation to cytological and histological changes and to demonstrate the absence of these as far as possible. It is of interest to note that MOLE

and TEMPLE (1959) used the total amount of DNA in the small intestine as a measure of the cell population in order to follow the course of radiation damage in mice and rats. Similarly, DAVIS and COLE (1961) used the DNA content of the bone marrow of the femur of the mouse as a criterion of cell depletion and subsequent regeneration for measurement of the relative biological effectiveness of simulated fission neutrons and 250 kV Roentgen rays at times from 2 hours to 14 days after irradiation.

At the other extreme, it is important to study the *late* biochemical effects of acute and chronic irradiation in tissues at intervals of months and years after exposure. The problem is very complex as shown for example in investigations of intercapillary glomerulosclerosis in mice (GUTTMAN and KOHN 1962): this condition occurs normally, progresses with age and is accelerated by irradiation. Late biochemical changes have been explored in the case of radiation-induced cataract (PIRIE, VAN HEYNINGEN and BOAG 1953; VAN HEYNINGEN, PIRIE and BOAG 1954). However, little work has yet been carried out on the general problem of biochemical changes which might be attributed specifically to late radiation effects. A start has been made with biochemical studies on mice 6—18 months after total-body Roentgen irradiation (ESNOUF, ORD and STOCKEN 1961; FRANKLIN 1961); the irradiation brought about a permanent depression of the process of incorporation of P<sup>32</sup> into DNA relative to that into RNA in the kidneys of both male and female mice.

For many years (BOHN 1903; REGAUD and LACASSAGNE 1927), it has been recognized that in the case of many types of cells, including some relatively radioresistant cells, the initial radio-lesion can remain latent until the onset of mitosis. Recently this phenomenon has gained a new relevance from the biochemical point of view. For example, MAIN, COLE and WALWICK (1962) have shown in studies of the rat kidney after unilateral nephrectomy that previous irradiation causes latent injury to a system responsible for the formation of enzymes required for DNA synthesis in the cells of the remaining kidney. DNA synthesis is one of the events which is in general necessary for mitosis; these results appear to explain at least in part the mechanism for the production by radiation of latent injury to the capacity for mitosis (COLE and ROSEN 1961). Similar latent radio-lesions have also been demonstrated in the liver (LADDAGA and ROMAGNOLI 1961).

It is, of course, well known that in proliferating cells, pre-prophase inhibition of mitosis is often an extremely radiosensitive process. For this reason, it is always important to decide whether or not the biochemical changes observed after irradiation are to be regarded as the result of the mitotic inhibition *per se*.

A great deal of information about mitotic inhibition in the cells of chick fibroblast cultures after irradiation with relatively small doses was provided by the classical studies of SPEAR (1931, 1935a and b; see also SCOTT 1937, p. 34). The dividing cells were most radiosensitive in the preprophase stage. The threshold for detectable temporary mitotic inhibition was about 40 to 45 R under the experimental conditions. Following the initial inhibition apparently complete compensatory increase of mitosis occurred with doses up to about 60 R. Temporary mitotic inhibition was detectable in the epidermis of the mouse after a dose of 5 R delivered at the rate of 50 R per minute. "Experiments now in progress indicate that 5 R of 250 kV Roentgen rays decreases mitotic activity to less than 25 per cent of normal in 60 to 90 minutes" (KNOWLTON, HEMPELMANN and HOFFMAN 1948). Further, it is of great interest that temporary mitotic inhibition was observed in the rat corneal epithelium after a dose of 2 R (SYCHKOVSKAYA 1953; STRELIN 1956). In studies of the effects of Roentgen rays on the small intestine, mainly the jejunum, of the adult rat, there was a temporary fall of about 60 per cent in mitotic activity at 1 hour after a dose of 50 R (WILLIAMS *et al.* 1958).

Normal human lymphocytes from the peripheral blood have been found to present *in vitro* a statistically significant reduction of survival after doses of 2 and 5 R of Roentgen rays (STEFANI and SCHREK 1964). The effect produced by 5 R was  $34.9 \pm 4.5$  per cent.

A comparison between the effect of Roentgen irradiation on rabbits in which the appendix alone is irradiated and on rabbits receiving total-body irradiation, with sham shielding, "shows the presence of an indirect effect that increases appreciably the lymphocyte destructive consequences of totalbody Roentgen irradiation" (DE BRUYN, TORNOVA-SVEHLIK and VENTER 1965).

Temporary inhibition of mitosis in embryonic neuroblasts of the grasshopper *Chortophaga* has been studied in great detail (CARLSON 1954). Slowing down of the rate of mitosis with temporary accumulation of dividing cells of this type in late prophase has been detected after a dose of 1 R. A remarkable and important finding is that in this material, *recovery* from the mitotic inhibition has been obtained by the application of hypertonic saline solution within 60 seconds after irradiation with doses up to 50—60 R (GAULDEN 1956; HOLLAENDER 1957, 1960). The hypertonic solution used contained 1.20 times the concentration of the inorganic salts of the isotonic medium; it accelerated the mitotic rate in unirradiated neuroblast cells.

From the point of view of biochemical studies, it is relevant to note that for many highly radiosensitive cells, the most striking effect of irradiation is the process of *acute cytolysis*, in which the cells degenerate and break down, often rapidly, after the irradiation without the intervention of mitosis. The microscopic appearances during acute cytolysis suggest that the high degree of radiosensitivity is associated with a living nuclear structure which has an unstable molecular architecture. Among normal cells showing acute cytolysis after small doses of radiation, the best known are the small lymphocyte (HEINEKE 1904; SCHREK 1948; TROWELL 1952; TROWELL, CORP and LUSH 1957), spermatogonia of late type A, intermediate type and early type B (SCHINZ and SLOPOLOSKY 1923; OAKBERG 1955a and b 1957; see CLERMONT and LEBLOND 1953; JONES 1960), primordial oocytes (LACASSAGNE 1913; LACASSAGNE and GRICOUROFF 1941; DESAIVE 1957; MANDL 1958, 1963; PETERS 1961; PARSONS 1962; SCHERER and JOSTES 1963), the basal cells of the crypts of LIEBERKÜHN (BLOOM and BLOOM 1954; MONTAGNA and WILSON 1955; WILLIAMS, TOAL, WHITE and CARPENTER 1958) and the embryonic neuroblast (HICKS 1953). Similar behaviour occurs in some tumour cells and is particularly striking in some of the cells of basal-celled carcinoma of the skin (rodent ulcer) and in most cases of testicular seminoma.

Mention may be made here briefly of the variation in radiosensitivity of cells irradiated at different phases of the cell cycle. For inhibition of the capacity for proliferation, i.e. delayed killing, of various mammalian cells in culture, the radiosensitivity has been found to vary by factors of 1.5 (DEWEY and HUMPHREY 1963) and 2.5 (TERASIMA and TOLMACH 1963). An exceptionally wide range of variation has been observed for lethal effects in the case of the mammalian oocyte by a factor of about 10 in a time of about 8 hours in the mouse (RUSSELL and RUSSELL 1959) and in the region of about 30 in the rat (MANDL 1963). The influence of the degree of chromosomal contraction on radiosensitivity has been discussed (e.g. SPARROW 1951; EVANS 1962).

The lymphocyte has been the subject of many radiobiological and biochemical studies. It is now recognized that the small lymphocyte can undergo mitosis. In the rat at any rate, the small lymphocytes in the thymus cortex *do* divide and about 2 per cent are in mitosis at any one time (SAINTE-MARIE and LEBLOND 1958; TROWELL 1960 and personal communication 1963). It is relevant to mention here the work of GOWANS (1959) on the re-circulation of lymphocytes and the finding that these are two types of small lymphocytes (GRUNDMANN 1957, 1958, 1959) which show great differences in distribution and behaviour. It may be useful to quote GRUNDMANN (1957, 1958):

„Der eine Lymphocytentyp, der sich durch ein relativ blasses Chromatin und im ausgereiften Zustand durch einen großen Zentralnucleolus auszeichnete, wurde bevorzugt in den Follikeln, der andere Typ mit einem dichten, polynucleolären Kern in den Sinus der Milz und der Lymphknoten gefunden.“ The sinus lymphocytopoiesis in lymph nodes and spleen can be inhibited by small doses of cortisone, while the lymphopoiesis

in the follicles shows active regeneration between the injections. DOCA<sup>1</sup> acts selectively on the follicular lymphocytopoiesis. The action of these steroids is not limited to the destruction of cells. There appear to be certain relationships between the action of cortisone and that of ionizing radiation (c.f. HEMINGWAY 1959). It is of great interest to note that in recent studies of the radiosensitivity of the lymphocytes in the thymus of the rat, TROWELL (1961) found that the cortical lymphocytes were four times more sensitive than the medullary and that the radiosensitivity boundary was a sharp one. These findings are of importance *per se*: moreover they emphasise the *difficulties of biochemical studies* at the tissue level and the need to correlate the findings with changes in cells.

The high degree of radiosensitivity of the haematopoietic tissues in mammals appears to be the most important factor in determining the smallest dose of radiation which will lead to early death of the animal after total-body exposure. As a result of tissue transplantation studies in mice evidence is appearing in support of the general concept that the *genetic constitution* of the haematopoietic tissue determines the radiosensitivity of the whole animal (BERNSTEIN 1962).

One of the most important aspects of the problems to be discussed is the relationship of the biochemical changes observed after irradiation to radioresistance of malignant tumours and normal tissues. This question concerns not only the intrinsic (primary) radioresistance of some human malignant tumours and the associated problem of refractory tumours but also secondary radioresistance, acquired after previous irradiation.

The breakage of chromosomes after small doses of radiations followed by either loss of chromosome parts or the formation of chromosome aberrations has been the subject of a great deal of study. The problem of the role of the production of chromosome structural changes and the associated genetic damage in the killing of the tumour cells in radiotherapy must be considered in relation to damage to the organised macromolecular structure of the chromosomes and the observed metabolic effects. There is a great deal of experimental evidence to show that radiation-induced growth inhibition in plants is primarily a consequence of genetic loss following the formation of chromosome aberrations (SAX 1940; SAX and BRUMFIELD 1943; GRAY and SHOLES 1951, NEARY, EVANS and TONKINSON 1959,; EVANS and SPARROW 1961). However, this may not be the full explanation of the action of therapeutic doses of roentgen and  $\gamma$ -radiations upon human malignant tumours (see KOLLER 1958; MITCHELL 1960, p. 15). It is of great interest that EVANS (1962) considered that "At the moment, it seems that we are in no position to draw any simplified general conclusion relating chromosome damage and cell viability".

The effects of very soft monochromatic Roentgen rays on *Tradescantia* chromosomes have been re-examined by NEARY, SAVAGE and EVANS (1964), with special reference to the oxygen effect and the dose-response relation for different types of aberrations. The results do not confirm those obtained by CATCHESIDE and LEA (1943) in their classical experiment. "The finding that 8.3 A Roentgen rays do, after all, induce chromatid aberrations with good efficiency takes away one of the strongest arguments available till now for a target mechanism of aberration induction." It appears that there is no longer any basis for the estimate that about 17 'ionizations' are required for efficient breakage of a chromatid. Most of the experimental results are explicable in terms of breakage by a single energy-loss event in a microstructure of a chromatid, e.g., a short length of a single macromolecule of DNA.

An aspect of the problem which has to be considered here in relation to biochemical studies is the association between polyploidy and radioresistance. This is a subject which has been studied extensively and the literature contains a number of results which are in apparent disagreement. The position was summarised a few years ago by the

<sup>1</sup> DOCA is deoxycorticosterone acetate.

conclusion of RÉVÉSZ and NORMAN (1960): "If consideration is restricted to cases in which the effect on cell multiplication was studied, radiosensitivity was usually greatest in the haploid cell and decreased with increasing ploidy".

However, it has been found recently (HAUSCHKA 1963, p. 567) in a survey of the radiosensitivity of mouse ascites tumours, many of which are transplantable by means of a single viable cell, that the near-diploid neoplasms were able to survive Roentgen ray doses that were lethal for comparable heteroploids and unbalanced polyploids. The near-tetraploid karyotypes were almost never exact duplications of the corresponding near-diploid tumours. "Such nuclei are tetrasomic for most chromosomes but trisomic or monosomic for certain portions of their genome. The monosomic condition is an Achilles heel making these partially haploid cells in effect as vulnerable to ionizing radiations as Tobias' haploid yeasts." The point is made that the degree of balance in the karyotype as a whole is all-important; it is suggested that disturbance of this balance upsets the orderly flow of messenger RNA from a diploid set of genes to the cytoplasm (HAUSCHKA 1963, p. 96).

Of interest is the finding that the differences in radiosensitivity between tumour cell lines with different chromosome numbers observed under anaerobic conditions disappear in the presence of oxygen (GLAS and RÉVÉSZ 1963).

Further, it is relevant to note that the intrinsic *non-protein* sulphhydryl level appears to be important and that an increased level of non-protein -SH per cell is associated with increased resistance, of the tumour cells studied, to irradiation under anoxic conditions (RÉVÉSZ, BERGSTRAND and MODIG 1963). The role of -SH compounds in relation to radiosensitivity involves many problems which are still unresolved (ORD and STOCKEN 1963). Here it may be mentioned that in the tumour cells studied, there appears to be a direct relationship between the *protein* and *bound* sulphhydryl level and the modal chromosome number or the average amount of DNA per cell (CASPERSSON and RÉVÉSZ 1963). Moreover, there appears to be a parallelism between the distribution of protein-bound -SH groups and RNA in and among the cells of malignant tumours; nucleoli often show a high concentration of protein bound -SH groups (BAHR and MOBERGER 1958; SANDRITTER and KRYGIER 1959; see also ALBERTINI 1959). The relation between the average content per cell of non-protein -SH and protein-bound -SH (as well as per unit DNA), is associated with increased resistance to irradiation under anoxic conditions (CASPERSSON and RÉVÉSZ 1963). It is to be noted that the presence of enzymes such as glutathione reductase in cell nuclei is likely to be one of the factors responsible for the difficulty in detecting changes in -SH groups after irradiation (ORD and STOCKEN 1963). It appears that a process of -SH buffering must be envisaged.

Studies of the role of -SH groups in relation to the biochemical effects of radiation continue. SCAIFE (1964a) compared the effect of 800—1000 rads of Roentgen rays on the thiol content of thymocytes and Ehrlich ascites carcinoma cells. Four hours after irradiation there was a decrease in the non-protein thiol content of thymus and thymocytes but no change in ascites cells. In both cells the main non-protein thiol compound was glutathione. Nuclei isolated from rat thymus 1 hour after 1000 rads *in vivo* showed an increase in the -SH content of the globulin fraction and a decrease in the -SH content of the nucleohistones. It is concluded that if thiol groups are involved in cell sensitivity to radiation, only a small fraction of the total -SH groups are involved at the critical sites (see GRONOW 1966).

Changes in the -SH content of the hamster cheek pouch observed after Roentgen irradiation appeared to be an abscopal reaction and not a primary effect (SCOTT, REISKIN and PAKOSKEY 1964).

The correlation between the radiosensitivity and contents of -SH and -S-S-groups, as determined by polarography, was studied in mammalian cells with different radiosensitivity *in vitro* and *in vivo* by UENO et al. (1964). The content of low molecular weight

SH compounds seemed to be larger in radioresistant cells than in radiosensitive ones except in the case of radiosensitization by 5-bromodeoxyuridine *in vitro*.

There is some evidence that the selection of polyploid cells may be a factor in the development of radioresistance in irradiated human tumours (CUSMANO 1952; KOLLER 1956). It is likely that under these conditions, anoxic tumour cells play a critical part. An important aspect of the problem is the relationship between radioresistance and the distribution of the DNA content of the nuclei of the tumour cells; it is now well established that the DNA content per cell is proportional to the chromosome number (see e.g. KIT 1960). From this point of view, RICHARDS and ATKIN (1959) measured the DNA content of tumour cells on the basis of determination of the amounts of Feulgen stain per cell nucleus using a scanning photometer and studied biopsy specimens of human cases of uterine tumours, mainly carcinoma of the cervix before, during and after treatment by intra-cavity radium or radio-cobalt. The results for the DNA content for 60—100 tumour cells in each tumour were plotted as frequency histograms. While the "typical" response, with the appearance of tumour cells having high DNA values was seen in tumours which responded well to radiotherapy, two tumours which responded poorly were characterised by the appearance of a new modal DNA value in the triploid region. These two tumours, which histologically were adenoacanthomata, were also characterised by an unusual pattern of DNA values *before* treatment. The possibility that changes in the DNA content of cells during the early stages of radiotherapy, or perhaps the pattern of DNA values found before treatment, might form the basis of an objective test of radiocurability requires further investigation.

One of the most important experimental advances in recent years in the development of a method of growing numbers of single human and mammalian cells on a suitable plate *in vitro* so that each cell produces a discrete colony (PUCK, MARCUS and CIECURA 1956; see PUCK 1959, 1961). This tool provides a powerful method for the quantitative study of the effects of radiation in producing loss of the capacity of single cells to proliferate, or loss of reproductive integrity as it has been termed by GRAY (1959). In the earliest of these elegant experiments PUCK and MARCUS (1956) studied the effects of Roentgen rays on single cells derived from a human carcinoma of the uterine cervix (HeLa) under conditions such that 100 per cent of the unrad'ated cells reproduce in isolation to form a macroscopic colony. They showed that the survival of single cells, defined as the ability to form a macroscopic colony within 15 days, yields a typical two-hit curve. The dose  $D_{37}$  for 37 per cent ( $1/e$ ) survival for the individual sensitive site in the cell was found to be 96 R. The observed value of the intercept, more recently termed the extrapolation number (see PORTER 1963), was approximately 2.0. This was taken to indicate diploidy and that at least one hit must be scored in each of two targets.

The authors suggested that the lethal effect may be due to a radiation-induced genetic defect and that the locus of action may be chromosomal. PUCK (1959, see Table 2) attempted to relate the widely differing values of  $D_{37}$  and the mean DNA content of the nucleus for diploid cells in three species, man, chick and yeast. As he pointed out, despite individual variations in  $D_{37}$  values and DNA contents of over a hundred-fold, the product of these variables remains reasonably constant, varying only by a factor of about two.

PUCK, MORKOVIN, MARCUS and CIECIURA (1957) have demonstrated that a variety of malignant and non-malignant cell types of human origin, when irradiated *in vitro* give similar survival curves. MORKOVIN and FELDMAN (1960) have shown that within the limits of experimental error the same survival-dose curve is given, for  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ -rays, 250 kVp Roentgen rays of H.V.L. 1.5 and 3 mm of Cu, and 100 kVp Roentgen rays of H.V.L. 3 mms of Al., by cells of human HeLa carcinoma, Osgood leukaemia, normal liver, conjunctive, appendix and amnion, Gey's mouse ascites tumour irradiated *in vitro* and also by the cells of mouse leukaemia studied by HEWITT and WILSON (1959, 1960a and b) and irradiated *in vivo*. For all these cells at least when well oxygenated the value of  $D_{37}$  is approximately 140 rads. Under anoxic conditions the value of  $D_{37}$  is approximately

350 rads. The value of the extrapolation number is often approximately 2 but values between 1.4 and about 10 have been reported; further, it is to be noted that the experimental error in most determinations of the value of the extrapolation number is considerable (PORTER 1963). It is also possible that there may be an exponential (single-hit) component (BARENDSEN 1962; BENDER and GOOCH 1962). For two closely related murine lymphocytic leukaemias, one diploid and one tetraploid, irradiated *in vivo* under both oxygenated and anoxic conditions, the extrapolation number for the tetraploid tumour was approximately twice that for the diploid tumour (BERRY 1963). Further, it is to be noted that the survival curve for mouse bone marrow cells irradiated *in vivo* with  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ -rays shows a value of  $D_{37}$  of  $95 \pm 9$  rads (TILL and McCULLOCH 1962, 1963); for lymph node lymphocytes of the mouse, irradiated *in vitro* and grown in lethally irradiated mice, the value of  $D_{37}$  was 74 R (SMITH and Vos 1963). In discussing problems of the culturing and radiation sensitivity of normal human cells, NORRIS and HOOD (1962) report values of  $D_{37}$  ranging from 41 to 480 rads.

The extensive results now available concerning the survival parameters for mammalian cells irradiated *in vitro* under aerobic conditions have been reviewed by WHITMORE and TILL (1964). It has become clear that there is a very considerable spread in the observed values of the parameters, with values of  $D_{37}$  ranging from 35 to 300 rads and extrapolation numbers varying from unity to 100.

This conclusion has important implications for radiotherapy and for the role of immune mechanisms in radiotherapy (MUNRO 1964).

The important studies of ELKIND and SUTTON (1960) demonstrate the capacity of the cells to accumulate sub-lethal damage, from which they can recover completely within 12 hours. It is to be noted that the damage to the reproductive integrity of the cells is not usually manifested by the dissolution of the cell until it has undergone one or more, perhaps even 4 or 5, post-irradiation divisions.

Many investigators have confirmed Elkind's original observation that individual mammalian cells are capable of rapid recovery from sub-lethal damage by Roentgen and gamma-rays. Of biochemical interest, is the demonstration by ELKIND, WHITMORE and ALESCIO (1964) that actinomycin D can prevent or at least retard these recovery processes. This evidence suggests that recovery of cells from acute radiation damage involves DNA-dependent RNA synthesis.

The influence of a number of other metabolic inhibitors on the recovery of HeLa cells *in vitro* from sub-lethal damage after irradiation has been studied by BERRY (1965). For fractionated Roentgen irradiation, the shape of the recovery curve has been found to be dependent upon the size of the first Roentgen ray dose and upon the incubation temperature between the irradiations. Methotrexate abolishes recovery between fractionated Roentgen ray doses in the HeLa cells studied in addition to potentiating the effects of single Roentgen ray exposures. In these experiments, no effects on the intracellular recovery processes between the fractionated doses of Roentgen radiation were found with 2,4-dinitrophenol, puromycin or 5-fluorouracil, although 5-fluorouracil potentiates the dose-response to single Roentgen ray exposures.

The mechanism of the recovery process does not require uninterrupted DNA synthesis. In HeLa cells recovery from sub-lethal Roentgen ray damage occurs during inhibition of DNA synthesis by 5-fluorodeoxyuridine (KIM, EIDINOFF and LAUGHLIN 1964).

These remarkable results show that the reproductive integrity of a cell is an extremely radiosensitive function and suggest a close similarity in the mechanism of the loss of the capacity to proliferate after irradiation for all the types of cells studied. It is evident that a distinction must be made between the radiosensitivity of individual cells and that of tissues.

Of great biochemical interest is the demonstration by SZYBALSKI (1960) and DJORDJEVIC and SZYBALSKI (1960), that incorporation of the thymidine analogues, 5-bromo- and 5-iodo-deoxyuridine into the DNA of human cells in tissue culture *before* irradiation

produces radiosensitization (see also SZYBALSKI and OPARA-KUBINSKA 1961). From the data of SZYBALSKI (1960) for the survival-dose curves of cultured single cell isolates (D9 8S) of a human cell derived originally from sternal marrow, it can be calculated that the incorporation of 5-iododeoxyuridine reduces the value of  $D_{37}$  for the linear part of the curves from the control value of about 155 R of Roentgen rays to about 80 R. In similar experiments with Chinese hamster cells cultured *in vitro*, MOHLER and ELKIND (1963) demonstrated an increased response to the lethal effects of Roentgen rays when the cells were grown prior to irradiation in 5-bromo-deoxyuridine. The value of  $D_{37}$  was reduced from 144.5 ( $\pm 6.2$ ) rads in the controls to approximately 60 rads; at the same time the extrapolation number was reduced from 5.7 in the controls to 1.0. Both these changes appear to be due to alterations in the response of the cells to irradiation and not the result of changes in heterogeneity of the population. Comparable results have been obtained *in vivo* with tumour cells of the ascitic form of a transplantable murine leukaemia (BERRY and ANDREWS 1962). It has been found that 5-bromodeoxyuridine incorporated into DNA radiosensitizes the cells of a human cell line in culture to a degree independent of the stage in the division cycle (ERIKSON and SZYBALSKI 1963). There is evidence that little if any radiosensitization is observed with thermal neutrons in cells of human origin in culture after incorporation of 5-bromodeoxyuridine into the DNA (DELIHAS, RICH and EIDINOFF 1962).

GREER and ZAMENHOF (1957) observed that bacterial cells (*E. coli*) exposed to 5-bromouracil become much more sensitive to ultraviolet light than normal cells. Enhancement of the Roentgen ray sensitivity of *E. coli* by 5-bromouracil was described by KAPLAN and TOMLIN (1960). It may also be of interest to mention that in studies of the inhibition by Roentgen rays of the root elongation in *Vicia faba*, culture of the roots for 48 hours in a  $10^{-4}$  M solution of 5-bromo-deoxyuridine render them more sensitive to Roentgen rays,  $D_{37}$  being reduced from the control value of 100 rads to about 70 rads (ELLIS, LAJTHA, OLIVER and HALL 1960, p. 417).

A particularly interesting experimental finding is that 5-bromodeoxyuridine labelled transforming DNA, isolated from *B. subtilis* cells and purified by CsCl gradient centrifugation, shows an increase in its sensitivity to ultraviolet light comparable with that of the intact cells from which it was extracted (OPARA-KUBINSKA, LORKIEWICZ and SZYBALSKI 1961).

Other important evidence is that in bacteria, a correlation has been found between the radiosensitivity for the killing of cells and the base composition of the natural DNA. There is an increase in sensitivity for Roentgen rays as the proportion of guanine-cytosine (G-C) base pairs in the DNA increases (KAPLAN 1962). On the other hand, for ultra-violet radiation, there is an increase in sensitivity as the proportion of adenine-thymine (A-T) base pairs in the DNA increases (HAYNES 1962). It may be of interest to point out here that the proportion of guanine-cytosine (G-C) base pairs in rat tissues, as determined by KIRBY (1959), shows only small differences between normal, regenerating and neoplastic liver and between liver, spleen, testis and two types of induced sarcoma.

The correlation between the radiosensitivity and nucleic acid content of a number of viruses, micro-organisms and cells of varying biological complexity has been studied by TERZI (1961) and KAPLAN and MOSES (1964).

The fact that the highly radio-resistant bacterium, *Micrococcus radiodurans*, has DNA with a high content (67 per cent) of guanine-cytosine (G-C) base pairs contradicts the hypothesis that radio-resistance is correlated with a low G-C content (MOSELEY and SCHEIN 1964). It is of interest that the G-C content is about the same for *M. radiodurans* and for the highly radiosensitive *Pseudomonas*.

The evidence obtained in the experiments discussed appears to be strongly in support of the conclusion that for loss of the capacity for proliferation and delayed killing of cells by Roentgen and  $\gamma$ -rays, the principal target is DNA, or at least an essential part of the DNA, of the cell. The same conclusion had been reached earlier on other grounds.

It was suggested that the killing of tumour cells in radiotherapy was based on the production of a "macromolecular lesion" involving DNA in the deoxyribonucleoprotein system of the nucleus (MITCHELL 1956, 1960). Further, STRAZHEVSKAYA and STRUCHKOV (1962a and b) have demonstrated "disruption of the state of the DNA supramolecular structures" after irradiation *in vivo* (see p. 383).

At the present time this conclusion is by no means generally accepted and much further study of the problem is essential. It is clear that the detailed processes concerned in the delayed killing of cells by radiation are exceedingly complex and almost certainly involve a number of mechanisms. In particular, it is probable that inhibition of mitosis involves a different mechanism from that concerned in the delayed killing of cells. This subject has been studied for many years (e.g. LEA 1946); further, there is some evidence for the existence of two types of temporary mitotic inhibition induced by Roentgen rays (SHAW 1958). It is of interest that ELKIND and HAN (1962) found that for irradiated Chinese hamster cells, the delay in division is the same for surviving and non-surviving cells. Moreover, for two types of mammalian cells, both Chinese hamster embryonic fibroblasts, grown *in vitro*, the effectiveness of fast neutrons relative to Roentgen rays is significantly greater for mitotic inhibition than for loss of proliferative capacity (SCHNEIDER and WHITMORE 1963).

There is still very little information about the biochemical effects of fast neutrons. It is relevant to note the high effectiveness of chronic neutron exposures for the induction of specific locus mutations in mice (BATCHELOR, PHILLIPS and SEARLE 1964; SEARLE and PHILLIPS 1964). The preliminary results suggest that the relative effectiveness of fast neutrons and gamma rays at low intensity for the induction of point mutations is about 50.

The finding of approximately the same high degree of radiosensitivity for different types of proliferating normal and malignant human and mammalian cells under the same experimental conditions in similar states of oxygenation raises many problems. We have seen that under well oxygenated conditions, for delayed killing of a wide range of cells,  $D_{37}$  has the value of about 140 rads. Accordingly it is essential to study the biochemical effects of irradiation with low doses in the region up to about 100—150 rads. Of immediate concern here is the biochemical basis of differences in the radiosensitivity of different tissues and in the radiocurability of different tumours, and the question of the importance of host responses including the role of diffusible agents and of immunological factors (see e.g. MUNRO 1963; COHEN 1963). It is essential to take into account controlling mechanisms, not only within cells but also in tissues and in the organism as a whole.

#### **b) Highly radiosensitive biochemical changes: observed after small doses up to about 100—150 rads**

##### *α) Effects on the metabolism of organic phosphates and related biochemical changes*

##### *αα) Increase of organic acid-soluble phosphorus content of leukocytes and erythrocytes*

An increase in the organic acid-soluble phosphorus (O.A.S.P.) content of the leukocytes of the circulating blood was observed in patients with chronic myeloid and chronic lymphatic leukaemia starting within 2 to 3 hours after either total body irradiation with doses of 3 to 5 R of Roentgen radiation or local irradiation of the region of the heart through a 10 cm diameter cone with a dose of 20 R (the doses quoted were applied doses measured in air). Similar changes were observed within 12 hours after oral administration of 1.4 millicuries of  $^{32}\text{P}$  in 450 mg  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; non-radioactive phosphate had no effect. In some cases comparable changes were observed in the O.A.S.P. concentration in the erythrocytes. The following example of the results obtained in a patient with chronic myeloid leukaemia may be of interest. "X-ray was first administered to this patient in the form of local cardiac irradiation: 20 R were delivered in 5.5 minutes. In both the erythrocytes

and leucocytes a rise of O.A.S.P. resulted. That of the leucocytes rose from 52 to 120 mg per 100 cc and returned to its original level within 48 hours; that of the erythrocytes rose from 62 to 108 mg per 100 cc, but then fell to the low level of 30 mg per 100 cc within the succeeding 24 hours" (ABELS *et al.* 1941).

Similar changes were observed by SCHWARTZ (1945, 1951) in the normal leucocytes of the circulating blood after total body irradiation with small doses of 5 R in rabbits and of 20—25 R, which was repeated, in patients. A striking increase was observed in the concentration of phosphorus in the "adenosine triphosphate" fraction of the normal leucocytes. For example, in one patient with pulmonary metastases from a carcinoma of the parotid gland, the "ATP" phosphorus content of the leucocytes rose to about 4 times the pre-irradiation level after two daily doses of 25 R or Roentgen radiation to the whole body.

*ββ) Increase in acid-hydrolysable phosphate in *Phycomyces Blakesleeanus**

It was shown by FORSSBERG (1943) that the mould, *Phycomyces Blakesleeanus*, is an extraordinarily radiosensitive biological system. Temporary slowing of its growth rate was detected after single doses of Roentgen radiation as small as 0.001 R. After 0.8 of <sup>60</sup>Co gamma-radiation delivered in 30 seconds, the growth rate decreased to about 60 per cent of the control value after 3 minutes and then recovered with some over-compensation at times between 6 and 14 minutes after irradiation (FORSSBERG and NOVAK 1960). Associated biochemical changes were observed after doses in the region of 1—25 R. The reactions of *Phycomyces* to visible light are rather different (REICHARDT 1961).

It is of interest that FORSSBERG and NOVAK (1960) found changes in the organic phosphate metabolism shortly after irradiation of this astonishingly radiosensitive mould, *Phycomyces Blakesleeanus*, with very small doses. For example, starting within half a minute after a dose of 1.2 R, the level of acid-hydrolysable phosphate increased in this material by about 20 to 40 per cent during the following 5 minutes. The levels are given as concentrations per unit weight of sporangiophores. It is noted that some substances remain unchanged in concentration after irradiation. It is reported that some unusual organic phosphorus compounds are found in this mould.

Further studies of the reversible changes in the growth rate and biochemical processes produced by small doses of Roentgen radiation in the sporangiophore of *Phycomyces* have been reported by FORSSBERG, STANKOVIC and PEHAP (1964). Auxin (indoleacetic acid) appears to be of importance here; see also p. 388 and 395. In cultures where the concentration of free auxin is low, Roentgen ray exposure releases further free auxin after 5 minutes. In the range 6—140 R, the yield of free auxin does not increase with the dose. It is suggested that the radiation breaks a fraction of particularly labile auxin-substrate bonds.

*γγ) Decrease of mitochondrial phosphorylation and related biochemical changes, including loss of NAD (DPN)*

There have been many studies of the decrease of oxidative phosphorylation in mitochondria after irradiation. Such changes have been found almost entirely in the mitochondria of the highly radiosensitive cells of the spleen and thymus. It is of interest that these highly radiosensitive cells undergo acute cytolysis after irradiation to an extent which is in general closely comparable with the biochemical changes. The present position has been summarised by SCAIFE and HILL (1963) as follows: "It is well known that concomitant with the morphological death of these cells, there is a failure in the mechanism of oxidative phosphorylation and of nuclear phosphorylation, but whether this failure is sufficiently critical to be the cause of cell death or merely results from it has as yet not been determined."

POTTER and BETHELL (1952) described a decrease of phosphate uptake by mitochondria isolated from rat spleen after total body irradiation with a dose of 800 R. Similar obser-

vations were reported shortly afterwards by VAN BEKKUM *et al.* (1953). In these experiments rather large doses of roentgen rays, viz. 800 and 1100 R were administered to rats; the spleen mitochondria were isolated at 2, 4 and 24 hours afterwards. In addition to a diminished phosphate uptake, some decrease of oxygen consumption was observed in most experiments and a decrease of P/O ratios was found consistently with succinate as substrate. MAXWELL and ASHWELL (1953) found comparable results with mitochondrial preparations from mouse spleen at 1—7 days after a lethal dose of total body irradiation. It must be pointed out that in many of these experiments gross histological changes must have been present at the time of examination.

Similar experiments have been carried out with small doses of radiation, though even here there was evidence of cytological damage (VAN BEKKUM 1955, 1956).

Mitochondria were prepared from the pooled tissues of rats in the case of the thymus and of the spleen at 4 hours after total body irradiation. The minimal dose of radiation which was capable of inducing a decrease of mitochondrial phosphorylation was about 50 R for the thymus and about 100 R for the spleen. In the case of spleen mitochondria, oxygen uptake was usually much less affected than phosphorylation, while in the case of mitochondria from thymus, this difference was less pronounced, although the P/O ratios were depressed after irradiation in most experiments (VAN BEKKUM 1955, 1956). Results of similar experiments with normal liver, regenerating liver and a number of transplantable mouse tumours were negative — even after doses of several thousands of R. Intestinal mucosa and bone marrow did not yield satisfactory mitochondrial preparations. A depression of oxidative phosphorylation comparable with that observed after total body irradiation was also observed after local irradiation of the exteriorised spleen. In many experiments it was not possible to observe effects on oxidative phosphorylation after irradiation of the mitochondria *in vitro*, even with doses as large as 20,000 R. Similar negative results were also reported by POTTER and BETHEL (1952), ORD and STOCKEN (1955) and LASER (1956). “On the other hand, total body irradiation with a dose of 1000 R of Roentgen radiation was found to produce a highly significant decrease in the oxidative phosphorylation in isolated rat liver mitochondria, the P:O quotient being reduced by about 30 per cent (RYSER, SCHMIDLI, ZUPPINGER and AEBI 1955; see also RYSER, AEBI and ZUPPINGER 1954)”.

It is to be noted that normal ATPase activities were found in the mitochondria that exhibited a markedly decreased capacity for phosphorylation (VAN BEKKUM 1955b), even though increase of ATP-ase activity was observed by DUBOIS and PETERSEN (1954) in homogenates of rat spleen and thymus after total body irradiation with doses as low as 25—50 R.

“The decrease in anaerobic glycolysis, which was described by HICKMAN and ASHWELL (1953) in mouse spleen homogenates one or more days after total body irradiation, was found to be absent at 2 and 4 hours after irradiation when oxidative phosphorylation was severely depressed” (VAN BEKKUM 1955a, 1956). It is of great interest that failure of glycolytic ATP production in thymocytes after low doses of radiation has been reported by MYERS, ARAKI and DE WOLFE (1962, see SCAIFE 1963).

In a recent series of investigations, SCAIFE and HILL (1962, 1963) studied the mechanism of the uncoupling of oxidative phosphorylation in thymocyte mitochondria after irradiation. They showed that the radiation lesion could be repaired *in vitro* by the addition of cytochrome c, bovine serum albumin, vitamin K, or NAD and that possibly all three of the phosphorylating steps of the electron transport chain were affected. SCAIFE (1963b) has examined the succinate-INT reductase activity of thymus from normal and irradiated rats: (INT denotes 2-p-iodophenyl-3-p-nitrophenyl-5-phenyl-monotetrazolium chloride). The increase of activity after irradiation requires time to develop but the process is quite radiosensitive as shown by the finding that 25 rads produces a significant increase of activity 4 hours after irradiation *in vivo*. A soluble co-factor appears to be necessary for the succinate-INT reductase activity. It was concluded that

the radiation lesion under consideration takes the form of an increased tendency for electrons to be diverted from the electron transport chain by means of this soluble co-factor to such acceptors as tetrazolium salts and phenazine methosulphate.

The nature of the radiation-induced lesion of the electron transport chain of thymus mitochondria has been studied further by SCAIFE (1964b). Experiments with antimycin A suggest that the radiation lesion is prior to the antimycin-sensitive step of the chain and hence presumably could be in the ubiquinone-cytochrome b region. No changes were detected in the content of ubiquinones, mitochondrial flavin and succinic dehydrogenase of rat thymus after irradiation with a dose of 800 rads of Roentgen rays.

The suggestion that the radiation-induced lesion of the electron transport chain is in the region of ubiquinone-cytochrome b is of great interest in relation to our own investigations of 2-methyl-1,4-naphthaquinol bis (disodium phosphate), Synkavit, as a radiosensitizer and a carrier molecule forming the basis for a radioactive drug (see p. 379, also MITCHELL 1964 and MITCHELL, BRINKLEY and HAYBITTLE 1965). It is likely that the "active form" of Synkavit within the cell is menadione. It has already been suggested (MITCHELL and MARRIAN 1963, Fig. 4) that menadione and menadiol enter the respiratory chain at the ubiquinone-cytochrome b region. Radiosensitization of malignant cells by Synkavit appears to provide independent evidence that the ubiquinone-cytochrome b region of the respiratory chain is involved in the radiation-induced lesion.

In related studies, SCAIFE (1963a) has examined the pyridine nucleotides of rat thymocytes before and after irradiation of the cells *in vivo* and *in vitro*. NAD (DPN) was found to constitute about 95 per cent of the total oxidised pyridine nucleotides in thymocytes; the level of NADH<sub>2</sub>(DPNH) was found to be very low. These findings are in agreement with those of GLOCK and McLEAN (1955) and are in contrast with the levels of the coenzymes in the liver where appreciable proportions of NADPH<sub>2</sub>(TPNH) and NADH<sub>2</sub>(DPNH) are found (GLOCK and McLEAN 1955; BASSHAM *et al.* 1959). Following whole body irradiation, SCAIFE (1963a) found a rapid reduction of the NAD content of the rat thymus. A similar change also occurs when rat thymocytes in suspension are irradiated so that the process is not an abscopal effect of irradiation. A dose of even 25 rads *in vitro* is sufficient to cause an appreciable loss of NAD from the rat thymocytes after 4 hours incubation; increasing the dose beyond 200 rads produces only a small further decrease in the NAD level. Both *in vivo* and *in vitro*, the decrease in NAD was not accompanied by an increase in NADH<sub>2</sub>. There is no evidence for destruction of NAD by the X-radiation in the cells even for doses as high as 4000 rads. The general problem of the role of NAD and NADP in the biochemical effects of radiations will be discussed (see p. 428—431).

In general, biochemical processes in isolated mitochondria are found to be radio-resistant (see also p. 401). However, mention must be made of experiments showing inhibition of enzyme activity of isolated mitochondria by small doses of radiation (FRITZ-NIGGLI 1955, 1956). In these experiments, irradiation of isolated mitochondria from the liver cells of rats leads to a loss of the activity of certain enzymes of the citric acid cycle. If the mitochondria are suspended in 5.75 per cent isotonic mannitol solution during the irradiation, the minimal dose necessary to produce an inhibition of the breakdown of the substrates citrate, fumarate,  $\alpha$ -ketoglutarate and pyruvate was found to be 50 R; (breakdown of succinate was radioresistant). The reaction becomes much more radio-sensitive as soon as the concentration of the mannitol solution during irradiation is reduced to 2.88 per cent (in isotonic K-phosphate buffer, pH 7.2). Under these conditions even a dose of 0.1 R (delivered at 1.79 R per minute) produces detectable inhibition of oxidation of citrate by the isolated liver mitochondria. It is to be noted that in these experiments, the substrate was not present during the irradiation but was added immediately afterwards.

However, SCAIFE and ALEXANDER (1961) found that they could not repeat these observations. In their experiments, no effect of irradiation *in vitro* upon the respiration

of the isolated mitochondria, using citrate or pyruvate as substrate, could be detected, with doses up to 80,000 R. Nevertheless, the great experimental difficulties of this field must be recognized.

### $\gamma\gamma$ ) Inhibition of nuclear phosphorylation

Studies of the effect of ionizing radiations on nuclear phosphorylation in mammalian tissues have shown that this process is highly radiosensitive (CREASEY and STOCKEN 1959).

The characteristic features of phosphorylation of the nucleotides bound to nuclei prepared from calf thymus gland were investigated by OSAWA, ALLFREY and MIRSKY (1957). In calf thymus sucrose nuclei, nucleotide monophosphates can be phosphorylated to the energy-rich triphosphate form *without* participation of cytoplasmic components. Only intranuclear monophosphates appear to be phosphorylated. The process is completely inhibited by cyanide, azide and dinitrophenol. There is a close correlation between the retention in the nucleus of nucleotides and of potassium. It has been found that upon removal of nucleotides and potassium from the calf thymus sucrose nuclei by acetate, the ability to incorporate  $^{14}\text{C}$ -alanine into nuclear protein is greatly impaired. Loss of sodium and potassium from thymus cell nuclei after irradiation *in vivo* and *in vitro* is also a highly radiosensitive process (CREASEY 1960; see p. 372).

CREASEY and STOCKEN (1959) found that when nuclei prepared from thymus gland, spleen, bone marrow and intestinal mucosa of the rat are shaken aerobically at 0—2 $^{\circ}$  C in a suitable medium, acid-labile phosphate is formed. This is not the case for the radioinsensitive tissues — liver, kidney and brain or the pancreas. Whole body Roentgen irradiation with low doses abolishes nuclear phosphorylation (see Table 2).

Low doses of  $\gamma$ -irradiation given to suspensions of nuclei also prevent nuclear phosphorylation (see Table 3).

In spleen and thymus, there is a recovery of the ability to effect nuclear phosphorylation at about 100 hours after 100 R of total body irradiation.

Further studies have shown that the synthesis of nuclear ATP is an extremely radiosensitive process. KLOUWEN and BETEL (1963) and KLOUWEN, APPELMAN and BETEL (1962) investigated the ATP metabolism of isolated rat thymus nuclei, using labelled ( $^{32}\text{P}$ ) inorganic phosphate as precursor. After total-body Roentgen irradiation *in vivo* with doses ranging from 50—700 R, the ATP-synthesis in the isolated nuclei was inhibited. The effects do not demonstrate a clear dose-dependency, in the dose region above 50 R. The radiation effect on nuclear ATP-metabolism *in vivo* was observed even at 30 minutes after a dose of 50 R. Under these conditions, minor radiation effects on DNA-metabolism were also demonstrable. However in these experiments, after irradiation of the nuclei *in vitro*, no radiation effect on the synthesis of nuclear ATP was found. So far the discrepancy between these findings and those of CREASEY and STOCKEN (1959) has not been explained.

The early inhibition of nuclear phosphorylation, after whole-body irradiation of mice, found in thymus and myeloid leukaemic spleens, could not be demonstrated in various

Table 2. Inhibition of the formation of labile phosphate in nuclei isolated from tissues of rats exposed to whole-body Roentgen irradiation 1 hour previously

	Rate of phosphorylation for various doses of Roentgen irradiation as percentage of control values		
	15 R	50 R	100 R
Dose . . . . .	15 R	50 R	100 R
Tissue			
Spleen . . . .	18, 30	0, 0, 0	0, 0, 0
Thymus gland	45, 77	14, 23	0, 0, 0, 0, 0
Bone marrow	0, 0	0	0
Lymph node	0, 6	0	0

(CREASEY and STOCKEN 1959)

Table 3. Effect of  $\gamma$ -irradiation *in vitro* on the formation of labile phosphate in nuclear suspensions

Tissue	Radiation dose (R)	Rate of Phosphorylation as percentage of control values
Thymus gland	22	70, 68, 64
	30	40
	44	0, 0, 0, 0
Spleen	22	0, 7, 26
	44	0, 0

(CREASEY and STOCKEN 1959)

lymphosarcomas which had invaded the spleen. Inhibition of nuclear phosphorylation in thymus and myeloid leukaemic spleens precedes the occurrence of interphase death, but in lymphosarcomatous spleens inhibition of nuclear phosphorylation is only observed when mitotic aberrations become visible (KLOUWEN *et al.* 1964). It is relevant to note that the synthesis of RNA in isolated thymus nuclei is ATP dependent (McEWEN, ALLFREY and MIRSKY 1964).

*β) Loss of sodium and potassium from cell nuclei after irradiation in vivo and in vitro*

Inhibition of nuclear phosphorylation after irradiation appears to be a characteristic of radiosensitive cells. It is well known that OSAWA, ALLFREY and MIRSKY (1957) demonstrated a close correlation between nuclear phosphorylation and retention of potassium in the nucleus. Further, it has been found that the incorporation of amino-acids into the proteins of isolated thymus nuclei is sodium dependent (ALLFREY *et al.* 1961).

A decrease of both the sodium and potassium contents of nuclei isolated from the thymus and the spleen of rats, which had been exposed to total body Roentgen irradiation one hour previously, was found after doses of 25 and 50 R (CREASEY 1960). For example, in relation to the control levels, the thymus nuclei, prepared from animals killed one hour after a dose of 50 R, lost 27 per cent of potassium content and 45 per cent of the sodium content. The control values were in fact rather variable and to overcome this difficulty, further studies were made with isolated nuclei irradiated *in vitro*. Similar changes were found *in vitro*, and loss of potassium occurred less readily than loss of sodium. Nuclei were isolated from normal rat spleen, and portions of the suspensions were exposed to  $\gamma$ -rays from a radium source. After centrifuging these samples (completed within 5 minutes after irradiation), the sodium and potassium contents of the supernatants were determined, corrected for those of the unirradiated suspensions and expressed as percentages of the total content of each nuclear preparation. The losses were calculated as percentage of the total nuclear content lost into the supernatant 5 minutes after irradiation. Estimated in this way, the potassium loss was negligible for doses up to about 30 R and in the region of 10—30 per cent after doses of 40—45 R; under comparable conditions, the sodium loss was about 20 per cent after 5 R, in the region of 50 per cent after 20 R, and in the region of 50—70 per cent after 40—45 R.

“These observations suggest that the mechanism of the radiation lesion in nuclear phosphorylation involves the loss of bound sodium and potassium. The difference between the properties of nuclear and mitochondrial oxidative phosphorylation is emphasised by the fact that the latter process is also dependent on bound potassium (GAMBLE 1957); it is known to be very resistant to radiation *in vitro* (VAN BEKKUM 1956, p. 77)” (CREASEY 1960).

*γ) Effects on nucleic acid metabolism and associated changes*

*αα) Inhibition of the incorporation of precursors into the DNA of highly radiosensitive cells*

Inhibition of the incorporation of  $^{32}\text{P}$  as inorganic phosphate into the DNA of rat thymus is a radiosensitive process in the low dose region: about 10 per cent inhibition was detected after a dose of 10 R of Roentgen rays (ORD and STOCKEN 1955). It is of great interest that 50 per cent inhibition was reached after about 200 R and that at higher doses, the inhibition increased only slowly (ORD and STOCKEN 1958; see p. 416). These workers suggest that “the initial portion of the dose-response curve corresponds to inhibition of nuclear phosphorylation and that the phase of only slowly increasing inhibition can be associated with progressive damage to the template”.

It is to be noted that studies of rat thymus with higher doses show that the inhibition of incorporation of radioactive precursors into DNA reaches its maximum value in the region of 50 per cent *within a few minutes after irradiation*. For example, ORD and

STOCKEN (1957) have shown that a dose of 1000 R of Roentgen rays delivered in 3 minutes 40 seconds reduces the incorporation of  $P^{32}$  into the DNA of rat thymus to 50 per cent at 3 minutes after the end of irradiation. There is little change in the degree of incorporation *during the next two hours*. By 24 hours, when profound histological changes have occurred, incorporation has practically ceased.

It is relevant to mention here that under experimental conditions in which there is no destruction of cells and there are no indirect effects (HOLMES 1949), increasing doses of radiation reduce the uptake of precursors into DNA in many cases only to about 50 per cent of the control values; at higher doses, in general, the degree of inhibition increases very slowly. It is of course obvious that gross destruction of cells by the radiation will be associated with greatly decreased reduction of incorporation of precursors. Such changes are to be expected after total body irradiation with doses in the lethal range, and during the retrogression of a malignant tumour after irradiation at therapeutic levels of dose. However, with highly radiosensitive cells, it is important to take into account the occurrence of degenerative changes within a few hours after irradiation with small doses.

It appears that the incorporation into DNA of all types of precursors with chemical structures which may be regarded as occurring naturally, is inhibited in a similar manner by increasing doses of radiation (see p. 415). Almost without exception there is considerable biological variation among the cells of normal tissues and great biological variation among the cells of malignant tumours. Taking these factors into account, it appears that for populations of cells under many experimental conditions, the maximum effect on the radiosensitive part of the inhibition of uptake of precursors into DNA corresponds to a degree of inhibition not significantly different from 50 per cent. The levels of dose of radiation necessary to reduce the uptake of precursors into DNA to 50 per cent differ for different cells and tissues. It must be emphasized that estimates of these doses are only approximate and are subject to considerable experimental error. The uptake of  $^{32}P$  into DNA *in vivo* is reduced to 50 per cent at 2 hours after irradiation by a single dose of about 200 R for the rat thymus (ORD and STOCKEN 1958), about 300 rad for rat lymph node lymphocytes — with the same dose for both tritiated thymidine and  $^{32}P$  as tracers (COOPER and ALPEN 1959), about 900 R for the CROCKER mouse sarcoma (HARBERS 1960) and about 1650—2000 R for the EHRlich mouse carcinoma in the form of solid tumour (HOLMES 1956). It is clear that appreciable inhibition of uptake of precursors into DNA is only observed after small doses of up to 100—150 rad for highly radiosensitive cells and tissues.

Reference must be made here to the pioneer work of HOWARD and PELC (1953) and PELC and HOWARD (1954) — see also HOWARD (1956) — on the synthesis of DNA at different points of time in the mitotic cycle, and the effects of irradiation upon this, as studied in the root meristem of the broad bean, *Vicia faba* by means of the uptake of  $P^{32}$  and the use of autoradiography. In the normal unirradiated bean root meristem, the whole mitotic cycle takes about 30 hours. After the process of mitotic division itself, which takes about 4 hours, there is an interval or gap,  $G_1$ , of up to 12 hours in early interphase during which DNA does not become labelled. Then there is a period of synthesis of DNA — the S period — in the middle of interphase, lasting about 6 hours in these experiments. Finally during the last 8 hours or thereabouts of interphase before the onset of the next division, there is a second interval  $G_2$  during which DNA again does not become labelled. The proportion of cells synthesizing DNA during 12 hours after irradiation decreases with increasing radiation dose from zero to 50 R of Roentgen rays, then remains constant at about 60 per cent of the control value for doses up to 200 R. Synthesis during the last 12 hours is low up to 20 hours after irradiation with 140 R of roentgen rays, increases to 90 per cent of the control value at  $1\frac{1}{2}$  to 2 days, then falls to a minimum of 10 per cent at 6 to 8 days, and is somewhat higher than in controls at 9 to 10 days. It was concluded that cells are prevented from synthesizing if they are in

the first part of interphase ( $G_1$ ) at the time of irradiation. Cells in synthesis (S) or late interphase ( $G_2$ ) are delayed in entering division. Some cells in the population are resistant to irradiation and do not suffer either delay. The slowing down of growth rate and eventual recovery of roots after a dose of 140 R was described in terms of the initial effects of irradiation on cells in different parts of the cell cycle (PELC and HOWARD 1954).

The inhibition of uptake of  $^{32}\text{P}$  into DNA in relatively radiosensitive mammalian cells *in vivo* after irradiation at different points of time in the mitotic cycle has been studied in the regenerating liver of the rat after partial hepatectomy (see p. 422). Under the experimental conditions there was an approximation to synchronous mitosis. The following results were obtained in a series of experiments (HOLMES 1954; HOLMES and MEE 1955; CATER, HOLMES and MEE 1956).

Irradiation with a dose of 150 R of Roentgen rays at 12 hours after partial hepatectomy — when DNA synthesis as studied by  $^{32}\text{P}$  uptake was just about to start — reduced the rate of DNA synthesis when observed 12 hours later, i.e., at 24 hours after operation, to about 30 per cent of the value in the unirradiated controls. Irradiation with 450 R under the same conditions abolished DNA synthesis almost completely and also delayed the subsequent onset of mitosis for about 9 hours. However, irradiation with doses of 150 and of 450 R during the period of DNA synthesis at 21 hours after partial hepatectomy reduced the uptake of  $^{32}\text{P}$  into DNA at  $4\frac{1}{2}$  hours later to a level not inconsistent with a value of approximately 50 per cent of that for the unirradiated controls.

It must be emphasized that these findings refer to normal cells and that there is evidence that tumour cells may behave differently. SEED (1961) showed that cells which have a highly radiosensitive  $G_1$  period are always normal cells, while cells originating from malignant tumours have a less sensitive  $G_1$  period. In normal cells, there appears to be a trigger mechanism for the onset of DNA synthesis (LAJTHA, OLIVER, KUMATORI *et al.* (1958) which is more radiosensitive than the synthesis of DNA itself. It appears likely that in malignant cells, at least under comparable experimental conditions, this mechanism is not present.

As we have seen, the dose-response curves for inhibition of synthesis of DNA for irradiation *in vivo* during the period of its synthesis, S, show in many cases a radio-sensitive component and a radioresistant component; these components have been described conveniently as  $S_1$  and  $S_2$  respectively (LAJTHA, OLIVER, BERRY and NOYES 1958). For irradiation *in vitro* similar or comparable biphasic types of curves have been found for human bone marrow cells (LAJTHA, OLIVER, BERRY and NOYES 1958), Ehrlich ascites tumour cells (BERRY, HELL, LAJTHA and EBERT 1960, 1961) and rat thoracic-duct lymphocytes (COOPER and ALPEN 1959). However, all these *in vitro* systems are relatively radioresistant and show a 40 per cent depression of synthesis of DNA at doses of around 2000—5000 rads. On the other hand, for HeLa cells *in vitro* in studies of the process of DNA synthesis as measured by  $^3\text{H}$ -thymidine incorporation, TERASIMA and TOLMACH (1962) found that a dose of 300 R of Roentgen rays given during the synthetic period produces about 30 per cent depression of the DNA synthesis. There are obviously great differences between different types of mammalian cells growing *in vitro*; many are radioresistant (WHITMORE *et al.* 1961; HARRINGTON 1960). ALEXANDER and MIKULSKI (1962) found that with mouse lymphoma cells of L5178Y strain growing *in vitro*, a dose of 300 R of Roentgen rays did not affect the DNA content of the cells until after one or two mitoses or the formation of giant cells, the cells actually began to disintegrate.

It is of great interest that HUNTLEY and LAJTHA (1962) have shown, using a single system, mouse spleen for both *in vivo* and *in vitro* determinations, that lymphocytes are much more radiosensitive *in vivo* than *in vitro*. The results show that the *in vitro* system has lost a highly radiosensitive component of the synthesis of DNA, as measured by the incorporation of  $^3\text{H}$ - or  $^{14}\text{C}$ -thymidine. A triphasic curve is suggested to describe

the response of the lymphocytes to Roentgen rays *in vivo* under the experimental conditions. The three slopes would be due to (a) a very radiosensitive component, designated  $S_0$ , found only *in vivo* and responsible for the first 35 per cent of the inhibition, below about 200 rads, (b) a less radiosensitive component, identified as  $S_1$ , causing a further 35 per cent inhibition and effective in the range 200—2000 rads, and (c) a relatively insensitive component, identified as  $S_2$ , causing 10—20 per cent inhibition at doses from 2000 to 5000 rads. The  $S_2$  slope is frequently observed in anoxic or damaged tumour cell systems and may represent damage to the DNA template (LAJTHA 1962). BERRY *et al.* (1961) suggested on the basis of experiments on the relative biological efficiency of  $\alpha$ -particles and neutrons, that the  $S_1$  component was due to a multi-hit process representing the inhibition of a complex enzyme system. HUNTLEY and LAJTHA (1962) conclude that "From the data presented here, it appears that the depression of DNA-synthesis *in vivo* by radiation doses less than 2000 rads consists of two steps: the ' $S_1$ ' process possibly concerned with nucleoside phosphorylation, and the ' $S_0$ ' process (lost when the lymphocytes are removed from the animal) allied with the generation, in the nucleus, of high energy phosphate (ORD and STOCKEN, personal communication)."

Evidence concerning damage to the radiosensitive part of the mechanism of synthesis of DNA by small doses of radiation appears to be provided by studies of the inhibition of incorporation of the halogenated thymidine analogue, 5- $^{131}\text{I}$ -iododeoxyuridine into DNA in mice *after* total body irradiation (GITLIN *et al.* 1961). After a dose of 10 R, and injection of the precursor 6 hours later, the incorporation of the radioactivity into DNA, relative to that in unirradiated controls, at 20 hours after the injection was 68 per cent. The observed values showing the reduction of incorporation of the precursor into DNA after irradiation at different dose levels and for different time intervals between irradiation and injection are given in Table 4.

Maximum inhibition of iodo-deoxyuridine retention for any given Roentgen ray dose occurred approximately 6 hours after irradiation and was already close to maximum 2 hours after irradiation. Recovery, in that iododeoxyuridine retention returned toward normal, began within 24 hours after administration of 52 R, but was not yet complete even at 48 hours after administration of 624 R. The greatest inhibition of incorporation was suffered by the gastro-intestinal tract, and the greatest recovery, 48 hours after irradiation with 624 R, also occurred in this organ, little or no incorporation then being observed in the spleen, lymph nodes, or thymus.

These findings parallel those reported by NYGAARD and POTTER (1959) for the effect of Roentgen rays on the incorporation of thymidine-2- $^{14}\text{C}$  into the DNA of rat intestine, thymus and spleen. However, the results of these experiments on the inhibition of incorporation of 5- $^{131}\text{I}$ -iododeoxyuridine into DNA *after* irradiation appear to indicate an unusually high degree of radiosensitivity.

It may be suggested that these results show that the highly radiosensitive part of the mechanism of DNA synthesis in the relevant mammalian cells undergoes damage by small doses of radiation, which is usually latent and which probably involves DNA itself. It is of interest that in the root tips of *Vicia faba*, post-irradiation treatment with 5-iodo-deoxyuridine did not increase the frequency of chromatid-aberrations induced by small doses of Roentgen rays (KIHLMANN 1963).

Table 4. *Incorporation of 5- $^{131}\text{I}$ -iododeoxyuridine into DNA after Roentgen irradiation*  
The figures represent percentages relative to incorporation into unirradiated controls at 20 hours after injection of iododeoxyuridine (three to five mice per tabulated number)  
(GITLIN *et al.* 1961)

Dose (R)	Incorporation at intervals between Roentgen-radiation and injection (%)			
	2 hR	6 hR	24 hR	48 hR
10	110	68		
25	52	39		
52	37	29	102	
104	24	23	55	
208	20	23	43	
312	18		39	
416	12		26	
520	13		22	
624	12		20	62

*ββ) Radiosensitivity of the synthesis of fractions of the nuclear RNA and related observations of fundamental biochemical interest*

During recent years, evidence has been obtained which shows that there is a highly radiosensitive component of the synthesis of certain ribonucleoproteins of the nucleus. This is an important finding, because when whole cells are irradiated, even with large doses, there is usually no effect or only a small effect — which may be either a decrease or an increase — on the total synthesis of RNA and in most cases there is no demonstrable effect on protein synthesis (HOLMES 1947; VERMUND *et al.* 1953; LAVIK and BUCKALOO 1954; CONZELMANN, MANDEL and SMITH 1954; ERRERA 1957; ORD and STOCKEN 1956, 1959; PAINTER 1960, 1962).

However, there have been a number of reports of the radiosensitivity of nuclear RNA (PAYNE, KELLY and ENTENMAN 1952; SMELLIE *et al.* 1955; HARBERS and HEIDELBERGER 1959; SIBATANI 1959). A number of investigations (ERRERA *et al.* 1958; FICQ and ERRERA 1958; LOGAN, ERRERA and FICQ 1959) have shown that doses of Roentgen radiation as small as 50 R reduce the uptake of both labelled adenine into the nuclear RNA and labelled phenylalanine into the nuclear proteins of nuclei isolated from calf thymus and rat liver by about 40 per cent. Isolated calf thymus nuclei are still capable of incorporation of amino acids into proteins, adenine into RNA and to a small extent into DNA and thymidine into DNA. Irradiation of these isolated nuclei with doses of Roentgen rays between 50 and 900 R diminishes the incorporation of [2-<sup>14</sup>C] phenylalanine into the nuclear proteins and of [8-<sup>14</sup>C] adenine into the RNA. The effects do not appear clearly until after the first 30 minutes of incubation. After 2 hours incubation, both the uptake of phenyladenine into the proteins of the irradiated nuclei and the uptake of adenine into the RNA of the irradiated nuclei are about 60 per cent of the values observed in the controls. Doses of 50 R are just as effective as 300 and 900 R. Under these experimental conditions, the relatively weak incorporation of adenine into DNA is unaffected. It is interesting that in similar experiments with rat-liver nuclei, the reduction of incorporation of both adenine and phenylalanine after irradiation with a dose of the 300 R is substantially the same as that found above for calf-thymus nuclei in the case of the following three systems: (a) irradiated nuclei plus non-irradiated microsomes, (b) non-irradiated nuclei plus irradiated microsomes and (c) irradiated nuclei plus irradiated microsomes. Irradiation of the sucrose medium alone has no effect on the uptake of labelled precursors into non-irradiated nuclei. It is suggested that “these are, in all likelihood, at least two incorporation mechanisms only one of which is radiosensitive” (ERRERA *et al.* 1958; FICQ and ERRERA 1958; LOGAN, ERRERA and FICQ 1959; see also MIRSKY, OSAWA and ALLFREY 1956). On the other hand, no effect was observed on the incorporation of <sup>3</sup>H-leucine into the proteins of the nuclei of the liver and epithelium of the crypts of the small intestine of the mouse at 30 minutes after total-body irradiation with a dose of 250 R or at 2 hours after 800 R (GERBAULET, BRÜCKNER and MAURER 1961).

The effects of Roentgen rays on the RNA and RNA metabolism of HeLa cells were studied by BOUDNITSKAYA, BRUNFAUT and ERRERA (1964). The most recently formed RNA was found to be the most radiosensitive, nucleolar RNA being even more sensitive than the rest of the nuclear RNA. The uptake of [<sup>3</sup>H] cytidine into nucleolar RNA was strikingly inhibited, especially at short incubation times, e.g., 10 minutes, and the inhibition was already easily measurable after 100 R. This effect is temporary for low doses. It appears that damage to the mechanism of RNA synthesis can be repaired. Further, the mechanism leading to transfer of the label from nuclear to cytoplasmic RNA was inhibited at doses of 300 and 900 R, although the processes involved are complicated. There is probably a decreased formation of some of the major cytoplasmic RNA species — ribosomal RNA — and perhaps also of the others — messenger and transfer RNA — as well; “a better identification of the various RNA’s involved in the present experiments is certainly needed”.

SCAIFE (1965) studied the effects of a dose of 800 R of Roentgen radiation on the metabolism of RNA in the nuclei of thymocytes and of Ehrlich ascites carcinoma cells. The irradiation had an inhibiting effect on the incorporation of [6-<sup>14</sup>C] orotic acid into the RNA II fraction of thymocyte nuclei, though this effect was found only at 3—4 hours after irradiation when about 40 per cent of the cells showed morphological evidence of degenerative changes. No similar changes in RNA II were observed in the ascites carcinoma cells, although under the experimental conditions the cells suffered mitotic delay and loss of proliferative capacity. No other changes were found in the RNA fractions in the ascites cells which could account for the observed cytological effects.

The earlier studies did not, of course, take into account the different types and functions of RNA and the exciting new work in this field. The concept of '*messenger RNA*' is one of the most important of modern biology, even though its role in mammalian cells is as yet incompletely understood. It appears that a special RNA, now called '*messenger RNA*', is formed, which is synthesized as a single-stranded copy of the DNA in much the same way that DNA copies itself (JACOB and MONOD 1961; BRENNER, JACOB and MESELSON 1961; GROS *et al.* 1961). It is considered that the messenger goes into the ribosomes, where it acts as the template for protein synthesis. It is now thought that the actual particle involved in protein synthesis is not a single ribosome but one or more — up to 7 or 8 or even more — attached to the molecule of messenger RNA (c.f. WETTSTEIN, STAEHELIN and NOLL 1963). Mention must also be made of *ribosomal RNA* (rRNA), which often accounts for about half the weight of a ribosome and represents a major fraction of cellular RNA, and of *transfer RNA* (tRNA), which occurs in the soluble fraction of cells and which functions as an adapter for amino acids when these are to be arranged according to the information contained in mRNA.

A number of workers have suggested that a fraction of RNA to be identified with '*messenger RNA*' (m-RNA) exists in mammalian cells (SCHOLTISSEK 1962; SIBATANI, DE KLOET and ALLFREY 1962). It is possible that the activity of the nucleolus is governed by m-RNA derived from chromosomes (RHO and BONNER 1961). SIBATANI DE KLOET and ALLFREY (1962) found in the RNA fractions of calf thymus nuclei, a "nucleolar" fraction, fraction II, which had the highest rate of RNA synthesis of all the RNA fractions studied, as shown by the specific activity and moreover had a base ratio remarkably similar to that of the DNA; they have suggested that this "nucleolar" fraction II is m-RNA. The messenger mechanism may be complex in mammalian cells (c.f. LESLIE 1962); it is of great interest that HEVESY and FORSSBERG (1961) found a RNA fraction in mouse cells which is nearly as stable as the DNA. On the other hand, it is widely believed that m-RNA is exceedingly unstable. The rapidly labelled RNA of animal cells appears to be of two types, one with approximately the same base composition as the DNA and regarded as m-RNA and the other with approximately the same base composition as r-RNA and regarded as probably the precursor of r-RNA, though of much greater molecular size.

In mammalian cells, ALLFREY and MIRSKY (1957) showed that the nuclear RNA can be separated into an easily extractable fraction, RNA I, extractable from isolated cell nuclei with 0.1 M neutral potassium phosphate buffer — and another fraction RNA II, which was not extracted under the experimental conditions and appeared to be localized in the nucleolus. According to ZBARSKII and GEORGIEV (1959), RNA I represents the chromosomal RNA and RNA II forms part of nucleolar RNA. Fraction I can be separated further into 3 fractions (ALLFREY and MIRSKY 1959). In studies of the incorporation of uracil-2-<sup>14</sup>C and orotic acid-2-<sup>14</sup>C *in vitro* into the fractions of nuclear RNA in the nuclei of Ehrlich ascites tumour cells and of the cells of normal and regenerating rat liver, HARBERS (1961) found that in the proliferating cells the fraction RNA II had the highest rate of incorporation and that the transfer RNA (t-RNA) was probably contained in the fraction RNA I, I. Further, there was a close parallelism between the uptake of orotic acid-2-<sup>14</sup>C into DNA thymine and into the uracil or RNA II in both normal and

regenerating liver. This finding is consistent with the tentative conclusion which may now be drawn that messenger RNA is contained in the fraction RNA II. However, it is clear that these investigations are only at the beginning of a large field of biochemical study. There are many problems particularly in relation to the ribonucleic acids of cancer cells (see e.g. SIBATANI 1963). Despite the difficulties of interpretation, it has been established that nuclear RNA can be separated into a number of fractions with different biochemical functions. It may be of interest to note that on the basis of cytochemical studies, six types of nuclear ribonucleoprotein have been described (LOVE and WALSH 1963).

Accordingly, it is important to study the effects of radiation upon the different fractions of nuclear RNA. Experiments of this type have been carried out by WELLING and COHEN (1960) and KLOUWEN (1960). Nuclear RNA was fractionated into a soluble fraction extractable from the nuclei with 1M. NaCl (n-RNA I) and a residual fraction not extractable with 1M. NaCl (n-RNA II). WELLING and COHEN (1960) studied the radiosensitivity of nuclear RNA metabolism in the presynthetic period of liver regeneration after partial hepatectomy in the rat, using  $^{32}\text{P}$  in  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  as a tracer. At various intervals after partial hepatectomy, without irradiation, the start of DNA synthesis coincides with the maximum of RNA turnover; it appears that the synthesis of RNA must precede that of DNA. It was found that irradiation with 700 R at 12 hours after partial hepatectomy resulted in a slight increase of the specific activity of nuclear RNA 4 hours later. In subsequent experiments the irradiation was carried out at shorter intervals after operation, i.e. at 2, 4 and 6 hours. For 2 and 4 hours there was a striking depression in the region of about 10—60 per cent in the specific activities of the 4 mononucleotides of the RNA in both nuclear fractions I and II. The greatest difference between the two fractions was shown by adenosine monophosphate (AMP) for irradiation at 2 hours after partial hepatectomy; under these conditions the depression of the specific activity of AMP in per cent of the control value was 29 per cent for n-RNA I and 63 per cent for n-RNA II. For 6 hours the inhibition was much less, with no depression of the specific activities of the nucleotides of n-RNA II. KLOUWEN (1960) showed that the incorporation of labelled inorganic phosphate into the fraction n-RNA I of nuclear RNA extractable with 1 M NaCl is a radiosensitive process both in thymus and normal liver tissue of the rat after total body irradiation. The effects of irradiation on the uptake of  $^{32}\text{P}$  in the nucleotides of the residual fraction n-RNA II were not reported in detail but "So far, a slight increase in the uptake of  $^{32}\text{P}$  in this RNA fraction was found in liver tissue, whereas in thymus the uptake was considerably reduced". In the experiments on the thymus, the specific activities of the nucleotides of both total RNA and n-RNA I were reduced at 3.5 hours after 300 R by factors of between 2 and 3. In the experiments on the liver at 7.5 hours after 750 R, the specific activities of the nucleotides of total RNA showed little change, while those of the fraction n-RNA I showed reduction by a factor of about 2.2.

From this evidence, it appears that the synthesis of the fraction n-RNA I is a radiosensitive process and that in the nuclei of the two highly radiosensitive cells studied, inhibition of synthesis on n-RNA II after irradiation occurs in addition, probably at a somewhat earlier stage than inhibition of synthesis of fraction I.

Reference must be made here to the work of PETROVIĆ, KANZIR and BEĆAREVIĆ (1962) on the effects of total body irradiation with a dose of 850 R on the metabolism of nuclear and cytoplasmic fractions of RNA isolated from rat liver. Changes were observed after 4 and 20 hours after irradiation in the composition of the nuclear RNA I fraction, with progressive increase in uridine monophosphate content. Among the cytoplasmic RNA fractions, the stable microsomal RNAs appear to be less altered in composition than the metabolically active fractions ( $S_1$  and  $M_3$ ).

It is clear that much further investigation is necessary to test the hypothesis, which may be suggested at the present time, that in at least some mammalian cells, the synthesis of messenger RNA is a highly radiosensitive process.

In studies of these problems, it is important to take into account differences in the interrelationships of DNA, nuclear RNA and the synthesis of nuclear proteins between proliferating, normal and malignant cells. SEED (1962) has studied these problems for synthesis of DNA and nuclear protein in five types of cell grown in tissue culture by means of quantitative techniques of Feulgen-staining, tritiated thymidine autoradiography and interference microscopy combined with time-lapse photography. In rapidly dividing cell cultures freshly prepared from three types of normal tissues (monkey kidney, embryo human skin and mouse embryo), DNA synthesis and the majority of nuclear protein synthesis do not begin after telophase until a certain interval has elapsed. On the other hand, in rapidly dividing cell cultures prepared from two tumour strains, HeLa human carcinoma and Earle's L-mouse strain, nuclear protein synthesis proceeds continuously during interphase and its onset does not coincide in time with the onset of DNA synthesis. Similar conclusions can be drawn from the results of RICHARDS and DAVIES (1958) for the nuclei of the Krebs ascites tumour. Autoradiographic studies of nuclear RNA labelled with  $^3\text{H}$ -cytidine in HeLa- $\text{S}_3$  cells (FEINENDEGEN and BOND 1962) have shown that in these tumour cells, nuclear RNA synthesis continues throughout interphase and in mitosis until late prophase, when it stops, resuming again at telophase. Most of the labelled RNA in prophase is associated with the chromosomes and nucleolar labelling amounts to less than 15—20 per cent. Approximately one fourth of the label remains associated with the chromosomes even through anaphase. At telophase RNA synthesis resumes within the chromatin. Similar experiments were reported with Ehrlich ascites tumour cells (LAUF, SEEMAYER and OEHLERT 1962); the continuance of RNA synthesis during prophase in the tumour cells is contrasted with the different behaviour of normal cells.

SEED (1964) has continued the interferometric and photometric studies of individual cell nuclei derived from normal embryonic tissues and spontaneous tumours of the mouse growing *in vivo*. The results are consistent with the differences found *in vitro*. In the nuclei of *normal* embryonic cells, the syntheses of DNA, nuclear RNA and protein appear to be closely associated, whereas in the nuclei of *tumour* cells an appreciable fraction of the synthesis of chromatin RNA and protein is dissociated from the replication of DNA.

Evidence that nucleolar-RNA synthesis largely proceeds "independently" of extra-nucleolar-RNA synthesis in rat liver has been presented by MURAMATSU, HODNETT and BUSCH (1964). In the nuclei of the Walker rat tumour cells, 59 per cent of the total  $^{32}\text{P}$  incorporated into nuclear RNA was accounted for by labelling of nucleolar RNA, while for rat liver, the corresponding value was 17 per cent (MURAMATSU and BUSCH 1964). In HeLa cells grown in suspension culture, there is a concentration of DNA complementary to ribosomal RNA in the nucleolus-associated chromatin (MCCONKEY and HOPKINS 1964). An intensive study of the macromolecular parameters of high molecular weight RNA of Ehrlich ascites tumour cells has been reported (TIMASHEFF 1964). The existence of RNA-DNA complexes in rat liver cells and the cells of the Ehrlich ascites mouse tumour have been demonstrated by MANT'EVA (1964). It is concluded that the complex does not participate directly in the biosynthesis of RNA. The function of RNA in animal cells has been reviewed by HARRIS (1965).

The role of RNA in the growth of malignant tumours and in the effects of radiation on malignant tumours has been recognized for many years (see CASPERSSON 1941, 1950; CASPERSSON and SANTESSON 1942; MITCHELL 1940, 1942b, 1944; MOBERGER 1954; PARCHWITZ and WITTEKIND 1958; BRACHET 1960; MITCHELL 1960; GRUNDMANN and SIEBURG 1962; HOBIEK and GRUNDMANN 1962). Our own investigations of the radiosensitizer 2-methyl-1,4-naphthaquinol bis (disodium phosphate), Synkavit, including biochemical and autoradiographic studies (MARRIAN 1959; MITCHELL, KING, MARRIAN and CHIPPERFIELD 1963; MITCHELL and MARRIAN 1963), have shown that the compound is to some extent selectively concentrated in malignant cells including human malignant cells, with localisation in nucleoli and cytoplasm and that it inhibits synthesis of part of the RNA in Ehrlich ascites tumour cells.

These and many other findings appear to provide evidence that malignant tumours are characterised by uncontrolled synthesis of the part of RNA associated with the nucleolus and that the selective action of therapeutic doses of radiation on malignant cells involves the synthesis of this part of RNA.

*γγ) Accumulation of nucleotides and RNA*

The accumulation of these substances in human and animal tumours after irradiation with doses of less than 750—1000 R was first detected by ultra-violet photomicrographic methods, combined with histochemical studies (MITCHELL 1940, 1942b, 1943, 1944).

An increase in the cytoplasmic ultraviolet absorption of nucleotide type was observed in a biopsy specimen of a human basal-celled carcinoma of the skin immediately after the delivery of a dose as small as about 40 R of  $\gamma$ -radiation in 43 minutes.

The identity of RNA as an important accumulating metabolite was confirmed by the use of ribonuclease to remove the ultraviolet absorbing material. In addition to the histochemical investigations, the pentose nucleotides were extracted and studied by measurement of the ultraviolet absorption spectra.

It now seems likely that the ultraviolet absorbing materials studied included deoxyribonucleotides and deoxyribonucleosides (BISHOP and DAVIDSON 1957; ORD and STOCKEN 1958; SOŠKA *et al.* 1961; BENEŠ and SOŠKA 1962) and also soluble deoxyribopolynucleotides (COLE and ELLIS 1957). In the spleen of mice after irradiation both to the whole body and locally, the level of free deoxyribopolynucleotides, expressed as a percentage of deoxyribonucleoprotein shows a nearly linear rise with increasing dose up to about 300 R at 4 hours after exposure; even after 30 R there was a small increase which was significant in relation to the control value. The maximum level of free deoxyribopolynucleotides is reached at 4—6 hours after irradiation, while the increase in the level of acid-soluble deoxyribo-compounds after irradiation occurs a few hours later (SKALKA, MATYÁŠOVÁ and SOŠKA 1962). The accumulation of free deoxyribopolynucleotides may be related to labilization of DNA after irradiation. The nature of the metabolites accumulating after small doses of radiation needs further investigation (see also p. 438).

*δδ) Changes in nucleoproteins and related compounds demonstrable by fluorescence microscopy*

In separate experiments in association with the ultraviolet photomicrographic studies, MITCHELL (1942b) demonstrated an increase in the fluorescence produced by ultraviolet radiation of different wavelengths in the irradiated tissues e.g. in a biopsy specimen of squamous-celled carcinoma of the lip taken at 80 minutes after the delivery of 250 R of gamma radiation in 4.45 hours. It was shown that the approximate spectral distribution of the fluorescent radiation associated with the accumulating metabolites in the irradiated tissue was very similar to that of a dried layer of thymus nucleoprotein.

In recent years radiation-induced changes in living cells have been studied intensively by Russian workers by means of fluorescence methods using both autofluorescence in the ultraviolet region and visible fluorescence with acridine orange as a fluorochrome.

“The method of supravital fluorescence microscopic investigation of the bone marrow devised by MEISSEL and SONDAK (1955) was used and made it possible to observe early changes in the structure of the nucleoproteins. Individual damaged cells and foci of damaged cells — “micronecroses” — appear in the bone marrow in the first few seconds after Roentgen irradiation even with a dose of 100 R (SONDAK 1957). According to these workers the number of micronecroses in the first few hours after irradiation (up to 3—6 hours) gradually rises and then starts to fall off as the damaged cells are resorbed” (RAPOPORT and GASANOVA 1960).

Further investigations have been reported by MEISSEL *et al.* (1961) “The processes described represent labilization and denaturation of DNA-proteins, accumulation of RNA and nucleotides in the cytoplasm, and changes in their physico-chemical properties which have an effect on the character of the fluorescence”.

*εε) Decrease of concentration of cytoplasmic solids of lymphocytes after irradiation*

The cytoplasmic solid concentration of lymphocytes was measured by cell refractometry, for lymphocytes in the blood of mice after total body Roentgen irradiation (BARER and JOSEPH 1960). A fall in cytoplasmic solid concentration occurred within 10 minutes after irradiation and the minimum value was usually reached between 2 and 12 hours after irradiation. "Intermediate doses of about 300 R produced moderate changes in cytoplasmic concentration but without reducing the number of circulating lymphocytes to inconveniently low levels". A small effect could be detected after a dose of 50 R.

This process is probably complex. It is of interest to note that 75 per cent of the cytoplasmic mass of thymus lymphocytes appears to be ribonucleoprotein (HESS and LAGG 1958); in the cytoplasm of the radio-resistant reticulum cells of the thymus there was a relatively small smaller proportion of ribonucleoprotein.

*ζζ) Labilization of deoxyribonucleoproteins and effects on the nucleoprotein system of the nucleus after irradiation in vivo*

Of particular interest for the low doses region is the work of HAGEN (1960a), who demonstrated labilization of DNA in thymus nucleoprotein after whole body irradiation of rats, even with doses of 50 and 100 R. These experiments are based on the studies of KIRBY (1957, 1958), who showed that DNA can be extracted from tissues with 90 per cent phenol in presence of certain anions. After whole-body irradiation, considerably more DNA can be extracted from the thymus by means of the phenol-trichloroacetic acid procedure, especially with the more dilute solutions of trichloroacetic acid. Since the total DNA per g. of tissue changes after irradiation, the yield of DNA extracted with 0.5 and 1.0 per cent trichloroacetic acid is calculated as percentage of the total DNA. After a lag period of about 1 hour, the yield increases for times after irradiation of up to about 6 hours, after which it remains constant or decreases slightly. The results of these experiments are given in Table 5. The increase in yield of extractable DNA increases with the dose of radiation with evidence of a saturation effect above about 400 R and is significantly greater than that of the controls even after a dose of 50 R.

The results were considered to indicate a labilization of the DNA from the protein probably due to a break in bivalent metal linkages (HAGEN 1960a). This labilization occurs in an early post-irradiation period, that is, 1—6 hR. after irradiation. Histological observations demonstrate death of some cells at this time, although the weight of the organ and the deoxyribonucleic acid content per gm. of tissue begin to decrease later, namely, 6—10 hR. after irradiation. It seems probable that the labilization of deoxyribonucleic acid from protein occurs prior to histologically observable death of a cell. The distinct lag period of 1 hR. before labilization begins, however, suggests that some other processes in the nucleus are involved with it or responsible for it. In particular, the possibility must be investigated of a preliminary degradation of the deoxyribonucleic acid chain (HAGEN 1960a).

It is essential to relate the biochemical findings to the morphological changes after irradiation. For this purpose, in the case of the thymus and lymphatic tissues determination of the proportion of pyknotic lymphocytes is a valuable criterion. Examination of irradiated thymocytes by means of the electron microscope has shown that pycnosis is a true morphological condition and not an artefact of fixation (SCAIFE 1963c). Reference

Table 5. Yield of DNA obtained by extraction of thymus at 6 hours after whole body irradiation of the rat by means of the phenol-trichloroacetic acid procedure

The yield of DNA is calculated as percentage of the total DNA. Each value represents 9—18 animals (HAGEN 1960a)

Dose	Trichloroacetic acid 0.5 per cent	Trichloroacetic acid 1.0 per cent
Control	3.2 ± 0.41	8.47 ± 1.32
50 R	7.8 ± 1.57	22.6 ± 1.64
100 R	9.8 ± 0.43	29.4 ± 2.2
200 R	16.9 ± 1.93	37.55 ± 3.03
400 R	21.9 ± 0.6	53.6 ± 1.5
800 R	22.8 ± 1.77	55.3 ± 6.74

may be made to the study of the cytological changes occurring in the lymphocytes of the thymus of the rat after total body irradiation (TROWELL, CORP and LUSH 1957). In this work the following percentages of pyknotic lymphocytes were observed in the thymus at 5 hours after irradiation with specified doses: 1.2 per cent in controls, 3.8 per cent after 17 R, 25.1 per cent after 76 R, 53.1 per cent after 268 R, and 70.3 per cent after 670 R. The criteria of pyknosis were defined previously (TROWELL 1952). Similar experiments were reported by PETRAKIS (1956) and HAGEN and BRAUN (1961) for thymus, HJORT (1959) for lymph nodes and SCAIFE and ALEXANDER (1961) for cell suspensions of thymocytes. HAGEN and BRAUN (1961) showed that the weight of the rat thymus after total body irradiation with a dose of 1000 R remained approximately constant during the first 3 hours after irradiation and then decreased steadily. There was only a very small increase in the water content at 1½ hours after irradiation even with this high dose. It must be concluded that pyknosis after irradiation first appears after a latent period of 1—2 hours, depending upon the dose, and not immediately after irradiation. At 6 hours after irradiation with a dose of 1000 R, all the nuclei are pyknotic.

It may be useful to mention here the experiments of ERNST (1961a and b) on the sucrose-isolated nuclei of rat thymus cells in which it was shown that about half the nuclear globulins are lost at half an hour after irradiation with 1000 R, with little further change in the subsequent half hour, while roughly a quarter of the histones are lost by the end of the first hour after irradiation. It is to be noted that there is practically no albumin in rat thymus cell nuclei, while there is a substantial amount of albumin in the globulin-albumin fraction from the cell nuclei isolated from spleen and liver. In further experiments ERNST (1963) investigated the decrease of nucleoprotein in the cell nuclei of thymus, spleen and liver of rats at times up to 48 hours after total body irradiation with doses of 50, 200 and 1000 R of Roentgen radiation. Loss of nucleoprotein occurred during the first 4 hours in all three cell types but later gradual recovery occurred in the liver cell nuclei, while transient signs of recovery in the nuclei from thymus and spleen were followed by progressive loss of nucleoprotein and subsequent breakdown of the radiosensitive cells.

In the region of higher doses, labilization of deoxyribonucleoprotein and increased extractability of DNA have been described after total body irradiation of the mouse (COLE and ELLIS 1956, 1957), and after local therapeutic irradiation of the Walker carcinoma 256 and the Jensen sarcoma in the rat with a dose of 2000 R (MITCHELL 1957, 1960, p. 53). Further investigation is required in the study of malignant tumours.

In experiments in this field consideration must be given to the following constituents of the cell nuclei: the basic histones (BUSCH 1962), the nuclear globulins and albumins, and a protein rich in tryptophane, called non-histone protein by MIRSKY and POLLISTER (1946). Together with the histone and the DNA, this non-histone protein forms a molecular complex, which can be obtained easily from the cell nuclei with 2M NaCl and was designated by MIRSKY and POLLISTER (1946) as "chromosin", since it resembles chromosomes in composition. Further the nucleus also contains the "residual protein", a lipoprotein containing phospholipid (ENGELRING and LASKOWSKI 1953; WANG *et al.* 1950, 1953). MONTY and DOUNCE (1958) considered that the residual protein is probably identical with the "chromosomin" of the STEDMANS (1943, 1947). It appears that if the histone is removed from the nucleus, the DNA becomes associated firmly with this residual protein, giving the "desoxyribonucleoprotein" of MONTY and DOUNCE (1958). In the literature (e.g. GAJDUSEK 1950, SHOOTER *et al.* 1954; CRAMPTON *et al.* 1954; COLE and ELLIS 1956) another deoxyribonucleoprotein is often described which is designated as DNP; this is the total complex of DNA and protein which remains behind as an insoluble residue after exhaustive extraction of the tissue with 0.14 M NaCl.

HAGEN (1962) has studied the chromosin (see MIRSKY and POLLISTER 1946) of thymus cell nuclei of irradiated rats. It is clear that labilization and loosening of the linkage between DNA and protein occurs in thymus cell nuclei within 2 hours after total-body

irradiation; it is considered that after small doses of radiation these changes are reversible and not necessarily the initial stage of cell death. The structural alterations in the nucleoprotein have been investigated in some detail in the chromosin isolated from the cell nuclei of irradiated animals. It is of great interest that the DNA and proteins separated after irradiation can be re-associated by the addition of calcium ions or magnesium ions (HAGEN 1960c). The amount of  $\text{Ca}^{++}$  necessary for this purpose was found to be proportional to the dose of radiation. At 6 hours after 800 R of whole-body irradiation, the metal linkages are destroyed almost completely. For their repair, one  $\text{Ca}^{++}$  ion is necessary per 8 nucleotides; this value is very similar to that of one  $\text{Ca}^{++}$  ion per 11 nucleotides found by FRICK (1957) for the uptake of calcium by a nucleoprotein preparation. It may be mentioned that the presence of calcium ions appears to be necessary for phosphorylation in isolated cell nuclei (OSAWA, ALLFREY and MIRSKY 1957).

The labilization of the deoxyribonucleoproteins after irradiation *in vivo* occurs earlier than the decrease in viscosity of the extracted DNA (HAGEN 1961, 1963). A close similarity was found between the decrease of specific viscosity of the DNA extracted from the thymus at different times after irradiation *in vivo* and the proportion of cells with pyknotic nuclei (HAGEN 1961).

The length of the DNA molecule in the living cell nucleus is still not known. In recent years, the use of very gentle techniques of isolation has yielded preparations of DNA of very high molecular weight. This was first demonstrated by DAVISON (1959) and his suggestion that the DNA in the T (even) bacteriophage particle constitutes one molecule of molecular weight 120 millions appears to be widely accepted (HERSHEY and BURGI 1960). The possibility has been discussed that a single DNA molecule extends throughout the whole length of a chromosome (HSU, SOMERS and COLE in BUSCH 1963, p. 110).

STRAZHEVSKAYA and STRUCHHOV (1962a and b) have applied similar very gentle techniques of isolation of DNA from a number of tissues and obtain preparations of very high viscosity, which they describe as "supramolecular" DNA. The preparations are made by repeated partition between phenol and physiological saline. The final product contains less than 1 per cent protein and preliminary analyses of the residual protein showed that it contained at least 10 amino-acids, the composition depending upon the tissue of origin. Electron microscope studies suggest that the preparations contain bundles of DNA molecules oriented in parallel with an approximate diameter of 400 Å. These workers and their colleagues had shown previously that "immediately after  $\gamma$ -irradiation of various organisms with a lethal dose (chickens — 1,200 R; cells of ascitic mouse carcinoma of Ehrlich — 2,500 R; *E. coli* — 4,000 R) there is observed a definite disruption in the state of the supramolecular structure of desoxyribonucleic acid (DNA). This disruption persisted for 2 hours following irradiation. The assumption was made that disruption of the supramolecular structure of DNA is a direct result of the action of ionizing radiation upon this structure, and not a consequence of activated action of enzymes (DNA-ases). Disruption of supramolecular structure of DNA was observed in radio-sensitive tissue (chicken bone marrow, cells of ascitic mouse carcinoma of Ehrlich, young culture of *E. coli*), as well as radioresistant tissue (chicken erythrocytes); apparently the integrity of this structure is a prerequisite to cell division". In the new experiments reported (STRAZHEVSKAYA and STRUCHKOV 1962a), it was shown that at 15 minutes after  $\gamma$ -irradiation of rats with doses of 200, 500, 1,000 and 5,000 R a well defined disruption of the state of the DNA supramolecular structures in the thymus was observed. The magnitude of the effect depends upon dose. At 15 minutes after 200 R, the value of the normalized viscosity  $\eta_{sp}/C$ , decreased from  $665 \pm 25$  units in the controls to  $540 \pm 25$  units; this initial disruption persisted for 2 hours, after which the viscosity fell steadily. No significant change was detected after 50 R during the first 2 hours. After lethal doses (500, 1,000 and 5,000 R), the supramolecular structure of DNA in the thymus is fully destroyed at 8 hours after irradiation: "this process is

apparently associated with the decomposition of DNA at the molecular level as a result of the action of DNA-ases". It is of great interest that in the normal liver after irradiation with high doses (1,000 and 5,000 R), disruption of the state of the DNA supramolecular structure is of a reversible nature, showing recovery of the value of the normalized viscosity, with return to the control value at 6 hours after 1,000 R. The regenerating liver showed no evidence of similar recovery processes after the large dose of 5,000 R.

*η) Effects of small doses of radiation on preparations of deoxyribonucleoproteins in vitro*

It is of interest here to consider the experimental evidence for the reduction of viscosity of preparations of deoxyribonucleoproteins after irradiation *in vitro* with small doses. The general problem of the effects of radiation upon DNA and deoxyribonucleoproteins will be discussed later (see p. 445). However, mention may be made of the interesting work of Weiss and his colleagues (EMMERSON *et al.* 1960; SCHOLLES and WEISS 1920; WEISS 1962, p. 423), in which it is shown that for the DNA-histone prepared from calf thymus, when irradiated in solution in the presence of oxygen, the DNA is highly protected and the attack by free radicals produced by the radiation takes place mainly in the histone fraction. It is reasonably certain that steric factors are critical in this problem and that the molecular and macromolecular architecture of the deoxyribonucleoprotein system of the nucleus *in vivo* is likely to determine its radiosensitivity. Such labile macromolecular structures will probably suffer serious damage in the processes of extraction. Accordingly it is not unreasonable to find that in general preparations of deoxyribonucleoproteins are much less radiosensitive *in vitro* than the living cell nuclei from which they were extracted, quite apart from the loss of many other constituents of the nuclei. Nevertheless, there are a number of studies of preparations of deoxyribonucleoproteins which show striking changes after irradiation *in vitro* with doses in the region up to 100—150 R.

It has been established that fresh crude preparations of deoxyribonucleoprotein extracted with 1 M. NaCl solution from the thymus, spleen and some other organs of the rat are extremely radiosensitive *in vitro*. The viscosity of these preparations is reduced to half the initial value after irradiation with a dose of about 50 R; this reduction of viscosity continues to increase as a large "after-effect" during the first few hours following irradiation. These preparations are exceedingly labile and purification easily produces very radioresistant material which only shows appreciable changes after doses as large as 50,000 R to 100,000 R (ANDERSON 1953a and b, 1954; FISHER 1956; HOLLÄNDER 1956; FISHER, ANDERSON and WILBUR 1959a and b; ANDERSON and FISHER 1960, p. 195, 1961).

The viscosity of the undenatured preparations is much higher than that expected from the DNA content alone and must be regarded as due to deoxyribonucleoprotein. The viscosity is destroyed rapidly by DNAase, slowly by chymotrypsin and trypsin and is unaffected by RNAase or by hyaluronidase. For higher doses of radiation, the viscosity of the undenatured preparations is reduced to about 30 per cent of its original value by a dose of 250 R and to about 6 per cent by 900 R. The protecting agent S-β-aminoethylisothiuronium bromide hydrobromide (AET) shows a large degree of protection against the radiation-induced viscosity change, at low concentrations and at low doses. There is, however, a part of the viscosity change against which AET gives no protection.

The evidence available suggests that these preparations extracted with 1 M. NaCl solution from rat thymus nuclei contain long strands of DNA interlinked by protein. The alternative proposal that the strands are reassociation artefacts produced when DNA and protein are extracted from the nucleus is now considered to be unlikely. In later experiments, the "marked decrease in viscosity-producing potential of nuclei deformed by shearing strongly supports the concept that the high anomalous viscosity observed in fresh 1 M. NaCl extracts is caused by pre-existing linear DNA-protein

aggregates or strands. The possibility that the viscosity decrease is caused by release of degradative enzymes from ruptured cytoplasmic particles is excluded by the observation that the viscosity produced by sheared preparations did not reach a high value initially or decrease with time" (ANDERSON and FISHER 1961). The evidence presented for the existence of DNA-protein strands in the intact nuclei supports the view that the high degree of radiosensitivity of the deoxyribonucleoprotein preparations *in vitro* is of biological significance.

Relevant results were reported by VOLKOVA and PASSYNSKY 1955 (see PASSYNSKY 1961) for irradiation *in vitro* of a nucleoprotein of high molecular weight isolated from thymus; "an appreciable radiation action was observed with as small a dose of 25 to 50 R by the decrease of relative viscosity. At this dose the decrease of the relative viscosity was 4.5 per cent, while after 500 R it was 20 per cent". Reference may also be made here to the work of DOUNCE and MONTY (1955) and MONTY and DOUNCE (1957) who studied the effects of Roentgen rays on deoxyribonucleoprotein gels formed from isolated nuclei of the rat liver in dilute alkali by adjusting the pH to 9.0 with dilute NaOH prior to irradiation. This material consists of DNA bound to the residual chromosomal protein by what appear to be covalent linkages. "The effects of the irradiation were measured approximately by ascertaining what dilution was just required to break the gels. A dose of 300 R resulted in a measurable weakening of the gel, and 900 R produced a very marked effect. When dose of X-irradiation was plotted against dilution, an approximate linear curve was obtained."

#### *δ) Highly radiosensitive changes in the matrix of connective tissues*

There are many observations on the highly radiosensitive changes occurring in the matrix of connective tissues after irradiation with very small doses. These processes are attributed to depolymerisation of mucopoly-saccharides by radiation; they are of particular interest because they are immediate changes. It is reasonable to assume that they have no connection with processes involving DNA or deoxyribo-nucleoproteins. Probably they indicate the occurrence of another type of highly radiosensitive macromolecular lesion. Moreover, these changes involving mucopolysaccharides show either no oxygen effect or a negative oxygen effect where the sensitivity to irradiation becomes very much larger under anaerobic conditions (BRINKMAN 1962, p. 174); there is also a considerable after-effect.

These processes have been discovered and investigated by means of an elegant biophysical technique. A striking decrease of the intra-dermal injection pressure has been observed immediately after local irradiation with small doses of Roentgen rays in both the rat and man (BRINKMAN and LAMBERTS 1958, 1960; BRINKMAN, LAMBERTS, WADEL and ZUIDEVELD 1961). A fine needle is inserted into the dermis; normal physiological saline solution is slowly injected at a constant rate and the pressure set up by this infusion is recorded. Irradiation of the area around the needle tip causes a fall in pressure with a lag of not more than one second. Large effects were observed after doses of 80—100 R and changes were detectable after 20—40 R. Recovery occurred in living skin after 2—5 hours. Similar changes but without recovery were observed in the skin of dead animals, and also in muscle fascia, cock's comb, umbilical cord tissue and the wall of the aorta. The effect on the dermis has been confirmed by BACQ, CICCARONE and RENSON (1959) and BACQ (1959, 1960), and also by DUKOR (1960, 1962), who employed the method for investigation of chemical radioprotecting agents, mainly those related to serotonin (5-hydroxytryptamin). He observed a considerable fall in injection pressure with physiological saline after a dose of about 50 R, though in most of his experiments he used much higher doses. He found that the latent period was at least 0.5 sec but could be up to 2 sec. The fall in injection pressure after irradiation was observed with extreme regularity, with no unexplained failures in a series of over 200 experiments carried out as controls for the protection studies.

All the effects observed can occur in the absence of oxygen. Protection was demonstrated in the case of serotonin when this was dissolved in the injection fluid; the lowest concentration at which protection could be detected was 20 microgram per ml. Yeast autolysate also gave protection. In all the radiation effects on the mucopolysaccharide systems studied, it has been found that sodium thiosulphate ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ), acts as an efficient protector, appearing to be an extracellular protector, even though intra-cellular effects of radiation are not influenced by thiosulphate (BRINKMAN and LAMBERTS 1962)

It is considered that the immediate fall in injection pressure after irradiation is due to depolymerisation of the mucopolysaccharides in the connective tissue matrix. It is probably found in any tissue with a mucopolysaccharide matrix and can be observed to occur without recovery, in dead tissues. Moreover, a similar change can be demonstrated *in vitro* in very thin dermal membranes; these show an increase in the water permeability after small doses of radiation, at levels as low as even 30 R (BRINKMAN *et al.* 1961).

Another immediate effect of radiation on skin, which may be related closely to these phenomena, is the decrease in low frequency (170—230 Hz) alternating-current conductivity observed by SCHUPPLI and WAGENER (1960, 1961). Although most of the experiments were carried out with large doses, a significant decrease of the conductivity was observed after a dose of 200 R. With repeated irradiation, the magnitude of the changes decreases rather rapidly and even after repeated high doses the effect disappears. Experiments were made with rabbits, rats and guinea-pigs. There appears to be no detectable latent period for the changes in the conductivity of skin after irradiation.

It may be of interest to comment from a clinical point of view that these changes may be the basis for the subtle changes in the texture of the skin, which have been noted, though unexplained, for many years as an early temporary effect of irradiation even with small doses.

#### *ε) Temporary oedema after irradiation*

A related pathological change, which is perhaps best discussed here, is the temporary oedema of cells, tissues and tumours which is often seen in varying degrees after irradiation. This process is well known and is of great interest in relation to the therapeutic effects of radiation where it may constitute a practical problem. In experiments with grasshopper neuroblasts, which are highly radiosensitive cells, swelling of the cells occurred almost immediately after irradiation with a dose of 100 R or more of Roentgen rays (HARRINGTON and KOZA 1951; see HOLLAENDER 1956, p. 207). Further, mention may be made of the findings of Gerstner (STAHL 1962, p. 423) that the water content of the brain may be changed by doses as low as 15 R. There appears to be great variability in the degree of oedema produced after irradiation under different circumstances. ERNST (1961) found relatively small changes in the water content of the thymus and spleen of the rat at 1½ hours after total body irradiation with a dose of 1000 R; the values of the water content for the controls and at 1½ hours after irradiation were respectively for thymus 76.9 and 77.5 per cent and for spleen 74.3 and 76.6 per cent.

In changes of this type, there appear to be alterations in the osmotic-pressure relationships. At least part of the effect may be due to depolymerization of macromolecules after irradiation. However, it appears reasonable in some circumstances to associate at least part of the increased water content of the cells with the temporary accumulation of metabolites of low molecular weight; this factor may be important in the cases of some malignant tumors after irradiation with relatively small doses.

#### *ε) Increase in the activity of certain enzymes and enzyme systems after irradiation*

This is an important aspect of the biochemical effects of radiation which is demonstrable in the low dose region but is of major interest in considerations of the mechanism of the actions of medium and high doses, in connection with which it will be discussed

later (see p. 425). The problem is a complex one. However, reference must be made to the suggestion of BACQ and ALEXANDER (1955, 1961) that 'enzyme release' — meaning liberation and activation of enzymes in the cell due to the breaking of bonds which hold the enzyme molecules *in situ* — is an important mechanism by which small and medium doses of ionizing radiations produce their biological effects. A mechanism, which may be closely related, is suppression or destruction of regulatory inhibitors after irradiation. It has been pointed out that the term 'enzyme activation' has a definite meaning for the enzymologist, viz. the initiating or raising of the turnover number by the addition of a necessary physiological factor, such as magnesium, iron or a coenzyme (see LASER 1962).

It seems to me to be necessary in some instances, particularly in cases of increased protein synthesis after irradiation, to distinguish between the mechanism of enzyme liberation and biochemical effects due to an accumulation of metabolites, including some fractions of RNA. Stimulation of enzyme induction by radiation must be mentioned. Other examples of increased activity of enzyme systems, including increased protein synthesis must be discussed here, even though the doses used were relatively high. It is of interest than in these examples, some enzymatic processes involving synthetic mechanisms are increased shortly after irradiation. ALTMAN, RICHMOND and SALOMON (1951) showed that if the bone marrow was removed from rabbits immediately after a total-body exposure of 800 R of Roentgen-radiation and the synthesis of saturated and unsaturated fats from labelled acetate was measured *in vitro*, the irradiated bone marrow had two to three times the activity of the normal control. The synthesis of haemin and globin appears to be stimulated immediately after irradiation. In similar experiments in the rabbit immediately after whole-body irradiation with a dose of 800 R, RICHMOND, ALTMAN and SALOMON (1951) found that bone marrow and spleen incorporated  $^{14}\text{C}$ -glycine into haemin and globin more rapidly than normal. NIZET, LAMBERT and BACQ (1954) found stimulation of haemin synthesis *in vitro* by reticulocytes taken from a dog 30 minutes after whole-body exposure of 500 R or by reticulocytes irradiated *in vitro*. Humoral factors played a part; plasma from the irradiated dog was found to accelerate the incorporation of precursor into the haemin of non-irradiated reticulocytes.

There is a considerable body of evidence showing increase in the activity of certain enzymes and enzyme systems after irradiation with small doses. This may now be summarized; in general, negative findings are not given.

#### *αα) Cathepsin*

An increase in the activity of a cathepsin of the liver of the rat and mouse was observed at 24 hours after irradiation with a dose of 50 R. It was considered that this increase could be due to the destruction of an inhibitor (BALLIN and FEINSTEIN 1952).

An increase in the activity per g. of tissue of a cathepsin was demonstrated in the thymus of the mouse at 24 hours after total body irradiation with doses in the region of 50—100 R (HAGEN 1958).

An increase in the specific activity of cathepsin was reported in the leucocytes of the frog at 1 hour after total-body irradiation with a dose of 100 R (ANTONJEVIC and LEBEZ 1962).

#### *ββ) Acid deoxyribonuclease*

In mouse thymus, the acid deoxyribonuclease (DNAase II) activity increases after 160 R from the twelfth hour onwards. Expressed per cell, the activity is increased sixfold after 24 hours (WEYMOUTH 1958).

#### *γγ) Ribonucleases*

In mouse thymus, total body irradiation with doses from 40 to 160 R lead to an enhancement of activity of both ribonucleases per cell (i.e. per mg. DNA) which begins as early as 20 minutes after irradiation for alkaline ribonuclease, and after 8 hours for

the acid enzyme (WEYMOUTH 1958). Maxima are reached at 24 hours after irradiation at about 10 times and twice the normal activity for the alkaline and acid enzyme respectively. Between 40 and 160 R, the increase of alkaline ribonuclease is proportional to the dose, but that of acid ribonuclease is dependent upon time only and not upon the dose. A gradual destruction of inhibitor appears to be a plausible explanation, since the inhibited enzyme, alkaline ribonuclease, increases with the dose and the acid non-inhibited enzyme does not.

#### *δδ) 5-Nucleotidase*

There is evidence from histochemical studies after total body Roentgen irradiation in rats (PASQUALINO and BOURNE 1960) that 5-nucleotidase, which was studied by the technique of Gomori, is particularly sensitive to radiation, increasing in activity within 6 hours after a dose of 150 R in both liver and spleen. It is of interest to note that this increase in enzyme activity and the proliferation of histiocytic cells in the liver giving positive reactions for both 5-nucleotidase and alkaline phosphatase in these irradiated animals are similar to changes seen in unirradiated tumour-bearing rats and in rats subjected to prolonged ether anaesthesia.

#### *εε) Acid phosphatase and β-glucuronidase*

Increases in the enzyme specific activities of acid phosphatase and β-glucuronidase in the thymus and spleen of rats were observed at 24 and 48 hours after a single dose of 200 R, and also 1,000 R. The increases could be interpreted on the basis of selective nitrogen retention in the tissues after irradiation. However, the increase of acid phosphatase activity observed in the thymus and spleen at 2 hours after a dose of 1,000 R was regarded as unexplained (RAHMAN 1962).

#### *ςς) Delta-aminolaevulinic acid dehydrase (ALAD)*

DANCEWICZ and LIPINSKI (1958) gave an account of studies of "the effect of X-radiation on δ-aminolaevulinic acid dehydrase (ALAD) — the enzyme that catalyses δ-amino-laevulinic acid (ALA) conversion to porphobilinogen (PBG), the monopyrrole precursor of porphyrin and heme". Rats were killed at different times after total body irradiation; the ALAD activities were measured in homogenates of various organs. In homogenates of bone marrow and spleen, the ALAD activity increases during the first few days after irradiation with 25—50 R; for kidney and liver these were only slight, and probably not significant.

#### *ηη) Tryptophane-auxin enzyme of animal tissues*

One of the most radiosensitive biochemical processes known is a cytoplasmic enzyme reaction in plant material (GORDON 1957). Inhibition of the enzymatic oxidation of β-indolacetaldehyde to indolacetic acid (auxin), with accumulation of indolacetaldehyde, by cell-free homogenates of Roentgen irradiated mung bean seedlings has been shown to be a highly radiosensitive process, with about 20 per cent inhibition after 10 R and about 33 per cent inhibition after 50 R. The enzyme inhibition is observed within a few minutes after irradiation of the plant tissue.

An analogous enzyme exists in animal tissues e.g. kidney, liver, adrenal and testis of some mammals. However, its radiosensitivity is strikingly different from that of the plant enzyme in that with whole body irradiation, large doses in the region of several thousands R are required to reduce the enzyme activity of the tissues. On the other hand, small doses result in an increase in enzyme activity. *Total-body irradiation with doses of 50—100 R cause a five-fold rise in enzyme activity in the liver of mice.* It is considered that this radiation-induced increase in enzyme activity is almost certainly a hormone-mediated stress phenomenon; it does not occur in the adrenalectomised animal (GORDON and BUSS 1962).

It is of interest that for irradiation in aqueous solution in concentrations less than  $5 \times 10^{-5}$  M in the presence of oxygen, indolacetic acid has been found to be highly radiosensitive, the ultraviolet absorption spectrum showing changes after doses as low as 100 R (CERVIGNI and BELLI 1962). This result is in agreement with the findings of SKOOG (1935), though under the experimental conditions of GORDON and WEBER (1955), indolacetic acid appeared to be much less radiosensitive.

#### *ðð) Plasma peptidase*

Increase of the peptidase activity of the plasma taken from dogs 24 hours after whole body irradiation was found with doses of 25 and 50 R of Roentgen rays. This increase is especially pronounced (+400 per cent) if benzoyl-argininamide is used as substrate (MILLER and GATES 1949, quoted by BACQ and ALEXANDER 1955, pp. 317, 326).

#### *u) Transaminase activities of serum*

Serum glutamic-oxaloacetic transaminase in the rat was increased at 3—9 hours after irradiation. 50 R produced a slight elevation, 300—900 R a two- to threefold increase, while 15,000 R produced no rise in the enzyme level (BECKER *et al.* 1961).

In a patient suffering from Hodgkin's disease, localized Roentgen irradiation of the liver with a dose of 100 R was followed after 2 hours by an increase of activity in the serum of glutamic-pyruvic acid transaminase by a factor of about 10 and of glutamic-oxaloacetic acid transaminase by a factor of about 7—8. The levels of these enzyme activities in serum returned to normal at 9 hours after irradiation (BIGWOOD and SOUPART 1962).

#### *κκ) Synthesis of antibodies*

Augmentation of antibody titre has been observed in immunized mice after irradiation with 10 to 100 R (DOUGHERTY, WHITE and CHESSE 1944). The "anamnestic reaction" does not occur in adrenalectomized mice and is thought to be related to adrenal cortical stimulation.

#### *λλ) Level of 17-hydroxycorticosteroids in plasma in man*

Local irradiation of the adrenal glands in man with a focal dose of 50—60 R produces changes in the level of 17-hydroxycorticosteroids in the plasma (NOTTER & GEMZELL 1956). There is first a fall in this level detectable at 2 minutes after irradiation and a minimum value is reached at about 10 minutes; then the value returns to normal at about 30 minutes and there is an increase in the level of 17-hydroxycorticosteroids reaching a maximum value at about 2 hours after irradiation. The threshold for these changes lies between 20 and 50 R. The value of the maximum level increases with the dose.

These results suggest that a number of different mechanisms are involved in the various biochemical processes described. It appears likely that the most important mechanisms to be considered in the low dose region are:

- (i) enzyme liberation, in the sense suggested by BACQ and ALEXANDER (1955),
- (ii) suppression or destruction of regulatory inhibitors, and
- (iii) increased protein synthesis, which is probably associated with increase of a fraction of RNA.

It is of interest that most, though not all, of the examples given refer to highly radiosensitive cells. Moreover, it appears that in mammals, with the exception of the alkaline ribonuclease, which in thymus begins to show enhancement of activity at 20 minutes after irradiation, the increases in enzyme activity following irradiation with small doses are observed only after intervals of at least some hours.

#### *η) Decrease in enzyme activity after irradiation with small doses*

It must be pointed out that a number of enzymatic processes are *decreased*, and not increased, after irradiation *in vivo* and that in some cases a decrease in enzyme activity is observed after irradiation with small doses.

First, it is useful to refer to some experiments with high doses (HAGEN 1963; HAGEN, ERNST and CEPICKA 1963). For rat thymus nuclei isolated after a dose of 800 R of total body Roentgen radiation, a decrease in the enzyme activity of lactate dehydrogenase and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase to 50—70 per cent of the control values was observed at 1—2 hours after irradiation; simultaneously there was a comparable decrease of soluble nuclear proteins. After a short recovery period, the activities of lactate dehydrogenase and of aldolase decrease slowly to reach about 50—60 per cent of the control values at 12 hours after irradiation. The nuclear glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is completely inactivated at 8 hours after 800 R, apparently in parallel with the death of the cells; as will be discussed below in connection with the role of intra-nuclear catalase, it is important to note that the activity of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is unchanged in the cytoplasm. In addition, it is clear that substantial amounts of certain proteins and enzymes are liberated from the nucleus into the cytoplasm during the first two hours after irradiation. If the cells die after irradiation, as is the case for lymphocytes, the protein and enzyme content of the nucleus decreases still further. On the other hand, if the cells survive e.g. as is the case for liver cells, the protein and enzyme content of the nucleus recovers after reaching a minimum value at about 2 hours after the irradiation (HAGEN 1963; HAGEN, ERNST and CEPICKA 1963). Further, the nuclei of mouse lymphoma cells lose RNA-ase into cytoplasm after the large dose of 2,000 R, as observed at 2 hours after irradiation *in vivo* and at 1 hour after irradiation *in vitro* (HAMILTON, FURLAN and ALEXANDER 1962). The authors suggest that the RNAase is bound to microsome-like particles in the nucleus and is released after irradiation into the soluble fraction in the nucleus; once released, the enzyme appears to diffuse through the nuclear membrane into the cytoplasm.

Again, it is clear that effects of radiation on the activities of nuclear enzymes are important. Of particular interest is the effect of *small doses of radiation on nuclear catalase and the possible relationship of nuclear catalase to the radiosensitivity of cells*. This problem is an important one, particularly because the level of catalase activity of whole cells is often very low in malignant tumours (EULER and SKARZINSKI 1942, GREENSTEIN 1943; STERN and WILLHEIM 1943). These topics will be considered again later from the point of view of the biochemical basis of radiosensitivity (p. 432). Meanwhile, reference, must be made to the recent work of AEBI, HEINIGER and SUTER (1962) and AEBI *et al.* (1962/63) who found that red blood cells from human subjects with *acatalasia* showed an exceptionally high rate of formation of methaemoglobin after exposure to Roentgen rays *in vitro*, in the region of 10—20 times higher than the rate observed with normal human red cells. Addition of small amounts of catalase to the suspending medium before irradiation reduced the high rate of methaemoglobin formation in acatalatic red cells to that of normal red cells.

#### *αα) Nuclear catalase and evidence concerning its relationship to radio-sensitivity*

The level of nuclear catalase activity, expressed as  $\mu$  moles of  $H_2O_2$  decomposed per minute per mg. of DNA-P, has been studied in nuclei isolated from the tissues of rats which had been exposed to whole-body Roentgen-irradiation 1 hour previously (CREASEY 1960). For nuclei of thymus and lymph node, there was probably a small depression of catalase activity after a dose of 50 R and there was a definite depression after 200 R, with still greater depression after 1,000 R. The control values showed a rather wide variation over the whole series of experiments. The liver nuclei also showed depression of catalase activity after doses of 200 R and 1,000 R. There appeared to be a slight increase in the catalase activity of the whole homogenates of thymus and of lymph-node; however, in view of the small changes observed and the lack of any correlation with the dose of radiation, any changes in the catalase activity of the whole tissues are of doubtful significance. Some experiments with irradiation *in vitro* were also carried out. Nuclei

were isolated from rat thymus glands and part of the suspension was exposed at 0° C to  $\gamma$ -irradiation. It is of interest that small doses of radiation *in vitro* reduced the catalase activity. The catalase activity of the thymus cell nuclei was reduced to about 75 per cent of the control value by a dose of 150 R.

As part of the same investigation (CREASEY 1960), a study has been made of the catalase activity of cell nuclei isolated from both radiosensitive and radioresistant tissues of the rat and from pigeon liver. The results are given in Table 6. It is of great interest that the values of the nuclear catalase activity were much lower in the radiosensitive tissues, — lymph node, thymus and spleen — than in the radioresistant tissues studied, viz: brain, kidney and liver. For the thymus nuclei, some of the catalase activity was removed by the action of ribonuclease.

However, it has been suggested (THOMSON 1963) that the catalase associated with the nuclei of mammalian cells is most probably a cytoplasmic contaminant although this is not absolutely certain.

“The observations of Creasey that catalase seems to disappear from thymus nuclei may be indicative of a change in the physical state of the cytoplasmic enzyme occurring after ‘irradiation’” (THOMSON 1963). Measurements of the catalase activity of nuclei, isolated by non-aqueous techniques from rat liver and pig kidney show that these nuclei

Table 6. *Catalase activities of various nuclear preparations*  
(CREASEY 1960)

Tissue	Mean activity (moles of H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) decomposed/ min/mg of DNA-P)	No. of experiments	Range of activity
Pigeon liver . . .	3380	4	3120—3860
Rat liver . . . . .	2320	5	2130—3150
Rat kidney . . . . .	2920	3	2510—3530
Rat brain . . . . .	590	3	535—630
Rat spleen . . . . .	106.4	4	72.4—115.3
Rat thymus gland . . . . .	16.3	7	11.8—22.4
Rat lymph node . . . . .	37.1	5	29.8—44.6

do not contain “any remarkable amount of catalase activity”; it was suggested that catalase determinations can be used to establish the purity of isolated nuclei (SIEBERT 1963).

It is of great interest that SIEBERT (1963) mentions that experiments are in progress to see whether the absence of catalase from nuclei enhances the sensitivity of intranuclear enzymes such as glycolytic enzymes, to irradiations as compared with the same cytoplasmic enzyme. This appears from the experiments of HAGEN, ERNST and CEPICKA (1963) on thymus nuclei to be the case for glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. It is recognized that this enzyme is more sensitive to external influences than other glycolytic enzymes (HOLZER, HAAN and SCHNEIDER 1955). It appears reasonable to assume that the inactivation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in thymus nuclei after irradiation, with no effect on the activity of this enzyme in the cytoplasm is associated with the breakdown of the macromolecular structure of the nucleus and perhaps also of the nuclear membrane of this highly radiosensitive cell. It is plausible to suggest that in the thymus cell, the radiosensitivity of the nucleus may be related to the low level of activity of nuclear catalase. Nevertheless, much further study of this problem is necessary, particularly for the nuclei of a series of normal and malignant cells of different radiosensitivities.

#### *ββ) Cholinesterase activity of blood and serum, and some effects on acetyl-choline metabolism*

Total-body gamma irradiation in the rat produced significant whole blood cholinesterase depression on the tenth day at a dose level of 75 R. Threshold changes were calculated to be in the vicinity of 20—30 R. AET failed to protect against these changes (WILLIAMS, BAKER and COVILL 1961).

After higher doses, there is a fall in serum cholinesterase in rats at 1 hour after irradiation (BURN, KORDIK and MOLE 1952; ORD and STOCKEN 1953; FRENCH and WELL

1957); ZUBKOVA and CHERNAVSKAYA (1959) recorded an initial fall in the serum cholinesterase of the rat as early as 2 minutes after total-body exposure to a dose of 1,000 R, followed by a marked rise in activity at 3 days after irradiation. These changes refer to "pseudo" i.e. non-specific cholinesterase. The pseudo-cholinesterase activity of muscle and intestinal mucosa of rats was diminished by about 50 per cent at 48 hours after total-body irradiation with a dose of 1,000 R (BURN, KORDIK and MOLE 1952). In the liver of the rat, after increasing in the first two hours after total-body irradiation with a dose of 600 R, the pseudo-cholinesterase activity generally fell in the first day and this decrease was associated with a corresponding increase in the blood; after this, a decrease in enzyme activity was observed in both the liver and the blood (GROSSMANN 1962, p. 107).

Mention may be made here of changes in acetyl-choline metabolism in rats observed soon after total-body gamma-irradiation with low doses (DEMIN and KORNEEVA 1962). After a short duration (13 seconds) exposure of rats to  $^{60}\text{Co}$  gamma-irradiation with a dose of 100 R, considerable fluctuations occur already after 10 minutes in the content of free and combined acetylcholine and also in the activity of acetylcholinesterase and of the non-specific cholinesterase in the liver, brain and intestine.

*ð) Increased rate of formation of methaemoglobin in mammalian red blood cells after total-body irradiation with very small doses*

METCALF (1962a) reported that the very small doses of 1/30, 1/10 and 1/3 rad of whole-body gamma-irradiation lead to a measurable change in the blood of rats. He treated a suspension of erythrocytes from the irradiated animal with an isotonic solution containing small amounts of nitrites. The red oxyhaemoglobin then changes into brown methaemoglobin. The speed of this reaction was measured; the "reaction time" was defined as the interval between mixing the red cell suspensions with nitrite solution and the first visually detectable colour change from the red of oxyhaemoglobin to the brown of methaemoglobin. After a dose of 500 rad, the reaction time was reduced "very soon" after irradiation and the change lasted 3 months. After the single small doses of less than a rad, the full effect was obtained only after 3 weeks; then the reaction time slowly returned to normal. After a second irradiation with these small doses, the maximum change was observed much more quickly after about 6 days. These findings have been confirmed by GESZTI (1962) for the peripheral red blood cells of the mouse after total-body irradiation; further in a somewhat similar test using hydrogen peroxide instead of nitrite, changes were detectable "in a few hours following irradiation with a small dose such as 25 R". It was suggested by GESZTI (1962) that reduction of diaphorase or a similar flavoprotein enzyme might be involved in these changes. METCALF (1962b) found that riboflavin or flavin mononucleotide is without effect on the increased sensitivity of the intracellular haemoglobin of rat red cells following irradiation but that the combination of riboflavin and adenosine triphosphate (ATP) is effective. In this connection it may be pointed out that the synthesis of flavin adenine dinucleotide from riboflavin and ATP has been demonstrated with enzymes of erythrocytes (SCHRECKER and KORNBERG 1950).

*ι) Effects on iron metabolism*

*αα) Depression of tracer iron uptake curve in rat erythrocytes after total-body irradiation with small doses*

In view of the ability to demonstrate newly formed red cells by means of tracer iron ( $^{59}\text{Fe}$  in citrate buffer) and the radiosensitivity of erythropoietic tissue, a series of experiments have been carried out — mainly in rats — in which erythroid marrow depression has been demonstrated following total-body irradiation at low dose levels.

The first experiments of this type were made by HENNESSY and HUFF (1950). The greatest depression in erythroid marrow activity occurs at a period of about one day

after irradiation, since groups labelled at this period (i.e. when the  $^{59}\text{Fe}$  tracer was administered 24 hours after irradiation) showed the greatest depression with small doses. Under these conditions, definite depression of the  $^{59}\text{Fe}$  uptake in the rat erythrocytes was observed after doses of 5 R and 25 R. In similar studies in rats, the minimum observable depression of  $^{59}\text{Fe}$  uptake 24 hours after injection for groups of five animals at a 5 per cent level of statistical significance was found to be 30 R (BELCHER, GILBERT and LAMERTON 1954); in other experiments, the minimal effect was detectable after a dose of 25 R (GRIFFIN and ALPEN 1955). The reduction of  $^{59}\text{Fe}$ -incorporation into the erythrocytes in the rat after total-body irradiation with a dose of 75 R is not influenced by either serotonin or cysteamine administered before the irradiation (ELTGEN, KOCH and LANGENDORFF 1961).

The depression of  $^{59}\text{Fe}$  uptake into erythrocytes after total-body irradiation of rats with small doses has been used in experiments to measure relative biological effectiveness (RBE) (SINCLAIR, BLACKWELL and HUMPHREY 1962).  $^{59}\text{Fe}$  was injected at the optimum time for each dose level, and the 15-day uptake determined. The  $\text{ED}_{50}$  was chosen arbitrarily as the dose corresponding to 50 per cent effectiveness within the uniform response region; e.g. for 200 kVp-Roentgen rays,  $\text{ED}_{50}$  had the value of 157 rads. The average RBE values found were  $0.85 \pm 0.024$  for  $^{60}\text{Co}$  gamma rays versus 200 kVp-Roentgen rays,  $0.84 \pm 0.014$  for 22 MeV-Roentgen rays versus 200 kVp Roentgen rays and  $0.99 \pm 0.013$  for 22 MeV-Roentgen rays versus  $^{60}\text{Co}$  gamma rays. Other criteria for evaluating the RBE in these experiments gave substantially the same results. It is of interest that in comparable experiments in rats (SINCLAIR and BLACKWELL 1962; SINCLAIR 1962) the values of the RBE for acute lethality ( $\text{LD}_{50(30)}$ ) and for depression of  $^{59}\text{Fe}$  uptake were the same within experimental error.

*$\beta\beta$ ) Effects on plasma iron concentration after total-body irradiation with small doses*

The rate of disappearance of radioactive iron,  $^{59}\text{Fe}$ , from the plasma expressed in terms of the half-time for plasma iron disappearance, is an indication of bone marrow activity during the period of sampling and has been used as the basis for a sensitive method of determination of the response of the erythropoietic system in mammals after irradiation. LOEFFLER, COLLINS and HYMAN (1953) and LOEFFLER (1957) have used the plasma iron disappearance rate as a measure of radiation damage in humans. SINCLAIR (1958) injected the  $^{59}\text{Fe}$  both before and after irradiation for measurements of the plasma clearance rates. SINCLAIR (1958) studied the plasma iron disappearance rate of patients receiving 200 R of total-body Roentgen radiation and found that the clearance half-time after irradiation was two to three times the normal value. GIRVIN and HAMPTON (1959) studied the effects of whole-body Roentgen irradiation in the rat and found that the half-time values for the disappearance of  $^{59}\text{Fe}$  from the plasma increased significantly at 24 hours after irradiation with doses of 50, 150 and 300 R; they concluded that the half-time disappearance is a good estimate of the plasma iron turnover. BLACKWELL, SINCLAIR and HUMPHREY (1962) in studies of the plasma disappearance half-time of  $^{59}\text{Fe}$  in rats after whole body Roentgen irradiation with doses of 50—800 rad, showed that the half-time became successively larger with increasing dose up to 600 rad, when the value was 2.7 times that of the controls. Above 600 rad, the plasma disappearance half-time began to fall, but at these high doses substantial changes also occurred in the plasma iron concentration. It was concluded that the "plasma iron disappearance half-time is a useful practical parameter of radiation injury in the rat up to about the  $\text{LD}_{50}$ " SZTANYIK, GESZTI and MANDI (1962) showed that the plasma iron clearance half-time increased significantly at 24 and 48 hours after total body irradiation of rabbits with a dose of 100 R, and to a greater extent after higher doses up to 900 R; at 3 days after irradiation, animals given 100 R and 300 R showed signs of recovery. ITZHAKI and BELCHER (1961) measured the values of the plasma iron concentration of male Marshall rats 40 hours

after a single dose of whole-body Roentgen irradiation. The concentration of plasma iron rose rapidly with radiation dose up to 100 R and, thereafter, more slowly, reaching a mean value of 280  $\mu\text{g}$  per 100 ml, with range 105—244. These findings are in general agreement with those of CHANUTIN and LUDEWIG (1951). The changes can be correlated with the decreased utilization of iron by the erythropoietic tissues after irradiation.

**Comments.** It is clear that these processes are highly radiosensitive and that changes can be detected at 24 hours after total-body irradiation with a dose in the region of 50—100 R. The findings are to be regarded as secondary to damage, with small doses mainly mitotic inhibition, produced by the irradiation of highly radiosensitive cells and are not concerned primarily with the ability of red cells to incorporate  $^{59}\text{Fe}$ . "The lag in the effect of exposure on the incorporation of labelled iron into haemoglobin is due to the fact that haemoglobin is laid down into erythroblasts even after exposure of the animal to radiation" (HEVESY and BONNICHSEN 1955, p. 294). The effects of irradiation on the mitosis and maturation of erythropoietic cells are complicated and show species differences; after high doses, cell degeneration becomes important. There is evidence of an exponentially increasing rate of  $^{59}\text{Fe}$  uptake (i.e., haemoglobin synthesis) in the normal unirradiated dividing population of basophilic normoblasts, and of early labelling of reticulocytes (LAJTHA, OLIVER, BERRY and HELL 1960). Recent experiments suggest that the biosynthesis of haemoglobin continues to occur in the ribosomes of the reticulocytes (SCHWEET *et al.* 1958; RABINOWITZ and OLSON 1959; TSO and VINOGRADOV 1961). However, it seems clear that irradiation at low dose levels does not interfere with haemoglobin synthesis *per se*; the process of incorporation of  $^{59}\text{Fe}$  into bone marrow cells is not affected by doses of up to 5,000 rads (LAJTHA and SUIT 1955; SUIT *et al.* 1957).

LAJTHA *et al.* (1964) have reported and figured the changes in the level of blood reticulocytes at different times after total-body Roentgen irradiation of normal mice with a dose of 150 rads and the recovery and overshoot of the stem-cell response of polycythaemic mice to erythropoietin after 150 rads. A second dose of 150 rads on day 4, 7, 13 or 14 following the first 150 rads dose gave the same 90 per cent depression of the stem-cell response as the first dose of 150 rads. The overshoot phenomenon at 12 to 14 days after total body Roentgen irradiation of mice with a dose of 150 rads was confirmed by tracer studies using  $^{59}\text{Fe}$ .

Finally, turning to the very different problem of the practical assessment of acute radiation injury in man, it is relevant to quote the view expressed by the United Nations Scientific Committee (1962, p. 140): " $^{59}\text{Fe}$  turnover studies would be of little value; to be meaningful, they would have to be done serially and even then would add little information beyond that derived from the reticulocytes."

#### *α) Various biochemical effects of small doses of radiation*

##### *αα) Studies of blood cells using methionine- $^{35}\text{S}$*

NAGY (1962) reported experiments in which rats received whole-body irradiation with doses from 25 R to 500 R, followed by intra-peritoneal injection of methionine- $^{35}\text{S}$ . The animals were bled 24 hours later and the blood was centrifuged and separated into red cell, white cell and platelet fractions, for each of which the  $^{35}\text{S}$  activity was estimated. The  $^{35}\text{S}$  activity of the platelet fraction increased with increasing doses of radiation, while the activity of the other two fractions decreased. These changes were pronounced for doses up to 100 R but at higher doses, further changes were less obvious.

##### *ββ) Depletion of the ascorbic acid content of the adrenal gland*

Depletion of the ascorbic acid content of the adrenal glands was observed in the rat at one hour after total-body irradiation. A dose of 50 R produced  $20.2 \pm 2.1$  per cent depletion. The extent of the ascorbic acid depletion was nearly the same throughout the whole range of dose between 50 R and 1,000 R (HOCHMAN 1960; see also HOCHMAN,

BLOCH and FRANKENTHAL 1953). Loss of ascorbic acid from the adrenal gland was observed within 1 hour after total-body irradiation of the rat with a dose of 800 R (BACQ and ALEXANDER 1955). BACQ (1960, p. 45) presented evidence proving "that hypothalamic nerve centres are involved: we have irradiated rats in which these nerve centres had been selectively destroyed by electrolysis (Dr. SMELIK from Groningen performed these lesions in our laboratory) and observed that the early fall of ascorbic acid in the suprarenals had disappeared."

A distinct fall in the adrenaline content of the adrenal medulla was observed in rats at 5—10 days after irradiation with doses of 300—2000 R. "Administration of cysteamine and a combination of acetylcholine and tryptamine before irradiation with 800 R did not prevent the fall in (adrenaline) concentration in the adrenals for the first 5 days, but did contribute to a more rapid recovery of the (adrenaline) level during the 6th through the 10th day" (FEDOROV 1963).

*γγ) Biochemical changes in the radiosensitive mould *Phycomyces Blakesleeanus**

In the sporangiophores of *Phycomyces Blakesleeanus* growth inhibition after a dose of 24 R given in 2 minutes is accompanied by a rapid rise in the lactic acid content, by about 80 per cent in 3 minutes, to a maximum increase by about 100 per cent of the initial value at about 5 to 7 minutes after irradiation. Then there is a decrease in the lactic acid content reaching almost the initial value at about 20 minutes after irradiation (FORSSBERG and NOVAK 1960).

*λ) Relation between 5-hydroxy-tryptamine (serotonin) and the effects of irradiation at low dose levels*

An important biochemical and physiological manifestation of the effects of irradiation of tissues, extending into the low dose region, concerns the role of 5-hydroxytryptamine (serotonin). There is now a substantial body of evidence which appears to indicate a far-reaching relation between the action of 5-hydroxytryptamine, in association with a disturbance of its metabolism, and the effects of irradiation. Some biochemical aspects of this problem will be considered in further detail later (see p. 400).

Of particular relevance in the low dose region is an experiment of BRINKMAN and LAMBERTS (1960). They made use of results obtained by DAVEY (1959) who showed that the contracted melanophores in the skin of hypophysectomized frogs will expand for about one hour after injection of 1 mg. of 5-hydroxytryptamine. "Neither histamine nor adrenaline, nor acetylcholine has such an effect; the reaction appears to be rather specific for serotonin." BRINKMAN and LAMBERTS (1960) found that irradiation with a dose of 100 R will, after  $\frac{1}{2}$ —1 hour, cause a similar or stronger effect.

The protective effect of 5-hydroxytryptamine, when administered before irradiation, is well recognized (GRAY, TEW and JENSEN 1952; BACQ and HERVE 1952; LANGENDORFF and KOCH 1957; MELCHING, LANGENDORFF and LADNER 1958; VAN DEN BRENK and ELLIOTT 1958; HOPE 1959; TRICOU and DOULL 1959; FUKUDA and HASHIMOTO 1959; WANG, KEREIAKES, ANDERSON and KREBS 1959; KRIEGEL and MELCHING 1959; LANGENDORFF and MELCHING 1959; MELCHING 1962, 1963). These investigations have shown that it is a very effective radioprotecting substance for total-body irradiation of mice and rats. After irradiation of these animals, a related disturbance of tryptophane metabolism has been observed with pronounced changes after a dose of 200—250 R (LANGENDORFF 1961; MELCHING 1962, p. 208). A terminal increase in the urinary excretion of kynurenic acid by dogs after lethal exposure to total-body Roentgen-irradiation was reported by WATTENBERG and SCHWARTZ (1947). In irradiated mice, there is an accumulation of kynurenine or 3-hydroxykynurenine in addition to increased excretion of xanthurenic acid, kynurenic acid and anthranilic acid (MELCHING 1960; LANGENDORFF, MELCHING and STREFFER 1961). It is concluded that kynureninase is inhibited by

irradiation and that pyridoxal-5-phosphate, as the coenzyme, is also involved. Experiments dealing with the participation of pyridoxal-5-phosphate and 5'-adenylic acid and ATP in the radio-protecting action of 5-hydroxytryptamine has been reported by LANGENDORFF, MELCHING and RÖSLER (1960). Increased excretion of 5-hydroxyindolacetic acid in the urine of rats is observed after total-body irradiation, but a similar increase is also found as a result of stress situation (MELCHING, ERNST and RÖSLER 1960). BRINKMAN (1960, p. 179) said in a discussion "We have confirmed Professor BACQ's observation that the excretion of the end-products of serotonin metabolism, especially the 5-hydroxyindolacetic acid, not acetic acid but aceturic acid (i.e. conjugated with glycine; J.S.M.) — is very distinct already a few hours after radiation; and the decrease in some depot organs of serotonin is also very clear."

From a general biological point of view, it is likely that 5-hydroxytryptamine (serotonin) plays an important role as a chemical mediator in a number of the effects of irradiation. The conception of the liberation by radiation of a natural radio-protecting substance is certainly an attractive biological hypothesis, but must be considered critically and from a quantitative point of view. Probably an assessment of the position cannot be reached at the present time. 5-Hydroxytryptamine is one of the relatively small number of known bridges between biochemistry and physiology. Its release by radiation would be expected to have far-reaching effects on the organism as a whole (c.f., LEWIS 1958; BRINKMAN and LAMBERTS 1960). One relatively simple aspect of the problem is the suggestion put forward by BRINKMAN and LAMBERTS (1960, p. 174) that "liberation of serotonin from the rich deposits in argentophilic mucosal intestinal tissue might very well explain this very early reaction" of an almost immediate increase in tone and mobility of the small intestine of the rat after irradiation with small doses (CONARD 1951, 1957, 1960, p. 224; NOVAK 1957) and perhaps also the early vomiting of radiation sickness. Mention must be made of the evidence that small doses of 5-hydroxytryptamine potentiate the action of acetylcholine on sympathetic ganglia (TRENDELENBURG 1956, see GADDUM 1958, p. 200). In the exteriorized small intestine of the rat, an increase in the amplitude of the muscle contractions and increased tone was observed immediately after exposure to a dose of 100 R of X-radiation, delivered at a dose rate of 100 R per minute. The response was greatly inhibited by atropine and augmented by physostigmine, which lowered the threshold of response to 25 R (CONARD 1960). There is evidence that a large local dose of 1500 R of Roentgen radiation reduces the normal content of 5-hydroxytryptamine of the ileum of the rat to a very low level after 48 hours (WILLOUGHBY 1960, 1961).

Human subjects who have received 1—2 mg of 5-hydroxytryptamine by intravenous injection, experienced nausea and dizziness, feelings of tightness across the chest with difficulty in breathing, a desire to empty the bowels and bladder and intestinal colic (ROBSON and STACEY 1962).

Reference may be made here to another highly radiosensitive physiological change which may involve related mechanisms. Delay in the process of emptying of the stomach of the unanaesthetized rat after total-body irradiation was demonstrated radiologically with doses as low as 20 R (HULSE 1958). It was found that Synkavit (2-methyl-1,4-naphthaquinol bis (disodium phosphate), had a similar action on emptying of the stomach to that of irradiation. When irradiation and Synkavit were combined, the result was a simple summation of the individual effects.

A further complicating feature of this problem is introduced by the finding of the simultaneous release of a number of bio-amines and not only 5-hydroxytryptamine but including "the adrenalins", after irradiation, as demonstrated on the rat uterus (VENINGA and BRINKMAN 1962; VENINGA 1963); FRANZEN, GROSS and THIELICKE (1963) found increased urinary excretion in rats after total-body irradiation with doses of 400, 600 and 800 R of the following amines: 5-hydroxytryptamine, bufotenine, tryptamine, dopamine, adrenaline, noradrenaline and histamine. The possibility of release from irradiated

tissues of other pharmacologically active substances such as uridine diphosphate and the polypeptide known as substance P (c.f. GADDUM and SMITH 1963) may be suggested for investigation.

Combination of serotonin, adrenaline, histamine and acetylcholine have been studied for radioprotecting action and also for toxicity in mice; addition of acetylcholine reduces the toxic effects of the combined bio-amines (VENINGA 1963). In particular, a toxic effect of a combination of these pharmacological agents was demonstrated on pregnant mice. The size of the litter was reduced and uterine resorption occurred. Further work is in progress to determine the possible role of bio-amines, including 5-hydroxytryptamine, in radiation-induced embryonic malformations (KRIEGEL, LANGENDORFF and SHIBATA).

*μ) Urinary excretion of metabolites after irradiation with particular reference to small doses*

It has been recognized for many years that after irradiation breakdown products of tissue constituents are excreted in the urine. An example of this is the well-known clinical observation of the increased urinary excretion of uric acid after therapeutic irradiation of the enlarged spleen in cases of chronic myeloid leukaemia; it is of interest that irradiation of the spleen with too large doses of Roentgen rays or with small doses given too frequently may precipitate an acute attack of gout in these cases. An increase in the excretion of uric acid in the urine after irradiation of the thymus as a result of the breakdown of the radiosensitive cells appears to have been reported first by SZÖGE and ROTTER (1921, quoted by BIEDL and BORAK 1928). Increased urinary excretion of amino acids as breakdown products of tissue proteins after irradiation has long been recognized and the variability of the findings has often been emphasized (ROTTER 1928). Effects on the urine after therapeutic irradiation were reported by DODDS (1928); during the first two days after irradiation of the abdomen, the urinary excretion of urea and uric acid fell, and there was a decrease in urine volume, slight fall in the excretion of creatinine and of phosphate, an increase in the ammonia coefficient and a sudden rise in the urinary diastase. There was also a "decided fall" in the blood urea level. There was generally a marked rise in the faecal fat. "These results suggested that in cases of abdominal irradiation the functions of the principal glands of that part of the body, such as the liver, pancreas and kidneys, are interrupted" (DODDS 1928; see also DODDS and WEBSTER 1924).

For total-body irradiation of rats, doses of 10 and 25 R reduced the urinary excretion of  $^{32}\text{P}$  administered as phosphate, while doses of 50, 100 and 600 R significantly increased the urinary excretion of  $^{32}\text{P}$  (KOLOUŠEK and DIENSTBIER 1963).

The accumulation of uric acid in the Jensen rat sarcoma after local therapeutic doses of Roentgen radiation was demonstrated by REIS and KLUGE (1936). Increased urinary excretion of uric acid was observed in dogs in the first 24 hours after total-body irradiation with doses of 150—500 R; at higher doses the excretion of xanthine was also increased (JACKSON and ENTENMAN 1956; quoted by HUG 1959).

*αα) Increased urinary excretion of taurine and other amino-acids, except BAIBA*

It is well known that after whole-body irradiation of rats and mice with doses in the region of 250—2,500 R, the urinary excretion of taurine is greatly increased during the first 48 hours and then falls rapidly (KAY, EARLY and ENTENMAN 1957; AEBI, LAUBER, SCHMIDLI and ZUPPINGER 1957; FLÜCKIGER 1958; MELCHING, MESSERSCHMIDT and STREFFER 1961; LANGENDORFF, MELCHING and STREFFER 1961a and b; MELCHING 1962, 1963). A small increase in the urinary taurine excretion was detectable in rats in the first 24 hours after a dose of 75 R to the whole body (KAY, EARLY and ENTENMAN 1957).

Amino-aciduria after total-body irradiation was described in the case of previously healthy people irradiated as a result of accidental nuclear reactions (HEMPELMANN, LISCO and HOFFMAN 1952; HASTERLIK and MARINELLI 1955). The former group commented on the high rate of excretion of 3 mg. of taurine per ml. of urine in the sample

passed by one case on the day before his death. Otherwise the greatest increase in excretion occurred with glycine. Increased excretion was also found with glutamic acid, aspartic acid, hydroxyproline, cystine and cysteic acid. Amino-aciduria started as early as 12 hours after exposure and was observed in cases receiving total doses of less than 100 rem. It was considered that there was no direct quantitative relationship between the irradiation level and the degree of amino-aciduria. At that time, the significance of increased urinary excretion of beta-aminoisobutyric acid (BAIBA) had not been appreciated (see below).

Similar increases in the urinary excretion of taurine were observed in rats following muscle necrosis induced by the drugs, Plasmocid (8,3-diethylaminopropylamino-6-methoxy-quinoline) dihydroiodide and Isoproterenol (Isopropylnoradrenaline) hydrochloride and by total-body Roentgen irradiation with a dose of 800 R. The excess taurinuria appears to be unrelated to altered renal function but is probably a non-specific manifestation of increased tissue catabolism (GOYER, YIN and BOWDEN 1964).

JAMMET *et al.* (1959) made an intensive study of six accidental cases of acute total-body irradiation which occurred in Yugoslavia. They described the hyperaminoaciduria, which involved, in addition to the amino acids mainly excreted in normal subjects, proline, phenylalanine, tryptophane, threonine and aspartic acid. They did not mention specifically taurine or BAIBA.

There have been further studies of the urinary excretion of taurine after irradiation in people exposed in another nuclear accident (ANDREWS *et al.* 1959). The taurine excretion was elevated on both the first and fourth day after exposure. "Taurine excretion is somewhat variable among normal individuals and is influenced by dietary intake. These are serious limitations if one desires to use the level of taurine as an indicator of the amount of irradiation to which the subject has been exposed."

In a patient with chronic lymphocytic leukaemia, local Roentgen irradiation of the splenic area with a dose of 50 R was followed by a ten-fold increase in urinary taurine excretion (and also a four-fold increase in the excretion of BAIBA) within the first 24 hours after exposure. Both free and combined taurine were increased similarly (BIGWOOD and SOUPART 1962).

A corresponding increase in free taurine in the blood plasma was observed after Roentgen irradiation of the liver area in a patient with Hodgkin's disease with a dose of 100 R. The level of free plasma taurine rose by about 50 per cent at 3 hours after exposure and then returned to normal after at least 7 hours (BIGWOOD and SOUPART 1962).

It is of great interest to note that SOUPART (1962, p. 285) emphasized that animal experiments in his department by Dr. ERIC SCHRAMM have clearly shown that the taurine excreted in excess after Roentgen irradiation preexists in the tissue cells and is not newly formed under the experimental conditions.

#### *ββ) Increased urinary excretion of beta-aminoisobutyric acid (BAIBA)*

A number of studies have been made in an attempt to utilize the increased urinary excretion of β-aminoisobutyric acid (BAIBA) observed in some cases after irradiation as a biological indicator of tissue damage and perhaps even as a dosimeter — after total-body irradiation especially at low dose levels. A sensitive method for the routine determination of BAIBA in urine has been described by SMITH and DYMOND (1963).

Studies using <sup>14</sup>C labelled thymine indicate that BAIBA is a product of thymine metabolism (FINK *et al.* 1952, 1956). It has also been found as a metabolite of thymidine, in the urine of a patient after intravenous injection of tritiated thymidine (GARTLER 1959). It was reported by AWAPARA (1957) that BAIBA excretion in normal individuals is an uncommon event; according to ANDREWS *et al.* (1959), some non-irradiated people habitually excrete 30 mg. or more of this substance daily. In man, thymine is probably the only significant source of BAIBA but the metabolic differences between "high" and

“low” excretors is still to be explained. The metabolism of BAIBA is considered to be under genetic control. GARTLER (1959) observed that both “genetically differentiated types” excreted BAIBA at the same rate if large amounts of precursors were administered, otherwise the low excretors eliminated less BAIBA for each molecule of precursor administered. It appears that the urinary excretion of BAIBA in any individual is constant in health and not affected by sex, age, variations in diet or normal exercise (GARTLER 1959, CRUMPLER, DENT, HARRIS and WESTALL 1951; FINK, HENDERSON and FINK 1951, HARRIS 1953; KILLMAN, RUBINI and CRONKITE 1961, SMITH and BATES 1963a and b).

Increased excretion of BAIBA following X-ray treatment or nitrogen mustard treatment in some leukaemic patients was first described by AWAPARA (1957). Increased excretion of BAIBA is reported after total-or partial-body irradiation of healthy human beings (RUBINI, CRONKITE, BOND and FLIEDNER 1959; ANDREWS *et al.* 1959; KRETCHMAR and PHIPPS 1960a) and patients suffering from leukaemia and various forms of cancer (KRETCHMAR and PHIPPS 1960b; SOUPART 1961; BIGWOOD and SOUPART 1962; SMITH and BATES 1963). On the other hand, GJESSING and WARREN (1961) observed no change or even a depression of the excretion of BAIBA in a series of cancer patients. KILLMAN *et al.* (1961) describe increased excretion of BAIBA in a case of chronic lymphatic leukaemia after nitrogen mustard therapy but not after irradiation of the spleen. Studies of a group of 8 people who were irradiated accidentally “in the course of an industrial operation involving uranium” showed increased excretion of BAIBA (RUBINI *et al.* 1959; ANDREWS *et al.* 1959). The levels of urinary excretion of BAIBA appeared to be related to the estimated doses received. It was found that increased BAIBA excretion occurred in one case on the third day after exposure to a total estimated dose of 57 rads, and in another case on the fourth day after exposure to an estimated dose of 68 rads.

Thymine is catabolized in the first instance by ring cleavage to BAIBA, which is subsequently transaminated, predominantly in the liver, to methylmalonic acid semi-aldehyde. This is degraded via succinic acid and the tricarboxylic acid cycle. Studies using [2-<sup>14</sup>C] thymine, [5-<sup>14</sup>C] thymine, sodium [1-<sup>14</sup>C] pyruvate and sodium [3-<sup>14</sup>C] pyruvate have shown fundamental changes in intermediary metabolism after Roentgen irradiation of rats in relation to controls. Measurements have been made of respired CO<sub>2</sub> and <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> and other <sup>14</sup>C labelled metabolites. It is concluded that the degradation of thymine is affected by radiation. However, the biochemical lesion occurs not in the catabolism of thymine to BAIBA but in the catabolism of BAIBA to carbon dioxide (BATES, SMITH and SMITH 1964; SMITH and BATES 1964 and 1965 — personal communication).

Changes in the level of excretion of BAIBA in the urine have been followed in 25 patients undergoing radiotherapy for various common types of cancer (SMITH; BATES and SMITH 1964). It is of great interest that only those in which the liver was not included in the region irradiated showed an increase in BAIBA excretion after irradiation and that there appeared to be no correlation in this group between the level of excretion of BAIBA and either the dose or the integral dose of radiation received. It was suggested that irradiation of liver tissue in man above a threshold dose causes a temporary inhibition of the conversion of thymine to BAIBA. SMITH and BATES (1963) express the view that “there is sufficient evidence from this investigation to conclude that changes in urinary BAIBA concentration are not a reliable index of accidental radiation exposure”.

#### *γγ) Increased urinary excretion of deoxycytidine*

Increased excretion of deoxycytidine in the urine of rats was found after total body irradiation. A definite increase in the excretion of deoxycytidine during the first 24 hours after irradiation was observed following a dose of 50 R; after 10 R, a small increase was still found, though this appears not to have been statistically significant (PAŘÍZEK *et al.* 1958, 1961). However, it must be pointed out that at high doses such as 750—1000 R,

excretion of deoxycytidine probably does not increase with increasing dose but may decrease in addition to being delayed. Further study of the excretion of deoxycytidine after irradiation appears to be highly desirable.

Dische-positive (deoxyribose-containing) substances in the urine were detected in experiments on male rats after total-body Roentgen irradiation with doses of 300 and 600 R and after intraperitoneal administration of 2.4  $\mu$ c of  $^{32}\text{P}$  (KASATKIN 1962).

In this connection, it is relevant to note that ORD and STOCKEN (1960) found that the total deoxyribose content of the regenerating rat liver increased after irradiation and reached the maximum value of 190 per cent of that of the controls at 18 hours after the partial hepatectomy when a dose of 2000 R was given 6 hours after the operation. Moreover, only about 10 per cent of the deoxyribose-containing substances were nucleotides and of particular interest, almost all the deoxyribonucleoside material present was *deoxycytidine*.

#### *δδ) Urinary deoxyribonucleases*

It may be useful to mention here that in human beings who were irradiated accidentally, no increase in the activity of DNAases in the urine could be detected after a dose of about 50 R, while in 5 men who received a dose estimated as equivalent to about 680 R, an increased activity of the acid DNAase was observed in every case in the specimens of urine collected during the first 6 hours after irradiation (JORANOVICH 1960, p. 102). On the other hand, a negative result has been reported for the case of an accidental exposure of the upper portion of the body of one individual to a dose of about 1000 R (ALTMAN 1960, p. 102).

#### *εε) End products of metabolism of 5-hydroxytryptamine*

Further consideration of the urinary excretion of the end products of the metabolism of 5-hydroxytryptamine (serotonin) after total-body irradiation appears to be desirable in the low dose region.

After total-body Roentgen irradiation of mice with a dose of 200 R, significant changes in the urinary excretion of kynurenic acid in relation to the values for controls were observed with reduction of the rate of excretion at one day after irradiation and increased excretion at about 4, 10 and 13 days after irradiation (MELCHING 1962, p. 208, 1963).

Studies of the influence of Roentgen and radium therapy on the urinary excretion of 5-hydroxyindolacetic acid in patients with various types of gynaecological malignancies showed great individual variation, with a tendency to reduction of the rate of excretion after irradiation. The mean values and standard deviation of the excretion rate of 5-hydroxy-indolacetic acid in mg. per day were before irradiation 4.2—7.5,  $\sigma = 0.36$  to 0.81, and during the radiation therapy 2.1—5.2,  $\sigma = 0.1$ —3.3 (BETTENDORFF, MOJE and SCHMERMUND 1962). There were considerable variations in the excretion rate during the day.

Increased excretion of 5-hydroxyindolacetic acid in the urine of rats was found after total-body irradiation, but a similar increase was also observed as a result of stress situations (MELCHING, ERNST and RÖSLER 1960). It is relevant to note here that BRINKMAN (1960, p. 179) has confirmed Bacq's observation of an increase in the excretion of 5-hydroxy-indolacetic acid (i.e., the conjugate with glycine) a few hours after irradiation.

In further experiments, MELCHING (1964) gives details of the excretion of xanthurenic acid in the urine of white mice after total-body Roentgen irradiation with a dose of 690 R (LD 83/30 days). The daily rate of urinary excretion of xanthurenic acid decreases below the control value to a minimum at about 24 hours after irradiation and then increases to reach a maximum value of rather more than twice that of the controls at about the 8th day after irradiation; subsequently it falls to reach the control level by the 12th—14th day. In this paper, a great deal of information is given about the biochemistry of the mammalian haemopoietic system after damage by irradiation.

From the biochemical point of view, mention must be made of the serotoninmediated oxidation of dihydronicotinamide derivatives by cytochrome c. Serotonin was found to be a powerful mediator of the non-enzymic reduction of cytochrome c by NADH<sub>2</sub> (ALIVISATOS and WILLIAMS-ASHMAN 1964). SMITH and BATES (1965) have investigated patients receiving radiotherapy and conclude that "the substance which we have found to be excreted in excess at an early stage in all patients so far studied is indoxyl-sulphate".

*ζζ) Decreased urinary excretion of 2-aminoethanol after irradiation*

A decrease in the urinary excretion of 2-aminoethanol in patients with advanced neoplastic diseases after total-body gamma-irradiation has been reported by CAVALIERI, VAN METRE and SIVERTSEN (1961). Among normal subjects and patients with various forms of cancer, the urinary excretion of aminoethanol, although variable, was never less than 10 mgm. a day. Following total-body irradiation, the urinary content of aminoethanol decreased to undetectable concentrations, that is, less than 0.4 μgm. per ml., in all six patients who were exposed to single doses in the range of 300—900 R. Aminoethanol virtually disappeared from the urine in tones individual on the fourth and fifth day following irradiation. The other cases exhibited this effect for varying periods ranging from one to six days during the first week post-irradiation. The effect was more prolonged following higher doses. In all six cases aminoethanol re-appeared in the urine by the twelfth day. In contrast, urinary aminoethanol was decreased but not absent following irradiation in one patient given 225 R with a single exposure and in each of four patients who received multiple 100 R exposures at two- to three-day intervals to a total dose of 500 R.

It is interesting to note that KRETCHMAR (1959) found that free serine disappeared from the urine of men who had been irradiated accidentally. On the other hand after localized therapeutic irradiation in patients, NAFTALIN (1961 — private communication) did not observe a loss of 2-aminoethanol or serine from the urine and in fact the excretion of serine increased during the second and third irradiations.

*ηη) "Corticoid-like substances"*

An increase in the urinary excretion of "corticoid-like substances" was observed after total-body irradiation with large doses in man (SCHWARTZ 1951; HEMPELMANN, LISCO and HOFFMAN 1952). Increased urinary excretion of 17-ketosteroids after total-body irradiation with large doses in animals has been discussed by HUG (1959, p. 616). After-total body irradiation with a dose of 100 R in mice, the course of urinary excretion of total corticoids and 17-ketosteroids was unchanged (WILHELM 1955). Nevertheless, it may be profitable to study this field further, since it is known that in man local irradiation of the adrenals with a dose of 50—60 R produces an increase in the level of 17-hydroxy-corticosteroids in the plasma after 2 hours (NOTTER and GEMZELL 1956; see p. 389).

*ν) Relevant electronmicroscopical studies observed after small doses of radiation*

Most investigations of the effects of radiation by means of electron microscopy have been concerned with relatively large doses (see p. 437). It may be suggested that often these studies have not been very rewarding from the biochemical point of view. However, a number of interesting results have been obtained after irradiation at low dose levels and not only in the case of highly radiosensitive cells.

Electron microscopic studies of the spleen, liver and kidney have been made in (presumably adult) mice at different times after total-body irradiation with a dose of 100 R of Roentgen rays (SCHERER and VOGELL 1958). In sections of the liver and kidney as well as of the spleen, changes were found in the mitochondria even at the shortest time of observation 1 hour after irradiation. As would be expected, the changes were

greatest in the spleen. In this organ, at 1 hour after 100 R, the mitochondria appear enlarged, coarse and partially permeated with small vacuoles, while the septal structure often stands out better than in the normal unirradiated preparations; some of the nuclei are already disintegrating and in the proximity of these there are no visible mitochondria. At 24 hours after 100 R the mitochondria in the spleen are few in number; those present are shapeless and ballooned, with sporadic vacuolisation. At 1 hour after the dose of 100 R, the mitochondria in the kidney, apparently in the cells of the proximal convoluted tubules, show a tendency to agglomeration and swelling, with the septa often appearing more clearly, and now and then very small vacuoles; the mitochondria in the liver cells show some clumping and juxtaposition to the nuclei but little change in structure at this time. At 24 hours after 100 R, the mitochondria in the liver are coarse and aggregated, with the structure partially destroyed. In the preparations of the liver and kidney studied at 1 hour after irradiation, there were minor changes in the nuclear structure and the nuclear membrane was somewhat thickened. Similar changes in the mitochondrial structure were reported by SCHERER and VOELKER (1960) in the ovary of the mouse after continuous irradiation at the rate of 1 R per day for 3 weeks.

In the highly radiosensitive follicle cells and to a somewhat lesser degree the oocytes of the mouse ovary, electron microscopical studies show changes not only in the cytoplasm but also in the nuclear membrane, nucleus and nucleolus as early as 1 hour after irradiation with a dose of 100 R. The changes are more pronounced at longer times such as 3—24 hours and after larger doses (JOSTES 1963); see also PARSONS (1962).

Of particular interest is the finding that even at 1 hour after 100 R, the nuclear membrane is starting to show the formation of vacuoles in the intermembranous space, which increase in size and become confluent with separation of the inner and outer layers of the nuclear membrane. Similar and much more advanced changes are reported by BRAUN (1963); (see HAGEN 1963, Fig. 10) in the nuclear membrane of lymphatic cells of the mouse thymus at 2 hours at total-body irradiation. Under these conditions, vacuoles similar to those seen in the endoplasmatic reticulum arise within the substance of the nuclear membrane and become confluent, lifting the external membrane from the inner membrane, so that finally the nuclear membrane is split completely and the nucleus becomes separated from the cytoplasm.

In the radiosensitive cells of the mouse ovary even at 3 hours after 100 R, JOSTES (1963) found changes in the nucleolus and aggregation of chromatin especially in the neighbourhood of the nuclear membrane. In the cytoplasm, the mitochondria become swollen and the interseptal spaces of the mitochondria become dilated and form vacuoles. The ergastoplasm shows pronounced dilation and mucopolysaccharide material starts to accumulate in the cytoplasm.

It is likely that in future electron microscopy will be able to make a major contribution to these problems as a result of the development of techniques to examine hydrated materials (FERNANDEZ-MORAN 1961). Electron-microscopic observations have been made of deoxyribonucleic acid (DNA) molecules under conditions approaching the native hydrated state by sandwiching a thin layer of DNA solution between impermeable ultrathin films in microchambers of special design and by using microbeam illumination of very low intensity (FERNANDEZ-MORAN 1960). In T2 bacteriophage DNA preparations thin fibrils about 30 to 40  $\mu$  long were seen formed by unit filaments of 20 A diameter in ordered lateral aggregation with indications of axial discontinuities of approximately 30 A. Oriented DNA fibres have also been mounted in vacuum-tight microchambers at controlled relative humidity in a form suitable for electron-diffraction studies. Irradiation with electron beams of higher intensity produces characteristic fragmentation of the filaments in wet DNA preparations, differing from the relatively stable appearance of the strands in dried specimens.

*ξ) Certain physiological and biophysical changes of biochemical interest observed after irradiation with small doses*

*αα) Effects of small doses of radiation on the nervous system*

It may be useful to refer here to the results of many experiments carried out in recent years, chiefly by Russian scientists. "The results of experimental work show that the functional condition of all parts of the central nervous system undergoes a change even when irradiation is administered in small doses. The success achieved in this field is due to a wide use of Pavlov's method of conditioned reflexes and of electro-physiological techniques" (LEBEDINSKY 1958). "The change in the motor reflex brought about the daily exposure of the animal to external radiation with 0.05 R has been described by KUDRITSKY. Total-body Roentgen radiation with 10 R was found to cause marked changes in the reflex time. In Lebedinsky's laboratory the study of vegetative reactions was made by recording the electrical potentials of the cat's paw pad sudoriferous glands or electrical stimulation of the hypothalamic area. The results show that total-body Roentgen-irradiation with 50 R causes phase changes in the excitability of the corresponding centres" (LEBEDINSKY, GRIGORYEV and DEMIRCHOGLYAN 1958).

It appears that many effects of this type can be produced not only by localized irradiation of the head but also by irradiation of the whole body or the stomach (see GARCIA and KIMELDORF 1960; HALEY 1962) and may, therefore, arise indirectly from changes in other systems. Moreover, consistent specific effects have not yet been shown in more simple reflex processes with doses of a few hundred R (PROSSER et al. 1947; SATO *et al.* 1962; LETT 1962). Of interest is evidence from experiments in which rats were exposed while asleep to total-body Roentgen irradiation (HUNT and KIMELDORF 1962). A transitory behavioural arousal was exhibited within 12 seconds at an exposure rate of 0.25 R per second. At a higher dose rate of 1.9 R per second, this initial reaction increased in scope and by 30 seconds included subcortical activation as well, as indicated by an increase in heart rate.

In a number of studies, it has been shown that Roentgen rays act as a motivating stimulus. Rats exposed to Roentgen or gamma rays simultaneously with (or shortly after) the presentation of saccharin solution avoid the saccharin on post-irradiation preference tests (GARCIA, KIMELDORF and HUNT 1961). This aversion has been demonstrated with whole-body doses as low as 10 R of gamma radiation and over a wide range of dose rates. The conditioned aversion to saccharin does not depend on vision (GARCIA and KIMELDORF 1958). It is to be noted that the abdomen was the most sensitive region of the body for irradiation to produce the conditioned aversion (GARCIA and KIMELDORF 1960). However, the conditioned aversion to saccharin by using Roentgen ray doses of 50—300 R, again in rats, was not influenced by subcutaneous injections of atropine (SMITH and MORRIS 1963). This finding is in contrast with the inhibiting effect of atropine on the increased mobility of the jejunum, which normally results from irradiation in the low dose region (CONARD 1951).

Of great interest is the finding that the audiogenic seizure response appears to be remarkably radiosensitive in DBA mice and in hybrid generations derived from crossing DBA with C 57 mice (MILLER 1960). A striking increase in susceptibility to audiogenic seizures has been observed following exposure to very low doses of ionizing radiation. In these mice, which are tested for sound sensitivity at 30 days of age, chronic exposure to gamma radiation from birth throughout the 30 days, at a total dosage of 0.14 R, caused a significant increase in seizure susceptibility. In mice exposed to <sup>60</sup>Co gamma radiation between days 23 and 30, a dosage of 350 mrad per day (total, 1.5—2 rad) resulted in heightened susceptibility. In DBA/2 mice, the effect of glutamic acid in protecting them from seizures was found to be abolished when the animals were maintained in an environment of 4.8 mrad per day (5—10 times background).

Details of an investigation of audiogenic seizure prone mice and rats as indicators of low intensity chronic gamma irradiation effects have been published in a Thesis (COOK 1963). Following the administration of 20 R of chronic gamma irradiation delivered to the animals during the first 10 days of gestation there was an increase in the frequency of full seizures in the F<sub>1</sub> animals. It appears that the adult animals are much less radio-sensitive. However, some important changes in the frequency of audiogenic seizure were noted when adult non-seizure-prone rats of the same Wistar strain were irradiated at a low level of chronic gamma irradiation. There is evidence for an all-or-none involvement of the nervous system.

Reference has been made above (paragraph 1, p. 395) to the participation of hypothalamic nerve centres in the depletion of the ascorbic acid content of the adrenal gland after total-body irradiation of the rat, even with a dose of 50 R. As BACQ (1960, p. 45) pointed out "We must get accustomed to the idea that rapid changes in the central nervous system may be responsible for many facts observed in mammals soon after irradiation."

"GRIGORYEV (1954, 1956) using electro-encephalography has studied the functional state of the human cortex during irradiation of the head and abdomen for therapeutic purposes. Radio-cobalt gamma irradiation of the temporal cortex area (dose rate 7.6 R/min) led to a definite depression of brain bioelectric currents. As a rule, the depression was preceded by a period of increased bioelectrical activity with rhythm changes in recorded oscillation. It is important to note that increase of bioelectrical currents was observed as early as 30—120 seconds after the start of irradiation, i.e. after a total dose amounting to 3—4 R. During irradiation of the lower abdomen, definite reflex changes in the functional state of the cerebral cortex were observed . . . Frequently changes have occurred in the course of the first few seconds of irradiation, at a dose amounting to about 1 R." Changes in the electroencephalogram in rabbits were observed during the first 10 seconds of irradiation after doses as small as 0.05 R (LEBEDINSKY 1958, GRIGORYEV and DEMIRCHOGLYAN 1958).

There appears to have been little similar work with small doses of radiation reported outside the U.S.S.R. On the other hand there are a number of studies of the effects of large doses of radiation on the brain, e.g., CLEMENTE *et al.* (1958) describe EEG records showing characteristic changes, taken from an adult monkey after irradiation with a dose of 3000 R to the head. However, SAMS and ADAMS (1962) of the University of California report the observation of changes in the electro-encephalogram in dogs using surgically-implanted deep co-axial electrodes with doses "at least as low as 1 rad. Another group of workers in California, GARCIA *et al.* (1963) have described immediate effects of small doses of Roentgen radiation on the electro-encephalogram in rats, using surgically implanted cortical electrodes. Roentgen irradiation at the rate of 0.2 R per second produced an arousal effect resembling that which occurs as a result of stimulation through peripheral receptor systems. At the dose rate of 0.2 R per second the EEG was desynchronised within 1 second and the rats awoke.

It is clear that further investigation of this subject is desirable especially from the biochemical point of view.

#### *ββ) Effects on visual function*

The effects of low doses of ionizing radiation on visual function are of great interest especially in relation to the biochemical basis of radiation action. The subject has been reviewed by LIPETZ (1960). Many of the phenomena are highly radiosensitive. For example, the threshold dose of 65 kV roentgen radiation for discharge of a single neuron of the optic nerve of the frog found to be 156 millirads  $\pm$  35 per cent (LIPETZ 1953, 1955); an increased difference in the thresholds for the appearance and disappearance of the electric phosgene (i.e. light sensation produced by the passage of an electric current through the retina) in man was found after doses as small as 0.1 to 0.4 R (UMETSU 1956; MOTOKAWA *et al.* 1956). THIER (1933) observed a reduction of the action current in the electroretinogram of the frog after a dose of radiation estimated at about 4 rep of beta-rays and 0.6 rep of gamma-rays (LIPETZ 1960). Further studies of the electroretinogram

in response to Roentgen irradiation in the frog have been reported by BACHOFER and WITTRY (1962).

*γγ) Reflex-like responses of lower animals to ionizing radiation*

Numerous species of snails react to irradiation by retracting their feelers and many other creatures appear to show comparable reflex-like responses (HUG 1958, 1960, p. 217; HUG and SCHLIEPP 1961). In the case of snails a minimum dose rate, often in the region of 1.5—5 R per sec., is necessary to evoke the reaction concerned. The latency time from the start of irradiation to the beginning of the reflex action at threshold dose rate is 5—15 seconds. Many similar phenomena are now recorded. For example, numbers of species of moths have been found to show motor responses on exposure to low-intensity Roentgen irradiation. Wing beat activity could be initiated in resting moths or its amplitude augmented in active moths by roentgen-ray dose rates of 0.01 to 1.5 R per second, with a latent period of less than 1 second after the onset of exposure (SMITH, KIMELDORF and HUNT 1963).

Nerve-muscle preparations of the leech (*Hirudo med. L.*) and of the earthworm and isolated muscles of the leech have proved to be very sensitive to Roentgen rays (HUG and SCHLIEPP 1961). The lowest effective dose-rate was found to be about 100 R per min in the nerve-muscle preparations of the earthworm; 15 seconds of irradiation proved to be sufficient to elicit the effects so that the minimum necessary dose was about 25 R. These observations are in striking contrast to the well known radioresistance of mammalian peripheral nerves and striated muscles (ALLEN and NICHOLLS 1963, BERGEDER 1958, BERGEDER and HOCKWIN 1960) but appear to be comparable to the almost immediate increase in tone and mobility of the smooth muscle of the mammalian small intestine observed after irradiation with small doses (CONARD 1951, 1957, 1960, p. 224; NOVAK 1957).

*δδ) Effects of small doses of radiation on an electrical potential difference in the onion root*

An irradiation effect on a spontaneous rhythmical potential difference between the root tip and any reference point on the root in the onion (*Allium cepa*) was observed after small doses. The effect depends on the presence of oxygen. An immediate temporary inhibition of the potential was found after 2 R. A dose of about 12 R inhibited the potential change for a full period of 10—30 minutes. Under anoxia, the effect is not observed at these doses (HELDE 1954).

*εε) Inhibition of salivary secretion*

Since the early days of radiotherapy, it has been recognized that small doses of radiation can produce temporary inhibition of salivary secretion and the larger doses used in the radical radiotherapy of tumours of the region of the mouth, face and parotid gland almost invariably result in permanent suppression of salivation. Temporary dryness of the mouth has been observed within a few hours after irradiation of the parotid area with a dose as small as 50 R. Sometimes small doses of radiation produce an acute swelling of the parotid and submaxillary salivary glands. When it first returns after temporary inhibition by radiation, the salivary secretion is usually scanty and thick and tenacious. For larger doses, quantitative evidence is given by WINTZ (1931, in LAZARUS, Volume II, p. 130); after a single irradiation with 70 per cent HED (which is approximately 385 R — see KÜSTNER 1927), there is a cessation of function but this is only temporary and the salivary glands begin to function again at 6—8 months after the irradiation. Although physiological and histological studies have been made for many years (BERGONIÉ and SPEDER 1911; IVY *et al.* 1923; BRANCOVICI 1928; DESJARDINS 1928; LACASSAGNE and GRICOUROFF 1941; BLOOM and BLOOM 1954, in HOLLAENDER, Part II, p. 1127; SCHAFER 1952, 1953; ENGLISH 1955; CHERRY and GLÜCKSMANN 1959). Far too little is still known about the mechanism of temporary inhibition of salivary secretion after irradiation.

*ζζ) Effects on mast cells*

Studies were made of the number of mast cells in the mesentery of the rat and of the influence of total-body irradiation with a range of doses (CONTE, MELVILLE and UPTON 1956). "After 75 R of whole-body X-radiation, a transient (small but statistically significant) increase during the first 24 hours, followed by a slight decrease, in number of mast cells was observed. After larger doses of radiation (150—600 R), the mast cells were not seen to increase but only to decrease in number during the first 2 weeks after exposure." It appears that many years ago somewhat similar changes were described in the skin of the rat by BIERICH (1922), though these observations were not confirmed by DUSCHRITZ (1924). In recent years, an increase in mast cells has been found in mice chronically exposed to low levels of ionizing radiation (SPARGO *et al.* 1951).

*σ) Some relevant highly radiosensitive physical and physico-chemical changes**αα) Changes in the ζ-potential of colloids after irradiation at low dose levels*

Characteristic changes in the ζ-potential of colloidal graphite particles suspended in water were observed after irradiation at low dose levels (CROWTHER and LIEBMANN 1937, 1939; CROWTHER, LIEBMANN and JONES 1938, 1939, 1940). The ζ-potential was deduced from measurements of the electrophoretic velocity of the suspended particles. A significant increase in the negative ζ-potential was produced by a dose of 25 R. However, the most remarkable feature of these experiments is that the effect varied with increasing dose in a periodic fashion. The first maximum corresponding to an increase of ζ-potential of  $7.0 \pm 0.6$  per cent was produced by a dose of 25 R; the first minimum of value  $-6.0 \pm 0.5$  per cent occurred at 85 R and the second maximum of value  $+ (9.6 \pm 1.1)$  per cent occurred at 143 R. The oscillations persisted with undiminished amplitude but increasing "wavelength" up to doses of 25,000 R. Similar effects were produced by both Roentgen and γ-rays. It is interesting to note that the effects of irradiation are permanent or at least of very long duration; the particles retain the altered mobility unchanged for weeks and probably longer. GRAY, READ and LIEBMANN (1941) carried out similar experiments with colloidal graphite and compared the relative effectiveness of radium γ-rays and fast (D-D) neutrons in producing the changes of ζ-potential. The preparation of colloidal graphite used was considerably more radiosensitive than that of CROWTHER and LIEBMANN (1937). With γ-rays, the first maximum was observed with a dose of 2.3 R, the first minimum with 7.6 R and the second maximum with 14.5 R. With the D-D neutrons, the corresponding values in energy units were 0.34 for the first maximum, 0.80 for the first minimum and 1.90 for the second maximum. For this effect, on the basis of energy absorption, the fast neutrons were about 8 times as effective as the γ-rays. It is of great interest that for this colloid-physical change, the relative efficiency of the fast neutrons and γ-radiation is in the same region as that found for many biological changes especially killing of cells and of animals and the production of chromosome aberrations (c.f. BORA 1958; NEARY, MUNSON and MOLE 1957).

Similar phenomena were observed in the case of colloidal gold (GRAY 1960, p. 215). Moreover, it was found that if the colloids were initially near the point of instability, complete precipitation could be caused by doses as small as 5 R.

These remarkable changes in the ζ-potential of particles, suspended in aqueous media after small doses of gamma-radiation, have been studied recently by Dr. J. N. MEHRISHI of my Department, not only for graphite but also for particles of approximately 2 μ diameter of a number of organic compounds including noctadecylamine and mono-cetylphosphate. At pH 7 the ζ-potential of the former substance increased from the control value of 57.6 mV to 64.9 mV after a dose of 6.5 R, while for the latter substance the ζ-potential decreased from the control value of 83.0 mV to 71.0 mV after a dose of 39 R. With n-octadecylamine particles, addition of approximately 10<sup>-3</sup> M. cysteine to

the medium resulted in a large reduction of the change in  $\zeta$ -potential produced by a dose of 20 R.

These phenomena constitute the most radiosensitive physico-chemical effect so far observed. As yet, their origin has not been explained. It is evident that further work on this subject is highly desirable.

*$\beta\beta$ ) Some other studies of the effects of radiation on colloids*

It may be of interest to recall that the earlier literature contains many studies of the effects of radiation on colloids (e.g. KARCZAG 1928, in LAZARUS, Volume I, p. 411; COLWELL 1935, p. 22). Since the investigations of HENRI and MAYER (1904), it has been recognized that in general positively charged colloids are much more sensitive to flocculation and precipitation as a result of irradiation with Roentgen, gamma and beta-rays than negatively charged colloids. However, the results reported were not always in agreement with one another. Some e.g., HOPWOOD and PHILLIPS (1935), found that radiations decreased the stability of positively charged colloids but rendered negatively charged sols more stable. Others e.g. ANNETTS (1935) found that both positively and negatively charged sols were rendered less stable by radiations. Almost all the early work was carried out with very large doses of radiation and much of it has been forgotten.

However, mention must be made of one of the earlier investigations, the result of which is still of interest. By the use of the ultramicroscope with particle counts, WELS and THIELE (1925) observed the formation of aggregates in globulin sols after relatively small doses of Roentgen radiation well within the limits of those used in radiotherapy and even after a dose which was almost certainly in the region of 100—150 R.

*$\gamma\gamma$ ) Electron spin resonance studies*

Characteristic changes in the electron spin resonance (ESR) spectrum of cysteine hydrochloride were observed after Roentgen irradiation of the purified compound in powder form *in vacuo* with small doses, including 100 R (KOCH and MARKAU 1961). The same spectrum was shown after 100 R as was observed with greater intensity after 300 R. The apparatus used was highly sensitive. However, the limit of detection of the characteristic changes after irradiation of cysteine hydrochloride was set at about 100 R by the presence of traces of heavy metals and the formation of free radicals by the action of light, autoxidation, etc., rather than by the sensitivity of the apparatus. Studies at much higher doses in the region of  $10^5$  R showed that the ESR — signals produced in cysteine were identical for irradiation with Roentgen rays and ultraviolet radiation (SHIELDS and GORDY 1958; KOCH, FRÄNZ and MARKAU 1962).

The findings in the case of cysteine hydrochloride after irradiation with the small dose of 100 R (KOCH and MARKAU 1961) are exceptional. There are extensive studies by means of ESR-spectrography showing the production by large doses of radiation, often in the region of Megarads, of long-lived paramagnetic centres (free radicals) in biologically important compounds, mainly amino acids, proteins and nucleic acids in the dry state (see GORDY, ARD and SHIELDS 1955; EHRENBERG and ZIMMER 1956; EHRENBERG, EHRENBERG and ZIMMER 1957; BLUMENFIELD and KALMANSON 1958; RANDOLF and PARISH 1958; KIRBY-SMITH and RANDOLF 1959; BOAG and MÜLLER 1959; MÜLLER and ZIMMER 1959; ZIMMER 1960; HENRIKSEN and PIHL 1961; PRYDZ and HENRIKSEN 1961; MÜLLER 1962; KÖHNLEIN and MÜLLER 1962; DORLET, VAN DE VORST and BERTINCHAMPS 1962). Long lived free radicals were demonstrated in barley seeds by ZIMMER, EHRENBERG and EHRENBERG (1957) using doses of 50—200 kR. Further experiments on barley seeds, barley embryos and wheat embryos were reported by CONGER and RANDOLPH (1959); exposures of 100—600 kR were commonly used but changes were detectable in the seed embryos with doses of 5000 R (CONGER 1960, p. 11). It appears that most of the radical signal seen in whole wheat embryos (wheat germ) could arise from proteins,

with the major part of it originating in the water-soluble protein-nucleic acid fractions. The production and decay of radicals were influenced by the environmental conditions of irradiation and storage; decay was greatly enhanced and more rapid in the presence of moisture and greater in the presence of oxygen than in nitrogen. In experiments on four lines of maize seeds SINGH *et al.* (1962) found no clear correlation between radiosensitivity and the amount of induced free radicals after irradiation of seeds differing in oil content; however, it appeared that the characteristic signal observed was due to the presence of a black pigment in the seed coat.

An electron-spin-resonance (ESR) spectrometer for use while irradiating wet biological systems has been described by COOK and STOODLEY (1963). A critical analysis of recent applications of the ESR method to radiation biology has been published by ZIMMER and MÜLLER (1965).

Reference has been made previously (p. 365) to the radiosensitizing action of 5-bromo- and 5-iodo-deoxyuridine. In this connection, it is interesting to note that MÜLLER, KÖHNLEIN and ZIMMER (1963) using ESR spectrometry, showed that the formation of a free radical by ionizing radiation requires 1200 eV for thymine but only 150 eV for 5-bromouracil.

## **2. The role of DNA in the effects of ionizing radiations on the metabolism of normal tissues and malignant tumours**

The detailed consideration of the numerous highly radiosensitive biochemical changes produced in normal tissues and malignant tumors by ionizing radiations provides evidence which places emphasis on far-reaching disturbances of the biological functions and metabolism of DNA and RNA in relation to the macromolecular structure of the cell nucleus, including the nucleoli and the nuclear membrane. At the same time, there appear to be many other important biochemical effects of radiation including disturbances of the macromolecular structure of mucopolysaccharides in the matrix of connective tissues and disturbances of the metabolism of tryptophane. Account must be taken of the role of chemical mediators and of the effects of radiation on the nervous system and from a somewhat different point of view on the mammalian small intestine. It is clear that many biochemical changes reflect metabolic disturbances in dying irradiated cells, but it is important to try to distinguish between causes and effects of cell death. It is necessary to study and emphasize differences in the biochemical responses to irradiation between proliferating normal and malignant cells and between radiosensitive and radioresistant cells and tissues.

### **a) Effects of radiation on the division cycle of proliferating cells and on the metabolism of DNA**

It appears to be generally accepted that the relatively high doses of radiation necessary to achieve permanent healing of malignant tumours produce inhibition of the formation of new DNA. While in some circumstances inhibition of synthesis of DNA is a primary effect of irradiation, it is now recognized that in many cases it is secondary to more radiosensitive biological processes, of which by the most important is mitotic inhibition.

There are very wide differences between tissues in the effects of irradiation upon the DNA metabolism (cf. KELLY, HIRSCH, BEACH and PAYNE 1955). Most of the earlier experiments dealt with populations of cells including all stages of mitosis. From evidence obtained mainly by autoradiographic studies on single cells (HOWARD and PELC 1953; HOWARD 1956) and by experiments on regenerative hyperplasia of the rat liver after necrosis induced by carbon tetrachloride (KELLY, HIRSCH, BEACH and PALMER 1957) it became clear that under some conditions interruption of the biosynthesis of DNA is a secondary consequence of mitotic inhibition.

During the amitotic period for some hours after a single moderate dose of Roentgen rays — as studied in the cells of the Ehrlich ascites tumour after 1250 R (KLEIN and FORSSBERG 1954; FORSSBERG and KLEIN 1954) and in the Yoshida ascites tumour after 1000 R (GARDELLA and LICHTLER 1955) — the formation of new DNA is inhibited and the content of DNA per cell remains substantially unchanged or shows only a very slight increase; at the same time there is more or less normal progressive and roughly proportional increase in the mean cell volume and content of ribonucleic acid, nitrogen and water. The persistence of synthesis of RNA and of cytoplasmic protein synthesis in some cases outside physiological limits in association with permanent or prolonged inhibition of synthesis of DNA appears to provide a plausible biochemical basis for the cell enlargement and induced cytoplasmic differentiation observed histologically in some human malignant tumours after therapeutic irradiation.

In experimental studies of the incorporation of  $^{32}\text{P}$  into irradiated Ehrlich ascites tumour cells, KELLY, HIRSCH, BEACH and PETRAKIS (1957) showed that after total-body irradiation of the mouse with a dose of 800 R, the tumour cells continue to synthesize DNA until they reach the premitotic DNA content and are arrested there apparently because of inability to go through mitosis. In other important experiments, CASPERSSON, KLEIN and RINGERTZ (1958) have studied effects of a single dose of 1250 R of Roentgen rays *in vivo* on the cells of three lines of Ehrlich ascites tumour, of which one was diploid and the other two tetraploid. The irradiation caused a considerable increase in the mean dry mass per cell, average cell volume, and extinction per cell at 2650 Å, while the increase in DNA content per cell was much less. It was found that the cells which contained the double DNA content when they were irradiated were unable to synthesize more DNA, but that those cells which have not yet begun or just started their synthesis of DNA are able to reach the double DNA value. These authors note that similar effects on DNA synthesis have been described by FIRKET, CHÈVREMONT-COMPAIRE and CHÈVREMONT (1955) in studies of the action of ribonuclease on chick fibroblasts *in vitro*. WHITFIELD and RIXON (1959) examined the effects of Roentgen irradiation on cell multiplication and nucleic acid synthesis in cultures of L-strain mouse cells. It was concluded that DNA synthesis is relatively insensitive to irradiation. "The principal effect of radiation is inhibition, or slowing, of cell division. In the absence of cell division DNA synthesis proceeds until the content per cell is doubled and then stops. At very high doses (4000 R) immediate but temporary inhibition occurs in addition to later inhibition by attainment of the double or premitotic DNA content per cell." The evidence suggested that under the experimental conditions, cell multiplication was about twice as radiosensitive as the synthesis of DNA and of RNA. DNA synthesis was slightly less sensitive than RNA synthesis to doses of up to 600 R but slightly more sensitive between 600 R and 2000 R. In a clonally isolated sub-line of Earle's L cells, termed sub-line 60, WHITMORE, STANNERS, TILL *et al.* (1961) have examined the relationships between nucleic acid synthesis, including study of the uptake of tritiated thymidine into the cell nucleus, and the division cycle in its various stages after irradiation of the cells in culture. Immediately following irradiation with doses of 2000 R and 5000 R, the rates of synthesis of DNA and RNA are essentially unchanged. The radiation effects observed subsequently, appear to be the direct consequence of a temporary interruption of the flow of cells around the mitotic cycle caused by a radiation induced block immediately prior to mitosis. It is to be noted that the cells studied are relatively radioresistant; in the survival studies of the ability of the irradiated L-cells to form macroscopic colonies as a function of radiation dose, the value of D37 was found to be 240 rads. Interesting results have been obtained in the biochemical study of giant cells formed after irradiation. In HeLa cells irradiated with 1400 rep for maximum giant cell formation, SHEEK *et al.* (1960) found that the uptake of thymidine- $^{14}\text{C}$  into DNA continued at essentially normal rates for ten days after recovery from irradiation and then declined. The rate of incorporation of glutamic acid- $^{14}\text{C}$  reached a level greater than that in the control cells on a per cell basis and

Table 7. Approximate average duration of phases of division cycle deduced from autoradiographic studies (times in hours)

Cells examined	G <sub>1</sub> First interval post-mitotic phase before synthesis of DNA	S Synthetic phase: period of DNA synthesis	G <sub>2</sub> Second interval pre-mitotic non-synthetic phase	M Stage of visible mitosis	T Total time of cycle: mean doubling time	Metabolite used for labelling	Reference
Bean root meristem	12	6	8	4	30	<sup>32</sup> P as inorganic phosphate	HOWARD and PELC 1953
( <i>Vicia faba</i> )	2 — at least 10	4	8	2	24—30	Tritiated thymidine	HOWARD and DEWEY 1960
<i>Tradescantia</i> root tip meristem		10.8	2.7			Tritiated thymidine	WIMBER 1960
Human bone marrow in culture	25—30	12—15	3—4	1 1/3	40—45	<sup>32</sup> P or adenine-8- <sup>14</sup> C	LATHA, OLIVER and ELLIS 1954
Ehrlich ascites tumour of the mouse:	0	12	6	1/2	Ca. 18	Adenine-8- <sup>14</sup> C	HORNSEY and HOWARD 1956; HOWARD 1956
3-day old tumour	(Very short)				18	Tritiated thymidine	EDWARDS, KOCH, YONGIS et al. 1960
4-day old tumour					18	Tritiated thymidine	BASERGA 1963
10-day old tumour					17—19.4	Tritiated thymidine	OELLERT, LAUF and SEE-MAYER 1962
During the first 24 hours after intraperitoneal transplantation	Possibly 1/2 (30 mins.)	11	6	Ca. 1/2 (30 mins.)	18	Tritiated thymidine and <sup>14</sup> C-2-thymidine	BASERGA and GOLD 1963
Intestinal crypt cells of the mouse (proliferating cells)	Ca. 9 1/2.	Ca. 7 1/2 (± 1 1/2—2)	1 1/2	1/2	Ca. 19	<sup>32</sup> P or tritiated thymidine	QUASTLER and SHERMAN 1959
Crypt epithelium of jejunum, ileum and colon of the mouse		7—8	2/3 (40 mins.)			Tritiated thymidine	KOBURG and MAURER 1962, 1963
Hair growth of the mouse — at maximum growth	Ca. 4	Ca. 6	Ca. 1	Ca. 1	Ca. 12	Tritiated thymidine	CATTANEO, QUASTLER and SHERMAN 1960
Human carcinoma HeLa S 3 cells	Ca. 14	5—6	2—8	Ca. 1	Ca. 25	Tritiated thymidine	PAINTER and DREW 1959
L-strain mouse cells in culture	9—11	6—7	2—4	Ca. 1	Ca. 20	Tritiated thymidine	STANNES and TILL 1960; WHITMORE et al. 1961

	Ca. 12—72	9—13	1—4	(1 <sup>1</sup> / <sub>3</sub> )	Ca. 24—84	Tritiated thymidine	
Spontaneous mammary carcinoma of C3H mouse, growing <i>in vivo</i>			1—4		Ca. 24—84	Tritiated thymidine	MENDELSON, DOHAN and MOORE 1960
Chinese hamster "fibroblasts" of cell line CHEF-125	4	8.5	4	Ca. 1	17.5	Tritiated thymidine	PRESCOTT and BENDER 1963
L-P59 strain mouse cells in culture	9.1	9.9	3.0 (G <sub>2</sub> +M)		22	Tritiated thymidine	DEWEY and HUMPHREY 1962, 1963
HeLa cells in culture Random culture	8.0	9.5	3.0	0.7	21.2	Tritiated thymidine	TERASIMA and TOLMACH 1963 (with corrections)
Synchronous cultures	9.4	9.4	5.0 (G <sub>2</sub> +M)		23.8	Tritiated thymidine	
	9.2	9.2	3.5 (G <sub>2</sub> +M)		21.9		

protein synthesis extended for some days beyond the capacity for DNA synthesis. NIAS and PAUL (1961) studied the DNA content of giant cells produced by irradiation of strain L mouse fibroblasts. They noted after irradiation the apparent escape of a small proportion of cells, depending on the dose of radiation, the death of many cells after the population has approximately doubled and the ability of a few cells to form enormous giant cells. Cessation of DNA synthesis did not occur at the premitotic level and the surviving cells continued to synthesize DNA; the values of the DNA content were distributed over a wide range, from the normal post-mitotic level to amounts about 30 times greater. It was considered that the findings indicate that the long-term effects of irradiation on cultured cells are of a random nature.

There is some relevant information for other organisms. In *Habrobracon*, VON BORSTEL (1955) and ATWOOD, VAN BORSTEL and WHITING (1956) described one type of dominant lethal which appears to represent a defect of DNA synthesis. It occurs after irradiation of oocytes in either prophase or metaphase and also after irradiation of sperm. Mitosis ceases only after six or seven divisions and at this time the nuclei are anomalously Feulgen negative. They subsequently enlarge up to 200 times their normal volume. It is to be noted, however, that heated calf thymus DNA, which is active as primer for DNA synthesis, is negative in the Feulgen staining procedure (see BOLLUM 1960, p. 65).

It is now generally accepted that the new DNA, which is necessary for cell division, has been synthesized before the onset of mitosis. In proliferating cells of many types there is an apparent pause, often long and of variable duration though it can be absent after the nuclear reconstruction at telophase; then DNA synthesis restarts and continues for some hours, after which there is a second usually shorter pause before the onset of visible mitosis. In all plant and animal cells so far studied, a definite interval of time occurs between the termination of DNA synthesis and the commencement of microscopically visible mitotic division (QUASTLER 1962). The first interval or gap, the postmitotic phase before synthesis of DNA starts is usually described as G<sub>1</sub>, following the nomenclature of the pioneer work of HOWARD and PELC (1953). It is also described as R<sub>1</sub>, the first resting phase (QUASTLER 1962) or in German, erste Ruhephase (HAGEN 1963). This is followed by the period of DNA synthesis, usually termed the synthetic phase, S; then there is the second interval, G<sub>2</sub>, or R<sub>2</sub>, the premitotic non-synthetic phase when there is no further synthesis of DNA. The estimated length of G<sub>2</sub> depends on the criteria used for the identification of the beginning of prophase. It is important to note that G<sub>2</sub>

includes the preprophase stage of mitotic inhibition during which many cells are extremely sensitive to radiation. The results of a number of experiments to determine the approximate average duration of these phases are summarized in Table 7. It must be emphasized that these values are approximate and refer to the particular experimental conditions. Many of the differences observed in the generation times are due to differences in the duration of the first interval  $G_1$  (QUASTLER 1960; DEVIK 1962). In the studies of the spontaneous mammary carcinoma of the mouse (MENDELSON, DOHAN and MOORE 1960) the differences in the intermitotic time in different tumours appeared to be due largely to differences in the duration of the first interval,  $G_1$ ; it is to be noted that there is a "sizeable fraction" of non-dividing tumour cells. It was later estimated that only about 40 per cent of the tumour cells were actively involved in the mitotic cycle at any one time (MENDELSON 1962). The proportion of actively proliferating cells in human tumours probably varies greatly with different tumours quite apart from differences in the mean time of the division cycle (see KISIELSKI, BASERGA and LISCO 1961; EVENSEN and IVERSEN 1962).

These considerations are complicated by the finding that differences in the rate of DNA synthesis occur in different chromosomes. In the normal human chromosome complement, homologous autosomal chromosomes show no statistical difference in their time of DNA synthesis, but the X chromosome pair in the female behaves differently (GILBERT, MULDAL, LAJTHA and ROWLEY 1962). One of the two X chromosomes termed the "hot" X, is strikingly out of step in DNA synthesis compared with its homologue and is easily recognized as the chromosome most heavily labelled in the complement when cells are supplied with tritiated thymidine at the end of the S phase. The synthetic activity shows no significant differences over the whole length of the "hot" X; the whole chromosome appears to synthesise later than the other X, and at a faster rate than any of the other chromosomes (see also PRESCOTT and BENDER 1963). Turning to malignant tumours, evidence was obtained in synchronized cultures of HeLa cells for non-random and focalized synthesis of DNA among both the various chromosomes of a single nucleus and the individual segments of a particular chromosome [(STUBBLEFIELD and MUELLER (1962)]. It is suggested that the reproducible patterns of DNA with early and late labelling, using tritiated thymidine, reflects the existence of two different states of association of DNA with some other chromosomal constituent. It had previously been shown that in these HeLa cells in synchronized cultures, the synthesis of at least part of the DNA was dependent on a puromycin-sensitive process, presumably protein synthesis (MUELLER, KAJIWARA, STUBBLEFIELD and RUECKERT 1962). The existence of two different states of association of DNA is of great interest in relation to the two fractions of DNA of different radiosensitivity, isolated from the Walker rat carcinoma using the Bendich procedure (HARBERS and BACKMANN 1956; see p. 442).

It may be of interest to mention here that CAIRNS (1963) has shown by autoradiography that, when the *E. coli* chromosome, which consists of a single piece of DNA, replicates, it does so by forming a fork which then moves along its length until the entire structure is doubled. It appears that DNA replication always starts at the same fixed point on the bacterial chromosome and then proceeds in only one and always the same direction (WAKE 1963).

There is only limited evidence concerning the correlation of the radiosensitivity of DNA metabolism and the cytological appearances of the nucleus. In microphotometric studies of the effects of Roentgen rays on the DNA content of the interphase nuclei of root-tips of *Vicia faba*, GRUNDMANN (1954) found two radiosensitive stages — containing 18 and 26 DNA units respectively — which corresponded to the first and second meionema reduplication stages.

The effects of radiation on the different phases of the division cycle appear to differ for different types of cells. Further details of these problems will be discussed later on p. 426 but the subject is so complex that it appears desirable to summarise the main

features here. For some types of cells (HOWARD and PELC 1953; HOLMES 1954; HOLMES and MEE 1955; KELLY 1954; KELLY and PAYNE 1954; CATER, HOLMES and MEE 1956; BELTZ, VAN LANCKER and VAN POTTER 1957; LAJTHA 1958; LAJTHA, OLIVER, KUMATORI *et al.* 1958) it was found that DNA synthesis is most easily inhibited by irradiation of the cell in the  $G_1$  phase prior to the time at which the DNA synthesis normally starts; this is described as  $G_1$  delay or inhibition. It appears that the process of preparation for synthesis of DNA before appreciable synthesis starts is much more radiosensitive — being blocked by doses of radiation lower by a factor which may be as great as the region of 10 — than the established process of DNA synthesis. In human bone marrow cells *in vitro*, by means of high resolution autoradiography using tritiated thymidine, LAJTHA (1958) and LAJTHA, OLIVER, KUMATORI *et al.* (1958) showed that 150 to 200 rads produced a 50 per cent depression in the proportion of cells arriving in the subsequent period of DNA synthesis, while “a dose of over 2000 rads” was required to produce a constant 50 per cent depression during the actual process of DNA synthesis. However, the factor may be much less than 10 as, e.g., in the cells of the glandular epithelia of the gastrointestinal tract of the mouse (SHERMAN and QUASTLER 1958). In cells showing this type of response, there appears to be a trigger mechanism for the onset of DNA synthesis, which is more radiosensitive than the synthesis itself.

It is now becoming recognized that there are other types of cells which show no large delay in the inception of DNA synthesis after irradiation in the  $G_1$  phase even with high doses (PAINTER and ROBERTSON 1959; YAMADA and PUCK 1961; TILL 1961; TERASIMA and TOLMACH 1963).

Further, there is a great variability among cell types in relation to the depression of DNA synthesis in cells that are irradiated in the S phase. Depression of synthesis of DNA has been reported for several cell types (LAJTHA, OLIVER, BERRY *et al.* 1958; VAN LANCKER 1959; SHERMAN and QUASTLER 1960; LOONEY, CAMPBELL and HOLMES 1960; CATTANEO, QUASTLER and SHERMAN 1960; TILL 1961; PAINTER 1962; TERASIMA and TOLMACH 1963; DEWEY and HUMPHREY 1963), but was not observed in others (HOWARD and PELC 1953; KELLY, HIRSCH, BEACH *et al.* 1957; DICKSON, PAUL and DAVIDSON 1958).

Many of these differences are probably attributable to differences in the response of normal and malignant cells (see p. 379). SEED (1961) has pointed out that those experiments which have shown inhibition of the onset of DNA synthesis with doses of radiation in the region of a few hundred R and delivered in the  $G_1$  phase have used cells freshly prepared from normal tissues, whereas those experiments using similar doses of radiation, which have failed to show an effect on the onset of DNA synthesis after irradiation in the  $G_1$  phase have used strains of cells originating from malignant tumours. It has been suggested that the normal radiosensitive trigger mechanism for the onset of DNA synthesis (LAJTHA, OLIVER, KUMATORI *et al.* 1958) does not apply to the cells of the tumour strains.

Cells of the HeLa 53 strain, which was derived originally from a human carcinoma of the cervix, have been studied in synchronously dividing cultures from the point of view of the effects of irradiation when the exposure was timed with precision in relation to the phases of the division cycle (TERASIMA and TOLMACH 1963). The main results are summarized in Table 8, where the findings are related to the quantitative assessment of the radiosensitivity for delayed killing of cells (loss of reproductive integrity). The most highly radiosensitive phase was that of microscopically visible mitosis, M. The next most radiosensitive phase is the S-phase of DNA synthesis. The evidence appears to show that in this phase, the maximal radiosensitivity occurs at a time *after* the onset of DNA synthesis when, on the average, the cells have already synthesized about 30 per cent of the total DNA that they will ultimately make. However, it must be emphasized that the asynchrony present by this time in the cycle makes the precise determination of the critical time difficult. Nevertheless it is to be concluded that the second maximum of radiosensitivity occurs in the S-phase during the established synthesis of DNA. In these

cells the radiosensitivity is minimal in both the  $G_1$  and  $G_2$  phases. The cells irradiated in M suffer a small delay in the onset of S, a slight prolongation of S and a slight depression in the rate of DNA synthesis, followed by major delay in  $G_2$ . The cells irradiated in S suffer an appreciable prolongation of S and a decreased rate of DNA synthesis, while the delay in  $G_2$  is shorter than that in S.

DEWEY and HUMPHREY (1963) compared normal Chinese hamster cells and L-strain mouse cells, which arose from cells capable of producing sarcomas in certain proportion of cases when inoculated into C3H mice (EARLE 1943). These experiments measured the reproductive integrity of the cells in different phases of the division cycle at the time of irradiation. For the L-cells, the S-phase is the most radiosensitive, while for the

Table 8. *Summary of the effects of a dose of 300 rads of Roentgen radiation on the division cycle of synchronized HeLa S3 cells in culture* (after TERASIMA and TOLMACH 1963)

Cell phase at time of irradiation	Duration of $G_1$ phase	Duration of S phase	Rate of synthesis of DNA	Duration of $G_2$ phase	Total delay	Delayed killing of cells	
						Approximate value of $D_{37}$ (rads)	Assessment of radiosensitivity for delayed cell death
M	Approximately normal	Slightly prolonged	Slightly depressed	Prolonged	Maximal	70	Maximal
$G_1$	Slightly reduced(?)	Very slightly prolonged	Very slightly depressed	Minimally prolonged	Minimal (at 3 to 4 hours after mitosis)	180	Minimal
S		Prolonged	Depressed	Prolonged	Long	100	Maximal sensitivity appears to occur at sometime after the onset of DNA synthesis <sup>1</sup>
$G_2$					Maximally prolonged	160	Minimal

<sup>1</sup> At the time of maximal sensitivity, 60 per cent of the population is already engaged in DNA synthesis and on the average the cells have already synthesized about 30 per cent of the total amount of DNA.

normal hamster cells, the S-phase cells are not more radiosensitive than the remainder of the population. Further, in studies of chromosome damage it was found that for the L-cells, the S-phase is again more radiosensitive than the  $G_1$  phase. Following a dose of 250 rads of gamma radiation, it was found that the S-phase cells sustained about 1.8—2.0 times the chromosomal damage to  $G_1$  cells and that based on loss of reproductive integrity, the corresponding ratio was 1.5.

Restitution of radiation-induced chromosomal damage in Chinese hamster cells growing in culture has been studied further in relation to the cell cycle (DEWEY and HUMPHREY 1964). The cells were pulse-labelled with [<sup>3</sup>H] thymidine immediately before irradiation and studied by means of autoradiography. It was concluded that in cells irradiated in the S phase with a total dose of 600 rads, the breaks remained open and no restitution occurred for at least one hour following irradiation, while in cells irradiated in the  $G_1$  phase, restitution was complete within 5 minutes after irradiation.

There is evidence that in the growing roots of *Vicia faba*, the chromosomes become double to radiation either before the S phase or in the very early S before much DNA has been duplicated (WOLFF and LUIPPOLD 1964).

It is desirable to extend studies of this type to many other normal and malignant cells. However, the limited evidence available so far suggests that the effects of irradiation during the S-phase of synthesis of DNA are especially important for malignant cells.

**b) Further evidence concerning the problem of the action of radiation on DNA synthesis**

Of great interest is the finding that under some conditions the inhibition of incorporation of labelled precursors into DNA after irradiation is an immediate effect, in that it reaches its maximum value of about 50 per cent inhibition within a few minutes after irradiation. For example ORD and STOCKEN (1957) have shown that a dose of 1000 R of Roentgen rays delivered in 3 minutes 40 seconds reduces the incorporation of  $^{32}\text{P}$  into the DNA of rat thymus to 50 per cent at 3 minutes after the end of irradiation. There is little change in the degree of incorporation during the next 2 hours. By 24 hours, when profound histological changes have occurred, incorporation has practically ceased.

The early effects of  $^{60}\text{Co}$  gamma radiation on the incorporation of thymidine-2- $^{14}\text{C}$  into the DNA of the spleen and small intestine were studied in the rat by NYGAARD and POTTER 1962. The exposure time was 1 minute for all doses from 125 to 4600 rep. The incorporation of the precursor into DNA in 8 minutes was used as a measure of DNA synthesis. On the average 33 seconds elapsed between the end of irradiation and the injection. The results show an immediate effect of irradiation on the incorporation of thymidine into the DNA of the spleen and small intestine and that this effect is dose dependent. The decrease in the radioactivity of the various phosphorylated thymidines after irradiation, and in particular that of thymidine triphosphate appears to be too slight to explain the depression of labelling of the DNA.

LOONEY (1960) has given evidence which appears to show that the rate of DNA synthesis in rat hepatocytes is lower than normal immediately after exposure to a dose of 3000 R. In combined autoradiographic studies with tritiated thymidine and cytochemical measurements of the DNA content made on the same nuclei in the regenerating rat liver for controls and immediately after 3000 R of Roentgen radiation, LOONEY (1960) and LOONEY, CAMPBELL and HOLMES (1960) obtained results which suggest that the reduction of DNA synthesis immediately after irradiation is directly proportional to the rate of synthesis at the time of irradiation. The mean time for doubling of the DNA content of the regenerating hepatocyte was 8 hours in the paired controls and was increased to 13 hours after irradiation. It was concluded by the authors that irradiation affects the biosynthetic process of DNA doubling directly. It is to be noted that these results are consistent with a simple concept of radiation damage to a template, during the exponential period of replication.

In general, irradiation produces substantially the same degree of reduction of the incorporation into DNA for different precursors. In addition to  $^{32}\text{P}$  in the form of inorganic phosphate the following precursors have been studied: carbonate (THOMSON, CARTTAR and TOURTELOTTE 1954; HEVESY 1949) formate (HARRINGTON and LAVIK 1953; LAJTHA 1957), glycine (ABRAMS 1951), thymidine (NYGAARD and POTTER 1959; BOLLUM and POTTER 1959; VAN LANCKER 1960a; DICKSON and PAUL 1961), cytidine (LAVIK and BUCKALOO 1954), thymidylic acid and deoxycytidylic acid (VAN LANCKER 1960), orotic acid (HARRINGTON and LAVIK 1953; BELTZ, VAN LANCKER and VAN POTTER 1957; BOLLUM and POTTER 1959; TRAMS *et al.* 1961) aspartic acid (TRAMS 1961), 4-amino-5-imidazol-carboxamide (CONZELMAN, MANDEL and SMITH 1954). However, in the case of adenine, different results have been found in different experimental systems. Using human bone-marrow cultures and autoradiograph, LAJTHA (1957) found equal reduction of the uptake of both formate and adenine after irradiation. HARRINGTON and LAVIK (1955) working with the rat thymus found 50 per cent inhibition of incorporation at 24 hours after irradiation with a dose of 100 R for the incorporation of  $^{32}\text{P}$  into DNA, orotic acid into the pyrimidines of DNA and formate into the guanine of DNA; on the contrary, at the end of the same interval, the incorporation of adenine-8- $^{14}\text{C}$  into the two purine bases and that of formate into the thymine and sometimes into the adenine of DNA is not inhibited and is even slightly increased sometimes. TOTTER (1954) and PASSONEAU and TOTTER (1954, 1955) studied the effect of  $\gamma$ -radiation on the uptake of  $^{14}\text{C}$  formate into

the DNA of bone marrow homogenates and chick embryo suspensions; more than 90 per cent of the incorporation into DNA was into the methyl group of thymine and a 50 per cent reduction of the uptake of formate was caused by a dose of 2400 R in bone marrow and by 5000 to 20000 R in the chick embryo. The  $^{14}\text{C}$  glycine incorporation into guanine and thymine of DNA was also depressed but adenine uptake was unaffected. In the chick embryos irradiated with 20000 R, only about 40 per cent of the normal amount of formate is incorporated into the DNA *in vitro* during the two hours after irradiation; incorporation of adenine-8- $^{14}\text{C}$  is not affected. BENNETT, KELLY and KRUEKEL (1954) found striking differences in the behaviour of the uptake of adenine 4-6- $^{14}\text{C}$  after irradiation in different tissues of the mouse, with early inhibition in the intestine.

It is to be noted also with regard to the widespread use of tritiated-thymidine that there is some evidence that autoradiographic methods may detect not only the cells which are actively polymerizing new DNA but also those which contain precursors in a form not easily removed by the washing and fixing procedures (CRATHORN and SHOOTER 1960). It is necessary to inquire as to the reliability of labelled thymidine incorporation as a measure of DNA synthesis (QUASTLER 1962; HELL, BERRY and LAJTHA 1960; NEWTON, DENDY, SMITH *et al.* 1962).

For some years it has been recognized that a problem is raised by the finding that, under conditions in which there is no destruction of cells and there are no indirect effects (HOLMES 1949), increasing doses of radiation reduce the degree of incorporation into DNA of precursors with structures which may be regarded as occurring naturally to approximately 50 per cent of the control value. The results of a considerable number of experiments on the inhibition after Roentgen irradiation of the incorporation into DNA of  $^{32}\text{P}$  as inorganic phosphate and of  $^{14}\text{C}$ -labelled glycine, acetate and adenine were summarized by HEVESY (1954). It is to be noted that for mammalian tissues and tumours after single doses in the region of 800—2000 R, the inhibition observed varied greatly from values as low as 25 per cent to values as high as 74 per cent under the widely different experimental conditions; for the tumours most of the values were between 40 and 60 per cent. It is clear that in general the inhibition of uptake of precursors into DNA shows a radiosensitive component and with higher doses, the inhibition increases only very slowly. It must be concluded that many of the experiments including most of those with malignant tumours are not inconsistent with a radiosensitive component corresponding to 50 per cent inhibition of synthesis of DNA. Nevertheless it must be recognized that the experimental errors and disturbing influences such as cell degeneration, necrosis and anoxia may lead to wide variations in the observed value of the inhibition. Accordingly while a value of 50 per cent inhibition may have biological significance under some circumstances, there is as yet insufficient evidence from experiments of the type discussed to draw reliable conclusions about the mechanism involved.

We have seen that, for incorporation of  $^{32}\text{P}$  into the DNA of the thymus at 2 hours after exposure of the total body of the rat to Roentgen rays, 50 per cent inhibition was reached after a dose of about 200 R (ORD and STOCKEN 1958). According to the criterion of the radiosensitive component, which can be estimated probably most simply, though not precisely, by evaluating the dose of radiation required to reduce the uptake of precursor into DNA to 50 per cent, the cells of the thymus gland are highly radiosensitive. They are considerably more radiosensitive than the cells of the CROCKER sarcoma of the mouse, for which it was found by HARBERS (1960) that 50 per cent incorporation of  $^{32}\text{P}$  into the DNA was reached at 2 hours after a dose of about 900 r.

The Jensen sarcoma in the rat is still less radiosensitive (EULER and HEVESY 1942); the specific activity of  $^{32}\text{P}$  incorporated into DNA "in the irradiated tumour gave values consistently around 60 per cent of normal in the period of 2—3 hours" after irradiation with a dose of 2000 R (HOLMES 1949). However, there is evidence that the dose level of radiation required to produce 50 per cent reduction of incorporation of precursors into DNA is not directly related to the radiosensitivity for growth inhibition in the case

of an experimental tumour. SCHUBERT (1955, see also DITTRICH, HÖHNE and SCHUBERT 1956) produced a radioresistant strain of the Ehrlich carcinoma of the mouse by irradiating the solid tumour with doses of 2000 R and transplanting, and in each generation of transplants giving a dose of 2000 R, up to a total dose of 28000 R. After a test dose of 1100 R, there was less effect by a factor of about 2.5 at the maximum on growth inhibition in the previously irradiated radioresistant strain than in the control tumours. My colleague, (Mrs) Dr. B. E. HOLMES, has studied the effects of irradiation on the synthesis of DNA in these tumours, which were kindly sent to us by Professor G. SCHUBERT of the Universitäts-Frauenklinik, Hamburg-Eppendorf (see HOLMES 1956). The immediate response of the DNA synthesis to various doses of Roentgen radiation was found to be substantially the same in the radioresistant and in the control strains. The reduction of the rate of synthesis of DNA to 50 per cent of the normal was observed in tumours of both strains with doses in the region of 1650 to 2000 R. The rate of synthesis of RNA was also reduced, to a smaller extent, in both tumour strains though possibly with less effect at lower doses in the radioresistant strain. From these experiments it appears that the immediate reduction of DNA synthesis after irradiation is *not* directly related to the therapeutic action manifested by inhibition of tumour growth and tumour retrogression. However, further experiments including studies of the effects on the fractions of nuclear RNA are desirable.

It is of interest to refer to an *in vitro* system which is also not very radiosensitive. For incorporation of  $^{14}\text{C}$  labelled formate into the DNA of human bone-marrow cell suspensions during a 4 hour incubation period, 50 per cent inhibition was observed after a dose of about 2000 rads (LAJTHA, OLIVER, BERRY and NOYES 1958). The relation between the depression of the rate of incorporation of formate into DNA and the dose of Roentgen radiation was analyzed by these authors in terms of two exponential components; for the radiosensitive ( $S_1$ ) component, the dose corresponding to 37 per cent ( $1/e$ ) residual incorporation was found to be 500 rads while for the radioresistant ( $S_2$ ) component, the dose defined similarly was 13000 rads.

This model is very valuable but as discussed previously (p. 374), under some conditions, the dose-response curve is still more complex. HUNTLEY and LAJTHA (1962) found that lymphocytes of mouse spleen are much more radiosensitive *in vivo* than *in vitro*, and suggested a triphasic curve with three exponential components to describe the response of the lymphocytes to Roentgen rays *in vitro* under the experimental conditions. The three slopes are due to (a) a very radiosensitive component, designated  $S_0$ , which is lost under the experimental conditions *in vitro* and is present *in vivo*, being responsible for the first 35 per cent of the inhibition, below about 200 rads, (b) a less sensitive component,  $S_1$ , causing a further 35 per cent inhibition and effective in the range from about 200 to 2000 rads and (c) a relatively insensitive component,  $S_2$ , causing about 10—20 per cent inhibition after irradiation with doses from about 2000—5000 rads.

An important problem is raised by the possibility that under some conditions tritiated thymidine of high specific activity may be unsuitable for testing the inhibition of DNA synthesis after irradiation, because of *pool dilution* from released intracellular compounds (LAJTHA 1960, p. 144). In studies of the dose-response curve of Ehrlich ascites tumour cells *in vitro* using tritiated thymidine of high specific activity ( $360 \mu\text{c}$  per  $\mu\text{mole}$ ), 50 per cent depression of the uptake was produced by a dose of about 2000 rads, while doses of 5000 and 10000 rads produced only slightly greater changes. However, when these experiments were repeated with tritiated thymidine of lower specific activity ( $30\text{—}60 \mu\text{c}$  per  $\mu\text{mole}$ ) — so that much more thymidine was added — almost no depression of uptake after irradiation was observed. This observation was repeated several times. It was concluded that the depression found with the tritiated thymidine of high specific activity was due to pool dilution by accumulating metabolites, probably nucleosides and nucleotides, liberated immediately after irradiation. It is clear that this problem requires further investigation (see NEWTON, DENDY, SMITH and WILDY 1962).

The radiosensitive component of the inhibition of incorporation of precursors into DNA depends on the presence of oxygen during irradiation. The effect of oxygen on the inhibition of uptake of thymidine- $^{14}\text{C}$  by Roentgen irradiation was investigated in Ehrlich ascites cells for the initial ( $S_1$ ) slope of the dose response curve (BERRY, HELL, LAJTHA and EBERT 1960). At doses of both 800 rads and 2000 rads, there was substantially greater inhibition of incorporation of thymidine- $^{14}\text{C}$  in the oxygenated cell suspensions. The ratio of the value of the inhibition of incorporation in oxygen to that in nitrogen averaged 2.9. DICKSON and PAUL (1961) showed that the immediate inhibition of incorporation of tritiated thymidine into the DNA of strain-L mouse cells in culture increased with a dose to approximately 50 per cent at 2300 R with air or 95 per cent oxygen in the gas phase while in 95 per cent nitrogen, this dose produced only 25–30 per cent inhibition of incorporation. Addition of cysteine and of cysteamine before irradiation also give some protection against the immediate reduction of incorporation of thymidine after irradiation. It may be mentioned that LANGENDORFF, HAGEN and ERNST (1958) found no effect of cysteamine during the S-phase of DNA synthesis in the regenerating liver of the rat even though cysteamine produced complete protection during the  $G_1$ -phase. Further, it is to be noted that for rat thoracic duct lymphocytes *in vitro*, there is no evidence of a radiosensitive ( $S_1$ ) component of the dose-response curve after irradiation, as is the case for bone marrow cells (COOPER and ALPEN 1959). For the thoracic duct lymphocytes there is a good linear relationship between the log of the depression of DNA synthesis and the dose, with a radioactivity slightly greater than that of the  $S_2$  component for bone marrow cells found by LAJTHA *et al.* (1958).

The finding for many types of mammalian cells, of a radiosensitive component of the inhibition of incorporation of precursors into DNA, with reduction of the incorporation to a level in the region of 50 per cent after a sufficiently large dose of radiation under conditions of oxygenation suggests that this phenomenon is due to certain fundamental mechanisms. In considering the triphasic response of spleen lymphocytes to Roentgen rays *in vivo*, HUNTLEY and LAJTHA (1962) have suggested that the  $S_0$  process (which is absent for the lymphocytes *in vitro*) may be associated with the generation in the nucleus of high-energy phosphate, the  $S_1$  process may be concerned with nucleoside phosphorylation and the  $S_2$  process may represent damage to the DNA template mechanism. Earlier ORD and STOCKEN (1958) had suggested that for rat thymus irradiated *in vivo*; the initial portion of the dose response curve corresponds to inhibition of nuclear phosphorylation.

However, the question must be raised whether there are two types of DNA in the cells under consideration or at least DNAs with different relationships to proteins and RNAs. We have seen that in HeLa cells in culture there is autoradiographic evidence for the existence of two different states of association of the DNA with other chromosome constituents (STUBBLEFIELD and MUELLER 1962). There is well-known independent evidence for the existence of two different fractions of DNA which also show differences in their behaviour after irradiation, including some differences in the radiosensitivity of the inhibition of uptake of  $^{32}\text{P}$ . HARBERS and BACKMANN (1956) studied the two DNA fractions isolated from the Walker rat carcinoma using the Bendich procedure (BENDICH, RUSSELL and BROWN 1953). The possibility of separating these two fractions depends on the fact that one,  $\text{DNA}_1$ , is precipitated in 0.87 per cent. NaCl solution, while the other,  $\text{DNA}_2$ , remains in solution. Probably  $\text{DNA}_1$  has a higher molecular weight than  $\text{DNA}_2$ . For the unirradiated Walker carcinoma, there was about 3 (1.7–3.6) times as much  $\text{DNA}_1$  as  $\text{DNA}_2$ ; at two hours after irradiation with a local dose of 5000 R of Roentgen rays delivered in 17.2 minutes, the ratio had fallen to about 0.3 (0.15–0.38), there now being considerably more of the lower molecular weight fraction  $\text{DNA}_2$ . For the unirradiated tumour the uptake of  $^{32}\text{P}$  was equal in the two fractions, the ratio of the specific activities of the fractions  $\text{DNA}_1$  and  $\text{DNA}_2$  having the value  $1.02 \pm 0.04$ . At 2 hours after the dose of 5000 R, the ratio was found to be  $1.23 \pm 0.05$  so that there was

somewhat greater inhibition of uptake of  $^{32}\text{P}$  into the fraction  $\text{DNA}_2$  of lower molecular weight. The value of the ratio was  $1.12 \pm 0.04$  at 12 hours after irradiation and had returned to unity at 24 hours. It has been suggested (e.g. FORSSBERG 1956, p. 72) that the irradiation produces depolymerization of the DNA. Changes in the DNA extracted from cells after irradiation will be discussed later (p. 441). It is to be noted that before irradiation the tumour consisted of a population of cells in different stages of mitosis and that it is likely that mitosis was completely blocked by the dose of 5000 R. There are a number of reports in the literature of experimental findings which demonstrate the complicated nature of the processes involved in DNA synthesis. In this connection reference must be made first to the experiments of DAS and ALFERT (1961) in which acceleration of DNA synthesis was observed in the onion root meristem *during* Roentgen irradiation with doses of between 200 R and 3200 R delivered at 50 R per minute. The irradiation inhibited mitosis in these root tip cells but the rate of DNA synthesis was stimulated during irradiation; synthesis continued to the premitotic level in a period of complete mitotic inhibition. There was a small statistically significant change in the distribution of the values of the DNA content of the nuclei from the 2C toward the 4C class so that the mean DNA content of the irradiated nuclei was raised to about 10 per cent above the control value. Further the additional number of 2C nuclei appeared to be triggered into DNA synthesis during irradiation. Further, KRAUSE and PLAUT (1960) reported an increased rate of utilization of  $^{14}\text{C}$ -thymidine by bean root cells in the presence of tritiated thymidine. The increased number of silver grains and tracks due to  $^{14}\text{C}$ -thymidine found by means of autoradiography in nuclei, which also contained tritiated thymidine, was considered to be due to the radiation caused by disintegrations of tritium incorporated into DNA. The labelling period was 10 hours. The dose of radiation is difficult to estimate. STROUD, BRUES and SVOBODA (1961) studied the uptake of tritiated thymidine in two strains of mammalian kidney cells, which have about the same rate of proliferation in culture but differ in the proportion of cells which become labelled and in their response to irradiation. In cultures of monkey kidney, the proportion of cells which take up thymidine is higher 24—48 hours after 500 R, or 6—48 hours after 1000 R, than in unirradiated controls of the same age. This material normally shows only 20 per cent or less of labelled cells depending on the time of sub-culturing. In a pig kidney cell-line, on the other hand, 30—40 per cent of cells incorporate thymidine, and this proportion is reduced at 24 hours and more after doses of 200—1000 R. The authors suggest that monkey kidney cells normally possess a pathway for DNA synthesis which does not utilize exogenous thymidine and that this pathway is blocked by irradiation. Because of this blockage, exogenous thymidine is utilized in irradiated cells. It is suggested that pig kidney cells on the other hand lack the normal pathway.

It is of interest that HOWARD and DOUGLAS (1963) set out to repeat the autoradiographic experiment of DAS and ALFERT (1961), but using root meristems of the broad bean, *Vicia faba*. Under these conditions, there was no evidence of increase in the rate of DNA synthesis due to irradiation, nor in the number of cells which became labelled, on the contrary the results suggest a slowing-down of DNA labelling during exposure to Roentgen-rays. Further, appreciable amounts of radioactivity remained in the cytoplasm and in the case of cells exposed to a dose of 800 R, more trichloroacetic acid — insoluble activity remained in the cytoplasm than in the case of the control unirradiated cells.

For some years since the work of EULER and HEVESY (1942, 1944) and of AHLSTRÖM, EULER, HEVESY and ZERAHN (1946), it has been suspected that synthesis or exchange of DNA can take place in cells as a metabolic function not connected directly with cell division. The problems of “metabolic DNA” and of metabolically labile DNA are of interest and relevant to biochemical studies of the action of radiations. Some of the evidence still appears to be conflicting. PELC (1958) using autoradiographic methods with adenine-8- $^{14}\text{C}$  concluded that DNA synthesis occurs independently of mitosis in the

seminal vesicle of the mouse, which was regarded as a non-dividing tissue. It is of interest that protein synthesis is unusually high in the seminal vesicle. On the other hand, in studies of the same tissue using autoradiography with tritiated thymidine in conjunction with photometry of the Feulgen stain content of nuclei, GALL and JOHNSON (1960) "feel that mitosis is almost certainly the means by which these nuclei halve their DNA content, and that the seminal vesicle presents no unusual features in its DNA metabolism". TSCHERMAK-WOESS (1960) studied the incorporation of tritiated thymidine into the DNA and the endomitotic activity in the root of *Vicia faba* and concluded that the results of PELC and LE COUR (1959) provide no conclusive evidence for the metabolism of DNA independently of DNA reproduction. LIMADE-FARIA (1962) found evidence for the release of a large amount of DNA from a Feulgen-positive nuclear body labelled with tritiated thymidine in cells of the pupa of the developing female daddy-long-legs, *Tipula oleracea*, (Diptera). The existence of the problem of extrachromosomal and cytoplasmic DNA can only be mentioned here (CHAYEN 1960; BELL 1961). The heterogeneity of DNA extracted from mammalian normal tissues and tumours has been studied in some detail (see KIT 1960, 1962). Of interest here is the finding that growing tissues of higher plants have two forms of DNA (SAMPSON, KATOH, HOTTA and STERN 1963). One of these has an average molecular weight of the order of  $10^5$  and is characterized by a relatively rapid rate of turnover; the composition of this DNA appears to differ from that of the DNA of high molecular weight.

### c) Relative biological efficiency for inhibition of DNA synthesis

One quantitative aspect of the inhibition of DNA synthesis by radiation is the relative biological efficiency (RBE) of the process for different types of radiation. Particular interest is attached to the values of the RBE of fast neutrons and of alpha-particles in relation to Roentgen-or gamma-radiation. Only relatively few experiments have been carried out in this field. Most of the experiments with fast neutrons are limited by the complexity of the nature of the response measured. In all the experiments the possible errors involved in dosimetry must be recognized.

For depression of  $^{32}\text{P}$  uptake in lymphomatous tissue in the mouse by fast neutrons and Roentgen-rays, SCOTT (1946) found a value of "X/n" ratio of roughly 6, which corresponds to a value of the RBE of about 2.4 (cf. AEBERSOLD and ANSLOW 1946). In these experiments the fast neutrons possibly caused greater inhibition of growth of the tumour than did the Roentgen-rays, but the doses used were not sufficient to produce permanent retrogression of the tumour. However, this value of the RBE is about the same as that obtained for the inhibition of 'takes' of the tumour (AXELROD, AEBERSOLD and LAWRENCE 1941), and for the production of chromosome abnormalities (MARSHAK 1942). Under different experimental conditions, in bean roots, in the meristematic cells, HOWARD and PELC (1953) found that doses of fast neutrons smaller than the dose of Roentgen-rays by a factor of at least 2.5 produced the same reduction in the number of cells synthesizing DNA during 12 hours after irradiation.

Probably no conclusion can be drawn from these experiments concerning the value of the RBE for the immediate action of radiation on DNA synthesis. For this purpose it is highly desirable that measurements should be made on cultures of synchronously dividing cells, if possible for both normal and malignant cells and in presence of oxygen and under anoxic conditions.

Mention must be made of other experiments in which the phenomena are even more complex. DAVIS and COLE (1961) studied the comparative effects of fast (simulated fission) neutrons and 250 kVp Roentgen rays of HVL 1.5 mm Cu on the DNA content of bone marrow in mice. At 15 and 24 hours after irradiation, the dose response curves for the two radiations were essentially identical and the RBE was unity. For longer times after irradiation, the values of the RBE increased to 2.0 at 2 days, 2.1 at 3 days and

2.7 at 6 days. These values are based on comparison of the doses in rads required to give 50 per cent of the maximum depression of DNA content. The data suggest that the higher values of the RBE of fast neutrons in producing cellular depletion of the marrow at longer times than 24 hours after irradiation may be due to their greater effectiveness in delaying regeneration. The causes of the decrease in the DNA content of the bone marrow within the first 24 hours after irradiation include probably acute cytolysis and possibly discharge of nucleated cells into the bloodstream in addition to mitotic inhibition, so that the process measured is complicated. It is difficult to draw conclusions from the values of RBE observed in the experiments summarized. However, it is interesting to note that the value of 2—3 for the RBE of fast neutrons for interference with the formation of DNA is much the same as that usually found for the killing of mammalian cells after irradiation (see DAVIS and COLE 1961; ANDREWS and BERRY 1962).

SUBOTIĆ-NIKOLIĆ and ZUPPINGER (1959) compared the effects of total-body irradiation of mice with 31 MeV and 200 kV Roentgen rays on the nucleic acid content of the spleen, thymus and liver. The 200 kV Roentgen radiation from a Picker unit was "ultra-fractionated" at 50 impulses per second to correspond exactly with the radiation from the 31 MeV betatron; continuous 200 kV Roentgen radiation was provided by an apparatus Greinacher type. The dose rate, about 15 R per min, was the same for all three types of radiation and the animals were irradiated at three dose levels: 300, 600 and 800 R. The animals were killed after 48 hours and the concentrations of DNA, RNA and acid-soluble fraction of low-molecular weight derivatives with ultraviolet absorption at  $260\text{ m}\mu$  were determined. No appreciable changes were found for the liver. In the spleen and thymus, the concentration of DNA and to a lesser extent of RNA decreased after irradiation; the decreases were approximately proportional to the logarithm of the dose, with an apparent threshold of about 20 R. The acid soluble fractions showed no significant changes. No significant differences in the efficiency of reduction of the concentrations of DNA and RNA in the spleen and thymus were detectable in the comparisons of 31 MeV and 200 kV — Roentgen rays and the continuous and ultra-fractionated radiation. In the clinical use of these rays the RBE of the 31 MeV Roentgen rays is about 0.75 instead of 1.0". It must be emphasized that the changes observed in these experiments are relatively late effects and reflect not only decrease in the new formation of DNA but also destruction of DNA.

Direct evidence concerning the inhibition of synthesis of DNA after irradiation is provided by experiments which measure the RBE of alpha-particles for inhibition of the uptake of precursors into the DNA of cells in tissue culture. For radon alpha-particles, LAJTHA, OLIVER, BERRY and NOYES (1958) found a value of about 0.5 for the RBE of the alpha-particles in relation to 300 kV Roentgen radiation, of HVL 2 mm Cu, at doses of 500 and 5000 rads, for the inhibition of the uptake of  $^{14}\text{C}$  formate into DNA in human bone-marrow cells cultured *in vitro*. Tentative calculations make it clear that subcellular 'targets' are involved. SMITH (1961) compared the effects of polonium alpha-particles and 200 kV Roentgen rays, of HVL 0.4 mm Cu, on the uptake of tritiated thymidine into the DNA of mouse fibroblasts and HeLa cells growing in single-layer cultures. Autoradiography was used with measurement of grain counts per nucleus. The process studied must be regarded as an  $\text{S}_2$  component. The values of  $\text{D}_{37}$ , the dose required to reduce the incorporation of precursor to 37 per cent (1/e) were 14000 rads for the mouse fibroblasts and ca. 90000 rads for the HeLa cells. For this effect, for the mouse fibroblasts the value of the RBE for polonium alpha-particles was 0.25. The target shape can be calculated roughly; if the target is assumed to be cylindrical, it appears to be of diameter  $16\text{ \AA}$  and length  $25000\text{ \AA}$ , i.e., it is a long thin thread of molecular weight ca.  $5 \times 10^7$  in the case of the mouse fibroblasts. Similar calculations for the HeLa cells suggest a target of molecular weight of ca.  $10^7$ . These considerations are not inconsistent with the conclusion that the target may be DNA or deoxyribonucleoprotein. It must be emphasized that calculations of this type are provisional. However, it is of interest that the values

of the RBE of alpha-particles for inhibition of uptake of precursors into DNA were in the same region within experimental error, and less than unity, for two different types of cells in independent experiments.

In experiments on the effects on DNA synthesis of localized irradiation of cells in tissue culture by means of microbeams of ultra-violet radiation and of alpha-particles, DENDY and SMITH (1964) deduce that there is an abscopal effect due to radiation produced inhibitory substance.

#### d) Further evidence concerning the biochemical effects of irradiation, in relation to DNA synthesis, especially during the $G_1$ phase

As we have seen (pp. 374 and 415) a great deal of information has been provided by studies of the effects of irradiation on the regenerative hyperplasia of the rat liver which occurs after partial hepatectomy (HOLMES 1954; HOLMES and MEE 1955; CATER, HOLMES and MEE 1956; KELLY, HIRSCH, BEACH *et al.* 1957; JARDETZSKY and BARNUM 1957; LANGENDORFF, HAGEN and ERNST 1958; LOONEY 1960; LOONEY, CAMPBELL and HOLMES 1960; HAGEN 1963). These proliferating cells are normal cells. Under the experimental conditions, there is an approximation to synchronous mitosis. Comparable results were obtained in the studies of the regenerative hyperplasia of the rat liver following both partial hepatectomy (HOLMES 1954; HOLMES and MEE 1955) and the action of carbon tetrachloride (KELLY 1954; KELLY and PAYNE 1954). It is clear from these experiments that the formation of DNA can be inhibited by irradiation in the pre-synthetic period much more easily than by irradiation during the stage of established synthesis of DNA. LANGENDORFF, HAGEN and ERNST (1958; see HAGEN 1963) found that a lethal dose of e.g. 800 R of total-body roentgen radiation administered to the rat at 12—16 hours after partial hepatectomy, i.e. in the presynthetic ( $G_1$ ) phase, reduced the rate of DNA synthesis to about 25 per cent of that of the controls, while the same dose administered at 42 hours after operation i.e. during the S-phase of DNA synthesis produced only 50 per cent inhibition of DNA synthesis. It is of great interest that LANGENDORFF, HAGEN and ERNST (1958) found that in these experiments cysteamine produced complete protection against the effects of radiation during the pre-synthetic phase but had no effect during the phase of DNA synthesis. In the experiments of CATER, HOLMES and MEE (1956) on the regenerating liver of the rat, it was found that irradiation with 450 R of filtered 220 kV Roentgen rays during the synthetic period at 21 hours after partial hepatectomy, i.e., just before the onset of cell division, had a striking effect in reducing mitosis;  $4\frac{1}{2}$  hours later, there was no detectable mitosis but in the first peak of DNA synthesis the rate of  $^{32}\text{P}$  uptake was reduced to about a half of its normal value. (Subsequently the second peak of synthesis was raised, and at about the same time RNA accumulated in the liver cell.) In contrast, irradiation with a dose of 450 R at 12 hours after partial hepatectomy — when DNA synthesis as studied by  $^{32}\text{P}$  uptake was just about to start — abolished the first peak of DNA synthesis and delayed the subsequent onset of mitosis for 9 hours. In related unpublished experiments, Dr. BARBARA HOLMES, Dr. LORNA MEE and Professor P. C. KOLLER showed that irradiation with small doses during the synthetic period and during the subsequent pause before mitosis, does not stop the synthesis of DNA but leads to mitotic inhibition and also to chromosome breakage which becomes manifest at the subsequent metaphase. Dr. ALMA HOWARD, working with the preparations of regenerative hyperplasia of the rat liver used in further experiments by Dr. HOLMES and Dr. MEE with  $^{14}\text{C}$ -adenine, showed by means of autoradiography that as in bean root cells (HOWARD and PELC 1953) there was an interval between the completion of DNA synthesis and the beginning of visible mitosis — which in this case was 6 to 7 hours.

In other experiments on the regenerative hyperplasia of the rat liver, using orotic acid  $6\text{-}^{14}\text{C}$ , BELTZ, VAN LANCKER and POTTER (1957) showed that a dose of 1500 R of Roentgen radiation was just sufficient to block the initiation of DNA synthesis but that after DNA synthesis has begun, it is relatively insensitive to this level of irradiation.

Mention must be made of a morphological study of DNA synthesis and cell proliferation in the regenerating rat liver by means of autoradiography using tritiated thymidine (GRISHAM 1962). Appreciable numbers of hepatocytes began to synthesize DNA between 12 and 18 hours after partial hepatectomy, reaching a maximum at 20 hours. The peak incidence of hepatocytes synthesizing DNA preceded the peak incidence of such cells in mitosis by about 6 hours. During the entire period of regeneration studied, about 75 per cent of the total DNA synthesis could be accounted for by hepatocytes, about 22 per cent by littoral cells and 1—2 per cent by ductal cells. These conclusions were based on a normal liver composition of 60.6 per cent hepatocytes, 33.4 per cent littoral cells and 2.0 per cent ductal cells with mean degrees of ploidy of 3.5 for hepatocytes and 2.0 for littoral and ductal cells.

It is now possible to attempt to correlate the effects of radiation on the regenerating rat liver with knowledge concerning the enzymatic synthesis of DNA in mammalian and other cells. The stages in the biosynthesis of DNA are summarized in the Figure 1; for

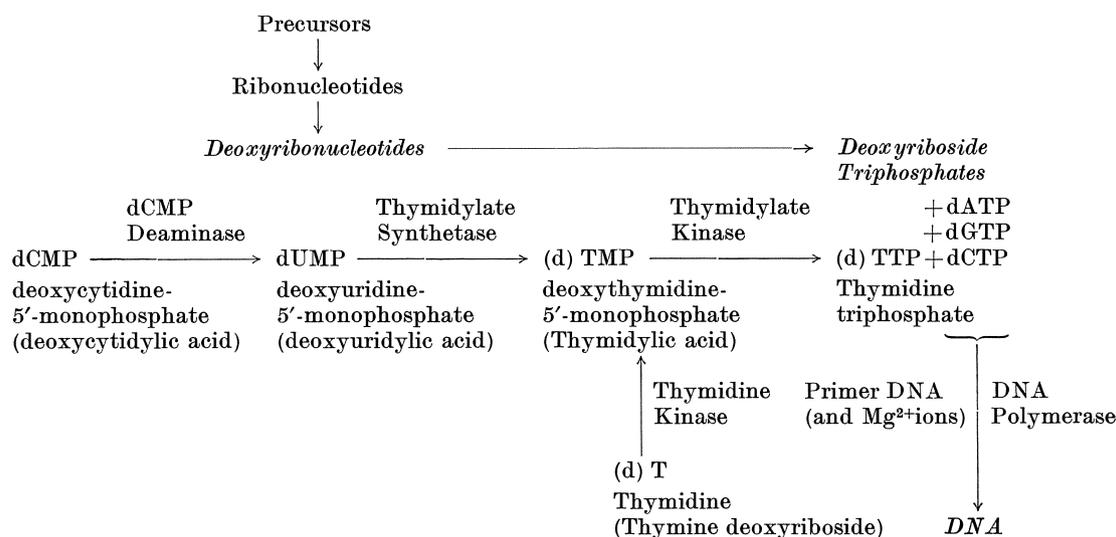


Fig. 1. Stages in the biosynthesis of DNA

further details, including a review of the control of DNA biosynthesis see e.g. DAVIDSON (1961, 1962), VAN POTTER (1963). These advances follow the important work of KORNBERG (1960) on the enzymatic synthesis of DNA from the four deoxyribonucleoside triphosphates in presence of "primer" DNA and magnesium ions. The enzyme is generally described as a DNA polymerase. The highly polymerized DNA synthesized reflects the composition of the primer DNA; the enzyme appears to take its directions for synthesising DNA from the template. There is evidence that native DNA, e.g., prepared from calf thymus, will not prime the reaction, but that denaturation of native DNA, e.g., by heating (BOLLUM 1959) can bring about the conversion to primer; perhaps primer DNA is single-stranded DNA (BOLLUM 1960, p. 60. In the DNA-polymerase system from Landschutz ascites-tumour cells, KEIR, BINNIE and SMELLIE (1962) showed that thermally denatured DNA prepared from Landschutz ascites-tumour cells had a priming capacity seven times that of DNA and that the single stranded DNA from bacteriophage X 174 was greatly superior to thermally denatured Landschutz-tumour DNA in priming capacity.

The four deoxyribonucleoside triphosphates are the building blocks for DNA and arise from the corresponding deoxyribonucleosides through a series of enzymic phosphorylations with ATP. In many systems the limiting factor in the synthesis of DNA appears

to be thymidine triphosphate, (d) TTP (O'BRIEN 1962). The (d) TTP is synthesized from the monophosphate, (d) TMP via thymidylate kinase. The (d) TMP in turn can be produced by two enzymatic pathways (a) the direct phosphorylation of thymidine via thymidine kinase and (b) the folic acid coenzyme-dependent methylation of d UMP via thymidylate synthetase. The d UMP may be formed not only by enzymatic deamination of d CMP, but also from the conversion of its ribose analogue, uridylic acid, UMP (REICHARD 1957; MALEY and MALEY 1959). In the regenerating rat liver, the predominant pathway for the formation of d UMP appears to be from the conversion of UMP and not from deamination of dCMP (ITZHAKI and CRONE 1962).

The hydrogen donor in the ribonucleotide reductase system has been characterized by REICHARD (1964). A protein was purified from *Escherichia coli B*, which in the presence of NADPH<sub>2</sub> replaced reduced lipoate as the hydrogen donor in the reduction of cytidine diphosphate to deoxycytidine diphosphate. The name thioredoxin is proposed for this substance. It is a small molecular weight acid protein consisting of a single polypeptide chain with one -S-S- band (cystine). Reduced thioredoxin is the hydrogen donor for the reduction of ribonucleotides to deoxyribonucleotides.

CRONE and ITZHAKI (1965) have shown that in the spleen and the regenerating liver of the rat, thymidine monophosphate is formed from uridine monophosphate to a greater extent directly through deoxyuridine monophosphate than indirectly by the conversion of uridine monophosphate to cytidine monophosphate and then deoxycytidine monophosphate.

A marked rise in activity of the kinases is observed in regenerating rat liver tissue after partial hepatectomy (BOLLUM and POTTER 1959; OKADA and HEMPELMANN 1959; BOLLUM, ANDEREGG, McELYA and POTTER 1960; MANTSAVINOS and CANELLAKIS 1959; HIATT and BOJARSKI 1960; WEISSMAN, SMELLIE and PAUL 1960; BIANCHI, BUTLER, CRATHORNE and SHOOTER 1961). Normal rat liver does not contain enzymes capable of phosphorylating thymidine, though the enzymes which phosphorylate the other 3 deoxyribonucleosides are present (CANELLAKIS 1958; GRAY *et al.* 1960). In regenerating rat liver, the thymidine kinases appear at approximately the same time as DNA synthesis begins (BOLLUM and POTTER 1959); there is further evidence that the kinases for phosphorylation of thymidine (T), thymidine 5'-monophosphate (TMP) and thymidine diphosphate (TDP) appear in this order. BIANCHI *et al.* (1961) conclude that in the regenerating rat liver, the TMP first formed is converted to thymidine 5'-triphosphate (TTP) directly by pyrophosphate addition and suggest that TDP is produced by dephosphorylation of TTP (see VAN POTTER 1963). In the Landschutz ascites tumour cells, the formation of TTP appears to proceed through TMP and TDP (GRAV and SMELLIE 1962). The content of thymidylate synthetase is elevated approximately four-fold in regenerating liver at 24 hours after partial hepatectomy (MALEY and MALEY 1960; BELTZ 1962).

Increases in the activities of DNA polymerase and of various of the enzymes that participate in the biosynthesis of TTP are prevented in regenerating liver by prior exposure of partially hepatectomized rats to Roentgen-irradiation (STEVENS and STOCKEN 1962; MYERS, HEMPHILL and TOWNSEND 1961; BOLLUM, ANDEREGG, McELYA *et al.* 1960; VAN LANCKER 1960; BELTZ and APPELEGATE 1959). Irradiation at times up to 13 hours postoperatively prevents the subsequent appearance of DNA polymerase and of the kinases that phosphorylate thymidylic acid, while irradiation at times between 14 and 17.5 hours has been reported to be uninhibitory (BOLLUM, ANDEREGG, McELYA *et al.* 1960). In both cases, the initiation of DNA synthesis is blocked (BELTZ, VAN LANCKER and POTTER 1957).

BOLLUM *et al.* (1960) studied the effect of Roentgen irradiation on the appearance of thymidine kinase and DNA polymerase in regenerating rat liver as a function of dose (at doses of 375, 750 and 1500 R) and time of irradiation after partial hepatectomy. When the radiation was given at 6 hours after operation, all the doses used including

375 R produced essentially complete inhibition of the increase in the levels of kinase and polymerase that occur normally (i.e., without irradiation) between 6 and 24 hours after partial hepatectomy. For irradiation at 16 hours after operation — which is a time which had previously been shown to block the synthesis of DNA completely in the regenerating liver *in vivo* under the experimental conditions — there was no interference with the formation of enzymes even after a dose of 1500 R; actually there was an increase in polymerase with increasing dose.

There are many complicating features. For example, BOLLUM (1960, p. 163) reported briefly that in addition to inhibition of the appearance of thymidine kinase and of DNA polymerase after irradiation, it is also possible to inhibit DNA synthesis without producing measurable decrease in the activity of thymidine kinase and the polymerase. The question of radiation effects on the primer function of DNA was raised. This function appears to be rather radioresistant (OKADA 1960; STACEY 1961); however, it must be pointed out that these results refer to irradiation *in vitro* and not *in vivo*.

The effects of irradiation of normal liver on DNA synthesis after partial hepatectomy have been studied by FAUSTO, UCHIYAMA and VAN LANCKER (1964). DNA and RNA synthesis in regenerating liver were investigated *in vivo* and *in vitro* in rats irradiated prior to partial hepatectomy. Total-body irradiation with a dose of 600 R reduced the incorporation of tritiated thymidine into DNA to 30 per cent of its incorporation into the DNA of regenerating liver in unirradiated control animals. This inhibition became less pronounced with increasing length of time between irradiation and the partial hepatectomy. Administration of 1000 R at 24 hours before partial hepatectomy was found to inhibit the activity of DNA polymerase and of thymidylic kinase in the liver supernatant fluid of rats sacrificed at 24 and 36 hours after operation, while a dose of 600 R only inhibited the activity of thymidylic kinase. Total-body irradiation with a dose of 1000 R had no detectable effect on the incorporation of [6-<sup>14</sup>C] orotic acid into total nuclear RNA *in vivo* or on the incorporation of [<sup>14</sup>C]-ATP into RNA *in vitro*. However, it is recognized that much further investigation of the effects of irradiation on nuclear RNA is required, since messenger RNA may be involved.

In further studies on the regenerating rat liver in control unirradiated animals and after irradiation with a dose of 1500 R of Roentgen radiation, BELTZ (1962) showed that elevation of *thymidine kinase* is prevented completely by early irradiation, whereas the activity of thymidylate synthetase is elevated approximately three-fold in spite of early exposure to Roentgen radiation. Interference with the accumulation of thymidine kinase after late irradiation (15—16 hours postoperatively) was unexpected. The striking difference in the radiosensitivity of the kinase-elevating system and the synthetase-elevating system suggest that they may differ in a fundamental manner. The failure of early or later irradiation to prevent the elevation of thymidylate synthetase appears to rule out the possibility that prevention of the initiation of DNA synthesis by irradiation could be attributed to interference with the activity of thymidylate synthetase. Mention may be made here of the demonstration that the fluorinated pyrimidine derivatives and 5-fluorouracil, 5-fluorouridine and 5-fluoro-2'-deoxyuridine and 5-fluorouridine-5'-monophosphate inhibit DNA synthesis by inhibition of thymidylate synthetase (HARTMANN and HEIDELBERGER 1961; COHEN, FLAKS, BARNER *et al.* 1958; BOSCH, HARBERS and HEIDELBERGER 1958; TAYLOR, HAUT and TUNG 1962; HEIDELBERGER 1963). It is to be noted that MYERS (1962) showed that out of 24 enzymes assayed at various times after partial hepatectomy the accumulation of only three viz: deoxycytidylate (dCMP) deaminase, thymidine phosphorylase and NAD pyrophosphorylase, was inhibited by irradiation of the animals with a dose of 1500 R of Roentgen radiation just before surgery. The irradiation did not affect the synthesis of related enzymes such as adenosine and guanosine deaminases and inosine and uridine phosphorylases.

JAFFE *et al.* (1959) and STOCKEN and ORD (1960) showed that irradiation of the regenerating rat liver with relatively low doses (200 R or 400 R) at 6, 8 or 12 hours after

operations produce an increase in deoxyribonucleoside content; at 12 hours post-hepatectomy, after irradiation at 6 hours, the increase in deoxyribonucleoside was all in the deoxycytidine fraction (see p. 400). It is clear that irradiation with small doses within the presynthetic period produces changes related to the preliminary stages of DNA synthesis. In these experiments, the presynthetic period extended to 18 hours and the first mitotic peak occurred at about 28 hours after partial hepatectomy. Deoxynucleotides are in very low concentration for about 15 hours after operation and reach a maximum between 21 and 24 hours when DNA-synthesis is also apparent. In resting rat liver, thymidylic kinase is undetectable; it has been suggested by POTTER and AUERBACH (1959) that the induction of this enzyme is essential for cell division and permits the build-up of deoxynucleotides. Irradiation caused a rise in deoxynucleoside and delayed the appearance, in the regenerating rat liver, of deoxynucleotides. This occurred with irradiation at both 6 and 12 hours after partial hepatectomy, but incorporation into DNA was only studied in rats irradiated at 6 hours after operation, when retardation of DNA synthesis resulted. Although deoxynucleotide appearance was delayed by a dose of 400 R, inhibition was incomplete, and by 28 hours there was a higher level of deoxynucleotide concentration in the irradiated animals than in the controls. On the basis of these experiments, ORD and STOCKEN (1960, p. 151) suggest that the  $G_1$  period of interphase can be further subdivided into three parts, (a) true interphase, following mitosis, (b) the first pre-synthetic stage, where the substrate evoking thymidylic kinase accumulates and (c) the second presynthetic stage, where thymidylic kinase appears. The evidence suggests that irradiation at relatively low dose levels produces its effects in (b), the first part of the pre-synthetic stage.

In further studies of the regenerating rat liver, VAN LANCKER (1960) examined the effect of Roentgen irradiation with doses of 350—3000 R or on the incorporation of tritiated thymidine into the DNA of nuclei, of reconstituted regenerating liver homogenates and into purified DNA incubated with irradiated and non-irradiated regenerating liver cytoplasm. Both nuclei and cytoplasm were affected by irradiation but greater effects were observed on the cytoplasm than on the nuclei. It appears that the inhibition of synthesis of DNA by radiation is due to a decrease of the activity of the cytoplasmic enzymes involved in the last steps of DNA synthesis and to a decrease in the priming capacity of the irradiated nuclei. The reduced incorporation of tritiated deoxycytidylic acid in the presence of purified DNA from regenerating liver and regenerating liver supernatant obtained from animals killed at 24 hours after irradiation is taken to indicate loss of enzyme activity. Experiments on the recombination of irradiated cytoplasm with non-irradiated cytoplasm appear to exclude the existence of inhibitors. The observations with homogenates are supplemented by the finding of reduced incorporation of tritiated deoxycytidylic acid into irradiated nuclei in presence of unirradiated regenerating rat liver supernatant. It was concluded that this may result either from direct effect of Roentgen radiation on DNA or from interference with the mechanism that makes nuclear DNA available as primer.

There are some comparative studies of the biochemical effects of radiation on different biological systems, including the regenerating liver of the rat (BUTLER, SHOOTER, CRATHORN and McNAMARA 1962). Rats were given whole-body  $^{60}\text{Co}$  gamma-irradiation with a dose of 600 R at various times after partial hepatectomy; assays were made of DNA synthesis *in vivo* and of the relevant kinases *in vitro* 26 hours after operation. It was found that DNA synthesis was blocked by irradiation at times up to 20 hours, while irradiation up to 9 hours prevents the appearance of both thymidine and thymidylate kinases. Irradiation at 14 hours inhibits only the thymidylate kinase, but not the thymidine kinase. The radiosensitive periods for the different enzymes in the regenerating liver of the rat are thus: up to 9 hours for thymidine kinase, up to 14 hours for thymidylate kinase and up to 20 hours for DNA polymerase. This evidence appears to confirm the view that the radiosensitive stage for each enzyme is before or during its synthesis, while the enzymes already formed are relatively insensitive to radiation. (It is suggested here

that effects of irradiation on nuclear RNA synthesis may play a part in these processes.) Ehrlich ascites tumour cells were found to be rather unsatisfactory for study (BUTLER, SHOOTER, CRATHORN and McNAMARA 1962) on account of the natural loss of enzyme activity which occurs on incubation of these cells. Irradiation with a dose of 10000 R depressed the overall incorporation of thymidine into DNA by about 50 per cent but the major effect of this dose of radiation appeared to reduce the uptake of thymidine into the tumour cells; it seemed that the DNA which was taken into the cells was incorporated into DNA with the same efficiency as in the control cells. The same workers found that mouse lymphosarcoma cells in tissue culture were more suitable for these experiments, since the incorporation of thymidine into DNA continued at a constant rate for at least 6 hours with the medium used. A large dose of 10000 R of gamma radiation caused an immediate decrease in the rate of synthesis of DNA; a dose of 1000 R produced a progressive decline of the rate of DNA synthesis with time after irradiation, probably due to damage to the enzyme synthesizing systems. BIANCHI, BUTLER, CRATHORN and SHOOTER (1962) also studied the effects of total-body gamma irradiation on the thymidine kinases and DNA synthesis in the tissues of leukaemic mice. A marked depression of the final synthesis of DNA was produced by a dose of 600 R. The various steps in the incorporation of tritiated thymidine into highly polymerized DNA were followed at times from  $\frac{1}{2}$ —4 hours after irradiations. The activity in DNA was more depressed by irradiation than the step leading to the formation of thymidine monophosphate or triphosphate. The conclusion was reached that in these leukaemic mammalian cells, the DNA polymerase reaction appeared to be affected more by irradiation than either of the two previous steps in which the kinases were involved. Reference must be made to the experiments of MAIN, COLE and WALWICK (1962) on the effects of total-body Roentgen irradiation with a dose of 850 rads on the remaining kidney of rats previously subjected to unilateral nephrectomy at a time between 15 minutes and 7 days before irradiation. The results indicate that the irradiation causes latent injury to a system responsible for the induction of the enzymes in the kidney required for DNA synthesis when the radiation is applied prior to the time of induction. At this stage of the work, attempts to differentiate between kinase and polymerase activities were not made. It must be assumed that under these experimental conditions at least, DNA synthesis is one of the necessary events occurring prior to mitosis. On the other hand, from studies of enzyme preparations from rat thymus, WALWICK and MAIN (1962) concluded that the DNA primer and the enzyme system for DNA synthesis, preformed kinases, polymerases and glycolytic enzymes, were unaffected by roentgen-radiation in the dose range 250—10000 rads. In very different biological material, the plasmodial slime mould *Physarum polycephalum*, in which synchronous division can be produced easily, NYGAARD (1962), see NYGAARD and GUTTES (1962), found no effect on the DNA polymerase activity after Roentgen irradiation with a dose as large as 100000 R delivered at any stage in the cell cycle. Relatively smaller doses e.g. 21000 R lead to complete sterilization of the nuclei, without any measurable effect on DNA synthesis. In *E. coli* B, DRAKULIĆ and KOS (1962) investigated the relation between the stability of DNA and the colony-forming ability. After a dose of 16000 R there is a loss of DNA per cell as well as a loss of reproductive integrity. A number of substances were tested, which prevent the breakdown of DNA after irradiation; most of these substances e.g. sodium citrate, succinic acid, glutamic acid, ATP, AMP, DNP, salicylate and sodium azide, were found to inhibit DNA synthesis as well. The authors could not observe any positive correlation between the DNA content of the cells and viability after irradiation. They suggested that the radiation-induced breakdown of DNA in *E. coli* represents an unsuccessful attempt at reduplication and that the same enzymes may be involved in DNA breakdown as in DNA synthesis but in a disorganized sequence.

Irradiation of L cells in culture leads to a delay and inhibition of DNA synthesis and cell division. The DNA polymerase (deoxynucleosidetriphosphate: DNA nucleotidyl transferase, EC 2.7.7.7) activity of extracts of the irradiated cells reaches a minimum

when DNA synthesis is stopped. The decrease in the activity of DNA polymerase normally seen in extracts of cells engaged in active DNA synthesis in synchronized cultures is also delayed by irradiation (GOLD, HELLEINER and PERCY 1964).

It is clear that there are remarkably large differences in the effects of radiation on DNA synthesis in different types of cells, including different types of normal and malignant mammalian cells. In some proliferating cells, relatively small doses of radiation appear to damage the mechanism of synthesis of enzymes involved in the process of DNA synthesis. The details of the changes produced by irradiation appear to differ in different types of cells. In some experiments, the evidence points to effects which arise ultimately from direct action of the radiation on DNA in its environment in the nucleus of the living cell. Although emphasis is usually laid on the effects of radiation on the biosynthetic processes themselves, the importance of effects of radiation on the regulating mechanism concerned with the biosynthesis of DNA must be considered, especially because it is likely that some of the regulating mechanisms are disturbed in malignant cells. GOUTIER and BOLOGNA (1962) showed that in regenerating rat liver, the decrease in the inhibition of DNA synthesis produced by microsomal preparations, which is observed during normal regeneration, no longer takes place when the animals are irradiated with the large dose of 1000 R before partial hepatectomy. Further, in plant material, lily microsomes, HOTTA and STERN (1963) showed that moderate doses of Roentgen radiation affect both the synthesis and removal of thymidine kinase, while with relatively low doses e.g. 220 R administered before the time of synthesis of this enzyme, it is possible to distort the regulatory mechanism without affecting the process of synthesis appreciably. Comparison of the effects of Roentgen radiation with those of mitomycin C, acridine orange and 5-fluorodeoxyuridine (FUDR) suggest the possibility that the "disturbance of regulation" depends on effects on DNA itself.

Of great interest is the demonstration by SEED (1960) of inhibition of nucleic acid synthesis after localized Roentgen-irradiation of the nucleolus. Mouse heart fibroblasts grown in tissue culture were irradiated with a microbeam of soft (8 kV) Roentgen rays of effective diameter about  $2.5 \mu$ . The method was used in conjunction with ultraviolet photomicrography with quantitative measurements of ultraviolet absorption at the wavelength  $2536 \text{ \AA}$ . It was found that microbeam Roentgen irradiation of the nucleoli with a dose in the region of 500 R reduces the amount of total nucleic acid synthesized in the nucleus when measured at 3 to 7 hours after irradiation, while similar irradiation of the nuclear "sap" excluding the nucleoli does not show this effect. The optical density measurements "represent, of course, the sum of DNA, RNA and lower nucleotides and a small contribution from protein". It was considered that a reduction in DNA synthesis is probably involved in the radiation effect observed, while at the same time a reduction in RNA synthesis cannot be excluded; soluble nucleotides appear to play no part. It may be mentioned that after microbeam irradiation of a nucleolus, a slight "darkening" of the nucleolus could occasionally be discerned under phase contrast examination; this effect disappeared after a few minutes. The experiments of PERRY and ERRERA (1960) and PERRY, HELL and ERRERA (1961a), using a microbeam of ultraviolet radiation, will be referred to later (p. 437), since the main result observed was inhibition of synthesis of RNA. There appears to be no specific inhibition of DNA synthesis in L-strain mouse cells *in vitro* after irradiation with microbeams of either ultraviolet radiation or alpha-particles (SMITH 1962b; DENDY 1962a and b); moreover, in these experiments, irradiation of the cytoplasm and irradiation of the medium in close proximity of the cell also produce depression of synthesis of DNA.

#### e) Relationship between the inhibition of DNA synthesis by ionizing radiation and the content of NAD (DPN)

For many years, it has been suspected that nicotinamide-adenine dinucleotide NAD (DPN) plays an important role in the biochemical effects of radiation but until

recently it seemed that this could not be demonstrated at therapeutic levels of dosage.

*In vivo*, EICHEL and SPIRITES (1955) showed that total-body irradiation of rats with a dose of 980 R of X-rays lowered the level of DPNH in the liver by 15 to 32 per cent without producing more than a slight and probably insignificant increase in DPN level. Some years ago, Mrs. HOLMES (1939) found that the decrease in activity of the lactic dehydrogenase system in the brain tissue of 8-day embryo chicks, observed after irradiation with the very large dose of about 160000 R of  $\gamma$ -radiation, could be corrected by the addition of DPN. MAAS, HÖHNE, KÜNKELE and RATHGEN (1957) and MAAS and RATHGEN (1957) showed that high doses e.g. 25000 R of roentgen-radiation lead to a striking decrease in the stationary concentration of NAD in Yoshida ascites tumour cells; the decrease in NAD level has been found immediately after irradiation and is reversed by nicotinamide (MAAS, RATHGEN, KÜNKELE and SCHUBERT 1958). Nicotinamide reduces the lethal effects of radiation *in vitro* of Ehrlich ascites tumour cells, when tested by transplantation, and thus acts as a radiation protector for the tumour cells, while on the contrary it does not protect the normal tissues of the mouse against the lethal effects of total-body irradiation (KOCH and SEITER 1961), ROITT (1956) had shown that nicotinamide prevents the inhibition of glycolysis by tri-ethylene melamine in ascites cells. HOLZER and SEDLMAYER 1956 (see KRÖGER *et al.* 1960) showed that nicotinamide inhibits the radiomimetic effects of a number of ethylenimines and  $H_2O_2$ , whose action was thought to inhibit NAD synthesis.

In recent years, it has been found that DPN (NAD) pyrophosphorylase, the enzyme synthesizing NAD from ATP and nicotinamide mononucleotide is located within the cell nucleus in normal mammalian tissues and malignant tumours (MORTON 1958; see SIEBERT 1963). The specific activity of this enzyme, when related to DNA is constant; the enzyme is firmly bound to nuclear material and located with the nucleoproteins which constitute most of the chromosomes. It appears that NAD kinase, which synthesizes NADP (TPN), is not found in cell nuclei.

Reference has been made (p. 370) to the work of SCAIFE (1963a) who showed that there is a rapid loss of NAD from thymocytes following irradiation *in vitro* or *in vivo*, which is evident with doses as small as 25 rads. There is no concomitant rise in the  $NADH_2$  levels following irradiation. The loss of NAD occurs principally from the nucleus of the cell and is characterized by an intracellular release of NADase from the mitochondria and from the nucleus into the cytoplasm. Following irradiation there is a reduced capacity of thymocytes to synthesize NAD from 7- $^{14}C$ -nicotinamide either *in vitro* or *in vivo*. The administration of nicotinamide does not prevent the development of pyknotic degeneration in the irradiated thymocytes. It is relevant to note that no change in the RNA content of the thymus was observed under the experimental conditions in which the NAD content was reduced.

There appears to be a relationship between the effects of both irradiation and nicotinamide on the NAD (DPN) content and incorporation of thymidine and other precursors into DNA in ascites tumour cells (HILZ, v. GOSSLER, OLDEKOP and SCHOLZ 1961; HILZ, HUBMANN, OLDEKOP and v. GOSSLER 1962). The results of some of these experiments are given in Table 9. Similar results were obtained using 6- $^{14}C$ -orotic acid,  $^{32}P$  phosphate and 1- $^{14}C$ -ribose as precursors and also with another strain of Ehrlich ascites cells and with Yoshida ascites cells. All these findings demonstrate a dependence of the DNA synthesis upon the NAD content of the tumour cells. The irradiated tumour cells show a parallelism in the effects on NAD content and DNA synthesis. Both processes show at least partial restoration after the addition of nicotinamide. The metabolic conditions of the cells after irradiation proved to be important in these experiments. When the irradiated cells are incubated aerobically in ascites fluid with the addition of glucose, irradiation with a dose of 3000 R produces a 50—90 per cent reduction of NAD content and of incorporation of thymidine into DNA, while under similar conditions, without

the addition of glucose, there is only a 10—25 per cent reduction in the NAD content and thymidine incorporation. However, under anaerobic conditions with glucose added irradiation with the dose of 3000 R reduces the NAD content and thymidine incorporation into DNA to 30—40 per cent of the control values. It was found that glucose inhibits the incorporation of thymidine into DNA in non-irradiated cells to a considerable extent, down to about a third of the value in the absence of added glucose.

The dose dependence of these changes is of interest. For incubation of the irradiated cells under aerobic conditions in the presence of glucose, the NAD content and the DNA synthesis were reduced in parallel to 50 per cent of the control values after a dose of about 2500 R, to 25 per cent after about 7000 R and to about 10 per cent after 20000 R. The effects were much less when nicotinamide was added during the incubation; the values for the unirradiated controls rose to about 120 per cent of those in the absence of nicotinamide and the values

Table 9. *Effects of Roentgen radiation and of nicotinamide on the NAD (DPN) content and incorporation of tritiated thymidine into DNA in Ehrlich mouse ascites tumour cells (after HILZ et al. 1962)*

Nicotinamide	Dose of radiation	NAD content		DNA synthesis	
		$\Sigma\mu\text{M}$	Per cent of control value	Counts per min.	Per cent of control value
Absent	0	39.0	100	9900	100
	3000 R	14.5	37	4200	42
Present (Final concentration $4 \times 10^{-3}$ M)	0	45.5	117	12000	121
	3000 R	35.0	90	8300	84

The vessels (in duplicate) were incubated at 37° C with air/CO<sub>2</sub> (95/5) and analysed at the latest at 20 minutes after irradiation of the tumour cell suspension (0.10 ml. cells in 1.20 ml in ascitic fluid).

heavily irradiated cells progressively lose the capacity to restore the normal levels of NAD after addition of nicotinamide. Associated experiments showed that the respiration of the tumour cells is highly radioresistant. Under comparable conditions the concentration of ATP shows only a slight and delayed fall (cf. MAAS, HÖHNE, KÜNKEL and RATHGEN 1957). Perhaps the most plausible explanation of the results is on the basis of the findings of ABRAMS, LIBENSON and EDMONDS (1960) who showed that in ascites cells, the formation of deoxycytidine phosphate from cytidine phosphate is specifically dependent upon NADH<sub>2</sub> (DPNH). However, HILZ *et al.* (1962) showed that even in the presence of the four deoxyribosides of DNA added in excess, there was still a strict parallelism in the decrease of synthesis of DNA and in the fall of NAD content of the ascites tumour cells after irradiation.

Irradiation of Ehrlich ascites tumour cells *in vitro* with increasing doses of Roentgen radiation up to 25000 R results in progressively increasing damage with comparable reduction of DNA-synthesis, NAD(DPN) content and glycolysis, a lesser reduction of protein synthesis and only slight reduction of respiration. Addition of nicotinamide, in final concentration  $4 \times 10^{-3}$  M, to the medium (80 per cent ascites serum) prevents to a large extent the reduction of DNA-synthesis, NAD content and glycolysis after irradiation. Autoradiographic studies with tritiated thymidine demonstrated that the addition of nicotinamide after irradiation with a dose of 5,000 R restores DNA synthesis almost to normal, not only by increasing the number of cells synthesizing DNA but also by increasing the level of labelling in the individual cells (HILZ and BERNDT 1964). The participation of NAD(DPN) deficiency in the inhibition of DNA synthesis produced by irradiation of tumour cells is emphasized by MAASS (1963). Damage to NAD metabolism probably plays a still greater role in the inhibition of tumour growth by alkylating agents.

fell almost linearly with dose to about 60 per cent (i.e. to about half the initial value) after a dose of 14000 R; with still higher doses the fall became more gradual. Again in all these experiments there was a strict parallelism of the decrease in NAD content and in DNA synthesis. It appears that with increasing doses of radiation, the

It may be suggested here that NAD is an intrinsic part of the macromolecular DNA-protein complex of the nucleus and participates in the "macromolecular lesion" when this complex is damaged by irradiation at therapeutic levels. It is essential to find out whether NAD is altered or its formation inhibited by radiation with a very high efficiency when associated with DNA, perhaps as a result of some mechanism of energy transmission (p. 449) in the quasicrystalline hydrated macromolecular system of the nucleus. It is likely that NAD, and perhaps also NADP, must be in the oxidized forms for maximum efficiency of the lethal action of radiation; such a mechanism would be consistent with radiosensitization by oxygen, and also by Synkavit, 2-methyl-1,4-naphthaquinol bis (disodium phosphate) (MITCHELL 1960; MITCHELL and MARRIAN 1963). It may be of interest to mention the finding of a DNA associated with crystalline yeast lactic dehydrogenase (MAHLER and PEREIRA 1962). Further since oxidative phosphorylation appears to be involved in the action of radiation, note must be taken of the existence of a phosphorylated derivative of NADH<sub>2</sub> (GRIFFITHS 1963). It seems certain that NAD itself in solution is *not* particularly radiosensitive.

Dr. A. J. SWALLOW (1955) has shown that *in vitro* in the absence of oxygen, NAD is reduced by irradiation with R and  $\gamma$ -rays to form an unnatural derivative, which is probably a di-mer, in the presence of ethanol or other suitable hydrogen donor. It is to be noted that for this reaction oxygen must be *absent*. The product of irradiation did not function as a coenzyme for lactic or alcohol dehydrogenase. The yield was found to be 6.9 molecules reduced per 100 eV under the experimental conditions in the presence of 0.5 M. ethanol (see COLLINSON and SWALLOW 1956; STEIN and SWALLOW 1958). BARRON, JOHNSON and COBURE (1954) (see BARRON 1950) found that in aqueous solution in the presence of oxygen, there was no detectable reduction of NAD by X-rays, with a dose of 100,000 R, the yield being only 0.003 per 100 eV, but that NADH<sub>2</sub> was oxidized much more readily, the extent of the oxidation being proportional to the X-ray dose. Under the experimental conditions, some oxidation was observed with a dose of 1,000 R. However, the yield was 1.5 per 100 eV so that the reaction is not unusually radiosensitive. The pyridine ring of nicotinic acid is relatively resistant to the attack of radicals produced by radiation in solution (GOLDBLITH, PROCTOR, HOGNESS and LANGHAM 1949).

It is of interest that NAD pyrophosphorylase has been found to be many times more resistant to Roentgen irradiation in isolated nuclei than in an equally active solution free of nuclei (ADELSTEIN 1962; ADELSTEIN and BIGGS 1962).

#### f) Some general considerations including effects of irradiation in the G<sub>2</sub> phase

In considering the radiosensitivity of the different phases of the cell cycle, it is essential to discuss the very high degree of radiosensitivity during the G<sub>2</sub> phase. This process appears to correspond to the classical description of pre-prophase inhibition of mitosis in mammalian cells. It is clear that the definition of the onset of mitosis depends on the cytological criteria used, so that possible discrepancies in the timing of the stage of maximum radiosensitivity in different biological materials are likely to be more apparent than real. Consideration must also be given to the process of arrest occurring in the pre-prophase stage after irradiation at some earlier stage of the cycle.

It is of great interest that in accurate experiments to localize metabolic events within the cell cycle in S<sub>3</sub> HeLa cells *in vitro*, PUCK and STEFFEN (1963) found that there was critical point of time for subsequent mitotic inhibition for irradiation in the central region of G<sub>2</sub>; for irradiation in this critical region of time, a definite lag was found with a dose of 9 rads.

It appears to me that there is evidence which suggests that colloid-physical processes may play a part in the process of mitotic inhibition by small doses of radiation in the G<sub>2</sub> phase. We have seen (p. 361) that temporary inhibition of mitosis can be observed in the embryonic neuroblasts of the grasshopper after irradiation with doses as small as

1 R (CARLSON 1954). In this material recovery from the radiation-induced mitotic inhibition results from the application of hypertonic saline solution within 60 seconds after irradiation with doses as high as 50—60 R (GAULDEN 1956; see HOLLAENDER 1957). The evidence suggests that the effects of radiation in producing mitotic inhibition are reversible in the initial stages of the process.

A number of experiments including those on the effects of radiation on the regenerating rat liver confirm the conclusion that the very high radiosensitivity of the pre-prophase stage has no direct relationship to DNA synthesis. However, it is relevant to point out that the pre-prophase stage corresponds to the *stage of assembly* of the nucleoprotein macromolecules into the array, which constitutes the organized structure characteristic of the chromosome. On general grounds, and in terms of information theory, c.f., QUASTLER (1958), it is plausible to associate this complex process of the assembly of macromolecules, to form a large structure, with a very high degree of radiosensitivity. Moreover, it is also plausible to associate the macromolecular reorganisation, including enzyme production, necessary in the presynthetic phase with a higher degree of radiosensitivity than the synthetic phase, which is characterized by enzyme action. It may be envisaged that, while the immediate effect of irradiation leading to pre-prophase inhibition, is primarily a colloid-physical process which interferes with the assembly of the nucleoprotein macromolecular units, irradiation at an earlier stage in the cell cycle introduces errors in the structure of the nucleoprotein macromolecules so that, when these reach the stage of pre-prophase, there is difficulty in the assembly resulting in delay or blockage of the process.

It appears reasonable to envisage that all these processes are determined ultimately by the structure of the DNA. An oversimplified model is provided by the occurrence of association of high polymers, such as polyvinyl chloride, in solution in suitable solvents to form particles (see HENGSTENBERG and SCHUCH 1962). Probably the most important single factor is the length of the individual macromolecules of DNA in situ in the nucleus.

### 3. Some aspects of the relationship between DNA and RNA and protein synthesis, with special reference to the effects of irradiation

The problem of the action of radiation on RNA and its important fractions has been discussed with special reference to the effects of low doses (see pp. 376—380). Additional evidence is available mainly for higher doses and for cytological studies, including the effects of irradiation on the nucleolus and changes which must be regarded as secondary to mitotic inhibition.

The position is in general simpler for bacterial cells than for mammalian cells. It is useful to discuss the results of some experiments with bacteria. The quantitative relations between the inhibiting effects of radiation on colony formation, synthesis of DNA, RNA and total protein and induced synthesis of an enzyme, lysine decarboxylase have been studied immediately after Roentgen irradiation in *Bacterium cadaveris* (PAULY 1963a and b). All the dose effect curves, except that for total protein synthesis after anaerobic irradiation at rather high doses, are exponential. The curves for RNA and enzyme synthesis have practically the same radiosensitivity, with values of  $D_{37}$  of 9.5 and 10 kR respectively under aerobic conditions. It is concluded that radiation inhibition of the protein synthesis is a consequence of a primary block of RNA synthesis (c.f. HOAGLAND 1960; GROSS 1960). Reference must be made to the experiments of NOVELLI, KAMEYANA and EISENSTADT (1961) who showed that roentgen radiation in comparable doses destroyed the DNA component in a cell-free system of *E. coli*, which is able to synthesize  $\beta$ -galactosidase. These workers concluded that irradiation blocked the formation of messenger RNA by radiation inactivation of the DNA matrix. Moreover, addition of non-irradiated DNA to the irradiated system restored the capacity to synthesize  $\beta$ -galactosidase. Returning

to the experiments of PAULY (1963a and b) on *B. cadaveris*, the dose-effect curves for colony-forming ability show values of  $D_{37}$  of 3.2 kR for aerobic irradiation and 11.4 kR for anaerobic irradiation. Accordingly the colony forming ability is about three times as radiosensitive as the synthesis of RNA and the enzyme. The formation of DNA behaves in a manner very similar to colony-formation but shows a prolongation of the time-lag after irradiation. For all the properties tested, the oxygen enhancement ratio is roughly the same, with values between 3.5 and 4.0. It is to be noted that different results were obtained with the photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas spheroides* (CLAYTON and ADLER 1962). In this bacterium, the capacity for induced catalase synthesis is inhibited by relatively low doses of Roentgen radiation (e.g. 2—4 kR in air and in the dark) to approximately the same extent as the ability to form colonies. These processes of inhibition are manifested fully within a few minutes after irradiation. In other experiments with bacteria, *E. coli*, BILLEN (1959, 1963) has shown that increased resistance to killing by Roentgen rays is associated with increased content of DNA, resulting from unbalanced growth, in the absence of RNA and protein synthesis. Omission of thymine in the presence of chloramphenicol resulted in an elevated RNA content relative to DNA and in increased radiosensitivity.

It is important to find out how far results of this type for bacterial cells are applicable as a model for explaining the behaviour of mammalian cells. In general, the mammalian cells are much more radiosensitive than bacterial cells. As we have seen (p. 364), for the delayed killing of many types of mammalian cells in culture by Roentgen and gamma-radiations, as measured by the inhibition of colony-forming ability, the values of  $D_{37}$  are approximately 140 rads for irradiation under aerobic conditions and approximately 350 rads under anaerobic conditions. It is to be noted that the dose-effect curves are often of approximately two-hit type, though values of the extrapolation number between 1.4 and about 10 have been reported. However, it is clear that for the relevant properties, mammalian cells including human tumour cells are 20—30 times more radiosensitive than the bacterial cells studied. In mammalian cells, it has become clear that some fractions of nuclear RNA and of nuclear proteins are highly radiosensitive, although the processes of synthesis of total proteins are relatively radioresistant (see HEVESY 1949a and b; ABRAMS 1951; HOLMES and MEE 1952; FORSSBERG and KLEIN 1954; HOKIN and HOKIN 1956). It is relevant to note that at doses of 750—1,500 R, Roentgen irradiation of rats at 2—12 hours after partial hepatectomy failed to produce a significant effect on the activity of RNA polymerase of the cell nuclei as measured by incorporation of uridine triphosphate  $-\alpha\text{-}^{32}\text{P}$  (CHAMBON, MANDEL, WEILL and BUSCH 1962). Interesting comparative information is available for the effects of irradiation on the incorporation of  $^{14}\text{C}$ -leucine into the proteins of the liver of normal and of partially-hepatectomized rats (SARKAR, DEVI and HEMPELMANN 1961). It is important to note that the normal liver differs qualitatively from the liver undergoing regenerative hyperplasia after partial-hepatectomy. Roentgen irradiation with doses of 1,000 R or 2,000 R leads to an increase in the isotope concentration in the proteins of the normal liver, while for the regenerating liver exposed to a dose of 1,000 R, a decrease in the isotope concentration in liver proteins is found if the animals are irradiated within 6 hours after operation. Approximate comparison with the effects of radiation in producing inhibition of synthesis of DNA in the regenerating rat liver suggests that DNA synthesis is at least 5 times as radiosensitive as the incorporation of  $^{14}\text{C}$ -leucine into proteins. It may be mentioned here that HEVESY (1949b) had demonstrated stimulation of incorporation of acetate into liver proteins and this had been confirmed by KAY and ENTENMAN (1956) using  $1\text{-}^{14}\text{C}$  glycine. RICHMOND, ORD and STOCKEN (1957) found slightly increased incorporation of amino acids *in vivo* into various liver cell fractions isolated at 1 hour after doses of 500 R and 1,000 R. These investigations deal with relatively crude biochemical effects of radiation but the results emphasize the complexity of the changes occurring in mammalian cells. Much more refined analysis of the problem is essential.

There appears to be genetic control of radiosensitivity as shown by evidence for both *E. coli* (RÖRSCH, EDELMAN and COHEN 1962; 1963; HOWARD-FLANDERS, BOYCE and THERIOT 1962) and mammalian haematopoietic tissue (BERNSTEIN 1962). The same is probably true for malignant tumours despite complicating features. In a survey of the radiosensitivity of mouse ascites tumours (HAUSCHKA 1963), many of which are transplantable from a single viable cell, it was found that the near-diploid tumours were able to survive Roentgen-irradiation with doses that were lethal for comparable heteroploids and unbalanced polyploids (see p. 363). In a study of the behaviour of different strains of mouse L cells (WHITFIELD and RIXON 1960), the only two cell properties which were consistently associated with radioresistance were chromosomal, viz. the absence of a long metacentric chromosome and a lower modal chromosome number in the resistant derivatives of radiosensitive lines. No evidence was found to relate radiation resistance in L cells to increased catalase activity, glycolysis or rate of oxygen consumption.

There have been a number of attempts to express the biochemical effects of irradiation in terms of molecular radiobiology. It was suggested that the delayed killing of tumour cells in radiotherapy was based on a "macromolecular lesion" involving DNA in the deoxyribonucleoprotein system of the nucleus, with participation of enzyme systems including NAD (DPN) and NADP (TPN) (MITCHELL 1956, 1960; see also MITCHELL and MARRIAN 1963).

The demonstration by SZYBALSKI (1960) that incorporation of the thymidine analogues 5-bromo- and 5-iodo-desoxyuridine into the DNA of human cells in tissue culture before Roentgen irradiation produces radiosensitization, following the observations that 5-bromouracil increased the sensitivity of *E. coli* to ultraviolet radiation (GREER and ZAMENHOF 1957) and to Roentgen radiation (KAPLAN and TOMLIN 1960—see p. 366), has led to the conclusion that for the delayed killing of cells by ionizing radiation, the principal target is DNA or at least an essential part of the DNA. However, the possibility of alternative explanations e.g. that the effect of 5-bromodesoxyuridine is exerted not on the primary lesion but on post-irradiation recovery processes (ALEXANDER, BEER, DEAN *et al.* 1963), must be mentioned. Nevertheless, there is a great deal of further evidence in this field including the effect of the base composition of the DNA on radiosensitivity (KAPLAN 1962, KAPLAN, ZAVARINE and EARLE 1962), which supports the view that DNA is the principal target for both ionizing and ultraviolet radiations. In the case of ultraviolet radiation for wavelengths falling within the absorption band of DNA e.g. 2536 Å, the evidence appears to be consistent with the view that the absorption of energy occurs within the DNA itself and produces local photochemical changes. However, with ionizing radiations, the mechanism of energy absorption is almost certainly different, so that even if DNA is the principal target, the mechanism by which its biological functions are damaged by ionizing radiation is likely to be different from that for ultraviolet radiation. The parallelism observed between the effects of irradiation on the NAD content and DNA synthesis in ascites tumour cells (HILZ, HUBMANN, OLDEKOP and v. GOSSLER 1962) is of great relevance in considerations of the effect of oxygen (see HUDSON and CATER 1964). Of particular interest, are the experiments of STRAZHEVSKAYA and STRUCHKOV (1962a and b) which demonstrate "disruption of the state of the DNA supramolecular structure" after irradiation *in vivo* (see p. 383). It is important to refer here to the labilization of the linkages between DNA and the proteins of the cell nucleus and the increased extractibility of DNA, together with the loss of nuclear proteins observed after irradiation (HAGEN 1960, 1962; ERNST 1961). Note must also be taken of related studies including evidence for changes in the physical properties of DNA isolated from mammalian cells after irradiation *in vivo* (see p. 441).

We have seen that the evidence for the biochemical effects of irradiation, especially at therapeutic levels of dose, has changed in emphasis from primary interference with the process of biosynthesis of DNA to consideration of the importance of damage to DNA *in situ* in the living cell. Many aspects of this problem are still unsolved. However,

it must be assumed that interference with the biological functions of DNA leads to a far reaching biochemical disturbance and can result in the death of the cell.

As already mentioned (p. 377) it is generally accepted that in the living cell, the sequence of nucleotides in the relatively stable DNA, is transcribed into a corresponding sequence in the transient messenger RNA and this in turn is translated into the sequence of amino acid residues in proteins. The transcription is under genetic control, as are some aspects of the mechanism of translation. The mediators of the process are, at least at the macromolecular level, the enzymes, the ribosomes and the transfer RNA. The messenger RNA theory, developed on the basis of observations with microorganisms (JACOB and MONOD 1961, BRENNER, JACOB and MESELSON 1961), is concerned with a species of RNA with the following properties: a nucleotide composition, similar to that of the DNA of the cell, the ability to stimulate the incorporation of amino-acids into protein by ribosomes and a rapid rate of turnover, though this may not be essential (ALLFREY 1963, p. 347). It appears that ribosomes are present in the nucleolus (BIRNSTIEL, CHIPCHASE and HYDE 1963). Attention has also been drawn to occurrence in mouse cells of an RNA fraction, which is nearly as stable as the DNA (HEVESY and FORSSBERG 1961). There is considerable evidence for the participation of DNA in RNA synthesis (WEISS and NAKAMOTO 1961) including DNA dependent incorporation of nucleotides from nucleoside triphosphates into RNA (OCHOA, BURMA, KRÖGER and WEILL 1961). It is of interest that Actinomycin D appears to produce specific inhibition of DNA-dependent RNA polymerase *in vitro* (HURWITZ, FURTH, MALAMY and ALEXANDER 1962) and of RNA synthesis *in vivo* (REICH, FRANKLIN, SHATKIN and TATUM 1962) and in isolated ascites tumour cell nuclei (TAKAHASHI, SWINT and HURLBERT 1963), apparently as a result of complex formation with DNA. From the point of view of "radiosensitization" in the combined action of ionizing radiation and Actinomycin D (DI PAOLLO, MOORE and NIEBALLA 1957; D'ANGIO, FARBER and MADDOCK 1959), it is of interest to note that Actinomycin D, in addition to preventing incorporation of uridine into RNA, also prevents the 'migration' of previously incorporated radio-active uridine in acid insoluble form from the nucleus to the cytoplasm of HeLa cells (LEVY 1963).

The association of DNA with specific histones can modify considerably the ability of the DNA to function as a template for RNA synthesis (HINDLEY 1963); this finding is of interest in relation to the gene-inhibition hypothesis of STEDMAN and STEDMAN (1950, 1951), according to which the histones specifically block those parts of the DNA structure not required in a given type of cell (see PHILLIPS 1961).

Calf-thymus histone fractions were found to inhibit the biosynthesis of DNA *in vitro*; the inhibition could be explained on the basis of DNA-histone interaction (HNILICA and BILLEN 1964).

Evidence is accumulating in support of the existence of species of RNA analogous to messenger RNA in mammalian cells (e.g. SIBATANI, DE KLOET, ALLFREY and MIRSKY 1962; GEORGIEV and MANTIEVA 1962; HIATT 1962; BRAWERMAN, GOLD and EISENSTADT 1963). Further, it is becoming clear that aggregates of ribosomes (polysomes) are the primary site of protein synthesis in mammalian cells (WARNER, KNOPF and RICH 1963; PENMAN *et al.* 1963; WETTSTEIN, STAEHELIN and NOLL 1963) as well as in bacteria (RISEBROUGH, TISSIERES and WATSON 1962; GILBERT 1963). The integration into polypeptides of amino acid residues bound to transfer RNAs requires guanosine triphosphate (GTP) and a "transfer enzyme" (CHANTRENNE 1962, p. 3). However, one must keep an open mind concerning the possible existence of another pathway to protein synthesis.

Evidence concerning the problem of ribonucleic acids with special reference to the nucleus of the cancer cell has been reviewed by SIBATANI (1963). However, at the present time little is known of the details of this problem. The possibility that there may be a second coding relationship between DNA and RNA of importance in malignancy is being investigated by LESLIE (1962, p. 644).

From a considerable body of evidence, it appears reasonable to suggest that malignant tumours are characterized by uncontrolled synthesis of the part of RNA associated with the nucleolus and that the selective action of therapeutic doses of radiation on malignant cells involves this part of the RNA (see p. 379). This may mean that in malignancy, the synthesis of part of the RNA, probably that part with messenger function, has become **independent** i. g. of control by DNA. This is a matter for further investigation. As part of this problem, in relation to the biochemical effects of therapeutic doses of radiation upon normal and malignant cells, much further investigation is necessary to test the hypothesis that in at least some mammalian cells, the synthesis of messenger RNA is a highly radiosensitive process (see p. 378).

Quantitative cytochemical studies can be expected to make a relevant contribution to the elucidation of these problems. We have seen (p. 376) that the processes of incorporation of phenylalanine into the proteins of the nuclei of thymus cells and liver cells (ERRERA *et al.* 1958; FICQ and ERRERA 1958; LOGAN, ERRERA and FICQ 1959) appear to include a highly radiosensitive mechanism, while on the other hand, the incorporation of leucine into the proteins of the nuclei of the liver and epithelium of the crypts of the small intestine is radioresistant (GERBAULET, BRÜCKNER and MAURER 1961). RICHMOND, ORD and STOCKEN (1957) found that 2-<sup>14</sup>C-glycine and <sup>14</sup>C-lysine incorporation into the nuclear proteins of the thymus were inhibited at 1 hour after a dose of 1,000 R, while uptake into proteins of some cytoplasmic fractions was unaffected. PELC (1956) studied the effect of total-body irradiation on the incorporation of <sup>35</sup>S-methionine into mouse trachea epithelial cells by means of autoradiography and found inhibition of nuclear but not cytoplasmic uptake at 4 hours after either 200 R or 1,000 R. Some years ago, using <sup>15</sup>N-glycine, Mrs. APPELYARD (1949) found that 1½ hours after irradiation of the Jensen rat sarcoma with a dose of 2,000 R of Roentgen radiation, there was no appreciable inhibition of the synthesis of the protein component of the ribo-nucleoprotein or of the albumins and globulins but there was a small inhibition of synthesis of the protein component of the desoxyribonucleoprotein.

Studies of the effect of Roentgen irradiation on the Ehrlich ascites tumour of the mouse (KLEIN and FORSSBERG 1954) showed that whole-body Roentgen irradiation with a dose of 1,250 R inhibits mitosis for at least 48 hours, while RNA and protein synthesis continue, though DNA synthesis is greatly reduced. In similar experiments, CASPERSSON, KLEIN and RINGERTZ (1958) showed that the effect of the Roentgen irradiation on DNA synthesis was probably not a direct one since irradiated cells continued to synthesize DNA up to the premitotic level. Mitosis was prevented, the number of cells with the premitotic content of DNA increased and the number engaged in synthesis fell. Measurements of total dry mass and of ultraviolet absorption at the wavelength 265 mμ indicated that protein and RNA synthesis were not affected appreciably. Further, it has been shown that the protein that accumulates in the nucleus after the mitotic block does not depend on active synthesis of DNA for its origin, at least up to 120 hours after Roentgen irradiation with a dose of 1,100 R (KILLANDER, RIBBING, RINGERTZ and RICHARDS 1962). The total dry mass and DNA content of the nuclei in the cells of the Ehrlich ascites tumour were determined by scanning microinterferometry and by microphotometry of Feulgen stain. By plotting total dry mass against DNA content for the same individual nuclei, it was shown that in tumour cells which had ceased to synthesize DNA, having accumulated it up to the normal premitotic amount after irradiation, the nuclei continued to synthesize or accumulate protein up to several times more than the normal predivision value. From these experiments, it must be concluded that in the Ehrlich ascites tumor cells, the cessation of DNA synthesis, associated with the mitotic block produced by irradiation with a dose of 1,100 R, is not accompanied by an arrest of synthesis of nuclear protein.

The effect of Roentgen irradiation on nuclear histone content has been studied in Ehrlich ascites tumour cells at 48 hours after a dose of 1100 R (RINGERTZ 1963). After irradiation the average DNA content of the tumour cells increased and an accumulation

of cells with DNA values close to the tetraploid level was found after 48 hours. The histone content of the irradiated nuclei also increased in comparison with the un-irradiated nuclei but there was an accumulation of histone values somewhat below the tetraploid level. At 48 hours after irradiation practically all the cells attained the premitotic levels of both DNA and histone. It also appeared from the measurements of the nuclear dry weights that the content of non-histone protein had increased considerably.

The relationship between nuclear and cytoplasmic RNA is still a matter for investigation. BRACHET (1960) concluded that "the nucleus is the more important site of RNA synthesis". The site of synthesis of cytoplasmic RNA with special reference to HeLa cells remains an open question (HARRIS and WATTS 1962; HARRIS 1963). SINGH and KOPPELMAN (1963) concluded that for HeLa cells their "results were consistent with a 'partial' precursor-product relationship in which the nuclear RNA acted as a precursor to a major fraction of the cytoplasmic RNA".

It is relevant to mention here the experiments of PERRY and ERRERA (1960, p. 24) and PERRY, HELL and ERRERA (1961a), which support the view that a major part of the RNA of the cytoplasm is synthesized in the nucleolus. Selective irradiation of the nucleoli of HeLa cells growing in tissue culture by means of an ultraviolet microbeam reduced the capacity of the nucleoli to incorporate tritiated cytidine into RNA by more than 90 per cent. Approximately two-thirds of the cytoplasmic incorporation of RNA is directly dependent on the nucleolus, while less than one-third of the incorporation into the extranucleolar parts of the nucleus is dependent on the nucleolus. These results are of great interest in relation to the experiments of SEED (1960) in which microbeam irradiation of the nucleoli of mouse heart fibroblasts in culture, with doses of soft (8 kV) Roentgen rays in the region of 500 R was shown to reduce the total amount of nucleic acids synthesized in the nucleus while similar irradiation of the nuclear "sap", excluding the nucleoli, did not have this effect (see p. 428). Calculations made jointly by Dr. R. P. PERRY and Dr. J. SEED for these two sets of experiments, showed that on the basis of energy absorption, the dose of ultraviolet radiation was roughly one million times that of the Roentgen rays (MITCHELL 1960, p. 53).

The effects of a single dose of 8,000 R of Roentgen radiation on the behaviour of the ribonucleoproteins (RNP) in the Walker rat carcinoma have been studied in detail by PARCHWITZ and WITTEKIND (1958), see also PARCHWITZ and PARCHWITZ (1957). At 10 minutes after the dose of 8,000 R, there was an increase in the concentration of RNP in the nucleoli and a decrease in the concentration of RNP in the cytoplasm; there was a detectable increase in the volume of a great number of nuclei and an impression of enlargement of the nucleoli. From 3—7 hours after irradiation, there was extrusion of RNP from the nucleoli into the nucleus and then into the cytoplasm, with increase in the cytoplasmic concentration of RNP; the RNP concentration in the cytoplasm became greater than that in the nucleoli. Then the same series of events repeated itself between 9 and 28 hours after irradiation. At 2—7 days, there was an increasing proportion of cells with nucleoli containing a large amount of RNP and cytoplasm almost free from RNP; it seemed inevitable that cells showing these changes would die. It was suggested that the cyclical changes observed represented attempts at cell division which had failed.

It may be of interest to recall that the earliest cytological effects of the chemotherapeutic agent 2:5-bis-ethylenimino-3:6-dipropoxyl-1:4-benzoquinone (E 39) were observed in the nucleoli of the tumour cells (DOMAGK 1958).

Electron-microscopic studies of the effects of Roentgen irradiation on the ultrastructure of regenerating rat liver cells have been described by DAVIS (1962, 1963). A dose of 450 R leads to disappearance of the alpha-cytomembranes, which have been regarded as consisting largely of ribonucleoprotein and acting as a vehicle for the transfer of this material from the nucleus to the cytoplasm. There are changes in the morphology of the nucleoli at the time of formation of alpha-cytomembranes after irradiation, the nucleolonema fibres are no longer clearly visible. It appears that alpha-cytomembrane produc-

tion always occurs in regenerating rat liver before mitosis commences. If the cells are irradiated before alpha-cytomembrane formation, the formation of these cyto-membranes commences as soon as the effect of the radiation has worn off and mitosis then follows. If, however, the cells are irradiated after the formation of the alpha-cytomembranes, it appears that although these membranes are lost in the cytoplasmic vacuolation occurring, mitosis can take place without any new production of alpha-cytomembranes (DAVIS 1962, 1963).

Reference has already been made (p. 380) to the accumulation of RNA and diffusible ribonucleotides in human and mammalian tumours after irradiation with doses of less than about 750—1,000 R (MITCHELL 1940, 1942a—c, 1943, 1944). These changes were first detected by ultraviolet photomicrographic methods, combined with histochemical studies including the use of ribonuclease. The pentose nucleotides were also extracted and studied by measurement of the ultraviolet absorption spectrum. As has been mentioned, it is likely that the ultraviolet-absorbing substances observed included desoxyribonucleotides and desoxyribonucleosides (BISHOP and DAVIDSON 1957; ORD and STOCKEN 1958; SOŠKA *et al.* 1961; BENEŠ and SOŠKA 1962) and also soluble desoxyribo-polynucleotides (COLE and ELLIS 1957; SKALKA, MATÝAŠOVÁ and SOŠKA 1962). In my early work on the accumulation of '*pentose nucleotides*' in cytoplasm and the inhibition of synthesis of DNA after irradiation, a substantial increase in cytoplasmic absorption at 2537 Å was found in a number of human malignant tumours at 80 minutes after irradiation. The magnitude of the increase was consistent with the accumulation in the irradiated cytoplasm of ribonucleotides in additional local concentration often in the region of 3 per cent. It is important to note that the increase in nucleotide absorption occurs almost entirely after irradiation with doses less than 750 to 1,000 R; at higher doses usually there is no increase of cytoplasmic absorption and often a definite decrease, which presumably is due to interference with less radiosensitive metabolic processes. In the human tumour cells, the accumulation of RNA after irradiation with Roentgen and gamma rays is found mainly in the cytoplasm but is also partly intranuclear, especially in the nucleoli. It was suggested (MITCHELL 1943) that the process probably inhibited by Roentgen and gamma radiation was the conversion of ribonucleotides to desoxyribonucleotides which was considered to occur normally in the nucleus.

It appears that a number of histochemical studies have confirmed the finding of an accumulation of substances identified as RNA after irradiation (PETRAKIS, ASHLER and FERKEL 1949; HAMILTON 1952; GUSBERG, TOVELL, LONG and HILL 1956; KRITTER and HEROVICI 1956; HEROVICI and AN 1958; see also DE NICOLA 1950). In some of these investigations, an attempt has been made to determine whether the histochemical changes can be used to predict the radiocurability or radioresistance of individual human tumours.

In histochemical studies with methyl-green and pyronin staining of biopsy specimens taken from seventy-nine patients with various types of accessible malignant tumours before and after irradiation, Dr. L. D. HAMILTON (1952) found a definite increase in cytoplasmic basophilia in seven out of eight specimens irradiated with doses less than 300 R, in twenty-five out of fifty-one specimens after doses of 300 to 1,000 R and in none of the fifty-two specimens after doses of more than 1,000 R. In this investigation, no correlation was found between the appearance of cytoplasmic basophilia after the initial dose of radiation and the clinical response assessed after follow-up for 5 years or more.

On the other hand, in studies with methyl-green and pyronin staining of biopsy specimens of carcinoma of the cervix before and after a test dose of 2,000 R of Roentgen radiation, GUSBERG, TOVELL, LONG and HILL (1956) found a useful correlation of the changes in nucleoprotein pattern with the clinical results assessed after 5 years. These workers concluded that they have been enabled to predict tumour healing if there has been a shift away from a predominance of an A type cell (as described by CASPERSSON and SANTESSON 1942) in the growing zone towards a B type cell, or 'expressed in another way, an alteration in the DNA/RNA ratio with a relative shift towards RNA predominance.

Again using similar histochemical methods in a series of 117 cases of carcinoma of the cervix followed for 2 years after the beginning of radiotherapy, HEROVICI and AN (1958) found a good clinical response in sixty-six out of eighty-one cases showing increased RNA in the irradiated *normal* cervical epithelial cells in the basal or intermediate layer, and an unfavourable clinical response in twenty-eight out of thirty-six cases not showing this increase of RNA.

In studies of the effects of ultra-violet radiation on *E. coli*, KANAZIR (1955) and KANAZIR and ERRERA (1954) showed that DNA synthesis was inhibited and at 20 to 40 minutes after irradiation there was an accumulation of acid-soluble organic compounds containing phosphate, ribose and desoxyribose. The desoxyribosides and desoxyribotides, together with uridine diphosphate, were identified by means of chromatography.

The accumulation of desoxyribonucleotides and desoxyribonucleosides after irradiation with Roentgen rays was first studied in the appendix of the rabbit using a microbiological method of estimation. The maximum concentration occurred at 6 hours after total-body irradiation with a dose of 1,000 R at which time there was a further small rise in DNA-P content (BISHOP and DAVIDSON 1957). These workers concluded that their findings are 'consistent with the view that Roentgen irradiation leads to a temporary block in DNA synthesis and a consequent increase in DNA precursors'. Nevertheless, it is suggested that the alternative explanation in terms of damage to and breakdown of cells must be considered as a possibility in measurements at 6 hours after irradiation.

The position has been clarified by the work of ORD and STOCKEN (1958) who demonstrated accumulation of both mono- and tri-phosphorylated desoxyribonucleotides in the rat thymus at 1 hour after total-body exposure to a dose of 1,000 R of Roentgen rays. The nucleotide levels in the thymus after irradiation increased to more than twice those of the controls in the case of desoxyuridine monophosphate and desoxycytidine triphosphate.

In studies of the effect of Roentgen rays on the Ehrlich ascites tumour, FORSSBERG and KLEIN (1954) found that the amount of the ATP-ADP fraction per cell showed a considerable but transient increase by 26 per cent at 35 minutes after irradiation *in vivo* with a dose of 1,250 R; the surplus amount disappeared rapidly and in an approximately linear fashion between 35 and 100 minutes after irradiation. Corresponding to the increase in amount, there was a decrease in the specific activity of the ATP-ADP fraction by 15 per cent at 35 minutes after irradiation (glycine-2-<sup>14</sup>C was used in this investigation). These findings suggest that the synthesis of ATP and/or ADP proceeds at an approximately normal rate for a short time after irradiation but that the utilization of these metabolites is inhibited. It is to be noted that these observations were made within the amitotic period.

Attention must also be drawn to the observations of an increase in the organic acid-soluble phosphorus content of the leucocytes in human chronic myeloid leukaemia (ABELS *et al.* 1941) and of an increase in the ATP content of normal leucocytes in the rabbit and in man (SCHWARTZ 1945, 1951) after very small doses of Roentgen radiation (see Table 1, p. 358 and 367).

In further studies of the Ehrlich ascites tumour, FORSSBERG (1956) reported temporary accumulation of aceto-acetic acid and to a less extent citric acid, with maximum concentration in the cells at about 75 minutes after 1,250 R. These metabolites also escaped into the ascitic fluid. At the same time, the concentration of lactic acid and pyruvic acid decreased in the cells.

It may be useful to mention here that in these experiments, the total amount of lipids per cell was not altered by the irradiation, but rapid changes occurred in the turnover rate of the lipids for incorporation of glycine-2-<sup>14</sup>C. The specific activity of the lipids increased by about 60 per cent above the control value at its maximum at 80 minutes after irradiation.

It is also relevant to mention here that in wheat roots, STRAZHEVSKAYA and KUZIN (1957) observed increased levels of acyl phosphate at 2 hours after 1,000 R and at 4 hours after 3,000 R doses of Roentgen radiation.

A somewhat different type of accumulating metabolite, identified as orthoquinones, has been described by KUZIN (1963). An increase in the orthoquinone content of the liver of rats which had been irradiated with a dose of 1,000 R was found during the first few hours after exposure. It appears that the orthoquinone content increased by roughly 50 per cent at 10 minutes after irradiation, reaching about twice the initial value after 2 hours. Changes of this type were first observed in plants. It is considered that the orthoquinones are produced by enzymic oxidation of tyrosine. It was found that homogenates of rat skin showed increased enzymic oxidation of added tyrosine within a few hours after irradiation. Presumably these changes in skin are associated with the formation of melanin. KUZIN (1963) comments that the orthoquinones are quickly absorbed by cell nuclei; "this apparently leads to the revelation or intensification of primary injuries to nuclear structures" by radiation. This subject is of great interest, especially in relation to radiosensitization by a number of quinones and related compounds (MITCHELL 1960; MITCHELL and MARRIAN 1963).

A possible general explanation of many of the phenomena of accumulating metabolites is that inhibition of synthesis of DNA, whether a primary effect or a result of mitotic inhibition is associated with interruption of the utilization of its precursors, and the formation of these continues temporarily at more or less normal rates after irradiation with low or medium doses. It is likely that many of these precursors are largely relatively simple compounds, and that as they accumulate, they participate in alternative normal metabolic processes, probably including the synthesis of 5'-ribonucleoside tri- and diphosphates. In this way, it may be envisaged that RNA is formed in unusually large amounts. It is tempting to associate increased protein synthesis and cytoplasmic differentiation with the accumulation of RNA. It is likely that temporary accumulation of ATP will have a considerable influence on the biochemical synthetic processes within the cell and that the escape from the cells of pharmacologically active agents including ATP, nucleotides, nucleosides and polynucleotides will affect the adjacent normal cells and play a part in the general toxic action and other remote effects of local irradiation. It appears likely that uncoupling of oxidative phosphorylation in mitochondria and inhibition of ATP synthesis only become a limiting factor at relatively higher doses (see p. 368). In radiosensitive cells, such as those of the thymus and spleen, there is loss of ATP, with much smaller changes in AMP and ADP content; these processes are associated to a large extent with breakdown of the cells after irradiation (MAASS and ADLER 1961).

In these considerations, it is important to try to distinguish between the escape of accumulating metabolites and the liberation of materials from damaged and disintegrating cells. It has been demonstrated by RÉVÉSZ (1955; and see also FORSSBERG, 1956; KLEIN, FORSSBERG and RÉVÉSZ 1957) that products from Ehrlich ascites tumour cells killed by Roentgen radiation act as nutrients for surviving tumour cells and stimulate their growth. By the use of isotopic labelling, it was shown that DNA from cells killed by Roentgen radiation, or at least important parts of the DNA molecule, can be transferred to surviving cells. In addition, evidence has been presented by HAMILTON (1957, 1958) for the reutilization by normal lymphocytes of large fragments of DNA. It appears that lymphocytes may function by their death as trophocytes giving up their DNA and perhaps other nutrients to newly formed tissue cells (LOUITT 1963).

A closely related subject which requires biochemical investigation is the nature of the inhibition of mitosis in the myeloid cells of the bone marrow observed by GUNZ (1953) at 80 minutes after strictly localized Roentgen ray treatment to the spleen in some patients with chronic myeloid leukaemia. Direct evidence for mitotic inhibition by a diffusible agent liberated from irradiated skin has been provided in tissue culture

studies (JOLLES, REMINGTON and SIMON-REUSS 1961). Experimental evidence for tumour inhibition by substances in irradiated normal tissues has been found by COMPTON and PANNETT (1961). On the other hand, it appears that intra-peritoneal injection of the serum of partially hepatectomized rats has a stimulating effect on mitosis in the regenerating liver and previous total-body Roentgen irradiation of the donor animals with a dose of 700 R reduced the mitosis-stimulating activity of the serum (ŠILHA 1963).

Of great interest, both scientifically and from the point of view of possible practical applications, is the finding by PETROVIĆ, KANAZIR and BEČAREVIĆ (1962) that the intra-peritoneal injection of native homologous DNA into lethally irradiated rats immediately after total-body Roentgen irradiation with a dose of 850 R ( $LD_{100/30}$ ) has a striking influence 20 hours later in correcting the disturbance of the composition and metabolism of RNA in the resting liver. The composition of the fraction n RNA I became almost normal after this treatment. It had already been shown that the injection of native DNA leads to the recovery of lethally irradiated rats (e.g. PANJEVAC, RISTIĆ and KANAZIR 1958). Preliminary experiments on the fate of the injected DNA labelled with  $^{32}\text{P}$  or tritiated thymidine indicate that the DNA fragments of higher molecular weight seem to be localized in the nuclei of the hepatocytes (see PETROVIC, KANAZIR and BEČAREVIĆ 1962).

#### 4. Evidence concerning the effects of irradiation *in vivo* on DNA and nucleoproteins

The next step is to consider the evidence from studies of the changes occurring in the DNA and the nucleoprotein system of the mammalian cell nucleus after irradiation *in vivo* especially at therapeutic levels of dose. Much of the evidence has been considered already in some detail (pp. 381—384), since most of the processes concerned are relatively radiosensitive.

It must be emphasized that the investigation of DNA and nucleoproteins extracted from irradiated cells is limited by the extreme fragility of these structures and the apparently almost inevitable damage to the macromolecular architectural pattern of the cell occurring during the extraction procedures.

It now seems almost certain that the DNA of mammalian cells is of very high molecular weight and great chain length. It is possible that each macromolecule of DNA runs throughout the whole length of a chromosome or chromatid with appropriate coiling — perhaps at a series of regions throughout its length, with the coils joined at intervals by the uncoiled part of the DNA thread. If this picture is correct, the molecular weight of the DNA would be in the region of  $10^{10}$ — $10^{11}$  (cf. e.g. KUEHL 1962). It is of interest to point out that such a value of the molecular weight is *not inconsistent* with the value of  $D_3$ , in the region of 140 rads observed for delayed killing of mammalian cells (see p. 364), on the basis of radiobiological target theory (cf. LEA 1946) assuming that a single “hit” affecting the DNA macromolecule as a whole leads to inactivation of its biological functions. For cells with an extrapolation number of two, at least one such hit must be scored in each of two independent targets. The efficiency of the hit process is likely to be less than unity with Roentgen and gamma radiation particularly under protected conditions. However, it must be emphasized that the nature of the target cannot be inferred from the observed dose-response curve (see e.g. MITCHELL 1960, p. 25). The same radiosensitivity would be observed in the target consisted of a chain of subunits of macromolecular DNA joined together by protein links but functioning as a single unit.

It is of interest that electric birefringence studies of DNA extracted from *E. coli* after irradiation with a dose of 10,000 R showed that the DNA *in vivo* in the bacterial cell is very well protected; no change was observed, though irradiation of DNA in solution *in vitro* was found to produce substantial changes (NORMAN and FIELD 1957). This result is consistent with the findings of WEISS (1962) and EMMERSON, SCHOLES, THOMSON *et al.* (1960) that in preparations of calf thymus desoxyribonucleohistone irradiated in solution

the DNA is highly protected and shows no significant change with doses up to  $2 \times 10^5$  rads, while the radiation-induced attack takes place largely in the histone component.

Until recently, it was considered that no changes could be detected in the physical properties of DNA isolated from mammalian cells after irradiation *in vivo* (BUTLER 1956; ORD and STOCKEN 1957). However, there is now evidence that different fractions of DNA show differences in their behaviour after irradiation. As we have seen HARBERS and BACKMANN (1956), using the earlier Bendich procedure, found for the unirradiated Walker rat carcinoma, that there was about 3 (1.7—3.6) times as much of the fraction DNA<sub>1</sub>, which is probably of higher molecular weight, than of the fraction DNA<sub>2</sub> which remains in solution in 0.87 per cent NaCl solution; at 2 hours after a dose of 5,000 R, the ratio had fallen to about 0.3 (0.15—0.38), there now being a considerably larger amount of the lower molecular weight fraction DNA<sub>2</sub>. ORD and STOCKEN (1960, p. 153) have repeated their earlier experiments on the properties of thymus DNA isolated from normal rats and from those given 1,000 R of Roentgen radiation 15 minutes previously; now by fractionation of the DNA on ECTEOLA cellulose columns, as described by BENDICH *et al.* (1958) it is found that there are changes in the distribution of the proportions of DNA in the different fractions, though the total amount of DNA extracted is unchanged. However, on account of some uncertainties concerning the chromatographic evidence, FOSTER and ORD (1962) have carried out further experiments on the regenerating rat liver. They examined and compared the properties of liver DNA isolated at 25 hours after partial hepatectomy from control rats and from rats which had received a dose of 2,000 R 30 minutes earlier. Although the effects are small, the changes in fractionation pattern observed provide additional evidence for alterations in the structure of DNA after Roentgen irradiation *in vivo*.

Of great importance is the work of STRAZHEVSKAYA and STRUCHKOV (1962a and b), which has been considered already in detail (p. 383). "It is shown that immediately after gamma-irradiation of rats we can observe a well-defined disruption of the state of the DNA supramolecular structures in thymus and liver, which manifests itself by a change in the DNA strength characteristics". These workers have applied techniques similar to those of DAVISON (1959) to the isolation of DNA from a variety of tissues and obtained preparations of such high viscosity that they do not commit themselves as to whether these contain single molecules or complexes but term them supramolecular. There is a high degree of radiosensitivity for irradiation *in vivo*. For example, for the preparations from rat thymus at 15 minutes after irradiation with a dose of 500 R, the value of the normalized viscosity,  $\eta_{sp}/C$ , was found to have decreased from  $665 \pm 25$  units in the controls to  $442 \pm 5$  units. It was shown that these changes are an effect of local irradiation and that indirect effects played no part. Comparable changes were found in preparations from the normal liver but recovery processes occurred subsequently; e.g. at 6 hours after 1,000 R the preparations had the same value of the normalized viscosity as the controls. The preparations were made by repeated partition between phenol and physiological saline and the final product contained less than 1 per cent of protein (STRAZHEVSKAYA 1962b). The preliminary analyses of residual protein showed that it contained at least ten amino-acids and that its composition depended on the tissue used. Previously it had been shown that the physical properties of the supramolecular DNA vary from one tissue to another. Electron microscope studies suggest that the preparations contain bundles of DNA molecules oriented in parallel with an approximate diameter of 400 Å. It was pointed out by STACEY (1962) that the authors give no indication of the percentage recovery of DNA from irradiated tissues.

It must be concluded that these experiments (STRAZHEVSKAYA and STRUCHKOV 1962a and b) provide convincing evidence for the rapid breakdown after irradiation *in vivo* of macromolecular units containing more than 99 per cent of DNA. This degradation is a highly radiosensitive process and occurs both in the highly radiosensitive thymus and in the radioresistant normal liver. However, recovery from the damage occurs in

the liver, and after recovery, the viscosity of the preparations returns to normal. It is to be noted that these changes are quite distinct from the further breakdown of DNA, which must be attributed to the liberation of DNA-ases (cf. KURNICK, MASSEY and SANDEEN 1959) and is seen at times of 3 and 4 hours and later after irradiation of the thymus with doses of 500 R and 1,000 R.

It is relevant to note that an appreciable increase in the extractability of DNA under suitable experimental conditions can be detected after doses as small as 50—100 R in the case of the highly radiosensitive cells of the thymus gland of the rat (HAGEN 1960a and c; see Table 5, p. 381). This increased extractability of DNA is only observed at times of more than 1 hour after irradiation *in vivo*. The maximum yield of DNA is about 50 per cent and is obtained at about 6 hours after irradiation with doses of 400—800 R of Roentgen radiation using 1 per cent trichloroacetic acid in the phenol-trichloroacetic acid extraction procedure. The addition of calcium or magnesium ions decreases or abolishes the labilization of the linkages between DNA and the proteins of the cell nucleus after irradiation. HAGEN (1962) examined the chromosin isolated from thymus cell nuclei of irradiated rats. These experiments show that labilization and loosening of the linkage between DNA and protein occurs in thymus cell nuclei within 2 hours after irradiation. The DNA and proteins separated after irradiation can be reassociated by the addition of calcium ions, and the amount of calcium,  $\text{Ca}^{++}$ , necessary for this purpose was found to be proportional to the dose of radiation (see p. 383).

The labilization of the desoxyribonucleoproteins after irradiation *in vivo* occurs earlier than the decrease in viscosity of the extracted DNA (HAGEN 1961, 1963). A parallelism was found between the decrease of specific viscosity of the DNA extracted from the thymus at different times after irradiation *in vivo* and the proportion of the cells with pyknotic nuclei (HAGEN 1961).

In studies of the viscosity of nucleoprotein and DNA extracted from Roentgen-irradiated thymocytes, SCAIFE and ALEXANDER (1961) found that there was no indication of changes in the physicochemical properties of the nucleoprotein before there was pyknosis and no alteration in the properties of the soluble DNA of the cells even after they had become pyknotic. They found no change in the viscosity of the DNA prepared from thymocytes within the first 4 hours after local irradiation of the thymus of the rat *in vivo* with a dose of 1,000 rads. A large reduction of the "viscosity" of the desoxyribonucleoprotein (DNP) gel, that swells but does not dissolve in 1 M NaCl solution, was observed; already at one hour after irradiation *in vivo* the "viscosity" had fallen to 57 per cent of the control value. "While the proportion of the DNP present in the gel form in 1 M sodium chloride does not alter (i.e. remains at about 50 per cent), the 'viscosity' measurements indicate that in pyknotic cells this 'gel' material is in a less swollen state". It is to be noted that in these experiments the thymocytes irradiated *in vivo* with 1,000 R showed pyknotic changes in approximately 30 per cent of the cells after 3 hours, while only a few per cent of the cells stained with eosin, in confirmation of the findings of SCHREK (1947, 1948). SCAIFE and ALEXANDER (1961) in discussing their results say that "In our hands, suspensions of thymocytes *in vitro* showed pyknotic degeneration after the first hour and stained with eosin after 3 hours. Irradiation with 1,000 R did not influence the morphological changes, and irradiated and control cell-suspensions could not be distinguished from one another by the histological or physicochemical techniques used over the time period studied". The authors consider that the changes in DPN observed after irradiation *in vivo* are probably one product of cell-death and not its cause. This is supported by the fact that the changes seen in the physicochemical properties of the desoxyribonucleoprotein in irradiated cells *in vivo* closely parallel those in cells that are undergoing spontaneous degeneration *in vitro*.

An increase in the apparent viscosity of gels formed from thymus cells after Roentgen irradiation *in vivo* is found even at 3 minutes after exposure to a dose of 1000 R delivered in 1 minute. Changes of this type are detectable even after 35 R. The effect reached a

maximum with doses in the region of 1000—2000 R. It is of interest that homogenates of spleen behaved in much the same way as the thymus preparations but homogenates of radio-resistant cells such as those of liver and kidney only showed the usual decrease in apparent viscosity after doses of 5000—10000 R (MYERS 1965).

Another important related investigation is the study by ERNST (1961) of the early loss of the proteins of the thymus cell nucleus after irradiation (see p. 382). Nuclei were isolated by the sucrose method from the thymus of rats which had received total body irradiation with a dose of 1,000 R. Exhaustive extraction processes were carried out on these isolated nuclei. The globulin fraction — albumin being absent — was extracted with 0.14 M NaCl solution and the histone fraction with 0.2 N HCl. The changes observed in these protein fractions and in the DNA at different times after irradiation with 1,000 R *in vivo* are shown in Table 10. (Similar experiments were also carried out with spleen,

Table 10. *Changes in the Protein-N and DNA content observed in isolated nuclei of rat thymus for different times after total-body irradiation with 1,000 R (mg/g of tissue) (ERNST 1961)*

Time after irradiation hours	Protein-N		DNA in	
	Globulin fraction (0.14 M NaCl)	Histone fraction (0.2 N HCl)	Isolated nuclei	Tissue
0	1.52 ± 0.50	3.92 ± 0.56	28.4	53.0 ± 4.0
0.5	0.67 ± 0.21	3.60 ± 0.42		
1	0.64 ± 0.22	2.90 ± 0.31		
2	0.77 ± 0.38	3.05 ± 0.35	27.2	55.0 ± 2.5
4	1.31 ± 0.17	3.52 ± 0.41	28.1	57.1 ± 4.7
6	0.92 ± 0.28	3.40 ± 0.54	29.5	51.0 ± 4.2
12	0.75 ± 0.18	2.30 ± 0.65	14.4	22.0 ± 2.1
24	0.46 ± 0.42	0.95 ± 0.24	8.8	21.6 ± 2.8

but only the thymus cell nuclei are discussed here.) It is clear from Table 10 that there was a rapid fall in the nuclear globulin fraction to about half the original (control) value in the first half hour, with little change in the following half hour but with apparent temporary recovery at 4 hours after irradiation. About one quarter of the histone fraction was lost by the end of the first hour after irradiation. The DNA content of both the isolated thymus cell nuclei and the thymus tissue as a whole remained constant during the first 6 hours after irradiation, and then decreased rapidly. The weight of the thymus gland remained constant for 2 hours after irradiation and there was no change in its water content in the first one and a half hours after irradiation.

It appears that the first change after irradiation is the immediate loss of the globulin fraction of the nucleus; then loss of the histone fraction occurs more slowly and to a lesser extent. These changes reach their maximum at about 1 hour after 100 R, when the extractability of the DNA starts to increase.

Of great interest is the comparison of the decrease of nucleoprotein in the cell nuclei of thymus, spleen and liver at times up to 48 hours after total-body Roentgen irradiation of rats with doses of 50, 200 and 1,000 R (ERNST 1963). Loss of nucleoprotein occurred during the first 4 hours in the nuclei of all three tissues, but later gradual recovery occurred in the liver cell nuclei. Again there is evidence that recovery processes play an important part in a radioresistant tissue but are absent or ineffective in radiosensitive tissues.

In somewhat different experiments, using mouse spleen, COLE and ELLIS (1957) found an increase in the polynucleotide fraction soluble in 0.14 M NaCl after Roentgen-irradiation. Chromatographic separation demonstrated that these soluble polynucleotides were macromolecules, which the authors interpreted as resulting from a change in the binding between DNA and protein (MAIN, COLE and ELLIS 1957). BAUER, DREHER and KURNICK (1963) found that the desoxyribonucleoprotein isolated from the thymus and spleen of the mouse at 24 hours after total-body Roentgen irradiation with a dose of 1,000 R showed greater solubility in neutral salt solutions of low ionic strengths and increased ease of deproteinization by sodium xylene sulphonate. These changes were not shown in the desoxyribonucleoprotein prepared from the liver and kidney, which were studied as radioresistant tissues.

## 5. Effects of irradiation *in vitro* on DNA and nucleoproteins

An account has been given on pp. 384 of a number of studies of preparations of desoxyribonucleoproteins which show striking changes *in vitro* after irradiation with small doses (ANDERSON 1952a and b, 1954; FISHER 1956; HOLLAENDER 1956; FISHER, ANDERSON and WILBUR 1959a and b; ANDERSON and FISHER 1960 p. 195, 1961; PASSYNSKY 1961). Further reference has been made to the protection of DNA against the effects of irradiation by the histone in preparations of desoxyribonucleohistone in solution (WEISS 1962; EMMERSON, SCHOLLS, THOMSON *et al.* 1960).

Reference must be made to a number of experiments on the effects of irradiation *in vitro* with doses mainly in the region of 500—1,000 R on the properties of the variety of preparations of desoxyribonucleoproteins. DOUNCE and MONTY (1955) observed a measurable weakening of the desoxyribonucleoprotein gel formed from isolated nuclei of the rat liver in dilute alkali after irradiation *in vitro* with a dose of 300 R of Roentgen rays; 900 R produced a very marked effect. Gels of nuclear origin have also been studied by BERNSTEIN and MAZIA (1953a and b) and KAUFMANN, McDONALD and BERNSTEIN (1955). These extracts are considered to afford the closest approximation to desoxyribonucleoproteins in their native state. (Nevertheless, it must be pointed out that the treatment of the nuclei with water almost certainly produces major alterations of molecular hydration and orientation.) When isolated calf thymus nuclei are placed in a small volume of distilled water, they first agglutinate and then form a rigid gel. Upon addition of more water, the volume of the gel increases with a concomitant loss of rigidity. These gels (and colloidal solutions) are extremely unstable, becoming depolymerized when stored at 5° for 24 hours as shown by liquefaction, loss of viscosity and the appearance of low molecular weight nucleoprotein fragments. After irradiation the fall of viscosity at 2—5° C was much more rapid than in the unirradiated control solution; after a dose of 500 R of Roentgen rays, the value of the viscosity of the irradiated solution was reduced to about 55 per cent of that of the control. In the presence of 1 M NaCl, which partially dissociates the DNA from the protein, the fall of viscosity was very much less. In another experiment the effect of Roentgen radiation of a dilute solution of an artificial nucleoprotein obtained from calf thymus DNA and bovine serum albumin was compared with that of dilute solutions of the DNA and of the protein separately. After exposure of 1,000 R, the fall in viscosity was very much greater when the nucleoprotein was irradiated. KAUFMANN, McDONALD and BERNSTEIN (1955) found an immediate effect of 1,000 R in reducing the capacity of isolated thymus nuclei to swell in distilled water. Similar results were obtained with the salivary gland cells of *Drosophila*, which showed at 20 to 30 per cent reduction of the capacity to swell in water after treatment with trypsin, water, buffer solution and then water, if taken at 2 to 4 hours after irradiation *in vivo* with a dose of 250 R of Roentgen rays. Larger doses produced larger and earlier effects.

COLE and ELLIS (1955) found that desoxyribonucleoprotein prepared from mouse spleen was altered by irradiation *in vitro* with a dose of 850 R of Roentgen rays in such a way that DNA was much more rapidly liberated by tryptic digestion from the irradiated than from the control material. Further, after exposure of the spleen desoxyribonucleoprotein to 850 R followed by incubation at 37° for 30 minutes, there was a sharp decrease in the capacity of the irradiated desoxyribonucleoprotein to swell in water as compared with incubated non-irradiated DNP; the change was a large one and the ratio of the swelling observed was 1 to 15. In other experiments DNP was separated from the spleens of mice immediately after they had received total-body irradiation with a dose of 810 R of Roentgen rays (ELLIS and COLE 1956). The capacity of the nucleoprotein to swell and form gels in distilled water was not altered. However, unlike the preparations from normal unirradiated mice, these gels lost their viscosity and gel-like properties and also formed some insoluble material, if incubated at 37° C for 1 to 2 hours.

In studies of rat thymus lymphocytes, SCAIFE and ALEXANDER (1961) observed a large reduction of the viscosity of the desoxyribonucleoprotein gel, that swells but does not dissolve in 1 M NaCl solution, at 1 hour after irradiation with a dose of 1,000 R.

Recently, it has become possible to apply more precise physicochemical methods to this problem. Dr. RUTH ITZHAKI (1962) has used electric birefringence methods based on the Kerr effect (see NORMAN and FIELD 1957) to study preparations of desoxyribonucleoprotein (DNP) from the rat thymus. There is evidence that these DNP preparations consist of aggregates or particles of more or less constant size formed by lateral association of DNP molecules. The effects of Roentgen irradiation *in vitro* on these preparations has been studied by measurement of the birefringence induced by the application of an electric field and of the relaxation time of the decay of birefringence on removal of the electric field (ITZHAKI 1962b). The results indicate that a decrease in particle size or breaking up of the association of aggregates has occurred after irradiation and the changes continue as an after-effect after the end of the exposure. For the lowest concentration of the preparation studied containing 0.005 per cent DNA, the birefringence was reduced at half the control value by a dose of about 10,000 R. The changes show an increasing threshold dose for higher concentrations.

Detailed studies have been made (LLOYD and PEACOCK 1963b) of the effects of gamma irradiation on a well characterized preparation of desoxyribonucleohistone (DNH) in solution in 0.7 mM phosphate buffer, which is obtained by extracting calf thymus glands with water, after a preliminary washing with versene and saline. The preparation has a reproducible composition and a molecular weight of  $22 \pm 2 \times 10^6$ . The investigations include measurements of light scattering, viscosity, ultra-violet absorption, sedimentation and thermal stability. In 0.7 mM phosphate solution each molecule of DNH has an inner core consisting of an intact helical DNA molecule to which the smaller histone molecules are attached. The concentration of DNH was 0.035 per cent during irradiation and oxygen was present. Light scattering measurements showed that irradiation caused a steep decrease in molecular weight from  $22 \times 10^6$  to about  $3 \times 10^6$  at a dose of 20 kR followed by a slower decrease down to  $10^6$ . It is concluded that irradiation initially removes histone from the DNA core of the DNH. The removal of protein appears to be a one-hit process. The sedimentation coefficient distribution curves show that all the DNH molecules in the original heterogeneous preparation undergo the same fractional decrease in molecular weight after irradiation with a given dose and thus have the same proportionate loss of histone. The possibility appears to be excluded that different DNH molecules in the original distribution have different sensitivities to the action of the radiation. All the evidence supports the conclusion that the initial effect of gamma irradiation on DNH in solution is to dissociate the histone, with little or no denaturation of DNA.

A new effect of ionizing radiation on nucleoprotein was described by HEMS (1961). An aqueous solution of a desoxyribonucleoprotein prepared from calf thymus by the method of KAY, SIMMONS and DOUNCE (1952) was irradiated with high energy electrons to a dose of  $4 \times 10^6$  rads delivered in 4 minutes. Immediately after irradiation, a white suspension had formed. The precipitate was found to be an acidic protein with small amounts of nucleotides attached to it. It was suggested that the radiation leads to breakage of the link between the acidic protein and DNA or to breakage of the DNA chain within a few nucleotides of the attachment of the acidic protein. It was considered that the precipitation described is a possible mechanism for labilization of desoxyribonucleoprotein after irradiation *in vivo*.

Of importance is the finding by ARMENTROUT and MILLS (1964) of the high degree of radiosensitivity of an artificial nucleoprotein complex of the polyribonucleotide, polyadenylic acid — polyuridylic acid and bovine gamma globulin [Poly(A+U):BGG]. When this artificial nucleoprotein was exposed in solution to doses of 10, 50 and 100 rads of Roentgen radiation, while the polynucleotide component was in a randomly-coiled state, ultraviolet spectral changes appeared, suggesting an alteration in the secondary

structure of the complex. These changes were dependent upon the polynucleotide-protein interaction and were proportional to the absorbed dose of Roentgen radiation. The characteristic spectral changes appeared only when the complex was irradiated at a temperature such as 62° C which is above the "mean melt temperature". Dissociation of the complex with agents known to alter hydrogen bonding resulted in the loss of radiosensitivity — and disappearance of the spectral changes. The addition of 8 M urea or 1 M MgCl<sub>2</sub> to the complex, prior to or after irradiation, eliminated the spectral changes. It is concluded that the effect is on the complex itself and not on its components or a mixture of the components. It is pointed out that similar changes in native nucleoproteins would be difficult to demonstrate.

Contrary to the earlier findings, there is now evidence that the activity of DNA as a primer for both DNA- and RNA-polymerase is radiosensitive. HARRINGTON (1964) showed that the priming activity for the DNA- and RNA-polymerases of *E. coli* is severely depressed by doses of Roentgen radiation of 1000 R and less. In experiments on the effect of irradiation on the priming activity of DNA for purified DNA-polymerase, the priming activity was reduced to about 8 per cent of the control value by a dose of 1000 R, and a definite inhibition was observed after 50 R. In other experiments, irradiation with 1000 R reduced the priming activity of DNA in the RNA-polymerase reaction to 58 per cent of the control and in the DNA-polymerase reaction, with crude enzyme, to 26—27 per cent of the control. Effects of gamma-radiation on calf-thymus DNA acting as a primer in RNA synthesis have been demonstrated by WEISS and WHEELER (1964). In these experiments a dose of 2000 rads reduced the priming activity to 50 per cent and a dose of 12000 rads reduced the activity to 2 per cent of the original control value.

The effect of Roentgen irradiation on DNA isolated from T7 coliphage has been examined by measurement of the sedimentation coefficient distribution (FREIFELDER and DAVISON 1962). The molecular weight of the T7 DNA is  $1.9 \times 10^7$ . Solutions of the DNA at 40  $\mu$ g per ml in 0.01 M NaCl were irradiated with 150 kV Roentgen rays at 12,800 R per minute. The DNA was degraded by Roentgen irradiation. The molecular weight distributions were calculated from the sedimentation velocity studies on the degraded preparations. After a dose of 7,680 R approximately 60 per cent of the molecules were degraded leaving approximately 40 per cent undegraded. The molecular weight distribution after irradiation conforms closely to the theoretical curve based on the assumption that the degradation by Roentgen radiation occurs through random scissions of each polynucleotide strand. It is to be noted that these results do not imply that all bonds are equally susceptible to breakage since, if the susceptible bonds are randomly distributed, there would still be agreement with the predicted distribution. Furthermore, within the precision of the experiment small departures from randomness would not be observed. It is interesting to note that DNA-ase also produces random degradation of the DNA, but sonic degradation is a non-random process resulting in the preferential halving of the DNA molecules in solution.

In recent studies of the denaturation of DNA in solution by gamma-rays (LLOYD and PEACOCKE 1963b), it was concluded that this process is the result of the action of free radicals. The rupture of hydrogen bonds with loss of helical structure is unusually efficient, with a G value for the beginning of irradiation of about 60 base pairs severed per 100 eV. Assuming G is 3 for the production of free radicals in liquid water, one radical is found to be responsible for the separation of about 20 base pairs. Radicals break the internucleotide bonds with degradation, so that the most likely mechanism of denaturation would be the separation of a sequence of 10 or more base pairs as a direct consequence of scission of an internucleotide bond by a radical. It is expected that rupture of hydrogen bonds continues until the next guanine-cytosine pair is reached; it appears that there is a preferential breakage of the adenine-thymine hydrogen bonds.

HAGEN (1963) has shown that the decrease in viscosity of single-stranded DNA after Roentgen irradiation in the native state is a relatively radiosensitive process. In all

these experiments, the solutions contained 0.05 per cent calf thymus DNA in 0.01 M NaCl. The viscosity of native two-stranded DNA and the hydrogen bonds between the two strands have nearly the same radiosensitivity, with a value of  $D_{37}$  of about 30,000 R. However, after separation of the strands, the viscosity decrease is 50 per cent after about 500 R. The dose-effect curve now appears to have two components: one with a value of  $D_{37}$  of 700 R and the other with a value of  $D_{37}$  of 2,500 R. There is a small after-effect of the irradiation. If the DNA is first denatured and then irradiated, the loss of viscosity is very small.

The effects of Roentgen-irradiation on DNA, isolated from calf-thymus or from mouse leukaemic lymphoblasts, were studied by HARRINGTON and RICANATI (1963). When dissolved in 0.01 M phosphate buffer at pH 7.0 at a concentration of 33  $\mu\text{g}$  DNA per ml, the reduced specific viscosity was decreased to 70 per cent and 60 per cent of the control value after doses of 500 R and 1,000 R respectively. The effect decreased with concentrations higher than 100  $\mu\text{g}$  per ml and became insignificant at 1 mg per ml. The DNA was protected by mercaptoethanol but not when irradiated in an atmosphere of nitrogen. DNA in which 23—29 per cent of the thymine was substituted by iodouracil was not affected to a greater extent by *in vitro* irradiation than the non-substituted DNA, in contrast to results obtained in *in vivo* experiments.

## 6. Tentative conclusions

The existence of a number of different mechanisms of action of ionizing radiations has been demonstrated. These differ in importance in different cells and tissues and under different physiological conditions and particularly in the presence and absence of oxygen. A high degree of radiosensitivity is shown by a number of biochemical and physiological processes. The long recognized phenomena of inhibition of mitosis and of acute cytolysis of radiosensitive cells after irradiation often play an important part in the metabolic changes observed.

It has become recognized that the delayed killing of mammalian cells after irradiation with loss of the capacity of the cells for proliferation — often termed loss of reproductive integrity — is a highly radiosensitive process with a surprisingly narrow range of variability among different types of normal and malignant cells. It is possible to draw certain tentative conclusions about the mechanism of delayed killing of mammalian cells by ionizing radiations from the extensive though still incomplete evidence.

It is concluded that the lethal action under consideration behaves as if it results from damage to a macromolecular unit of molecular weight in the region of  $10^{10}$ , which occurs in the cell nucleus as part of the chromosomal or nucleolar structure. The simplest interpretation of the experimental evidence available appears to be as follows:

1. The radiosensitive structure is a chain of long sub-units of macro-molecular DNA, joined together by fragile links, which probably consist of non-histone protein and functioning in the cell as a biological unit, and

2. the macromolecular lesion consists of dissociation of DNA from the protein link at or near the place of junction of a DNA sub-unit and the linkage unit. (Calcium ions may be involved).

It must be assumed that the break in the whole unit structure of molecular weight in the region of  $10^{10}$  inactivates its biological functions from the point of view of cell proliferation. Probably in cells with a value of 2 for the extrapolation number, inactivation of two independent specific unit structures is necessary for delayed killing by radiation. The details of the molecular mechanism of the process of dissociation of the DNA and protein are not understood. One possibility is that the radiation produces a break, probably of both strands (cf. RAGNI and SZYBALSKI 1961) of the helical structure of the DNA at a vulnerable point, perhaps unprotected by histone, near the junction with the protein linkage unit. On the other hand, the dissociation may be a physical process.

Consideration must also be given to the alternative possibility that the radiosensitive structure is a single continuous macromolecule of DNA of molecular weight about  $10^{10}$  and that the macromolecular lesion produced by radiation is a break, probably of both chains of the helical structure. Such a picture, though simple, appears to be inconsistent with some of the evidence and much less plausible than the chain model.

It is clear that radioresistant cells often differ from radiosensitive cells in the possession of a mechanism of recovery from the initial damage. It appears reasonable to envisage that the repair mechanism involves protein linkage units. The links are probably associated with enzyme systems synthesizing DNA and including NAD, and perhaps also NADP, —SH groups, quinone coenzymes and RNA components. In general terms it must be assumed that enzyme systems participate in the macromolecular lesion produced by radiation and in recovery if this occurs. It seems likely that ATP and calcium ions are involved.

It is necessary to assume that there exists some type of efficient mechanism for long-range transmission of absorbed energy in the DNA-protein system of the cell nucleus. It has been suggested that an exciton mechanism may be responsible (MITCHELL 1960, p. 56). Absorption of light by a molecular crystal can lead to an excited electronic state of the crystal as a whole, in which the excitation can move more rapidly through the crystal in a manner which is formally equivalent to the motion of a particle, the exciton (FRENKEL 1931, 1936). This is a difficult problem. A number of aspects of energy transfer mechanisms and the molecular exciton model have been considered in a recent Exciton Symposium (see KASHA 1963).

A detailed discussion of excitons, with especial reference to energy transfer mechanisms in radiobiology is given in a recent book (AUGENSTEIN, MASON and ROSENBERG 1964).

One consequence of these suggestions is that the mechanism of lethal damage by radiation may be envisaged as different from that of production of biochemical (point) mutations, for most of which changes in DNA itself are considered likely to be responsible (cf. ALPER 1962).

A problem is raised by the apparent 50 per cent effect in the inhibition of synthesis of DNA by radiation under some experimental conditions (see p. 373). It may be suggested that this effect is the consequence of a single chain-break of the DNA with resulting inhibition of self-duplication of this chain. Such an assumption is consistent with the observed independence of the inhibition of synthesis of DNA after irradiation and the lethal action on the cells. Moreover, under some experimental conditions, the target molecular weight for inhibition of DNA synthesis after irradiation is much smaller e.g. ca  $5 \times 10^7$  (SMITH 1961) and appears to correspond to a large sub-unit of DNA. Much further study of the mechanism of these processes is essential.

It has become clear that the synthesis of part of RNA is disturbed by relatively small doses of radiation. Much further investigation is necessary to test the hypothesis that in at least some mammalian cells, the synthesis of messenger RNA is a highly radiosensitive process.

Finally, reference must be made to mechanisms of action of radiation which appear to be unrelated to the biological functions of DNA. It may be suggested that the depolymerization of mucopolysaccharides in tissues observed after irradiation, even with very small doses, (p. 385) is to be regarded as due to another type of macromolecular lesion. Moreover, it is possible that in general, ionizing radiations produce a number of different kinds of macromolecular lesion in living cells and tissues.

#### *Acknowledgements*

I wish to take this opportunity of thanking Professor G. DE HEVESY of Stockholm for his help and encouragement over the years and Professor H. LANGENDORFF of Freiburg i. Br. and his colleagues, especially Dr. U. HAGEN, Dr. R. KOCH and the late Dr. H.-J. MELCHING, for many helpful discussions.

## Bibliography

*Selected Books and Reviews*

- ABRAMS, R.: Nucleic acid metabolism and biosynthesis. *Ann. Rev. Biochem.* **30**, 165—188 (1961).
- AUGENSTEIN, L., R. MASON, and B. ROSENBERG (Eds.): *Physical processes in radiation biology*. New York and London: Academic Press 1964. 373 p.
- BACQ, Z. M., and P. ALEXANDER: *Radiobiology Symposium 1954, Liège*. London: Butterworth Publ. Sci. 1955.
- — *Principes de radiobiologie*. Paris: Masson & Cie. 1955. 478 p.
- — *Fundamentals of radiobiology*, second edit. Oxford: Pergamon Press 1961. 555 p.
- Biological effects of ionizing radiation at the molecular level. Vienna: Int. At. En. Agency 1962. 461 p.
- Brookhaven Symposia in Biology, No 14. *Fundamental aspects of radiosensitivity 1961*. 308 p.
- BUZZATI-TRAVERSO, A. A. (Ed.): *Immediate and low level effects of ionizing radiations*. London: Taylor & Francis 1960. 381 p.
- CONGDON, C. C., and P. MORI-CHAVEZ (Eds.): *International symposium on the control of cell division and the induction of cancer*. National Cancer Institute Monograph 14. Washington, D. C.: U.S. Gov. Printing Office 1964. 403 p.
- DAMASHEK, W.: Recent studies in auto-immunity. *Acta haemat.* (Basel) **31**, 187—199 (1964).
- DEERING, R. A. (Ed.): *Conference on molecular and radiation biology*. Publ. 823. Washington, D. C.: Nat. Acad. Sciences — Nat. Res. Council 1961. p. 146.
- DESSAUER, F.: *Quantenbiologie*, 2. Aufl. (Hrsg. u. ergänzt v. K. SOMMERMEYER). Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1964. 286 S.
- EBERT, M., and A. HOWARD (Eds.): *Radiation effects in physics, chemistry and biology*. Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, Great Britain, August, 5—11, 1962. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- ERRERA, M.: Effets biologiques des radiations. *Aspects biochimiques*. In: *Protoplasmatologia*. Handbuch der Protoplasmaforschung (Hrsg. v. L. V. HEILBRONN and F. WEBER), Bd. X/3. Wien: Springer 1957. 241 p.
- GERBER, G.: Die Primärwirkung energiereicher Strahlen im Gewebe. In: *Klinische Physiologie, Aktuelle Probleme in Übersichten*, Bd. I (Hrsg. von MÜLLER). Stuttgart: Georg Thieme 1961.
- *Strahlenbiologie der Zelle und ihre Bestandteile*. In: *Klinische Physiologie, Aktuelle Probleme in Übersichten*, Bd. I (Hrsg. von MÜLLER). Stuttgart: Georg Thieme 1961.
- GOUTIER, R.: Effects of X-rays on nucleic acid biosynthesis and on the activity of nucleases in mammalian cells. *Progr. Biophys.* **11**, 53—77 (1961).
- HAGEN, U.: *Biochemie der biologischen Strahlenwirkungen*. *Ergebn. med. Strahlenforsch.*, N.F. **1**, 487—527 (1964).
- HAISSINKSKY, M. (Ed.): *Actions chimiques et biologiques des radiations*. 1<sup>e</sup> Série. 1. L. H. GRAY: *Aspects physiques de la radiobiologie*. 2. M. LEFORT: *Chimie des radiations des solutions aqueuses, aspects actuels des résultats expérimentaux*. 3. W. M. DALE: *Modern trends in radiation biochemistry*. Paris: Masson & Cie. 1955. 253 p.
- HAMILTON, L. D. (Ed.): *Physical factors and modification of radiation injury*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **114**, 1—716 (1964).
- HARBERS, E.: *Wirkungen ionisierender Strahlen auf die Nukleinsäuren*. *Strahlentherapie* **112**, 333—368 (1960).
- HARRIS, H.: The ribonucleic acids in the nucleus and cytoplasm of animal cells. *Endeavour* **24**, 50—56 (1965).
- HARRIS, R. J. C. (Ed.): *The initial effects of ionizing radiation on cells*. London and New York: Academic Press 1961. 367 p.
- HEVESY, G., and A. FORSSBERG: *Biochemical effects produced by ionizing radiation*. Proc. 3<sup>ème</sup> Congr. Intern. de Biochimie 1955. (Ed. by LIEBECQ.) Imprimerie Vaillant-Carmanne, Liège, 1956, p. 479—491.
- HEVESY, G. C. DE, A. G. FORSSBERG, and J. D. ABBATT (Eds.): *Advances in radiobiology*. Edinburgh: Oliver & Boyd 1957. 503 p.
- HOLLAENDER, A. (Ed.): *Symposium on molecular action of mutagenic and carcinogenic agents*. *J. cell. comp. Physiol.* **64**, Suppl. 1, 1—191 (1964).
- HOLMES, B. E.: *Biochemical effects of ionising radiation*. *Ann. Rev. nuclear Sci.* **7**, 89—134 (1957).
- HUG, O.: *Die akuten Allgemeinreaktionen bei Ganz- und Teilkörperbestrahlung*. *Strahlenbiologie, Strahlentherapie, Nuklearmedizin und Krebsforschung*. Ergebnisse 1952—1958 (Hrsg. v. H. R. SCHINZ, H. HOLTHUSEN, H. LANGENDORFF, B. RAJEWSKY and G. SCHUBERT), S. 582—662. Stuttgart: Georg Thieme 1959.
- LAJTHA, L. G.: *The effect of ionizing radiations and tumour-chemotherapeutic agents on the bone marrow*. *Progress in Biophysics and Biophysical Chemistry* (Ed. J. A. V. BUTLER, B. KATZ and R. E. ZIRKLE), p. 79—109. Oxford: Pergamon Press 1961.
- *The effects of radiations on nucleic acid metabolism*. In: *The nucleic acids*, vol. III (Ed. by CHARGAFF, DAVIDSON). New York and London: Academic Press Inc. 1961.
- *Response of bone marrow stem cells to ionizing radiations*. In: *Current topics in radiation research*, vol. I, p. 141—163 (Ed. M. EBERT and A. HOWARD). Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1965.
- LATARJET, R. (Ed.): *Les peroxydes organiques en radiobiologie*. Paris: Masson & Cie. 1958. 153 p.
- LEA, D. E.: *Action of radiations on living cells*. Cambridge: Cambridge University Press 1946. 402 p.

- LEHNINGER, A. L.: The mitochondrion. New York: W. A. Benjamin, Inc. 1964.
- MITCHELL, J. S.: Studies in radiotherapeutics. Oxford: Blackwell Sci. Publ. 1960. 274 p.
- (Chairman): The cell nucleus. London: Butterworths 1960. 269 p.
- B. E. HOLMES, and C. L. SMITH (Eds.): Progress in radiobiology. Edinburgh: Oliver & Boyd 1956. 557 p.
- NYGAARD, O. F.: Effects of radiation on nucleic acid metabolism: a review of current concepts. In: The effects of ionizing radiations on immune processes (Ed. LEONE, GORDON and BREACH). New York: Sci. Publ. 1962.
- ORD, M. G., and L. A. STOCKEN: Biochemical effects of radiation. *Ann. Rev. nuclear Sci.* **9**, 523—552 (1959).
- — The biochemical lesion *in vivo* and *in vitro*. Mechanisms in radiobiology, vol. 1, chap. 3, p. 259—331 (Ed. M. ERRERA and A. G. FORSSBERG). New York: Academic Press 1961.
- Radiation Research: Suppl. 1. Proceedings of the Internat. Congr. of Radiation Research, Burlington, Vermont, U.S.A., August 11—15, 1958. New York: Academic Press 1959.
- — Suppl. 2. Bioenergetics (Ed. L. G. AUGENSTINE). New York: Academic Press 1960.
- — Suppl. 3. Implications of organic peroxides in radiobiology (Ed. R. N. FEINSTEIN). New York: Academic Press 1963.
- SCHERER, E., u. H.-S. STENDER (Hrsg.): Strahlenpathologie der Zelle. Stuttgart: Georg Thieme 1963.
- SIPILÄ, S.: Late effect of 200 r whole body roentgen irradiation on rats. *Acta path. microbiol. scand.*, Suppl. **141**, Vol. 50 (1960). 104 p.
- STOCKEN, L. A.: Some observations on the biochemical effects of X-radiation. *Radiat. Res.*, Suppl. **1**, 53—72 (1959).
- Symposium sur la radiosensibilité. *Laval méd.* **34**, No 1, 1—188 (1963).
- TALIAFERRO, W. H., L. G. TALIAFERRO, and B. N. JAROSLOW: Radiation and immune mechanisms. New York and London: Academic Press 1964. 152 p.
- TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N. W., u. K. G. ZIMMER: Das Trefferprinzip in der Biologie. Leipzig: Hirzel 1947. S. 317.
- United Nations: Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, New York, 1962. 442 p.
- WHITMORE, G. F., and J. E. TILL: Quantitation of cellular radiobiological responses. *Ann. Rev. nuclear Sci.* **14**, 347—374 (1964).
- ZIMMER, K. G.: Studien zur quantitativen Strahlenbiologie. *Akad. Wiss. u. Lit. Mainz, Abh. math.-naturwiss. Kl.* **1960**, Nr 3, 217 p.
- , and A. MÜLLER: New light on radiation biology from electron spin resonance studies. In: Current topics in radiation research, vol. I, p. 1—47 (Ed. M. EBERT and A. HOWARD). Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1965.
- ZIRKLE, R. E. (Ed.): Biological effects of external X- and gamma radiation, part I. New York: McGraw-Hill Book Co. 1954. 530 p.

## Original Papers

- ABELS, J. C., J. M. KENNEY, L. F. CRAVER, D. MARINELLI, and C. P. RHOADS: Post-irradiation changes in levels of organic phosphorus in blood of patients with leukaemia. *Cancer Res.* **1**, 771—775 (1941).
- ABRAMS, R.: Effects of X-rays on nucleic acid and protein synthesis. *Arch. Biochem.* **30**, 90—99 (1951).
- L. LIBENSON, and M. EDMONDS: Conversion of cytidine 5'-phosphate to deoxycytidine 5'-phosphate in cell-free mammalian extracts. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **3**, 272—274 (1960).
- ADELSTEIN, S. J.: Specific radioprotective effect of the mitochondrial matrix. *Nature (Lond.)* **195**, 195—196 (1962).
- , and S. L. BIGGS: The effects of X-irradiation on the enzymatic activity of nuclear DPN pyrophosphorylase. *Radiat. Res.* **16**, 422—431 (1962).
- AEBERSOLD, P. C., and G. A. ANSLOW: Fast neutron energy absorption in gases, walls and tissue. *Phys. Rev.* **69**, 1—21 (1946).
- AEBI, H.: Die Erfassung von strahlengebildetem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> durch Fermente und deren Abhängigkeit von Milieufaktoren. *Strahlenwirkung und Milieu* (Hrsg. von H. FRITZ-NIGGLI). Sonderbd. zur Strahlentherapie, Bd. **51**, 28—43 (1962b).
- J. P. HEINIGER, u. H. SUTER: Methaemoglobinbildung durch Röntgenstrahlen in normalen und katalasefreien Erythrocyten des Menschen. *Experientia (Basel)* **18**, 129—130 (1962).
- F. JEUNET, R. RICHTERICH, H. SUTER, R. BÜTLER, J. FREI, and H. R. MARTI: Observations in two Swiss families with acatalasia. *Enzymol. biol. clin.* **2**, 1—22 (1962/63).
- K. LAUBER, B. SCHMIDLI, u. A. ZÜPPINGER: Die Wirkung ionisierender Strahlen auf die Taurinausscheidung der Ratte. *Biochem. Z.* **328**, 391—404 (1957).
- AEBI, H. E.: Detection and fixation of radiation-produced peroxide by enzymes. *Radiat. Res.*, Suppl. **3**, 130—152 (1962a).
- AHLSTRÖM, L., H. v. EULER, G. v. HEVESY, and K. ZERAHN: Attempts to find products blocking nucleic acid formation in the circulation of an irradiated organism. *Ark. Kemi (Stockh.) A* **23** (10), 1—6 (1946).
- ALBERTINI, L.: Étude cytophotométrique des protéines —SH nucléolaires de la racine de Jacinthe: repartition précise de ces composés au sein du nucléole. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **248**, 3476—3478 (1959).
- ALEXANDER, P., J. BEER, C. DEAN, J. T. LETT, and G. F. PARKINS: The role of post-irradiation recovery processes in sensitization to X-rays by bromodesoxyuridine. *Brit. J. Radiol.* **36**, 860 (1963).
- , and Z. B. MIKULSKI: Qualitative differences between the action of  $\alpha$  and X-rays on lymphoma cells in tissue culture. *Proc. Second Internat. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962*, p. 219—220 (Abstracts A-2-1).

- ALIVISATOS, S. G. A., and H. G. WILLIAMS-ASHMAN: Serotonin-mediated oxidation of dihydronicotinamide derivatives by cytochrome C. *Biochim. biophys. Acta* (Amst.) **86**, 392—395 (1964).
- ALLEN, J. G., M. SANDERSON, M. MILHAM, A. KIRSCHON, and L. O. JACOBSON: Heparinemia (?). An anticoagulant in the blood of dogs with hemorrhagic tendency after total-body exposure to roentgen rays. *J. exp. Med.* **87**, 71—86 (1948).
- ALLEN, N., and J. G. NICHOLLS: A study of the effect of X-rays on the electrical properties of mammalian nerve and muscle. *Proc. roy. Soc. B* **157**, 536—561 (1963).
- ALLFREY, V. G.: Studies of energy-yielding reactions in isolated cell nuclei. *Exp. Cell Res., Suppl.* **9**, 418—429 (1963).
- , and A. E. MIRSKY: Some aspects of ribonucleic acid synthesis in isolated cell nuclei. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **43**, 821—834 (1957).
- — Contrasts in the metabolic stability of different nucleotides in the ribonucleic acids of isolated nuclei. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **45**, 1325—1344 (1959).
- — Amino acid transport into the cell nucleus and reactions governing nuclear protein synthesis. *Protein biosynthesis* (Ed. R. J. C. HARRIS), p. 49—80. London: Academic Press 1961.
- — Evidence for the complete DNA-dependence of RNA synthesis in isolated thymus nuclei. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **48**, 1590—1596 (1962).
- — and S. OSAWA: Protein synthesis in isolated cell nuclei. *Nature* (Lond.) **176**, 1042—1049 (1955).
- — — Protein synthesis in isolated cell nuclei. *J. gen. Physiol.* **40**, 451—490 (1957).
- ALPER, T.: Cell death and mutation. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962*, p. 114—132; see p. 130—131. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- J. F. FOWLER, R. L. MORGAN, D. D. VONBERG, F. ELLIS, and R. OLIVER: Correspondence. *Brit. J. Radiol.* **35**, 722—723 (1962).
- N. E. GILLIES, and M. M. ELKIND: The sigmoid survival curve in radiobiology. *Nature* (Lond.) **186**, 1062—1063 (1960).
- ALTMAN, K. I.: Discussion. Immediate and low level effects of ionizing radiations, p. 102. London: Taylor & Francis 1960.
- J. E. RICHMOND, and K. SALOMON: A note on the synthesis of fatty acids in bone marrow homogenates as affected by radiation. *Biochim. biophys. Acta* (Amst.) **7**, 460—465 (1951).
- AMANO, M., and C. P. LEBLOND: Comparison of the specific activity time curves of ribonucleic acid in chromatin, nucleolus and cytoplasm. *Exp. Cell Res.* **20**, 250—253 (1960).
- ANDERSON, N. G.: Degree of polymerisation of deoxyribonucleic acid. *Nature* (Lond.) **172**, 807—808 (1953).
- Sensitivity of DNA in crude fresh preparations to  $\gamma$ - and X-rays. *Fed. Proc.* **13**, 3 (1954).
- ANDERSON, N. G., and W. D. FISHER: Relation of the physical properties of deoxyribonucleoprotein in 1M sodium chloride to nuclear structure. In: *The cell nucleus* (J. S. MITCHELL), p. 195—199. London: Butterworths 1960.
- — IV. Evidence for the existence of DNA-protein stands in intact nuclei. *Exp. Cell Res.* **22**, 13—17 (1961).
- ANDREWS, G. A., B. W. SITTERSON, A. L. KRETCHMAR, and M. BRUCER: Accidental radiation excursion at the Oak Ridge Y-12 plant. IV. Preliminary report on clinical and laboratory effects in the irradiated employees. *Health Phys.* **2**, 134—138 (1959).
- ANDREWS, J. R., and R. J. BERRY: Fast neutron irradiation and the relationship of radiation dose and mammalian tumor cell reproductive capacity. *Radiat. Res.* **16**, 76—81 (1962).
- ANNETTS, M.: The effect of cathode rays on hydrophobic sols. *J. phys. Chem.* **39**, 509—514 (1935).
- ANTONIJEVIC, M., and D. LEBEZ: Influence of time factor on nitrogen excretion by perfused liver after whole-body irradiation. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Biol., Harrogate, 1962*, p. 435. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- APPLEYARD, J.: Studies of metabolic effects of X-rays, using labelled glycine. *Ann. Rep. Brit. Emp. Cancer Camp.*, 1949, p. 221—223.
- ARMENTROUT, S. A., and W. A. MILLS: The effect of radiation on artificial nucleoproteins. 1. Radiosensitivity of polyadenylic acid — polyuridylic acid: bovine gamma-globulin complex. *Int. J. Radiat. Biol.* **8**, 343—352 (1964).
- ASHWELL, G., and J. HICKMAN: Effects of X-irradiation on spleen enzymes. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **80**, 407—410 (1952).
- — The properties of spleen ATP and the effect of X-irradiation. *J. biol. Chem.* **205**, 651—659 (1953).
- ASHWOOD-SMITH, M. F.: The effect of whole body X-irradiation on the glutathione content of rat thymus. *Int. J. Radiat. Biol.* **3**, 125—132 (1961).
- ATWOOD, K. C., R. C. v. BORSTEL, and A. R. WHITING: An influence of ploidy on the time of expression of dominant lethal mutations in *Habrobracon*. *Genetics* **41**, 804—813 (1956).
- AWAPARA, J.: Urinary amino acid excretion in leukaemias. *The leukaemias* (Ed. J. W. REBUCK, F. H. BETHELL and R. W. MONTGOMERY), chap. 20, p. 353—360. New York: Academic Press 1957.
- AXELROD, D., P. C. AEBERSOLD, and J. H. LAWRENCE: Comparative effects of neutrons and X-rays on three tumours irradiated *in vitro*. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **48**, 251—256 (1941).
- BACHOFER, C. S., and S. E. WITTRY: Comparison of electroretinal response to X-rays and to light. *Radiat. Res.* **17**, 1—10 (1962).
- BACQ, Z. M.: Discussion. Intermediate and low level effects of ionizing radiations (Ed. A. A.

- BUZZETI-TRAVERSO). See p. 45, 177—178. London: Taylor & Francis 1960.
- BACQ, Z. M., and P. ALEXANDER: The enzyme-release hypothesis. p. 272—277, in *Fundamentals of radiobiology*, second ed. Oxford: Pergamon Press. 1961. See also *Principes de radiobiologie*, p. 308—321. Paris: Masson & Cie. 1955.
- P. CICCARONE, and J. RENSON: A system in the mammalian skin sensitive to X-irradiation and insensitive to the oxygen effect. *Experientia* (Basel) **15**, 175—176 (1959).
- , and H. HERVE: Protection chimique contre le rayonnement X. *Bull. Acad. roy. Méd. Belg., Ser. VI*, **17**, 13—58 (1952).
- BAHR, G. F., and G. MOBERGER: Histochemical methods for the demonstration of sulphhydryl groups in normal tissues and malignant tumors. *Acta path. microbiol. scand.* **42**, 109—132 (1958).
- BALLIN, J. C., and R. N. FEINSTEIN: Effects of X-rays on tissue specific cathepsins and their inhibitors. *Fed. Proc.* **11**, 184 (1952).
- BARENDSSEN, G. W.: Damage to the reproductive capacity of human cells in tissue culture by ionizing radiations of different linear energy transfer. The initial effects of ionizing radiations on cells (Ed. R. J. C. HARRIS), p. 183—194. London: Academic Press 1961.
- J. L. J. BENSKER, A. J. VERGROESEN, and L. BUDKE: Effects of different ionizing radiations on human cells in tissue culture. II. Biological experiments. *Radiat. Res.* **13**, 841—849 (1960).
- BARER, R., and S. JOSEPH: The action of X-rays and chlorambucil on the cytoplasmic solid concentration of lymphocytes. *Exp. Cell Res.* **19**, 51—64 (1960).
- BARNUM, C. P., R. A. HUSEBY, and H. VERMUND: A time study of the incorporation of radio-phosphorus into the nucleic acids and other compounds of a transplanted mouse mammary carcinoma. *Cancer Res.* **13**, 880—889 (1953).
- BARRON, E. S. G.: The effect of ionizing radiations on some systems of biological importance. *Symposium on Radiobiology*, Oberlin, 1950 (Ed. J. J. NICKSON), p. 216—239; see p. 230—231. London: Chapman & Hall 1952.
- The effect of ionizing radiation on systems of biological importance. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **59**, 574—594 (1956).
- P. JOHNSON, and A. COBURE: Effect of X-irradiation on the absorption spectrum of purines and pyrimidines. *Radiat. Res.* **1**, 410—425 (1954).
- BASERGA, R.: A study of nucleic acid synthesis in ascites tumor cells by two-emulsion autoradiography. *J. Cell Biol.* **12**, 633—637 (1963).
- , and R. GOLD: The uptake of tritiated thymidine by newly transplanted Ehrlich ascites tumor cells. *Exp. Cell Res.* **31**, 576—585 (1963).
- BATCHELOR, A. L., R. J. S. PHILLIPS, and A. G. SEARLE: High effectiveness of chronic neutron exposures for the induction of specific locus mutations in mice. *Nature* (Lond.) **201**, 207—208 (1964).
- BATES, T. H., C. I. SMITH, and H. SMITH: Radiation-induced changes in metabolism of thymine in rat. *Nature* (Lond.) **203**, 843—844 (1964).
- BAUER, R. D., K. DREHER, and N. B. KURNICK: Effect of *in vivo* X-irradiation on nucleoprotein stability. *Radiat. Res.* **20**, 24—29 (1963).
- BEĆAREVIĆ, A., S. PETROVIĆ, V. JANKOVIĆ, D. T. KANAZIR, and G. JOVICKI: Recovery effect of native liver deoxyribonucleic acid injected into lethally irradiated rats. I. Effect of the metabolism of intestinal nucleic acids of irradiated recipients. Biological effects of ionizing radiation at the molecular level. *Internat. Atomic Energy Agency*, Vienna, 1962, p. 421—428.
- BECKER, F. F., R. B. WILLIAMS, and J. L. VOOGD: Effect of X-irradiation in sub-lethal to supra-lethal dosage on serum glutamic-oxalacetic transaminase. *Radiat. Res.* **20**, 221—226 (1963).
- — J. DOWLING, and J. ISTOCK: Studies of the effect of totalbody X-radiation upon the level of serum glutamic oxaloacetic transaminase. *Radiat. Res.* **14**, 450. (Abstract) (1961).
- BEKKUM, D. W. VAN: Phosphorylating activity of mitochondria after total body irradiation. *Radiobiology Symposium*, Liège 1954 (Ed. Z. M. BACQ and P. ALEXANDER), p. 201—209. London: Butterworths 1955.
- Oxidative phosphorylation in some radiosensitive tissues after irradiation. *Ciba Symposium on Ionizing Radiations and Cell Metabolism*, p. 77—89. London: Churchill 1956.
- H. J. JONGPIER, H. T. NIEUWERK, and J. A. COHEN: The oxidative phosphorylation by mitochondria isolated from the spleen of rats after total body exposure to X-rays. *Brit. J. Radiol.* **27**, 127—130 (1954).
- — — The oxidative phosphorylation by mitochondria isolated from the spleen of rats after total body exposure to X-rays. *Trans. Faraday Soc.* **49**, 329—330 (1953).
- , and O. VOS: The effect of X-rays on the oxidative phosphorylation of mitochondria in relation to nuclear damage. *Brit. J. exp. Path.* **36**, 432—438 (1955).
- BELCHER, E. H., I. G. F. GILBERT, and L. F. LAMERTON: Experimental studies with radioactive iron. *Brit. J. Radiol.* **27**, 387—392 (1954).
- E. B. HARRIS, and L. F. LAMERTON: Turnover studies with Fe<sup>59</sup> in the X-irradiated rat. *Brit. J. Haemat.* **4**, 390—403 (1958).
- BELL, P. R.: Interaction of nucleus and cytoplasm during oogenesis in *Pteridium aquilinum* (*L.*) *Kuhn*. *Proc. roy. Soc. B* **153**, 421—432 (1960).
- BELTZ, R. E.: Comparison of the effects of X-radiation on the elevation of thymidine kinase and thymidylate synthetase during liver regeneration. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **9**, 78—83 (1962).
- , and R. APPLGATE: X-ray inhibition of enzyme charges associated with the DNA synthesis of liver regeneration. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **1**, 298—301 (1959).

- BELTZ, R. E., J. VAN LANCKER, and R. VAN POTTER: Nucleic acid metabolism in regenerating liver. IV. The effect of X-radiation of the whole body on nucleic acid synthesis *in vivo*. *Cancer Res.* **17**, 688—697 (1957).
- BENDER, M. A., and P. C. GOOCH: Persistent chromosome aberrations in irradiated human subjects. *Radiat. Res.* **16**, 44—53 (1962).
- — Persistent chromosome aberrations in irradiated human subjects. II. Three and one-half year investigation. *Radiat. Res.* **18**, 389—396 (1963).
- BENDICH, A., H. B. PAHL, G. C. KORNGOLD, H. S. ROSENKRANZ, and J. R. FRESKO: Fractionation of deoxyribonucleic acids on columns of ion exchangers; methodology. *J. Amer. chem. Soc.* **80**, 3949—3958 (1958).
- BENEŠ, L., and J. SOŠKA: Pyrimidine precursors of DNA in cells and their possible role for DNA synthesis after irradiation. Biological effects of ionizing radiation at the molecular level. Internat. Atomic Energy Agency, Vienna, 1962, p. 255—262.
- BENJAMIN, E., u. E. SLUKA: Antikörperbildung nach experimenteller Schädigung des haematopoetischen Systems durch Röntgenstrahlen. *Wien. klin. Wschr.* **21**, 311—313 (1908).
- BENNETT, E. L., L. KELLY, and B. KRUEKEL: Effects of X-irradiation on the incorporation of adenine 4-6-<sup>14</sup>C in the organs of mice. *Fed. Proc.* **13**, 181 (1954).
- BERGEDER, H.-D.: Einfluß von Röntgenstrahlen auf isolierte Muskeln. *Strahlentherapie* **106**, 309—312 (1958).
- , u. O. HOCKWIN: Änderung des Sauerstoffverbrauches isolierter Froschmuskeln nach Röntgenbestrahlung. *Naturwissenschaften* **47**, 161 (1960).
- BERGONIÉ, J., et E. SPEDER: Sur quelques formes de réactions précoces après des irradiations Röntgen. *Arch. Electr. méd.* **19**, 241—255 (1911).
- BERNSTEIN, M. H., and D. MAZIA: The desoxyribonucleoprotein of sea urchin sperm. II. Properties. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **11**, 58—68 (1953).
- — Desoxyribonucleoprotein of cell nuclei and their sensitivity of X-rays. *Nature (Lond.)* **174**, 463—464 (1954).
- BERNSTEIN, S. E.: Relation of acute radiation sensitivity to genotype of the blood-forming tissue. *Radiat. Res.* **16**, 576 (Abstract F 2) (1962a).
- Acute radiosensitivity in mice of differing W genotype. *Science* **137**, 428—429 (1962b).
- BERRY, H. K., E. L. SAENGER, H. PERRY, B. I. FRIEDMAN, C. SCHEEL, and J. G. KEREIAKES: Deoxycytidine in urine of humans after whole-body irradiation. *Science* **142**, 396—398 (1963).
- BERRY, R. J.: The cellular basis for recovery between fractionated X-ray doses. *Brit. J. Radiol.* **38**, 155—156 (1965).
- , and J. R. ANDREWS: Quantitative relationships between radiation dose and the reproductive capacity of tumor cells in a mammalian system *in vivo*. *Radiology* **77**, 824—830 (1961).
- BERRY, R. J., and J. R. ANDREWS: Modification of the radiation effect on the reproductive capacity of tumor cells *in vivo* with pharmacological agents. *Radiat. Res.* **16**, 82—88 (1962).
- E. HELL, L. G. LAJTHA, and M. EBERT: Mechanism of the radiation effect on the synthesis of deoxyribonucleic acid. *Nature (Lond.)* **186**, 563—564 (1960).
- — and M. EBERT: Further studies of the mechanism of inhibition of DNA-synthesis by ionizing radiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **4**, 61—66 (1961).
- BESSIS, M.: *Traité de cytologie sanguine*. Paris: Masson & Cie. 1954.
- BETTENDORF, G., H. A. KÜNKEL u. H. MAASS: Konzentration und Umsatz der freien Nukleotide in Rattenthymus nach Ganzkörperbestrahlung. *Z. ges. exp. Med.* **133**, 87—96 (1960).
- , u. H. MAASS: Die Wirkung von Röntgenstrahlen auf die Proteinsynthese. *Strahlentherapie* **106**, 263—265 (1958).
- A. P. MOJE u. H.-J. SCHMERMUND: Der Einfluß der Strahlenbehandlung auf die 5-Hydroxy-Indol-Essigsäure-Ausscheidung. *Strahlentherapie* **117**, 370—376 (1962).
- BIANCHI, P. A., J. A. V. BUTLER, A. R. CRATHORN, and K. V. SHOOTER: The thymidine phosphorylating kinases. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **48**, 213—214 (1961).
- — — — and K. V. SHOOTER: Effect of  $\gamma$ -radiation on thymidine kinases and DNA biosynthesis in leukaemic mice. *Proc. Second Internat. Congr. Rad. Res.*, Harrogate, 1962 (Ed. EBERT and HOWARD), p. 216—218. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- BIEDL, A., u. J. BORAK: Die Wirkungen der strahlenden Energie auf die endokrinen Drüsen und die innere Sekretion. *Handbuch der gesamten Strahlenheilkunde* (Ed. P. LAZARUS), Bd. 1, S. 577—622. München: J. F. Bergmann 1928.
- BIGWOOD, E. J., and S. SOUPART:  $\beta$ -Amino-isobutyric acid and taurine excretion, and plasma levels after local X-ray irradiation in two cancer patients. Biological effects of ionizing radiations at the molecular level. Internat. Atomic Energy Agency, Vienna, 1962, p. 277—284.
- BILLEN, D.: Influence of unbalanced growth on subsequent X-ray-induced inhibition of deoxyribonucleic acid synthesis in *Escherichia coli* 15<sub>1</sub>. *Nature (Lond.)* **184**, 174—176 (1959).
- Unbalanced deoxyribonucleic acid synthesis: its role in X-ray induced bacterial death. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **72**, 608—618 (1963).
- BIRNSTIEL, M. L., M. I. H. CHIPCHASE, and B. B. HYDE: The nucleolus, a source of ribosomes. *Biochim. biophys. Acta*, Previews **3**, 341 (1963).
- BISHOP, C. W., and J. N. DAVIDSON: Changes in deoxyriboside, deoxyribotide and nucleic acid content of rabbit appendix and thymus after X-irradiation. *Brit. J. Radiol.* **30**, 367—370 (1957).

- BLACKWELL, L. H., W. K. SINCLAIR, and R. M. HUMPHREY: Effect of whole-body X-radiation on plasma iron disappearance in the rat. *Amer. J. Physiol.* **203**, 87—90 (1962).
- BLOOM, W., and M. A. BLOOM: Histological changes after irradiation. *Radiation biology*, vol. 1: High energy radiation. (Ed. A. HOLLÄENDER), part II, chap. 17, esp. p. 1114. New York: McGraw-Hill Book Co. 1954.
- R. E. ZIRKLE, and R. B. URETZ: Irradiation of parts of individual cells. III. Effects of chromosomal and extrachromosomal irradiation on chromosome movements. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **59**, 503—513 (1955).
- BLUMENFELD, L. A., and A. E. KALMANSON: Spektry elektronogo paramagnitnogo rezonanza biologicheskikh objektov. *Biofizika* **3**, 81—85 (1958a).
- — Electronic paramagnetic resonance of irradiated amino acids, peptides, proteins and lyophilized tissue. *Proc. Sec. Internat. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy, Geneva, U.N.* **22**, 2079, 524—528 (1958b).
- — Electron spin resonance (ESR) investigations on radiation-induced chemical effects in biological species. The initial effects of ionizing radiations on cells (Ed. R. J. C. HARRIS), p. 59—66. London: Academic Press 1961.
- BOAG, J. W., and A. MÜLLER: Changes in the electron spin resonance spectrum of glycine with increasing doses of radiation. *Nature (Lond.)* **183**, 831—832 (1959a).
- — Electron spin resonance in irradiated deoxyribonucleic acid. *Nature (Lond.)* **183**, 831 (1959b).
- BOHN, G.: Influence des rayons du radium sur les animaux en voie de croissance. Influence des rayons du radium sur les œufs vierges et fécondes, et sur les premiers stades du développement. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **136**, 1012—1013, 1085—1086 (1903).
- BOLLUM, F. J.: Oligodeoxyribonucleotide primers for calf thymus polymerase. *J. biol. Chem.* **235**, PC 18—20 (1960).
- Thermal conversion of non-priming deoxyribonucleic acid to primer. *J. biol. Chem.* **234**, 2733—2734 (1959).
- Deoxyribonucleic acid synthesis by mammalian enzymes: some observations on primers. *The cell nucleus* (J. S. MITCHELL), p. 60—64. London: Butterworths 1960.
- J. W. ANDEREGG, A. B. McELYA, and R. VAN POTTER: Nucleic acid metabolism in regenerating rat liver. VII. Effect of X-irradiation on enzymes of DNA synthesis. *Cancer Res.* **20**, 138—143 (1960).
- , and R. VAN POTTER: Nucleic acid metabolism in regenerating rat liver. VI. Soluble enzymes which convert thymidine to thymidine phosphates and DNA. *Cancer Res.* **19**, 561—565 (1959).
- BONNICHSEN, R., and G. HEVESY: Effect of irradiation on hemin formation. *Acta chem. scand.* **9**, 509—518 (1956).
- BORA, K. C.: Factors affecting the relative biological efficiencies of ionizing radiations. *Proc. Sec. U.N. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy, Geneva, U.N.* 1958, **22**, 88—100, P/1653 (1958).
- BORSTEL, R. C.: Feulgen-negative nuclear division in *Habrobracon* eggs after lethal exposure to X-rays or nitrogen mustard. *Nature (Lond.)* **175**, 342—343 (1955).
- BORSTEL, R. C. v., and R. W. ROGERS: Alpha-particle bombardment of the *Habrobracon* egg. II. Response of the cytoplasm. *Radiat. Res.* **8**, 248—253 (1958).
- BOSCH, L., E. HARBERS, and C. HEIDELBERGER: Studies on fluorinated pyrimidines. V. Effects on nucleic acid metabolism *in vitro*. *Cancer Res.* **18**, 335—343 (1958).
- BOUDNITSKAYA, E. V., M. BRUNFAUT, and M. ERRERA: Effects of X-rays on RNA and RNA metabolism in HeLa cells. *Biochim. biophys. Acta. (Amst.)* **80**, 567—573 (1964).
- BRACHET, J.: La localisation des acides pentose nucléiques dans les tissus animaux et dans les œufs d'Amphibiens en voie de développement. (*Arch. Biol. (Paris)* **53**, 206—257 (1941).
- The biological role of ribonucleic acids. Amsterdam: Elsevier 1960.
- BRANCOVICI, M.: L'hypersecretion modifie-t-elle la radiosensibilité de la glands sous-maxillaire. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **99**, 757—758 (1928).
- BRAUN, H.: Über Strukturveränderungen der Lebermitochondrien nach Röntgenbestrahlung. *Naturwissenschaften* **45**, 18—19 (1958).
- Elektronenoptische Untersuchungen an Zellen des Dünndarmepithels nach Röntgenbestrahlung. *Exp. Cell Res.* **20**, 267—276 (1962).
- Morphologische Frühveränderung im Zytoplasma der Leberzellen nach Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **117**, 134—141 (1962).
- Beiträge zur Histologie und Zytologie des bestrahlten Thymus. *Strahlentherapie* **122**, 248—257 (1963).
- BRAUN, H., u. J. MÜLLER: Über die Veränderung der Feinstruktur bestrahlter Leberzellen. *Naturwissenschaften* **48**, 679 (1961).
- BRAWERMAN, G., L. GOLD, and J. EISENSTADT: A ribonucleic acid fraction from rat liver with template activity. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **50**, 630—638 (1963).
- BRENK, H. A. S. VAN DEN: Effect of high pressure oxygen on radiosensitivity of Ehrlich's tumour in mice after "immunological approximation". *Brit. J. Cancer* **155**, 61—84 (1961).
- , and K. ELLIOTT: Radioprotective action of 5-hydroxy-tryptamine. *Nature (Lond.)* **182**, 1506—1507 (1958).
- BRENNER, D., F. JACOB, and M. MESELSON: An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. *Nature (Lond.)* **190**, 576—581 (1961).
- BREUER, H., u. H. K. PARCHWITZ: Über das Verhalten der Adenosintriphosphatase in der Milz und Leber total-bestrahlter Mäuse. *Strahlentherapie* **108**, 93—96 (1959).
- BRINKMAN, R.: Discussion. Intermediate and low level effects of ionizing radiations (Ed.

- A. A. BUZZATI-TRAVERSO), p. 179. London: Taylor & Francis 1960a.
- BRINKMAN, R.: Reactions intermediates et précoce aux rayons X. *J. belge Radiol.* **43**, 282—293 (1960b).
- Biological effects of ionizing radiation at the molecular level. Intern. Atomic Energy Agency Vienna, 1962, p. 174.
- , and H. B. LAMBERTS: Direct registration of an instantaneous X-ray effect in rats and man. *Nature (Lond.)* **181**, 774—775 (1958).
- — Examples of immediate low-level X-ray effects: their significance for the study of chemical protection. Immediate and low level effects of ionizing radiations (Ed. A. A. BUZZATI-TRAVERSO), p. 167—175. London: Taylor & Francis 1960.
- — Very early X-ray effects on the molecular barrier function of intimal matrix in large arteries. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962*, p. 394. Amsterdam: North-Holland Publ. Co.
- , and T. S. VENINGA: Liberation of serotonin (and other amines) in the frog after X-irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **4**, 249—254 (1962).
- — J. WADEL, and J. ZUIDEVELD: Contributions to the study of immediate and early X-ray reactions with regard to chemoprotection. I. Further analysis of the immediate drop in injection pressure on moderate irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **3**, 205—210 (1961).
- — and J. ZUIDEVELD: Contribution to the study of immediate and early X-ray reactions with regard to chemoprotection. III. The filtration of water and of red cells through thin connective tissue corium membranes under low-level X-irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **3**, 509—513 (1961).
- BURN, J. H., P. KORDIK, and R. H. MOLE: The effect of X-irradiation on the response of the intestine to acetylcholine and on its content of pseudocholinesterase. *Brit. J. Pharmacol.* **7**, 58—66 (1952).
- BUSCH, H.: Biochemistry of the cancer cell. See p. 62—70. New York: Academic Press 1962.
- BUTLER, J. A. V.: The action of ionizing radiations on biological materials; factors and theories. *Radiat. Res.* **4**, 20—32 (1956).
- Changes induced in nucleic acids by ionizing radiations and chemicals. *Radiat. Res., Suppl.* **1**, 403—416 (1959).
- The heterogeneity of nucleic acids. *Proc. 4th Int. Congr. Biochemistry, Vienna 1958*, vol. 9, p. 77—85. London: Pergamon Press 1959.
- , and P. COHN: Studies on histones. 6. Observations on the biosynthesis of histones and other proteins in regenerating rat liver. *Biochem. J.* **87**, 330—334 (1963).
- , and D. J. R. LAWRENCE: Effect of whole-body radiation *in vivo* on the DNA of rat liver. *Int. J. Radiat. Biol.* **2**, 331—332 (1960).
- R. H. PAIN, A. B. ROBINS, and J. ROTBLAT: The relative effects of direct and indirect actions of ionizing radiations on deoxyribonucleic acid. *Proc. roy. Soc. B* **149**, 12—20 (1958).
- BUTLER, J. A. V., K. V. SHOOTER, A. R. CRATHORN, and P. MCNAMARA: Biosynthesis of DNA and RNA in mammalian cells. *Ann. Rep. Brit. Emp. Cancer Camp.* 1962, p. 70—73.
- BYCHKOVSKAYA, I. G.: On the biological effects of small doses of X-rays. Thesis, Leningrad 1953. Quoted by A. V. LEBEDINSKY, U. G. GRIGORYEV and G. G. DEMIRCHOGLYAN 1958.
- CAIRNS, J.: The bacterial chromosome and its manner of replication as seen by autoradiography. *J. molec. Biol.* **6**, 208—213 (1963); see also *Endeavour* **22**, 141—145 (1963).
- CARLSON, J. G.: Effects of radiation on mitosis. *J. cell. comp. Physiol.* **35**, Suppl. 1, 89—101 (1950).
- Immediate effects on division, morphology and viability of the cell. *Radiation biology* (Ed. A. HOLLAENDER), vol. I, part II, p. 763—824. New York: McGraw-Hill Book Co. 1954.
- CASPERSSON, O., and L. RÉVÉSZ: Cytochemical measurement of protein sulphhydryls in cell lines of different radiosensitivity. *Nature (Lond.)* **199**, 153—155 (1963).
- CASPERSSON, T.: Über den chemischen Aufbau der Strukturen des Zellkernes. *Skand. Arch. Physiol.* **73**, Suppl. 8 (1936). 151 p.
- E. KLEIN, and N. R. RINGERTZ: Cytochemical studies of some effects of X-radiation on three ascites tumours. *Cancer Res.* **18**, 857—862 (1958).
- , and L. SANTESSON: Studies on protein metabolism in the cells of epithelial tumours. *Acta Radiol. (Stockh.) Suppl.* **46**, see p. 23. (1942).
- CASPERSSON, T. O.: Cell growth and cell function. New York: W. W. Norton; London: Chapman & Hall 1950.
- CASPERSSON, T. T.: Studien über den Eiweißumsatz der Zelle. *Naturwissenschaften* **29**, 33—43 (1941).
- CASTER, W. O.: Variations in tissue DNA after total X-irradiation. *Fed. Proc.* **12**, 188 (1953).
- CATCHESIDE, D. G., and D. E. LEA: The effect of ionization distribution on chromosome breakage by X-rays. *J. Genet.* **45**, 186—196 (1943).
- CATER, D. B., B. E. HOLMES, and L. K. MEE: Cell division and nucleic acid synthesis in the regenerating liver of the rat. *Acta radiol. (Stockh.)* **46**, 655—667 (1956).
- CATTANEO, S. M., H. QUASTLER, and F. G. SHERMAN: DNA synthesis in irradiated hair follicles of the mouse. *Radiat. Res.* **12**, 587—593 (1960).
- CAVALIERI, R. R., M. T. VAN METRE, and W. I. SIVERTSEN: Decreased urinary excretion of 2-aminoethanol by irradiated human beings. *Nature (Lond.)* **191**, 1303—1304 (1961).
- CERVIGNI, T., and M. L. BELLI: Modification de l'acide  $\beta$ -indolacétique par les radiations ionisantes. Biological effects of ionizing radiation at the molecular level. Internat. Atomic Energy Agency, Vienna, 1962, p. 193—201.
- CHAMBON, P., P. MANDEL, J. D. WEILL, and S. BUSCH: Failure of X-ray irradiation to inhibit RNA polymerase activity in regenerating rat liver nuclei. *Life Sci.* **1**, 167—171 (1962); see

- Chem. Abstr., Biochem. Sect. **58**, 1963a (1963).
- CHANTRENNE, H.: Aspects of the biosynthesis of enzymes. *Advances in enzymology* (Ed. F. F. NORD), vol. 24, p. 3—33. New York: Interscience Publ. 1962.
- CHANUTIN, A., and S. LUDEWIG: Effects of whole body X-irradiation on Fe concentrations of rat serum. *Amer. J. Physiol.* **166**, 380—384 (1951).
- CHAYEN, J.: The localization of deoxyribose nucleic acids in cells of the root meristem of *Vicia faba*. *Exp. Cell Res.* **20**, 150—171 (1960).
- CHEERY, C. P., and A. GLÜCKSMANN: The influence of systemic factors on the reaction to radium treatment of the normal and malignant epithelium of the uterine cervix. *Cancer (Philad.)* **7**, 504—518 (1954).
- — Injury and repair following irradiation of salivary glands in male rats. *Brit. J. Radiol.* **32**, 596—608 (1959).
- CLAYTON, R. K., and H. I. ADLER: Protein synthesis and viability in X-irradiation *Rhodospseudomonas spheroides*. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **56**, 257—267 (1962).
- CLEMENTE, C. D., J. YAMAZAKI, L. BENNETT, R. McFALL, and E. H. MAYNARD: The effects of ionizing X-irradiation on the adult and immature mammalian brain. *Proc. Sec. U.N. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy, Geneva, U.N.* **22**, 282—286 (1958).
- CLERMONT, Y., and C. P. LEBLOND: Renewal of spermatogonia in the rat. *Amer. J. Anat.* **93**, 475—501 (1953).
- COHEN, A., and L. COHEN: Some biological factors increasing the radiosensitivity of an isogenic mammary tumour in C3H mice. *Brit. J. Cancer* **11**, 563—569 (1957).
- COHEN, L.: Radiosensitivity of tumours and target theory. *Brit. J. Radiol.* **36**, 700—701 (1963).
- COHEN, S. S., J. G. FLAKS, H. D. BARNER, M. R. LOEB, and J. R. LICHTENSTEIN: The mode of action of 5-fluoro-uracil and its derivative. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **44**, 1004—1012 (1958).
- COLE, L. J.: Discussion in fundamental aspects of radiosensitivity. *Brookhaven Symposia in Biology* No 14, 47 (1961).
- , and M. E. ELLIS: Spleen DNA content as an index of recovery in X-irradiated mice treated with spleen homogenates. *Cancer Res.* **14**, 738—744 (1954).
- — Physicochemical alterations in spleen deoxyribonucleoprotein after in vitro X-irradiation with 850 r. *Radiat. Res.* **3**, 219 (1955).
- — Radiation-induced changes in tissue nucleic acids. Release of soluble deoxypolynucleotides in the spleen. *Radiat. Res.* **7**, 508—517 (1957).
- , and V. J. ROSEN: Latent radiation-inhibition and recovery of mitotic activity in mouse kidney. *Exp. Cell Res.* **23**, 416—418 (1961).
- COLLINSON, E., and A. J. SWALLOW: The radiation chemistry of organic substances. *Chem. Rev.* **56**, 471—568 (1956).
- COLWELL, H. A.: The method of action of radium and X-rays on living tissues. See p. 22—30. London: Oxford University Press 1935.
- COMPTON, A., and C. A. PANNETT: Effect of irradiated normal tissues on the growth of mouse carcinoma. *Nature (Lond.)* **191**, 1101—1102 (1961).
- CONARD, R. A.: Effect of X-irradiation on intestinal motility of the rat. *Amer. J. Physiol.* **165**, 375—385 (1951).
- Cholinesterase activity, weight, water content and pathology of the small intestine of rats subjected to X-irradiation. *Amer. J. Physiol.* **170**, 418—425 (1952).
- Some effects of ionizing radiation on the physiology of the gastro-intestinal tract. *Radiat. Res.* **5**, 167—188 (1956).
- Discussion. Immediate and low level effects of ionizing radiations (Ed. A. A. BUZATI-TRAVERSO), p. 224—225. London: Taylor & Francis 1960.
- CONTE, F. P., G. S. MELVILLE, and A. C. UPTON: Effects of graded doses of whole-body X-irradiation on mast cells in the rat mesentery. *Amer. J. Physiol.* **187**, 160—162 (1956).
- CONZELMANN, G. M., H. G. MANDEL, and P. K. SMITH: Effects of tumour growth and X-radiation on the incorporation of <sup>14</sup>C from 4-amino-5-imidazole carboxamide into nucleic acids. *Cancer Res.* **14**, 100—102 (1954).
- COOK, R. F., and L. G. STOODLEY: An electron-spin-resonance spectrometer for use while irradiating wet biological systems. *Int. J. Radiat. Biol.* **7**, 155—160 (1963).
- COOKE, J. P.: An investigation of audiogenic seizure prone mice and rats as indicators of low intensity chronic gamma irradiation effects. Thesis, College Station, Tex. Texas Agricultural and Mechanical Univ., 1963. 108 p.
- COOPER, E. H.: DNA synthesis in the thoracic duct lymphocytes of rats during recovery from sub-lethal irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **1**, 43—51 (1959).
- , and E. L. ALPEN: The effects of ionizing radiation on rat thoracic duct lymphocytes in vitro. *Int. J. Radiat. Biol.* **1**, 344—359 (1959).
- CRABTREE, H. G.: The differential effect of radium radiation on the carbohydrate metabolism of normal and tumour tissues irradiated at low temperature. *Biochem. J.* **29**, 2334—2343 (1935).
- , and W. CRAMER: The action of radium on cancer cells. II. Some factors determining the susceptibility of cancer cells to radium. *Proc. roy. Soc. B* **113**, 238—250 (1933).
- , and L. H. GRAY: The influence of wavelength on the biological effectiveness of radiations. *Brit. J. Radiol.* **12**, 39—53 (1939).
- CRADDOCK, C. G., and J. S. LAWRENCE: The effect of roentgen irradiation on antibody formation in rabbits. *J. Immunol.* **60**, 241—254 (1948).
- CRAMER, W.: Experimental observations on the therapeutic action of radium. Tenth Scientific Report, p. 95—123. London: Imperial Cancer Research Fund 1932.

- CRATHORN, A. R., and K. V. SHOOTER: Uptake of thymidine and synthesis of deoxyribonucleic acid in mouse ascites cells. *Nature (Lond.)* **187**, 614—615 (1960).
- CREASEY, W. A.: The enzymic composition of nuclei isolated from radiosensitive and non-sensitive tissues with special reference to catalase activity. *Biochem. J.* **77**, 5—12 (1960).
- Changes in the sodium and potassium contents of cell nuclei after irradiation. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **38**, 181—182 (1960).
- , and L. A. STOCKEN: The effect of ionizing radiation on nuclear phosphorylation in the radiosensitive tissues of the rat. *Biochem. J.* **72**, 519—523 (1959).
- CRONE, M., and S. ITZHAKI: On the relative functioning of the pathways for formation of thymidine nucleotides in the regenerating liver and spleen of the rat. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **95**, 7—13 (1965).
- CROWTHER, J. A., and H. LIEBMANN: An effect of X-radiation on the potential of colloidal graphite. *Nature (Lond.)* **140**, **28**, 28—29 (1937).
- — An effect of gamma-radiation on egg albumin. *Nature (Lond.)* **143**, 598 (1939).
- — and R. JONES: A study of the action of ionizing radiation on colloidal graphite. *Phil. Mag.* **26**, 120—128 (1938); Further observations on the action of X-rays on the electrophoretic mobility of colloid particles. **28**, 64—72 (1939); **29**, 391—399 (1940).
- CRUMPLER, M. R., C. E. DENT, H. HARRIS, and R. C. WESTALL:  $\beta$ -aminoisobutyric acid ( $\alpha$ -methyl- $\beta$ -alanine): a new amino-acid obtained from human urine. *Nature (Lond.)* **167**, 307—308 (1951).
- DANCEWICZ, A. M., and B. LIPINSKI: The effect of X-rays on delta-aminolaevulinic acid dehydrase. *Proc. Sec. U.N. Int. Conf. on Peaceful Uses of Atomic Energy, Geneva, U.N.* **22**, P/1586, 537—540 (1958).
- D'ANGIO, G. J., S. FARBER, and C. L. MADDOCK: Potentiation of X-ray effects by actinomycin D. *Radiology* **73**, 175—177 (1959).
- DAS, N. K., and M. ALFERT: Accelerated DNA synthesis in onion root meristem during X-irradiation. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **47**, 1—16 (1961).
- DAVEY, K. G.: Serotonin and change of colour in frogs. *Nature (Lond.)* **183**, 1271—1272 (1959).
- DAVIDSON, J. N.: The biosynthesis of nucleic acids. *Ann. Rep. chem. Soc. (Lond.)* **57**, 352—366 (1961).
- The control of DNA biosynthesis. In: *The molecular basis of neoplasia*, p. 420—434. Austin: University of Texas Press 1962.
- DAVIES, H. G., and P. M. B. WALKER: Microspectrometry of living and fixed cells. *Progr. Biophys.* **3**, 195—236 (1953).
- DAVIS, J. M. G.: Effect of roentgen rays on the ultrastructure of regenerating rat liver cells. *Acta radiol. (Stockh.)* **58**, 129—140 (1962).
- The ultrastructure of nucleoli and chromosomes during the early stages of liver regeneration and the changes produced in these structures by X-radiation. *Phil. Trans. B* **246**, 291—303 (1963).
- DAVIS, W. E., and L. J. COLE: Comparative effects of fast neutrons and X-rays on marrow deoxyribonucleic acid (DNA) content in mice. *Radiat. Res.* **14**, 104—116 (1961).
- DAVISON, P. F.: The effect of hydrodynamic shear on the deoxyribonucleic acid from T2 and T4 bacteriophages. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **45**, 1560—1568 (1959).
- Sedimentation of deoxyribonucleic acid isolated under low hydrodynamic shear. *Nature (Lond.)* **185**, 918—920 (1960).
- DEBRUYN, P. P. H., M. M. TORNOVA-SVEHLIK, and J. H. VENTER: The radiosensitivity of the lymphocytes of the rabbit appendix. *Radiat. Res.* **24**, 15—31 (1965).
- DEMIN, N. N., and N. V. KORNEEVA: Some aspects in acetylcholine metabolism in rats soon after exposure to sublethal dose of gamma-rays. *Radiobiology. Translation of vol. 2, 1962, AEC-tr-5428*, 30—34.
- DENDY, P.: Effect of ultraviolet microbeam irradiation on deoxyribonucleic acid synthesis in cells growing in tissue culture. Ph. D. Diss. Univ. Cambridge 1962.
- Studies on nucleic acid synthesis following the irradiation with an ultraviolet microbeam of parts of single cells grown in tissue culture. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962, Abstracts, C-2-1*, p. 25.
- DENDY, P. P., and C. L. SMITH: Effects on DNA synthesis of localized irradiation of cells in tissue culture by (i) a U.V. microbeam and (ii) an alpha-particle microbeam. *Proc. roy. Soc. B* **160**, 328—344 (1964).
- DESAIVE, P.: Restoration of primordial follicles in the irradiated ovary. *Advances in radiobiology* (Ed. G. C. DE HEVESY, A. G. FORSSBERG and J. D. ABBATT), p. 274—280. Edinburgh: Oliver & Boyd 1957.
- DESJARDINS, A. U.: Action of roentgen rays and radium on the gastro-intestinal tract. *Amer. J. Roentgenol.* **26**, 145—190, 335—370, 493—510 (1931).
- DEVIK, F.: A study of the local roentgen reaction on the skin of mice, with special reference to the vascular effects. *Acta radiol. (Stockh.)*, Suppl. 119 (1955).
- Modification of the X-ray reaction in the skin of mice by shielding of minute areas of the skin. *Advances in radiobiology* (Eds. HEVESY, FORSSBERG and ABBATT), p. 226—230. London: Oliver & Boyd 1957.
- Studies on cell population kinetics of X-irradiated and shielded mouse epidermis by autoradiography after administration of tritiated thymidine. *Acta path. microbiol. scand.*, Suppl. **148**, 35—41 (1961).
- DEWEY, W. C., and R. M. HUMPHREY: Relative radiosensitivity of different phases in the life cycle of L-P 59 mouse fibroblasts and ascites tumour cells. *Radiat. Res.* **16**, 503—530 (1962).

- DEWEY, W. C., and R. M. HUMPHREY: Recovery of radiation-induced chromosomal damage in Chinese hamster cells related to the phase of the cell cycle. Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962, p. 227—229, Abstract, C-2-1, p. 26. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- — Survival of mammalian cells irradiated in different phases of the life-cycle as examined by autoradiography. Nature (Lond.) **198**, 1063—1066 (1963).
- — Restitution of radiation-induced chromosomal damage in Chinese hamster cells related to the cell's life cycle. Exp. Cell Res. **35**, 262—276 (1964).
- DICKSON, M., J. PAUL, and J. N. DAVIDSON: The effect of X-irradiation on cultured cells. Biochem. J. **70**, 18P (1958).
- DICKSON, M. S. H., and J. PAUL: Some effects of X-irradiation on the metabolism of deoxyribonucleic acid in mammalian cells grown in culture. Int. J. Radiat. Biol. **3**, 419—429 (1961).
- DI PAOLLO, J. A., G. E. MOORE, and T. F. NIEDEBALA: The influence of actinomycin D in animal and human tumours. Proc. Amer. Ass. Cancer Res. **2**, 195—196 (1957).
- DITTRICH, W., G. HÖHNE, and G. SCHUBERT: Development of a radioresistant strain of Ehrlich carcinoma in mice. Progress in radiobiology (Ed. J. S. MITCHELL, B. E. HOLMES and C. L. SMITH), p. 381—385. Edinburgh: Oliver & Boyd 1956.
- DJORDJEVIC, B., and W. SZYBALSKI: Genetics of human line cells III. Incorporation of 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine into the deoxyribonucleic acid of human cells and its effects on radiation sensitivity. J. exp. Med. **112**, 509—531 (1960).
- DODDS, E. C.: The effects of radiation upon the metabolism of patients and animals. Report Int. Conf. Cancer, London 1928, Brit. Emp. Cancer Camp. 1928, p. 486—487.
- , and J. H. D. WEBSTER: The metabolic changes associated with X-ray and radium treatment. Lancet **1924**, 533—537.
- DOMAGK, G.: Chemotherapy of cancer by ethyleniminoquinones: its foundations and problems. Ann. N.Y. Acad. Sci. **68**, 1197—1204 (1958).
- DORLET, C., A. VAN DE VORST, and A. J. BERTINCHAMPS: Electron spin resonance in  $\gamma$ -irradiated deoxyribonucleic acid. Nature (Lond.) **196**, 767 (1962).
- DOUNCE, A. L., and K. J. MONTY: Factors influencing the ability of isolated cell nuclei to form gels in dilute alkali. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 155—160 (1955).
- DRAKULIĆ, M., and E. KOS: On the relation between the stability of DNA and colony-forming ability of gamma irradiated *Escherichia coli* B. Proceedings of the Second Internat. Congr. of Radiation Research, Harrogate, 1962 (Ed. M. EBERT and A. HOWARD), p. 217—218, Abstract, B-2-1, p. 12. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- DRAKULIĆ, M., and E. KOS: Effect of some metabolites and antimetabolites on the breakdown of deoxyribonucleic acid and on the colony-forming ability of *Escherichia coli* B. after gamma irradiation. I. Effect of citrate, glutamate, succinate, versene and magnesium ions. Radiat. Res. **19**, 429—438 (1963). II. Effect of phosphorylated derivatives of adenosine and pyrophosphate. Radiat. Res. **19**, 439—446 (1963).
- DREW, R. M., and R. B. PAINTER: Further studies on the clonal growth of HeLa S 3 cells treated with tritiated thymidine. Radiat. Res. **16**, 303—311 (1962).
- DUBOIS, K. P., and D. F. PETERSEN: Adenosine triphosphatase and 5-nucleotidase of hematopoietic tissues of irradiated animals. Amer. J. Physiol. **176**, 282—286 (1954).
- DUCHESNE, J.: Résonance de spin électronique et radicaux libres induits par irradiation gamma dans l'acide désoxyribonucléique. Biological effects of ionizing radiation at the molecular level. Internat. Atomic Energy Agency, Vienna, 1926, p. 149—159.
- EARLE, W. R.: Production of malignancy in vitro. J. nat. Cancer Inst. **4**, 165—212 (1943).
- EDWARDS, J. L., A. L. KOCH, P. YONGIS, H. L. FREESE, M. B. LEIT, and J. T. DONALSON: Some characteristics of DNA synthesis and the mitotic cycle in Ehrlich ascites tumor cells. J. biophys. biochem. Cytol. **7**, 273—282 (1960).
- EHRENBERG, A., and L. EHRENBERG: The decay of X-ray induced free radicals in plant seeds and starch. Ark. Fysik **14**, 133—141 (1958).
- — and K. G. ZIMMER: On the production of magnetic centers in glycine. Acta chem. scand. **11**, 199—202 (1957).
- EHRENBERG, L., and K. G. ZIMMER: Die Bedeutung der Mikrowellenspektroskopie für die Strahlenbiologie. Hereditas (Lund) **42**, 515—520 (1956).
- EICHEL, H. E., and M. A. SPIRITES: Effect of whole-body X-irradiation on concentrations of DPN and DPNH in rat liver. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **88**, 412—414 (1955).
- ELKIND, M. M.: Radiation responses of mammalian cells. Fundamental aspects of radiosensitivity. Brookhaven Symposia in Biol. No 14, 220—243 (1961).
- , and A. HAN: Dose dependence of division delay and post-irradiation growth of surviving and non-surviving cultured mammalian cells. Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962, p. 120—123, Abstracts, B-3-1, p. 16. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- — and K. W. VOLZ: Radiation response of mammalian cells grown in culture. IV. Dose dependence of division delay and post-irradiation growth of surviving and non-surviving Chinese hamster cells. J. nat. Cancer Inst. **30**, 705—721 (1963).
- , and A. SUTTON: X-ray damage and recovery in mammalian cells in culture. Nature (Lond.) **184**, 1293—1295 (1959).

- ELLIS, F., L. G. LAJTHA, R. OLIVER, and E. J. HALL: A modified dose-response curve for *Vicia faba* root elongation and the effect of 5-bromodeoxyuridine. *Ann. Rep. Brit. Emp. Cancer Camp.* 1960, p. 417.
- ELTGEN, D., R. KOCH u. H. LANGENDORFF: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz. XXXVIII. Mitt. Der Einfluß von Cysteamin und Serotonin auf die Retikulozyten und den Eisenstoffwechsel bestrahlter Tiere. *Strahlentherapie* 114, 118—127 (1961).
- EMMERSON, P., G. SCHOLES, D. H. THOMSON, J. F. WARD, and J. WEISS: Chemical effects of ionizing radiations on nucleic acids and nucleoproteins. *Nature (Lond.)* 187, 319—320 (1960).
- ENGLISH, J. A.: Enzymatic activity of radiated and normal salivary gland tissues. *Amer. J. Physiol.* 183, 463—474 (1955).
- ERIKSON, R. L., and W. SZYBALSKI: Molecular radiobiology of human cell lines. I. Comparative sensitivity to X-rays and ultraviolet light of cells containing halogen-substituted DNA. *Biochem. biophys. Res. Commun.* 4, 258—261 (1961).
- — — Molecular radiobiology of human cell lines. V. Comparative radiosensitizing properties of 5-halodeoxy-cytidines and 5-halodeoxyuridines. *Radiat. Res.* 20, 252—262 (1963).
- ERNST, H.: Über die Strahlenempfindlichkeit von Zellkern-Proteinen. *Naturwissenschaften* 48, 575 (1961 a).
- — — Strahlenbedingte Frühveränderungen an Zellkern-Proteinen. I. Histone und nukleare Globuline von Thymus und Milz. *Z. Naturforsch.* 16b, 329—333 (1961 b).
- — — Strahlenbedingte Frühveränderungen an Zellkern-Proteinen. II. Vergleichende Untersuchungen über die Konzentration nuclearer Globuline und Histone in lymphatischen und parenchymatischen Geweben. *Z. Naturforsch.* 17b, 300—305 (1962).
- — — Der RNS-Protein-Komplex im 0,14 m NaCl-Extrakt des strahlengeschädigten Zellkerns. *Z. Naturforsch.* 17b, 487—489 (1962).
- — — Nukleoprotein-Veränderungen nach Bestrahlung. (Abstract.) *Int. J. Radiat. Biol.* 6, 395—396 (1963 a).
- — — Zur Frage der Dosis-Abhängigkeit der strahleninduzierten Nukleoprotein-Verminderung im Zellkern von Leber, Milz und Thymus. *Naturwissenschaften* 50, 333 (1963 b).
- — — u. U. HAGEN: Vergleichende Untersuchungen der Zellkernproteine von Leber, Milz und Thymus. *Z. Naturforsch.* 15b, 597—603 (1960).
- ESNOUF, M. P., M. G. ORD, and L. A. STOCKEN: Biochemical studies on mice 6—18 months after total body X-irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 3, 459—466 (1961).
- EULER, H. v., u. B. SKARZINSKI: *Biochemie der Tumoren*, S. 64—65. Stuttgart: Enke 1942.
- EVANS, H. J.: Cellular and macroscopic damage in relation to cytological observations. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962*, p. 136—148; see p. 148. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- EVANS, H. J., and A. H. SPARROW: Nuclear factors affecting radiosensitivity. II. Dependence on nuclear and chromosome structure and organization. *Fundamental aspects of radiosensitivity. Brookhaven Symposia in Biology No 14*, 101—124 (1961).
- EVANS, J. H., D. J. HOLBROOK, and J. L. IRVIN: Changes in content of nuclear proteins and nucleic acids in regenerating liver. *Exp. Cell Res.* 28, 126—132 (1962).
- FAUSTO, N., T. UCHIYAMA, and J. L. VAN LANCKER: Metabolic alterations after total body doses of X-radiation; Effect of irradiation of normal liver on DNA synthesis after partial hepatectomy. *Arch. Biochem.* 106, 447—454 (1964).
- FEDOROV, B. A.: Functional state of the adrenal medulla in radiation sickness. *Materialy Nauchn. Konf. Inst. Eksp. Patol. i Terapii, Akad. Med. Nauk. SSSR, Sukhumi, Sb. 80—1* (1963). *Cit. Chem. Abstr.* 60, 7114 (1964).
- FEINENDEGEN, L. E., and V. P. BOND: Observations on nuclear RNA during mitosis in human cancer cells in culture (HeLa-S<sub>3</sub>) studied with tritiated cytidine. *Exp. Cell Res.* 3, 393—404 (1963).
- — — and W. L. HUGHES: RNA mediation in DNA synthesis in HeLa cells studied with tritium labelled cytidine and thymidine. *Exp. Cell Res.* 25, 627—647 (1961).
- — — W. W. SHREEVE, and R. B. PAINTER: RNA and DNA metabolism in human tissue culture cells studied with tritiated cytidine. *Exp. Cell Res.* 19, 443—459 (1960).
- FEINSTEIN, R. N.: Interpretation of some enzyme activity increases after whole body X-irradiation. *Radiat. Res.* 4, 217—220 (1956).
- — — and J. C. BALLIN: The biological and medical aspects of ionizing radiation: Effect of whole-body X-irradiation on a natural inhibitor of carboxypeptidase. U.S.A.F. School of Aviation. *Med. Prog. No 21-3501-0005* (1954) Report No 9.
- FERNANDEZ-MORAN, H. J.: Improved pointed filaments of tungsten, rhenium and tantalum for high resolution electron microscopy and electron diffraction. *J. appl. Phys.* 31, 1840 (1960).
- — — Electron microscopy of deoxyribonucleic acid macromolecules in solution. *Science* 133, 1364—1365 (1961).
- FINK, K., R. M. CLINE, R. B. HENDERSON, and R. M. FINK: Metabolism of thymine by rat liver *in vivo*. *J. biol. Chem.* 221, 425—433 (1956).
- — — R. B. HENDERSON, and R. M. FINK: Beta-aminoisobutyric acid. A possible factor in pyrimidine metabolism. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* 78, 135—141 (1951).
- — —  $\beta$ -Aminoisobutyric acid in rat urine following administration of pyrimidines. *J. biol. Chem.* 197, 441—452 (1952).
- FISHER, W. D.: Discussion, *Ciba Foundation. Symposium on Ionizing Radiations and Cell Metabolism. London: Churchill 1956*. See A. HOLLAENDER, p. 72—74.

- FISHER, W. D., N. G. ANDERSON, and K. M. WILBUR: Studies on nuclei. I. Physical properties of deoxyribonucleoprotein from rat thymus in 1M sodium chloride. *Exp. Cell Res.* **18**, 100—111 (1959a).
- — — Studies on nuclei. II. Effects of X-rays on deoxyribonucleoprotein from rat thymus. *Exp. Cell Res.* **18**, 481—493 (1959b).
- FLÜCKIGER, H.: Der Einfluß ionisierender Strahlen auf die Taurinausscheidung der Ratte. Diss. Bern 1958. 32 S.
- FORSSBERG, A.: Studien über einige biologische Wirkungen der Röntgen- und Gammastrahlen, insbesondere am *Phycomyces Blakesleeanus*. *Acta radiol.* (Stockh.), Suppl. **49** (1943).
- The influence of radiation on the metabolism of ascites tumour cells. Ciba Foundation Symposium on Ionizing Radiations and Cell Metabolism, p. 212—224. London: Churchill 1956.
- , and G. KLEIN: Studies of the effect of X-rays on the biochemistry and cellular composition of ascites tumours. II. Changes in the pattern of glycine-2-<sup>14</sup>C incorporation during the first two hours after irradiation *in vivo*. *Exp. Cell Res.* **7**, 480—497 (1954).
- , and R. NOVAK: Growth-rate and biochemical changes in *Phycomyces* at low dose levels of X-rays. Immediate and low levels effects of ionizing radiations (Ed. A. A. BUZZATI-TRAVERSO), p. 205—214. London: Taylor & Francis 1960.
- V. STANKOVIC, and A. PEHAP: The radiation response of *Phycomyces* — structural and biochemical effects. *Radiat. Bot.* **4**, 323—330 (1964).
- FOSTER, R., and M. G. ORD: Alterations in deoxyribonucleic acid from regenerating rat liver after X-radiation *in vivo*. *Nature* (Lond.) **194**, 883—884 (1962).
- FRANKLIN, T. J.: Further biochemical studies on male and female mice some months after total body X-irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **3**, 467—473 (1961).
- FRANZEN, F., H. GROSS u. G. THIELICKE: Biogene Amine in Urin und Blut von Ratten nach subletaler Ganzkörperbestrahlung. 1. Mitt. Normabweichendes Auftreten körpereigener Amine bei Ratten während einer mehrtägigen Beobachtung nach Strahlenbelastung. *Strahlentherapie* **120**, 598—610 (1963).
- FREIFELDER, D., and P. F. DAVISON: Studies on the sonic degradation of deoxyribonucleic acid. *Biophys. J.* **2**, 235—247 (1962).
- FRENCH, A. B., and P. E. WALL: Effect of whole-body X-irradiation on plasma and intestinal cholinesterase and on drug response of isolated intestinal loop in the Rhesus monkey, rat and guinea-pig. *Amer. J. Physiol.* **188**, 76—86 (1957).
- FRENKEL, J.: On the transformation of light into heat in solids. *Phys. Rev.* **37**, 17—44 (1931).
- On the absorption of light and the trapping of electrons and positive holes in crystalline dielectrics. *Physik. Z. Sowjet.* **9**, 158—186 (1936).
- FRICK, G.: Interaction between Ca or Mg ions and nucleoprotein from sea urchin sperms. *Exp. Cell Res.* **15**, 191—199 (1958).
- FRITZ-NIGGLI, H.: Mannit als Schutzstoff gegen die Strahlenschädigung von Lebermitochondrien. *Naturwissenschaften* **43**, 113—114 (1956a).
- Enzymatische Strahlenschädigung von Lebermitochondrien durch die minimale Röntgendosis von 0,1 r. *Naturwissenschaften* **43**, 425—426 (1956b).
- , u. G. BÜHRER: Hemmung der oxydativen Phosphorylierung nach *in vitro*-Bestrahlung isolierter Mitochondrien in Abhängigkeit von Dosis und Konzentration. *Fortschr. Röntgenstr.* **92**, 343 (1960).
- FUKUDA, H., and T. HASHIMOTO: *Nippon Acta radiol.* **19**, 1583 (1959).
- GÄRTLER, S. M.: A metabolic investigation of urinary  $\beta$ -aminoisobutyric acid excretion in man. *Arch. Biochem.* **80**, 400—409 (1959).
- GADDUM, J. H.: Drugs which antagonize the actions of 5-hydroxytryptamine on peripheral tissues, 5-hydroxytryptamine (Ed. G. P. LEWIS), p. 195—201. London: Pergamon Press 1958.
- , and M. W. SMITH: A pharmacologically active substance in mammalian tissue extracts. *Proc. roy. Soc. B* **157**, 492—506 (1963).
- GALL, J. G., and W. W. JOHNSON: Is there "Metabolic" DNA in the mouse seminal vesicle. *J. biophys. biochem. Cytol.* **7**, 657—666 (1960).
- GARCIA, J., N. A. BUCHWALD, and G. BARCH-YRITA: Electroencephalographic responses to ionizing radiation. *Science* **140**, 289—290 (1963).
- B. H. FEDER, and R. A. KOELLING: Immediate detection of X-rays by the rat. *Nature* (Lond.) **196**, 1014—1015 (1962a).
- — — and C. WAKEFIELD: Habituation as a factor in radiation conditioned behaviour. Effects of ionizing radiation on the nervous system. Internat. Atomic Energy Agency, Vienna, 1962b, p. 145—152.
- , and D. J. KIMELDORF: Some factors which influence radiation conditioned behaviour of rats. *Radiat. Res.* **12**, 719—729 (1960).
- GARDELLA, J. W., and E. J. LICHTLER: The effect of radiation on the nucleic acid, nitrogen and water content of the Yoshida sarcoma. *Cancer Res.* **15**, 529—531 (1955).
- GAULDEN, M. E. (1957): Quoted by A. HOLLANDER. The effects of pre- and post-treatment on the radiation sensitivity of micro-organisms. *Advances in radiobiology*, p. 123—131. Edinburgh: Oliver & Boyd 1957.
- , and R. P. PERRY: Influence of the nucleolus on mitosis as revealed by ultraviolet microbeam irradiation. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **44**, 553—559 (1958).
- GEIDUSCHEK, E. P., T. NAKAMOTO, and S. B. WEISS: The enzymatic synthesis of RNA. Complementary interaction with DNA. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **47**, 1405—1415 (1961).
- GEORGIEV, G. P., and V. L. MANTIEVA: The isolation of DNA-like RNA and ribosomal RNA

- from the nucleolochromosomal apparatus of mammalian cells. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **61**, 153—154 (1962).
- GERBAULET, K., J. BRÜCKNER u. W. MAURER: Autoradiographische Untersuchungen über den Einfluß einer Röntgen-Ganzkörperbestrahlung auf die Eiweißsyntheserate im Zellkern. *Naturwissenschaften* **48**, 526—527 (1961).
- GERBER, G. B., G. GERBER, and K. I. ALTMAN: A new method for the quantitative determination of  $\beta$ -aminoisobutyric acid. *Clin. chim. Acta* **5**, 607—608 (1960a).
- — — The catabolism of tissue nucleic acid in the rat. I. The replacement time of deoxyribonucleic acid. *J. biol. Chem.* **235**, 1433—1436 (1960b).
- — — The catabolism of tissue nucleic acid. III. The catabolism of ribonucleic acid after total body X-irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **4**, 67—73 (1961).
- — — and L. H. HEMPELMANN: Some aspects of the catabolism of nucleic acids after exposure to ionizing radiation. *Int. J. Radiat. Biol., Suppl.* 89—92 (1960).
- GESZTI, O.: Discussion. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research*, Harrogate, 1962, p. 348. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1962.
- GILBERT, C. W., S. MULDAL, L. G. LAJTHA, and J. ROWLEY: Time-sequence of human chromosome duplication. *Nature (Lond.)* **195**, 869—873 (1962).
- GILBERT, W., M. CANNON, and R. CROOK: The binding of s-RNA by *Escherichia coli* ribosomes. *J. molec. Biol.* **7**, 360—378 (1963).
- GIRVIN, E. C., and J. K. HAMPTON: Effect of wholebody X-irradiation on plasma iron turnover in rats. *Proc. Soc. exp. Biol. Med. (N.Y.)* **100**, 481—483 (1959).
- GILLIN, D., S. L. COMMERFORD, E. AMSTERDAM, and W. L. HUGHES: X-rays affect the incorporation of 5-iododeoxyuridine into deoxyribonucleic acid. *Science* **133**, 1074—1075 (1961).
- GJESSING, E., and S. WARREN: Effect of radiation on the excretion of some of the nitrogenous constituents of urine in man. *Radiat. Res.* **15**, 276—289 (1961).
- GLAS, U., and L. RÉVÉSZ: Radiosensitivity of selected sub-lines of a tumour-cell population tested in the presence or absence of oxygen. *Int. J. Radiat. Biol.* **6**, 69—80 (1963).
- GLOCK, G. E., and P. MCLEAN: Levels of oxidized and reduced diphosphopyridine nucleotide and triphosphopyridine nucleotide and triphosphopyridine nucleotide in tumours. *Biochem. J.* **56**, 413—416 (1957).
- GOLD, M., C. W. HELLEINER, and M. PERCY: Deoxyribonucleic acid polymerase in L cells. II. Deoxyribonucleic acid polymerase activity in extracts of cells treated with X-rays. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **80**, 204—212 (1964).
- GOLDBLITH, S. A., B. F. PROCTOR, J. R. HOGNESS, and W. H. LANGHAM: The effect of cathode rays produced at 3000 kilovolts on niacin tagged with  $C^{14}$ . *J. biol. Chem.* **179**, 1163—1167 (1949).
- GOLDFEDER, A.: Radiosensitivity at the sub-cellular level. *Laval méd.* **34**, 12—43 (1963).
- GORDON, S. A.: Studies on the mechanism of phytohormone damage by ionizing radiation. *Proc. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy*, Geneva 1955, New York, U.N. **11**, 283—291, P/97 (1956).
- The effects of ionizing radiation on plants: biochemical and physiological aspects. *Quart. Rev. Biol.* **32**, 3—14 (1957).
- , and E. BUSS: Radiation response of auxin formation by animal tissue. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research*, Harrogate, 1962, p. 435—436. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- , and P. P. WEBER: Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant Physiol.* **26**, 192—195 (1951).
- GORDY, W.: Electron spin resonance in the study of radiation damage. *Symposium on Information Theory in Biology* (Ed. H. P. YOCKEY, R. L. PLATZMAN and H. QUASTLER), p. 241—261. London: Pergamon Press 1958.
- Electron spin resonance of free radicals in irradiated biochemicals. *Radiat. Res., Suppl.* **1**, 491—510 (1959).
- W. B. ARD, and H. SHIELDS: Microwave spectroscopy of biological substances. I. Paramagnetic resonance in X-irradiated amino acids and proteins. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **41**, 983—1004 (1955).
- W. B. ARD, and H. SHIELDS: Microwave spectroscopy of biological substances. I. Paramagnetic resonance in X-irradiated amino acids and proteins. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **41**, 983—996 (1955).
- GORIZONTOV, P.: Pathophysiological aspect of the pathogenesis of acute radiation sickness. *Proc. Sec. U.N. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy*, Geneva, U.N. **22**, P/2316, 455—474 (1958).
- GOUTIER, R.: La déoxyribonucléase acide de la rate après irradiation chez des rats normaux et des rats protégés par la cystéamine. *Radiat. Res.* **9**, 122 (1958).
- Effects of X-rays on nucleic acid biosynthesis and on the activity of nucleases in mammalian cells. *Progress in biophysics* (Ed. J. A. V. BUTLER, B. KATZ and R. E. ZIRKLE), **11**, p. 53—77. London: Pergamon Press 1961.
- , and I. BOLOGNA: Effects of total-body X-irradiation on an inhibitor of the DNA synthesizing enzymes of regenerating rat liver. *Biological effects of ionizing radiation at the molecular level. Internat. Atomic Energy Agency, Vienna*, 1962, p. 287—291.
- GOUTIER-PIROTE, M.: Action immédiate des rayons X sur la liaison déoxyribonucléase acide-granule cytoplasmatique de la rate du rat. *United Nations Paper A/AC. 82/G/R.*, **3**, Annex 1 (1956).
- GOWANS, J. L.: The recirculation of lymphocytes from blood to lymph in the rat. *J. Physiol. (Lond.)* **146**, 54—69 (1959).
- GOYER, R. A., M. W. YIN, and D. H. BOWDEN: Taurine excretion following drug-induced

- muscle necrosis and X-irradiation. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **116**, 534—536 (1964).
- GRAY, H. J., and R. M. S. SMELLIE: The formation of thymidine-5'-triphosphate by enzymes from *Landschutz ascites tumour cells*. *Biochem. J.* **84**, 45P (1962).
- GRAY, E. D., S. M. WEISSMAN, J. D. RICHARDS D. BELL, H. M. KEIR, R. M. S. SMELLIE, and J. N. DAVIDSON: Studies on the biosynthesis of deoxyribonucleic acid by extracts of mammalian cells. V. Factors interfering with biosynthesis. *Biochem. biophys. Acta (Amst.)* **45**, 111—120 (1960).
- GRAY, J. L., J. T. TEW, and H. JENSEN: Protective effect of serotonin and of para-aminopropiophenone against lethal doses of X-radiation. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **80**, 604—607 (1952).
- GRAY, L. H.: Discussion. Immediate and low level effects of ionizing radiations (Ed. A. A. BUZZATI-TRAVERSO), p. 215—216. London: Taylor & Francis 1960.
- A. D. CONGER, M. EBERT, S. HORNSEY, and O. C. A. SCOTT: The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. *Brit. J. Radiol.* **26**, 638—648 (1953).
- , and J. READ: The effect of ionizing radiations on the broad bean root. IV. The lethal effect of alpha radiation. *Brit. J. Radiol.* **15**, 320—336 (1942).
- — and H. LIEBMANN: Comparison of the effects of neutron and gamma-ray ionisation on the electrophoretic mobility of colloidal graphite particles. *Brit. J. Radiol.* **14**, 102—106 (1941).
- GREENSTEIN, J. P.: Recent progress in tumor enzymology. *Advances in enzymology* (Ed. NORD and WERKMAN), vol. 3, p. 315—348. New York: Interscience 1943.
- GREER, S., and S. ZAMENHOF: Effect of 5-bromouracil in deoxyribonucleic acid of *E. coli* on sensitivity to ultraviolet radiation. *Abstr. Am. Chem. Soc. 131st Meeting*, p3C (1957).
- GRIFFIN, E. G., and E. L. ALPEN: Iron utilization in the rat exposed to low-dosage whole-body X-irradiation. *Radiat. Res.* **3**, 230. (1955).
- GRIFFITHS, D. E.: A new phosphorylated derivative of NAD, an intermediate in oxidative phosphorylation. *Fed. Proc.* **22**, 1064—1070 (1963).
- GRIFORYEV, Y. G.: The primary changes in the functional state of the cerebral cortex in man with exposure to radiation. *Zh. Vestn. rentgenol. radiol. I.* No 5, 3 (1954); II. 2, 3 (1956).
- GRISHAM, J. W.: A morphological study of deoxyribonucleic acid synthesis and cell proliferation in regenerating rat liver. Autoradiography with thymidine-H<sup>3</sup>. *Cancer Res.* **22**, 842—849 (1962).
- GRONOW, M.: Experiments on the mechanism of the radiosensitization of cells by 2-methyl-1,4-naphthoquinol bis (disodium phosphate). *Int. J. Radiat. Biol.* **10**, 103—106 (1966).
- GROS, F.: Biosynthesis of proteins in intact bacterial cells. *The nucleic acids* (Ed. E. CHARGAFF and J. N. DAVIDSON), vol. III, p. 409—451. New York: Academic Press 1960.
- GROS, F., H. HIATT, W. GILBERT, C. G. KURLAND, R. W. RISEBROUGH, and J. D. WATSON: Unstable ribonucleic acid revealed by pulse labelling of *Escherichia coli*. *Nature (Lond.)* **190**, 581—585 (1961).
- GROSSMANN, V.: Discussion. Biological effects of ionising radiations at the molecular level. *Internat. Atomic Energy Agency, Vienna, 1962*, p. 107.
- GRUNDMANN, E.: Beitrag zur DNA-Synthese im Interphasekern und zum Thema „Ruhekerngift-Wirkung“. *Grundlagen und Praxis chemischer Tumorbehandlung* (Ed. J. PIRWITZ), S. 187. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954a.
- Beitrag zur DNA-Synthese im Interphasekern und zum Thema „Ruhekerngift-Wirkung“. *Grundlagen und Praxis chemischer Tumorbehandlung* (Hrsg. J. PIRWITZ), S. 187—190. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954b.
- Experimentelle Untersuchungen über die funktionelle Cytomorphologie der lymphatischen Strukturen bei Entzündung sowie unter Cortison und DOCA. *Beitr. path. Anat.* **119**, 377—432 (1958).
- Der morphologische Nachweis von zwei Lymphocyten systemen beim Menschen. *Klin. Wschr.* **37**, 941—946 (1959a).
- Weitere Untersuchungen über die Lymphocytenbildung. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **42**, 211—215 (1959b).
- , u. H. SIEBURG: The histogenesis and cytogenesis of liver carcinoma in the rat due to diethylnitrosamine in the light microscopic picture. *Beitr. path. Anat.* **126**, 57—90 (1962).
- GUNZ, F. W.: Bone marrow changes in patients with chronic leukaemia treated by splenic X-irradiation. *Blood* **8**, 687—692 (1953).
- GUSBERG, S. B., H. M. M. TOVELL, M. LONG, and J. C. HILL: Studies on nucleoprotein patterns in radiosensitivity testing. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **63**, 1447—1457 (1956).
- GUTTMAN, P. H., and H. I. KOHN: Progressive intercapillary glomerulosclerosis in the mouse, rat and Chinese hamster, associated with aging and X-ray exposure. *Amer. J. Path.* **37**, 293—307 (1960).
- — Partial-body X-ray exposure and the development of progressive intercapillary glomerulosclerosis in the BALB/C mouse. *Radiat. Res.* **18**, 191—199 (1963a).
- — Age at X-ray exposure and the acceleration of intercapillary glomerulosclerosis. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962*, p. 392, 395, Abstracts, E-2-1, p. 52. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963b.
- HADDOW, A., and P. ALEXANDER: An immunological method of increasing the sensitivity of primary sarcomas to local irradiation with X-rays. *Lancet* **1964 I**, 452—457.
- HAGEN, U.: Die Wirkung energiereicher Strahlen auf Cytochrom c. *Z. Naturforsch.* **10b**, 210—214 (1955).
- Zur Frage der Strahlenaktivierung von Fermenten. *Strahlentherapie* **106**, 277—281 (1958).

- HAGEN, U.: Viskosität der Thymus-Desoxyribonukleinsäure in röntgenbestrahlten Ratten. *Naturwissenschaften* **24**, 601 (1960a).
- Labilization of deoxyribonucleic acid in thymus nucleoprotein after whole-body irradiation. *Nature (Lond.)* **187**, 1123—1124 (1960b).
- Metal linkages in the thymus nucleohistone and their damage by X-irradiation. *Biochem. J.* **76**, 56—57 (1960).
- Untersuchungen über die Entstehung der Thymusatrophie nach Röntgenbestrahlung. II. Das Schicksal der Desoxyribonukleinsäure. *Strahlentherapie* **116**, 385—394 (1961).
- Radiosensitivity of hydrogen bonds in deoxyribonucleic acid. *Nature (Lond.)* **194**, 182—183 (1962a).
- Untersuchungen über die Entstehung der Thymusatrophie nach Röntgenbestrahlung. III. Die Bindungen zwischen Desoxyribonukleinsäure und Protein im strahlengeschädigten Zellkern. *Strahlentherapie* **117**, 119—128 (1962b).
- Untersuchungen über die Entstehung der Thymusatrophie nach Röntgenbestrahlung. IV. Über die Strahlenaktivierung von Fermenten. *Strahlentherapie* **117**, 201—209 (1962c).
- Viscosity of single-stranded deoxyribonucleic acid after X-irradiation in the native state. *Nature (Lond.)* **197**, 1004—1005 (1963).
- , u. H. BRAUN: Untersuchungen über die Entstehung der Thymusatrophie nach Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **116**, 374—384 (1961).
- H. ERNST, and I. CEPICKA: Radiosensitivity of glycolytic enzymes in the nucleus. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **74**, 598—607 (1963).
- R. KOCH u. H. LANGENDORFF: Die Wirkung von Röntgenstrahlen auf die Azetylierungsvorgänge in der Rattenleber. *Fortschr. Röntgenstr.* **84**, 604—609 (1956).
- , u. H. LANGENDORFF: Einfluß der ionisierenden und der U.V.-Strahlung auf die Atmung. In *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, Bd. XII/2 (Hrsg. von RUHLAND). Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.
- HAJDUKOVIC, S.: Etude histochemique de l'action des rayons X sur les cholinestérasés. *Experientia (Basel)* **11**, 356—357 (1953).
- HALE, W. M., and R. D. STONER: Enhancing effect of continuous cobalt-60 gamma-radiation on susceptibility to anaphylactic shock in mice. *Radiat. Res.* **8**, 449—459 (1958).
- HALEY, T. J.: Changes induced in brain activity by low doses of X-irradiation. Effects of ionizing radiation on the nervous system. Int. Atomic Energy Agency, Vienna, 1962, p. 171—185.
- HAMILTON, L. D.: Diss. for Degree of Ph.D., University of Cambridge 1952.
- Control of lymphocyte production. Homeostatic mechanisms. Brookhaven Symposia in Biol. **10**, 52—71 (1957).
- Control and functions of the lymphocyte. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **73**, 39—46 (1958).
- HAMILTON, L. D. G., M. FURLAN, and P. ALEXANDER: Release of RNAase bound in the nucleus of lymphoma cells following X-irradiation. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962*, p. 436—437, Abstracts, E-4-1, p. 205. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- HARBERS, E.: Wirkungen ionisierender Strahlen auf die Nukleinsäuren. *Strahlentherapie* **112**, 333—368 (1960).
- Stoffwechsel verschiedener Ribonucleinsäure-Fractionen aus den Kernen „Ruhender“ und proliferierender Zellen. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **327**, 3—12 (1961).
- Wirkungen ionisierender Strahlen auf die Zelle. *Dtsch. med. Wschr.* **87**, 1395—1399 (1962).
- , u. R. BACKMANN: Untersuchungen über den Einfluß von Röntgenstrahlen auf die Desoxyribonukleinsäure im Walker-Carcinom der Ratte. *Exp. Cell Res.* **10**, 125—131 (1956).
- , and C. HEIDELBERGER: Studies on nucleic acid biosynthesis in Ehrlich ascites cells suspended in a medium permitting growth. *J. biol. Chem.* **234**, 1249—1354 (1954).
- HARRINGTON, H.: Effect of irradiation on cell division and nucleic acid synthesis in Strain U-12 fibroblasts. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **41**, 461—469 (1960).
- The effect of X-irradiation on the progress of Strain U-12 fibroblasts through the mitotic cycle. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **95**, 901—910 (1961).
- Effect of irradiation on DNA synthesis by mouse lymphoblasts L5178-Y grown *in vivo* and *in vitro*. *Radiat. Res.* **16**, 560 (Abstract) (1962).
- Effect of X-irradiation on the priming activity of DNA. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **51**, 59—66 (1964).
- , and P. E. LAVIK: Effect of irradiation on the synthesis of rat DNA. *Fed. Proc.* **12**, 214 (1953).
- — The differential effect of X-irradiation on various precursors into rat thymus DNA. *Arch. Biochem.* **54**, 6—14 (1955).
- , and M. RIGANATI: Some properties of DNA irradiated *in vitro*. *Radiat. Res.* **19**, 188 (Abstract B 12) (1963).
- HARRINGTON, N. J., and R. W. KOZA: Effect of X-radiation on the desoxyribonucleic acid and on the size of grasshopper embryonic nuclei. *Biol. Bull.* **101**, 138—150 (1951).
- HARRIS, H.: Family studies on the urinary excretion of  $\alpha$ -aminoisobutyric acid. *Ann. Eugen. (Lond.)* **18**, 43—44 (1953/54).
- Relationship between nuclear and cytoplasmic ribonucleic acid. *Nature (Lond.)* **198**, 183—184 (1963a).
- Rapidly labelled ribonucleic acid in the cell nucleus. *Nature (Lond.)* **198**, 184—185 (1963b).
- The breakdown of ribonucleic acid in the cell nucleus. *Proc. roy. Soc. B* **158**, 79—87 (1963c).
- , and J. W. WATTS: The relationship between nuclear and cytoplasmic ribonucleic acid. *Proc. roy. Soc. B* **156**, 109—121 (1962).
- HARTMANN, K.-U., and C. HEIDELBERGER: Studies on fluorinated pyrimidines. XIII. Inhibition of thymidylate synthetase. *J. biol. Chem.* **236**, 3006—3013 (1961).

- HARTWEG, H., u. G. BÖWING: Zur Wirkung des Vitamin B<sub>6</sub> im strahlengeschädigten Organismus. Untersuchungen über den Tryptophan-Stoffwechsel röntgenbestrahlter Tiere. *Strahlentherapie* **106**, 289—293 (1958).
- HASTERLIK, R. J., and L. D. MARINELLI: Physical dosimetry and clinical observations on four human beings involved in an accidental critical assembly excursion. *Proc. Int. Conf. Peaceful Uses of Atomic Energy*, Geneva, 1955, New York, U.N. **11**, 25—34, P/478 (1956).
- HAUSCHKA, T. S.: Chromosome patterns in primary neoplasia. *Exp. Cell Res.*, Suppl. **9**, 86—98 (1963).
- Discussion. *Exp. Cell Res.*, Suppl. **9**, 567—568 (1963).
- HAYNES, R. H., W. R. INCH, and R. B. URETZ: Interaction of radiation and nitrogen mustard in microorganisms. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research*, Harrogate, 1962, Abstracts, B-3-1, p. 17.
- HEIDELBERGER, C.: Biochemical mechanisms of action of fluorinated pyrimidines. *Exp. Cell Res.*, Suppl. **9**, 462—471 (1963).
- HEINEKE, H.: Über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf innere Organe. *Münch. med. Wschr.* **51**, 785—786 (1904).
- HEINIGER, J. P., u. H. AEBI: Methämoglobinbildung durch Röntgenbestrahlung in Hämolytisch und intakten Erythrocyten von verschiedenem Katalasegehalt. *Helv. chim. Acta* **46**, 255—268 (1963).
- HEKTOEN, L.: The influence of the X-ray on the production of antibodies. *J. infect. Dis.* **17**, 415—422 (1915).
- HELDE, M.: An irradiation effect on onion roots. *Acta radiol. (Stockh.)*, Suppl. **116**, 684 (1954).
- Observations on rhythmical-potential difference fluctuations in onion roots and the radiosensitivity of this reaction. *Int. J. Radiat. Biol.* **6**, 523—527 (1963).
- HEMINGWAY, J. T.: Corticosteroids and the radiation effect in regenerating liver of the rat. *Experientia (Basel)* **15**, 189. (1959).
- HEMPELMANN, L. H., H. LISCO, and J. G. HOFFMAN: The acute radiation syndrome: A study of nine cases and a review of the problem. *Ann. intern. Med.* **36**, 279—510 (1952).
- HEMS, G.: Effect of ionizing radiation on aqueous solutions of guanylic acid and guanosine. *Nature (Lond.)* **181**, 1721—1722 (1958).
- Effect of ionizing radiation upon xanthosine in dilute aqueous solution. *Nature (Lond.)* **185**, 525—526 (1960a).
- Chemical effects of ionizing radiation on deoxyribonucleic acid in dilute aqueous solution. *Nature (Lond.)* **186**, 710—712 (1960b).
- Effects of ionizing radiation on aqueous solutions of inosine and adenosine. *Radiat. Res.* **13**, 777—787 (1960c).
- A new effect of ionizing radiation on nucleoprotein. *Nature (Lond.)* **189**, 849—851 (1961).
- HENGSTENBERG, J., u. E. SCHUCH: Assoziation von Hochpolymeren in Lösung. *Angew. Chem.* **74**, 256 (1962).
- HENKE, H., H. MASS u. G. SCHUBERT: Die Wirkung von Zystein auf die strahleninduzierte Hemmung der DNS-Synthese. *Strahlentherapie* **106**, 253—255 (1958).
- HENNESSY, T. G., and R. L. HUFF: Depression of iron uptake curve in rat erythrocytes following total body X-irradiation. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **73**, 436—439 (1950).
- HENRI, V., et A. MAYER: Action des radiations du radium sur les colloïdes, l'hémoglobine, les ferments et les globules rouges. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **138**, 521—524 (1904).
- HEROVICI, C., et C. X. AN: Signification pronostique des critères cytochimiques dans une série de 117 cancers du col uterin. *Bull. Ass. franç. Cancer* **45**, 83—91 (1958).
- HESS, E. L., and S. E. LAGG: The effect of ionizing radiations on the macromolecular composition of the thymus. *Radiat. Res.* **9**, 260—269 (1958).
- HEVESY, G.: Effects of roentgen rays on cellular division. *Rev. Mod. Physics* **17**, 102—111 (1945).
- Effects of <sup>14</sup>C into thymonucleic acid. *Nature (Lond.)* **163**, 869—870 (1949).
- The application of radioactive indicators in biochemistry. *J. chem. Soc.* **1951**, 1618—1639.
- Effect of irradiation with X-rays on the catabolism of methyl alcohol in the mouse. *Acta physiol. scand.* **30**, 90—96 (1953).
- Application of radioactive isotopes as indicators in radiobiology. *Acta radiol. (Stockh.)*, Suppl. **116**, 423—430 (1954).
- Radioactive tracers in radiobiological studies. *Brit. J. Radiol.* **29**, 465—477 (1956).
- , and R. BONNICHSEN: Effects of irradiation with roentgen rays on hemoglobin formation. *Ann. Acad. Sci. fenn., A II*, 295—302 (1955).
- , and G. DREYFUS: Effect of X-rays on the incorporation of <sup>14</sup>C into tissue fractions in the mouse. *Ark. Kemi (Stockh.)* **4**, 337—361 (1952).
- , and A. FORSSBERG: Effects of X-rays on the exhalation of CO<sub>2</sub> by the mouse. *Nature (Lond.)* **168**, 692—693 (1951).
- HEVESY, G. v., u. A. FORSSBERG: Über die atomare Stabilität der Desoxyribonukleinsäure-Moleküle. *Strahlentherapie* **116**, 324—330 (1961).
- HEWITT, H. B.: Studies of the dissemination and quantitative transplantation of a lymphocytic leukaemia of CBA mice. *Brit. J. Cancer* **12**, 378—401 (1958).
- , and C. W. WILSON: A survival curve for mammalian cells irradiated in vivo. *Nature (Lond.)* **183**, 1060—1061 (1959a).
- — The effect of tissue oxygen tension on the radiosensitivity of leukaemic cells irradiated *in situ* in the livers of leukaemic mice. *Brit. J. Cancer* **13**, 675—684 (1959b).
- — Further studies relating to the implications of radiation survival curve data for treatment of CBA mouse leukaemia by whole-body irradiation. *Brit. J. Cancer* **14**, 186—194 (1960).

- HEYNINGEN, R. VAN, A. PIRIE, and J. W. BOAG: Changes in lens during the formation of X-ray cataract in rabbits. *Biochem. J.* **56**, 372—379 (1954).
- HIATT, H. H.: A rapidly labelled RNA in rat liver nuclei. *J. molec. Biol.* **5**, 217—229 (1962).
- , and T. B. BOJARSKI: Stimulation of thymidylate kinase activity in rat tissue by thymidine administration. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **2**, 35—39 (1960).
- HICKMAN, S., and G. ASHWELL: Effects of X-rays on anaerobic glycolysis in spleen homogenates. *J. biol. Chem.* **205**, 651—659 (1953).
- HICKS, S. P.: Effects of ionizing radiation on the adult and embryonic nervous system. *Ass. Res. nerv. Dis. Proc.* **32**, chap. 24, 439—462 (1953).
- Radiation as an experimental tool in mammalian developmental neurology. *Physiol. Rev.* **38**, No 3, 337—356 (1958).
- HILZ, H., u. H. BERNDT: Die Schutzwirkung des Nicotinsäureamid auf die strahlenbedingte Schädigung der DNS-Synthese als Zellpopulationsproblem. *Z. Krebsforsch.* **66**, 155—164 (1964).
- M. v. GOSSLER, M. OLDEKOP, and M. SCHOLZ: Effects of X-ray irradiation in ascites tumor cells: Partial restoration of DPN content and DNA synthesis by nicotinamide. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **6**, 379—384 (1961).
- B. HUBMANN, M. OLDEKOP, M. SCHOLZ u. M. v. GOSSLER: Die Wirkung von Röntgenstrahlen und cytostatischen Verbindungen auf DPN-Gehalt und DNS-Synthese in Ascites-tumorzellen. *Biochem. Z.* **336**, 62—76 (1962).
- HINDLEY, J.: The relative ability of reconstituted nucleohistones to allow DNA-dependent RNA synthesis. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **12**, 175—179 (1963).
- HJORT, G.: Effect of roentgen irradiation of lymphocytes *in vivo*. *Acta radiol. (Stockh.)* **52**, 315—320 (1959).
- Cytophotometric determinations of nucleic acid in rat lymphocytes after irradiation. *Radiat. Res.* **13**, 108—114 (1960).
- HNILICA, L. S., and D. BILLEN: The effect of DNA-histone interactions on the biosynthesis of DNA *in vitro*. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **91**, 271—280 (1964).
- HOAGLAND, M. B.: The relationship of nucleic acid and protein synthesis as revealed by studies in cell free systems. *The nucleic acids* (Ed. E. CHARGAFF and J. N. DAVIDSON), vol. III, p. 349—408. New York: Academic Press 1960.
- HOBİK, H. P., u. E. GRUNDMANN: Quantitative Veränderungen der DNS und der RNS in der Rattenleberzelle während der Carcinogenese durch Diäthylnitrosamin. *Beitr. path. Anat.* **127**, 25—48 (1962).
- HOCHMAN, A.: Discussion. Intermediate and low level effects of ionizing radiations (Ed. A. A. BUZZATI-TRAVERSO), p. 43—44. London: Taylor & Francis 1960.
- , and L. BLOCH-FRANKENTHAL: The effect of low and high X-ray dosage on the ascorbic acid content of the suprarenal. *Brit. J. Radiol.* **26**, 599—600 (1953).
- HÖHNE, G., H. A. KÜNDEL, H. MAASS, G. H. RATHGEN u. G. UHLMANN: Der Kohlenhydratstoffwechsel einiger Impftumoren der Ratte nach Röntgenbestrahlung *in vitro*. *Z. Krebsforsch.* **61**, 666—672 (1957).
- HÖLZEL, F., H. MAASS u. W. SCHMACK: Studien zum Einfluß von Röntgenstrahlen und Triäthyleniminobenzochinon auf den Stoffwechsel von Yoshida-Aszites-Sarkomzellen. *Strahlentherapie* **119**, 194—208 (1962).
- HOKIN, M. R., and L. E. HOKIN: Protein synthesis and ribonucleic acid metabolism in mouse pancreas *in vitro* after whole body irradiation with X-rays. *J. biol. Chem.* **219**, 85—94 (1956).
- HOLLAENDER, A.: Discussion. *Ciba Symposium on Ionizing Radiations and Cell Metabolism*, p. 206—209. London: Churchill 1956.
- Initial steps in radiation damage to chromosomes and means of preventing this effect. *The initial effects of ionizing radiations on cells* (Ed. R. J. C. HARRIS), p. 201—206. London: Academic Press 1961.
- HOLMES, B. E.: Metabolism of tissues growing in culture. *Biochem. J.* **27**, 391—396 (1933).
- Metabolism of tissues growing in culture. VI. Effect of radium on the lactic dehydrogenase and arginase systems of embryonic tissue. *Biochem. J.* **29**, 2285—2290 (1935).
- The effect of X-rays on the glucose and hexose phosphate glycolysis of tumour tissue. *Proc. roy. Soc. B* **127**, 223—237 (1939).
- The inhibition of ribonucleic acid and thymonucleic acid synthesis in tumour tissue by irradiation with X-rays. *Brit. J. Radiol.* **20**, 449—453 (1947).
- The indirect effect of X-rays on the synthesis of nucleic acids *in vivo*. *Brit. J. Radiol.* **22**, 487—491 (1949a).
- Synthesis of proteins in irradiated tumours. *Ann. Rep. Brit. Cancer Camp.* 1949b, p. 219—221.
- Action of roentgen radiation on regenerating liver. *Acta radiol. (Stockh.)*, Suppl. **116**, 694 (1954).
- Influence of radiation on metabolism of regenerating rat liver. *Ciba Foundation Symposium on Ionizing Radiation and Cell Metabolism*, p. 225—238. London: Churchill 1956.
- , and L. K. MEE: Substances affecting the synthesis of nucleic acid in tumour and liver tissue. *30th Ann. Rep. Brit. Emp. Cancer Camp.*, 1952a, p. 242—243.
- The incorporation of methionine <sup>35</sup>S into the proteins of the Jensen rat sarcoma cells after irradiation of the tumour. *Brit. J. Radiol.* **25**, 273—278 (1952b).
- Effect of chemical agents on nucleic acid and protein synthesis in rat tumour tissue *in vivo*. *Brit. J. Radiol.* **26**, 326—328 (1953).
- The inhibition of DNA synthesis by irradiation with special preference to irradiation in the early stages of liver regeneration. *Radio-biology Symposium (Liège)*, 1955, p. 220—224.

- HOLTHUSEN, H.: Beiträge zur Biologie der Strahlenwirkung. Untersuchungen an Askariseiern. Pflügers Arch. ges. Physiol. **187**, 1—24 (1921).
- Die biologische Dosierung in der Strahlentherapie der einzelnen Gewebe. Strahlenempfindlichkeit der normalen und pathologischen Gewebe. In: Handbuch der gesamten Strahlenheilkunde, Bd. 2, S. 16. München: J. F. Bergmann 1931.
- HOLZER, H., P. GLOGNER u. G. SEDLMAYR: Zum Mechanismus der Glykolysehemmung durch carcinostatisch wirkende Äthyleniminverbindungen. Biochem. Z. **330**, 59—72 (1958).
- G. SEDLMAYR u. A. KEMNITZ: Zum Wirkungsmechanismus carcinostatischer Chemotherapeutica. Hemmung der Glykolyse durch Äthylenimino-Verbindungen. Biochem. Z. **328**, 163—175 (1956).
- HOPE, D. B.: Thiols and radiation damage. Biochem. Soc. Symposium **17**, 93—114 (1959).
- HOPWOOD, F. C., and J. T. PHILLIPS: Chemical action caused by neutrons and gamma rays and the effects of these agents on colloids. Nature (Lond.) **136**, 1026 (1935).
- HORNSEY, S.: The effect of X-irradiation on the length of the mitotic cycle in *Vicia faba* roots. Exp. Cell Res. **11**, 340—345 (1956).
- , and G. SILINI: Studies on cell-survival of irradiated Ehrlich ascites tumour. II. Dose-effect curves for X-ray and neutron irradiations. Int. J. Radiat. Biol. **4**, 135—141 (1961).
- HOTTA, Y., and H. STERN: Molecular facets of mitotic regulation. II. Factors underlying the removal of thymidine kinase. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **49**, 861—865 (1963).
- HOWARD, A.: Influence of radiation on DNA metabolism. Ciba Foundation Symposium on Ionizing Radiations and Cell Metabolism, p. 196—206. London: Churchill 1956.
- , and G. DOUGLAS: Effect of X-irradiation on DNA-labelling in cells exposed during synthesis. Int. J. Radiat. Biol. **6**, 405—415 (1963).
- , and S. R. PELC: Synthesis of deoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. Heredity **6**, Suppl. Symposium on Chromosome Breakage 1953, p. 261—273.
- HOWARD-FLANDERS, P., and R. P. BOYCE: The mechanisms of sensitization of *E. coli* B. to U.V. light by the incorporation of bromodeoxyuridine. Radiat. Res. **16**, 563 (Abstract) (1962).
- J. LEVIN, and L. THERIOT: Reactions of deoxyribonucleic acid radicals with sulphhydryl compounds in X-irradiated bacteriophage systems. Radiat. Res. **18**, 593—606 (1963).
- , and O. C. A. SCOTT: Tissue oxygen tension and radiotherapy. Radiology **74**, 956—963 (1960).
- HSU, T. C.: Discussion. Exp. Cell Res., Suppl. **9**, 110 (1963); also reference to SOMERS, COLE and Hsu 1963.
- W. C. DEWEY, and R. M. HUMPHREY: Radiosensitivity of cells of Chinese hamster *in vitro* in relation to the cell cycle. Exp. Cell Res. **27**, 441—452 (1962).
- HSU, T. C., and D. S. KELLOGG, Jr.: Primary cultivation and continuous propagation *in vitro* of tissues from small biopsy specimens. J. nat. Cancer Inst. **25**, 221—235 (1960).
- , and C. E. SOMERS: Effect of 5-bromodeoxyuridine on mammalian chromosomes. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **47**, 396—403 (1961).
- HUBERT, R.: Der Einfluß der Röntgenstrahlen auf die energieliefernden Reaktionen des wachsenden Gewebes. Pflügers Arch. ges. Physiol. **223**, 333—350 (1929).
- HUDSON, J. A., and D. B. CATER: An analysis of factors affecting tissue oxygen tension. Proc. roy. Soc. B **161**, 247—274 (1964).
- HUG, O.: Die akuten Allgemeinreaktionen bei Ganz- und Teilkörperbestrahlung. Strahlenbiologie, Strahlentherapie, Nuklearmedizin und Krebsforschung (Hrsg. H. R. SCHINZ, H. HOLTHUSEN, H. LANGENDORFF, B. RAJEWSKY u. G. SCHUBERT), S. 582—662. Stuttgart: Georg Thieme 1959.
- Reflex-like responses of lower animals and mammalian organs to ionizing radiation. Intermediate and low level effects of ionizing radiation (Ed. A. A. BUZZATI-TRAVERSO), p. 217—224. London: Taylor & Francis 1960.
- Hypothesis on the action mechanisms of the effect of ionizing radiation on the nervous system. Effects of ionizing radiation on the nervous system. Internat. Atomic Energy Agency, Vienna, 1962, p. 488—495.
- , and H. J. SCHLIEP: Immediate reactions of nerves and muscles to ionizing radiation. The initial effects of ionizing radiations on cells (Ed. R. J. C. HARRIS), p. 287—299. London: Academic Press 1961.
- HUGHES, W. L., V. P. BOND, G. BRECHER, E. P. CRONKITE, R. B. PAINTER, H. QUASTLER, and F. G. SHERMAN: Cellular proliferation in the mouse as revealed by autoradiography with tritiated thymidine. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **44**, 476—483 (1958).
- HULSE, E. V.: The action of cysteamine and Synkavit on gastric emptying in the normal and irradiated rat. Brit. J. Pharmacol. **13**, 260—265 (1958).
- HUMPHREY, R. M., W. C. DEWEY, and A. CORK: Sensitivity of Chinese hamster cells to ultraviolet and ionizing radiation in relation to the cell cycle. Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962, p. 227—229, Abstract C-2-1, p. 26. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1962.
- HUNT, E. L., and D. S. KIMELDORF: Evidence for direct stimulation of the mammalian nervous system with ionizing radiations. Report USNRDL-TR-561, 2 May 1962.
- HUNTLEY, G. H., and L. G. LAJTHA: The radiosensitivity of the processes of DNA-synthesis in mouse spleen. Int. J. Radiat. Biol. **5**, 447—460 (1962).
- HURWITZ, J., J. J. FURTH, M. MALAMY, and M. ALEXANDER: The role of deoxyribonucleic acid in ribonucleic acid synthesis. III. The inhibition of enzymatic synthesis of ribonucleic

- acid and deoxyribonucleic acid by actinomycin D and proflavin. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **48**, 1222—1230 (1962).
- ITZHAKI, RUTH F.: Electric birefringence investigations of deoxyribonucleoprotein from rat thymus. *Nature (Lond.)* **194**, 241—242 (1962a).  
— Electric birefringence studies of control and irradiated deoxyribonucleoprotein (DPN). *Proc. Sec. Int. Congr. of Radiation Research, Harrogate, 1962b*. Abstracts, p. 13.
- ITZHAKI, R. F., and E. H. BELCHER: Studies on plasma iron in the rat. II. Plasma iron concentration and plasma iron-binding capacity. *Arch. Biochem.* **92**, 74—80 (1961).
- ITZHAKI, S., and M. CRONE: Pathways of thymidylc acid formation. *Ann. Rep. Brit. Emp. Cancer Camp. 1962*, p. 378—379.
- IVY, A. C., B. H. ORNDOFF, A. JACOBY, and J. E. WHITLOW: Studies of the effects of X-rays on glandular activity. *J. Radiol.* **4**, 189—199 (1923).
- JACKSON, K. L., and C. ENTENMAN: Urinary purine excretion in the X-irradiated dog. U.S.N.R.D.L.-TR-99 (1956).
- JACOB, F., and J. MONOD: Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. molec. Biol.* **3**, 318—356 (1961).
- JAFFE, J. J., L. G. LAJTHA, J. LASCELLES, M. G. ORD, and L. A. STOCKEN: The effects of X-radiation on the processes leading to DNA synthesis in regenerating rat liver. *Int. J. Radiat. Biol.* **1**, 241—246 (1959).
- JAMMET, H., G. MATHÉ, B. PENDIC, B. MAUPIN, R. LATARJET, D. KALIC, L. SCHWARZENBERG, Z. DJUKIC et V. VIGNE: Étude de six cas d'irradiation totale aigue accidentelle. *Rev. franç. Étud. clin. biol.* **4**, 210—238 (1959).
- JARDETZKY, CH. D., and C. P. BARNUM: Metabolic activity and intracellular distribution of nucleic acid phosphorus in regenerating liver. *Arch. Biochim.* **67**, 350—365 (1957).
- JOLLES, B., M. REMINGTON, and I. SIMON-REUSS: Indirect radiation effects and diffusible factors in irradiated tissues (Stromatex). *Acta radiol. (Stockh.)* **56**, 57—64 (1961).
- JOSTES, E.: Ovar. *Strahlenpathologie der Zelle*, (Ed. E. SCHERER and H.-S. STENDER), S. 21—44. Stuttgart: Georg Thieme 1963.
- JOVANOVICH, M.: Discussion. Immediate and low level effects of ionizing radiations (Ed. A. A. BUZZATI-TRAVERSO), p. 102. London: Taylor & Francis 1960.
- KANAZIR, D.: Contribution à l'étude des effets de l'irradiation U.V. sur le métabolisme d'*Escherichia coli*. Thèse de Doctorat Special. Bruxelles 1955.
- , et M. ERRERA: Métabolisme des acides nucléiques chez *E. coli* B. après irradiation U.V. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **14**, 62—66 (1954).
- KAPLAN, H. S.: Potentiation of bacterial radiosensitivity by nucleic acid analogs. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962*, Abstract B-3-1, p. 18 (1962a).  
—, and L. E. MOSES: Biological complexity and radiosensitivity. *Science* **145**, 21—25 (1964).
- KAPLAN, H. S., K. C. SMITH, and P. A. TOMLIN: Effect of halogenated pyridines on the radiosensitivity of *E. coli*. *Radiat. Res.* **16**, 98—113 (1962b).  
—, and P. A. TOMLIN: Enhancement of X-ray sensitivity of *E. coli* by 5-bromouracil. *Radiat. Res.* **12**, 447—448 (1960).  
—, and R. ZAVARINE: Correlation of bacterial radiosensitivity and DNA base composition. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **8**, 432—436 (1962).
- KARCZAG, L.: Strahlung und Kolloide. In: *Handbuch der gesamten Strahlenheilkunde (Hrsg. v. P. LAZARUS)*, Bd. I, S. 403—423; see S. 411—415. München: J. F. Bergmann 1928.
- KASATKIN, Y. N.: Effect of irradiation on excretion of deoxyribose-containing substances. *Vopr. Med. Radiol. Moscow, Sb.* **192**—197 (1962). *Cit. Chem. Abstr.* **60**, 7113 (1964).
- KASHA, M.: Introductory remarks to the Exciton Symposium. *Radiat. Res.* **20**, 53—54 (1963a).  
— Energy transfer mechanisms and the molecular exciton model for molecular aggregates. *Radiat. Res.* **20**, 55—71 (1963b).
- KATZ, E. J., and R. J. HASTERLIK: Amino-aciduria following total body irradiation in the human. *J. nat. Cancer Inst.* **15**, 1085—1107 (1955).
- KAUFMANN, B. P., M. R. McDONALD, and M. H. BERNSTEIN: Cytochemical studies of changes induced in cellular materials by ionizing radiations. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **59**, 553—566 (1955).
- KAY, E. R. M., N. S. SIMMONS, and A. L. DOUNCE: An improved preparation of sodium desoxyribonucleate. *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 1724—1726 (1952).
- KAY, R. E., J. O. EARLY, and C. ENTENMAN: Increased urinary excretion of taurine and urea by rats after X-irradiation. *Radiat. Res.* **6**, 98—109 (1957).  
—, and C. ENTENMAN: Free amino acids in the tissues and urine of the X-irradiated rat. *Fed. Proc. (Abstract)* **13**, 520—521 (1954).  
— — The effect of multiple exposures and partial body X-irradiation on urinary taurine excretion by the rat. *Radiat. Res.* **11**, 357—369 (1959).  
— D. C. HARRIS, and C. ENTENMAN: Urinary excretion and plasma levels of free ninhydrin reactive compounds in X-irradiated rats. *Amer. J. Physiol.* **186**, 175—179 (1956).
- KEIR, H. M., B. BINNIE, and R. M. S. SMELLIE: Factors affecting the primer for deoxyribonucleic acid polymerase. *Biochem. J.* **82**, 493—499 (1962).
- KELLY, L. S.: The time function of P<sup>32</sup> incorporation in DNA of regenerating liver. The effect of irradiation. *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.* **1**, 24—25 (1954).  
— Effect of radiation on DNA synthesis in mammalian cells. *Progr. Biophys.* **8**, 143—163 (1957).  
— Radiosensitivity of biochemical processes in fundamental aspects of radiosensitivity. Brook-

- haven Symposia in Biology No 14, 32—46 (1961).
- KELLY, L. S., J. D. HIRSCH, G. BEACH, and W. PALMER: The time function of P<sup>32</sup> incorporation into DNA of regenerating liver; the effect of irradiation. *Cancer Res.* **17**, 117—121 (1957).
- — — and A. H. PAYNE: Post-irradiation time and dose-response studies on the incorporation of P<sup>32</sup> into DNA of mouse tissue. *Radiat. Res.* **2**, 490—501 (1955).
- — — and N. L. PETRAKIS: DNA synthesis and incorporation of P<sup>32</sup> in irradiated Ehrlich ascites cells. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **94**, 83—86 (1957).
- , and H. B. JONES: Effects of irradiation on nucleic acid formation. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **74**, 493—497 (1950).
- , and A. H. PAYNE: Effects of irradiation on deoxyribonucleic acid. *Fed. Proc.* **12**, 76 (1953).
- — — The effect of irradiation on DNA turnover in regenerating liver and normal mouse tissues. *Acta radiol. (Stockh.), Suppl.* **116**, 693—694 (1954).
- KIHLMANN, B. A.: The effect of 5-halogenated deoxy-uridines on the frequency of X-ray-induced chromosomal aberrations in *Vicia faba*. *Hereditas (Lund)* **49**, 353—370 (1963).
- KILLANDER, D., C. RIBBING, N. R. RINGERTZ, and B. M. RICHARDS: The effect of X-radiation on nuclear synthesis of protein and DNA. *Exp. Cell Res.* **27**, 63—69 (1962).
- KILLMAN, S. A., J. R. RUBINI, E. P. CRONKITE, and V. P. BOND: Urinary excretion of beta-aminoisobutyric acid (BAIBA) in leukaemia and polycythemia vera. *Acta haemat. (Basel)* **25**, 81—97 (1961).
- KIM, J. H., M. L. EIDINOFF, and J. S. LAUGHLIN: Recovery from sub-lethal X-ray damage of mammalian cells during inhibition of synthesis of deoxyribonucleic acid. *Nature (Lond.)* **204**, 598—599 (1964).
- KIRBY, K. S.: The preparation of deoxyribonucleic acids by the p-aminosalicylate-phenol method. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **36**, 117—124 (1959).
- Fractionation of nucleic acids in relation to cancer. In: *The molecular basis of neoplasia*, p. 59—75. Austin: University of Texas Press 1962.
- KIRBY-SMITH, J. S., and M. L. RANDOLPH: Production and life-time of radiation-induced free radicals in some molecules of biological importance. Intermediate and low level effects of ionizing radiations. *Int. J. Radiat. Biol., Suppl. Proc. Symposium, Venice 1959*, p. 11—23. London: Taylor & Francis 1960.
- KISIELSKI, W. E., R. BASERGA, and H. LISCO: Tritiated thymidine and the study of tumors. *Atompraxis* **7**, 81—85 (1961).
- KIT, S.: Investigations of the DNA content, base composition and chromatography on ECTEOA-cellulose of normal and tumor DNA preparations. *Arch. Biochem.* **87**, 330—336 (1960).
- KIT, S.: Physicochemical studies on the deoxyribonucleic acids of mouse tissues. In: *The molecular basis of neoplasia*, p. 133—146. Austin: University of Texas Press 1962.
- KLEIN, G., and A. FORSSBERG: Studies on the effect of X-rays on the biochemistry and cellular composition of ascites tumors. I. Effect on growth rate, cell volume, nucleic acid and nitrogen content of the Ehrlich ascites tumor. *Exp. Cell Res.* **6**, 211—220 (1954). II. Changes in the pattern of glycine-2-<sup>14</sup>C incorporation during the first two hours after irradiation in vivo. *Exp. Cell Res.* **7**, 480—497 (1954).
- KLOUWEN, H. M.: Radiosensitivity of nuclear RNA. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **42**, 366—368 (1960).
- A. W. M. APPELMAN, and I. BETEL: Radiosensitivity of nuclear ATP-synthesis. (Abstract.) *Int. J. Radiat. Biol.* **6**, 488 (1963). See also *Int. J. Radiat. Biol.* **5**, 509—511 (Abstract) (1962).
- — — and M. J. DE VRIES: Early radiation effects on nuclear phosphorylation in tumours and normal tissues. *Int. J. Radiat. Biol.* **8**, 390 (Abstract) (1964).
- , and I. BETEL: Radiosensitivity of nuclear ATP-synthesis. *Int. J. Radiat. Biol.* **6**, 441—461 (1963).
- KNOWLTON, N. P., and L. H. HEMPELMANN: The effects of X-rays on the mitotic activity of the adrenal gland, jejunum, lymph node and epidermis of the mouse. *J. cell. comp. Physiol.* **33**, 73—91 (1949).
- — — and J. G. HOFFMAN: The effects of X-rays on the mitotic activity of mouse epidermis. *Science* **107**, 625—626 (1948).
- KOBURG, E., u. W. MAURER: Autoradiographische Untersuchungen mit (<sup>3</sup>H) Thymidin über die Dauer der Deoxyribonukleinsäure-Synthese und ihren zeitlichen Verlauf bei den Darmepithelien und anderen Zelltypen der Maus. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **61**, 229—242 (1962).
- — Untersuchungen mit H<sup>3</sup>-Thymidin über die Dauer der DNS-Synthese und den zeitlichen Verlauf der DNS-Synthese bei verschiedenen Zellarten der Maus. *Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung (Hrsg. v. K. FELLINGER u. R. HÖFER)*, Bd. 5, S. 502—511. München: Urban & Schwarzenberg 1963.
- KOCH, R., J. FRÄNZ u. K. MARKAU: UV- und röntgenbedingte paramagnetische Resonanzabsorption an Aminosäuren und Eiweißen. *Atompraxis* **8**, 345—350 (1962).
- , u. S. KLEMM: Zur Frage des Strahlenschutzes durch Nikotinsäureamid. *Nucl.-Med. (Stuttg.)* **2**, 272—276 (1962).
- — Zum Mechanismus des Strahlenschutz-effektes von Nicotinsäureamid am Ehrlich-Ascites-Tumor. *Arzneimittel-Forsch.* **12**, 465—467 (1962).
- , u. K. MARKAU: Elektrospin-Resonanzspektren des Schwefels in bestrahlten Sulfhydrylkörpern und ihre Nachweisbarkeit im niederen Strahlendosisbereich. *Z. Naturforsch.* **16b**, 586—588 (1961).

- KOCH, R., u. I. SEITER: Der Einfluß des Nikotinsäureamides auf die Strahlenempfindlichkeit von Tumorzellen und röntgenganzkörperbestrahlten Mäusen. *Naturwissenschaften* **19**, 626—627 (1961).
- KÖHNLEIN, W., and A. MÜLLER: Absolute yield measurements of radiation-produced radicals by electron spin resonance. *Phys. in Med. Biol.* **6**, 599—604 (1962).
- KOLLER, P. C.: The cytological effects of irradiation at low intensities. *Heredity* **6**, Suppl. Symposium on Chromosome Breakage, 1953, p. 5—22.
- Biological basis of radiotherapy. Article in *Cancer*, vol. 5 (Ed. R. W. RAVEN). London: Butterworths Medical Publ. 1958.
- KOLOUŠEK, J., u. Z. DIENSTBIER: Zur Wirkung von Röntgenstrahlen auf die Ausscheidung von radioaktivem Phosphor durch den Urin bei Ratten. *Neoplasma* **10**, 387 (1963). *Cit. Arch. Geschwulstforsch.* **23**, 138 (1964).
- KORNBERG, A.: Biological synthesis of deoxyribonucleic acid. *Science* **131**, 1503—1508 (1960).
- KOWLESSAR, O. D., K. I. ALTMAN, and L. H. HEMPELMAN: Effects of ionising radiations on deoxyribonuclease activity of body fluids. I. Effects of total body exposure on the urinary excretion of deoxyribonucleases. *Arch. Biochem.* **52**, 362—367 (1954).
- KRAUSE, M., and W. PLAUT: An effect of chloramphenicol on the incorporation of tritiated thymidine into chromosomal DNA. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **42**, 179—180 (1960a).
- An effect of tritiated thymidine on the incorporation of thymidine into chromosomal deoxyribonucleic acid. *Nature (Lond.)* **188**, 511—512 (1960b).
- KRETCHMAR, A. L.: An alteration in the excretion of free serine in urine from unirradiated humans. *Nature (Lond.)* **183**, 1809—1810 (1959).
- , and C. PHIPPS: *ORINS-39*, p. 19, 20, 21 (1960).
- KRIEDEL, H., H. LANGENDORFF u. K. SHIBATA: Die Beeinflussung der embryonalen Entwicklung bei der Maus nach einer Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **119**, 349—370 (1962).
- , u. H.-J. MELCHING: Zur Strahlenwirksamkeit des 5-Hydroxytryptamins bei Ratten. *Naturwissenschaften* **46**, 652—653 (1959).
- KRITTER, H., et C. HEROVICI: Contribution à l'étude de la radiosensibilité des tumeurs utérines. *Bull. Ass. franç. Cancer* **4**, 513—521 (1956).
- KRÖGER, H., H. W. ROTTHAUWE, B. ULRICH u. H. HOLZER: Zum Einfluß von Carcinostatica auf den DPN-Stoffwechsel der Tumoren. 1. Einbau von  $^{14}\text{C}$ -Ribose und  $^{14}\text{C}$ -Nicotinsäureamid in das DPN von Asciteszellen. *Biochem. Z.* **333**, 148—154. 2. Nachweis von DPN-Bausteinen in Asciteszellen. *Biochem. Z.* **333**, 155—165 (1960).
- KUEHL, LE ROY: The state of deoxyribonucleic acid in the cell nucleus. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **55**, 289—299 (1962).
- KÜSTNER, H.: Wieviel R-Einheiten entspricht die HED? *Strahlentherapie* **26**, 120—146 (1927).
- KURNICK, N. B., B. W. MASSEY, and G. SANDEEN: The effect of radiation on tissue deoxyribonuclease. *Radiat. Res.* **11**, 101—114 (1959).
- KUYPER, C. M. A., S. LIÉBECQ-HUTTER et S. CHÈVREMONT-COMHAIRE: Effets de radiations ionisantes sur l'activité mitotique et les acides désoxyribonucléiques de fibroblastes cultivés *in vitro*. *Exp. Cell Res.* **28**, 459—479 (1962).
- KUZIN, A. M.: On the role of the disturbance of metabolic processes in the radiation damage of the cell. *Int. J. Radiat. Biol.* **6**, 211—220 (1963).
- LACASSAGNE, A.: Chute de la sensibilité aux rayons X chez la souris nouveau-née en état d'asphyxie. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **215**, 231—232 (1942).
- Étude histologique et physiologique des effets produits sur l'ovaire par les rayons X. Lyon: Rey 1953.
- , et G. GRICOUROFF: Action des radiations sur les tissus. Paris: Masson & Cie. 1941.
- LADDAGA, M., and U. ROMAGNOLI: Demonstration of some latent lesions in the liver cell. *Minerva nucl.* **5**, 294—295 (1961).
- LÄWEN, A.: Experimentelle Untersuchungen über das Verhalten röntgenisierter Tiere gegen bakterielle Infektionen unter besonderer Berücksichtigung der Bildung spezifischer Antikörper. *Mitt. Grenzgeb. Med. Chir.* **19**, 141—186 (1909).
- LAJTHA, L. G.: Bone marrow cell metabolism. *Physiol. Rev.* **37**, 50—65 (1957).
- Lack of differential radiation effect on the incorporation of the labelled precursors into deoxyribonucleic acid. *Nature (Lond.)* **180**, 1048 (1957).
- Pitfalls of specific radioactivity in measuring synthesis of deoxyribonucleic acid. *Nature (Lond.)* **181**, 1609 (1958).
- More on the mechanism of radiation effect on the process of deoxyribonucleic acid synthesis. *The cell nucleus (J. S. MITCHELL)*, p. 144—146. London: Butterworths 1960.
- The effect of ionizing radiation and tumour-chemotherapeutic agents on the bone marrow. *Progress in biophysics (Ed. J. A. V. BUTLER, B. KATZ and R. E. ZIRKLE)*, vol. 11, p. 79—109. Oxford: Pergamon Press 1961.
- Inhibition of DNA synthesis in relation to cell death. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962*, p. 216—230. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- , and R. OLIVER: The application of autoradiography to the study of nucleic acid metabolism. *Lab. Invest.* **8**, 214—221 (1959).
- — R. J. BERRY, and E. HELL: Analysis of metabolic rates at the cellular level. *Nature (Lond.)* **187**, 919—922 (1960).
- — and W. D. NOYES: Mechanism of radiation effect on process of synthesis of DNA. *Nature (Lond.)* **182**, 1788—1790 (1958).
- — and F. ELLIS: Incorporation of  $^{32}\text{P}$  and  $^{14}\text{C}$  into DNA by human bone marrow cells *in vitro*. *Brit. J. Cancer* **8**, 319 and 367 (1954).

- LAJTHA, L. G., R. OLIVER, T. KUMATORI, and F. ELLIS: On the mechanism of radiation effect on DNA-synthesis. *Radiat. Res.* **8**, 1—16 (1958).
- , and H. D. SUIT: Uptake of radioactive iron ( $Fe^{59}$ ) by nucleated red cells. *Brit. J. Haemat.* **1**, 55—61 (1955).
- LAMBERTS, H. B.: Thesis Groningen 1958.
- , and D. G. DIJKEN: Gastric retention in rats after whole-body irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **4**, 43—48 (1961).
- LANCKER, J. L. VAN: Metabolic alterations after total body doses of X-irradiation. I. The role of regenerating liver nuclei and cytoplasm in the inhibition due to X-radiation of incorporation of tritium-labelled thymidine into DNA. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **45**, 57—62 (1960). II. Incorporation of deoxycytidylic and thymidylic acid into purified DNA and nuclei in presence of regenerating liver supernatant. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **45**, 63—70 (1960).
- LANGEN, P., u. E. LISS: Über den Einbau von radioaktivem Phosphat in die Nukleotide der Desoxyribonucleinsäure. *Biochem. Z.* **335**, 187—193 (1961).
- — Die Verwertung von Thymidin, Bromdesoxyuridin und den freien Pyrimidinbasen Thymin, Bromuracil und Joduracil zur Desoxyribonucleinsäure-Synthese durch Ascites-Tumorzellen in vitro. *Biochem. Z.* **336**, 139—153 (1962).
- LANGENDORFF, H.: Über das Wesen der Strahlenempfindlichkeit. *Strahlentherapie* **78**, 13—14 (1949).
- Über strahlenbedingte Störungen im Zellstoffwechsel. *Hippokrates (Stuttg.)* **34**, 9—14 (1963).
- U. HAGEN u. H. ERNST: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz. XXVIII. Mitt.: Die Wirkung von Cysteamin auf verschiedene Stadien des Mitosezyklus. *Strahlentherapie* **107**, 574—579 (1958).
- , u. R. KOCH: Zur Wirkung von SH-Blockern auf die Strahlenempfindlichkeit. *Strahlentherapie* **95**, 535—541 (1954).
- — Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz. XIV. Weitere Untersuchungen zur Spezifität der Strahlenschutzwirkung von Cystein-Cysteamin und verwandter Sulfhydrylkörper. *Strahlentherapie* **99**, 567—576 (1956).
- — Die Wirkung zentralerregender Pharmaka auf das bestrahlte Tier. *Strahlentherapie* **102**, 58—64 (1957).
- — u. U. HAGEN: Der Einfluß energiereicher Phosphate und phosphorylierter Vitamine auf die Strahlenempfindlichkeit von Ratte und Maus. *Strahlentherapie* **99**, 375—382 (1956).
- , u. H.-J. MELCHING: Weitere Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus des 5-Hydroxytryptamin im Strahlenschutzversuch. *Strahlentherapie* **110**, 505—509 (1959).
- — and H.-A. LADNER: 5-Hydroxytryptamine as a radiation protective substance in animals. *Int. J. Radiat. Biol.* **1**, 24—27 (1959).
- LANGENDORFF, H., H.-J. MELCHING, u. H. RÖSLER: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz. XXXVII. Mitt. Über den Anteil des Adenylsäuresystems und des Pyridoxal-5-phosphats am Strahlenschutzeffekt des Serotonins. *Strahlentherapie* **113**, 603—609 (1960).
- — u. CH. STREFFER: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz. XL. Mitt. Veränderungen des Aminosäurestoffwechsels weißer Mäuse durch subletale Ganzkörperbestrahlung. *Strahlentherapie* **114**, 525—534 (1961a).
- — — Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz. XLII. Mitt. Der Einfluß des 5-Hydroxytryptamins auf strahlenbedingte Veränderungen des Aminosäurestoffwechsels. *Strahlentherapie* **116**, 1—14 (1961b).
- — — Experimental investigations on the effect of radiation on metabolic processes. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962*, p. 433—434, Abstracts, E-4-1, p. 205—206. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- LASER, H.: Effects on enzymes. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962*, p. 430—442; see p. 437.
- , and M. J. THORNLEY: Stimulation by X-radiation of enzyme induction and growth in *Escherichia coli*. *Proc. roy. Soc. B* **150**, 539—553 (1959).
- LAUF, P., N. SEEMAYER u. W. OEHLERT: Die Größe und der zeitliche Verlauf der RNS-Synthese in den Ehrlich-Ascites-Tumorzellen der weißen Maus. *Z. Krebsforsch.* **64**, 490—498 (1962).
- LAVIK, P. S., and G. W. BUCKALOO: Nucleic acid synthesis in X-irradiated chick embryos. *Radiat. Res.* **1**, 221 (1954).
- LEBEDINSKY, A. V.: On the biological effects of radiation. *Proc. Sec. U.N. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy, Geneva, U.N.* **22**, P/2531, 5—16 (1958).
- U. G. GRIGORYEV, and G. G. DEMIRCHOGLYAN: On the biological effect of small doses of ionizing radiation. *Proc. Sec. U.N. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy, Geneva, U.N.* **22**, P/2068, 17—28 (1958).
- LESLIE, I.: Metabolism and enzymic activity of nucleoproteins. *Ann. Rep. Brit. Emp. Cancer Camp.*, 1962, p. 644—745.
- LESSLER, M. A.: Low-level X-ray damage to amphibian erythrocytes. *Science* **129**, 1551—1553 (1959).
- LETT, J. T., K. A. STACEY, and P. ALEXANDER: Crosslinking of dry deoxyribonucleic acids by electrons. *Radiat. Res.* **14**, 349—362 (1961).
- LEVINTHAL, C., A. KEYNAN, and A. HIGA: Messenger RNA turnover and protein synthesis in *B. subtilis* inhibited by actinomycin D. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **48**, 1631—1638 (1962).
- LEVY, H. B.: Effect of actinomycin D on HeLa cell nuclear RNA metabolism. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **113**, 886—889 (1963).
- LEWIS, G. P.: 5-Hydroxytryptamine. London: Pergamon Press 1958.

- LIMA-DE-FARIA, A.: Metabolic DNA in *Tipula oleracea*. *Chromosoma* (Berl.) **13**, 47—59 (1962).
- LIPETZ, L. E.: An electrophysical study of some properties of the vertebrate retina. Thesis Univ. California, Berkeley. UCRL Rep. No 2056 (1953). *Brit. J. Ophthalm.* **39**, 577—598 (1955).
- The effects of low doses of high-energy radiation on visual function. Intermediate and low level effects of ionizing radiations (Ed. A. A. BUZZATI-TRAVERSO), p. 227—231. London: Taylor & Francis 1960.
- LIPKIN, M., P. SHERLOCK, and B. M. BELL: Generation time of epithelial cells in the human colon. *Nature* (Lond.) **195**, 175—177 (1962).
- LITTLEFIELD, J. W.: DNA synthesis in partially synchronized L cells. *Exp. Cell Res.* **26**, 318—326 (1962).
- LLOYD, P. H., and A. R. PEACOCKE: Action of  $\gamma$ -rays on sodium ribonucleate in solution. IV. The mechanism of denaturation. *Proc. roy. Soc. B* **158**, 71—78 (1963a).
- Degradation by gamma-irradiation of thymus deoxyribonucleohistone in solution. *Nature* (Lond.) **200**, 428—429 (1963b).
- LOEFFLER, R. K.: Radio-iron tracer studies for the evaluation of radiation damage. *Amer. J. Roentgenol.* **77**, 836—846 (1957).
- V. P. COLLINS, and G. A. HYMAN: Comparative effects of total-body radiation, nitrogen mustard and triethylene melamine on the hematopoietic system of terminal cancer patients. *Science* **118**, 161—163 (1953).
- LÖW-BEER, A.: Experimentelle Untersuchungen zur Frage der biologischen Röntgenstrahlenwirkung. *Strahlentherapie* **46**, 469—516 (1933).
- LOGAN, R.: The incorporation of  $8\text{-}^{14}\text{C}$ -adenine into calf thymus nuclei *in vitro*. *Biochim. biophys. Acta* (Amst.) **26**, 227—228 (1957).
- The effect of X-irradiation on the uptake of nucleic acids and protein precursors by isolated rabbit-liver, appendix and thymus nuclei. *Biochim. biophys. Acta* (Amst.) **35**, 251—253 (1959).
- M. ERRERA, and A. FICQ: The effect of X-rays and ultraviolet light on the uptake *in vitro* of  $8\text{-}^{14}\text{C}$ -phenylalanine by isolated nuclei. *Biochim. biophys. Acta* (Amst.) **32**, 147—155 (1959).
- LOONEY, W. B.: Cytochemical and autoradiographic study of the effects of irradiation on deoxyribonucleic acid synthesis in regenerating liver. *Proc. 9. Int. Congr. Radiol.* (Ed. B. RAJEWSKY). München u. Stuttgart: Georg Thieme u. Urban & Schwarzenberg 1960a.
- The replication of deoxyribonucleic acid in hepatocytes. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **46**, 698—708 (1960b).
- LOTT, J. R.: Changes in ventral root potentials during X-irradiation of the spinal cord in the cat. Effects of ionizing radiation on the nervous system. Internat. Atomic Energy Agency, Vienna, 1962, p. 85—91.
- LOUITT, J. F.: Lymphocytes. *Brit. J. Radiol.* **36**, 785—794 (1963).
- LOVE, R., and R. J. WALSH: Changes in the ribonucleoproteins of the nucleolus following inhibition of synthesis of deoxyribonucleic acid. *Nature* (Lond.) **197**, 795—796 (1963a).
- Studies of the cytochemistry of nucleoproteins. II. Improved staining methods with toluidine blue and ammonium molybdate. *J. Histochem. Cytochem.* **11**, 188—196 (1963b).
- LUDOVICI, P. P., R. A. POCK, R. T. CHRISTIAN, and N. F. MILLER: The effect of X-irradiation on HeLa during different phases of the growth cycle. *Radiat. Res.* **14**, 131—140 (1961).
- — G. M. RILEY, and N. F. MILLER: Detection of characteristic differences in the irradiation sensitivity of four human cancer cell strains. *Radiat. Res.* **14**, 141—148 (1961).
- LUNDIN, J., C. J. CLEMEDSON, and A. NELSON: Early effects of whole body irradiation on cholinesterase activity in guinea-pigs blood, with special regard to radiation sickness. *Acta radiol. (Stockh.)* **48**, 52—64 (1957).
- MAASS, H.: Adeninnukleotidgehalt in verschiedenen Organen der Ratte nach Ganzkörperbestrahlung. *Z. ges. exp. Med.* **133**, 97—109 (1960).
- Über den Wirkungsmechanismus von Röntgenstrahlen und zytostatischen Substanzen in Tumorzellen. *Zbl. Gynäk.* **85**, 209—216 (1963).
- , u. H.-H. ADLER: Der Einfluß des Cystein auf die strahleninduzierten Veränderungen des Adeninnukleotidgehaltes in verschiedenen Organen der Ratte. *Strahlentherapie* **116**, 435—442 (1961).
- G. HÖHNE, H. A. KÜNKEL u. G. H. RATHGEN: Das Verhalten von Adenosindiphosphat, Adenosintriphosphat und anorganischem Phosphat in Yoshida-Ascites-Tumorzellen nach Einwirkung von Röntgenstrahlen. *Z. Naturforsch.* **12b**, 553—556 (1957).
- , u. H. A. KÜNKEL: Biochemische Veränderungen in Tumorzellen nach Einwirkung von Röntgenstrahlen, Jodessigsäure, Wasserstoffperoxyd und Äthyleniminobenzochinonen. *Int. J. Radiat. Biol.* **2**, 269—279 (1960).
- , u. G. H. RATHGEN: Verschiebungen stationärer Zwischenstoffkonzentrationen in glucoseumsetzenden Yoshida-Ascites-Sarkomzellen nach Röntgenbestrahlung. *V. Tagg Ges. für Physiolog. Chemie, Hamburg 1956*; *s. Ber. ges. Physiol.* **189**, 119 (1957a).
- — Untersuchungen zum Einfluß von Röntgenstrahlen auf den Kohlenhydratstoffwechsel von Tumorzellen. *Strahlentherapie* **103**, 668—694 (1957b).
- — H. A. KÜNKEL u. G. SCHUBERT: Versuche zur Deutung der strahleninduzierten Glykolysehemmung in Yoshida-Ascites-Tumorzellen. *Z. Naturforsch.* **13b**, 735—741 (1958).
- , and G. SCHUBERT: Early biochemical reactions after X-irradiation. *Proc. Sec. U.N. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy, Geneva, U.N.* **22**, P/994, 449—454 (1958).
- MAHLER, H. R., and A. DA S. PEREIRA: Properties of the DNA associated with crystalline yeast

- lactic dehydrogenase. *J. molec. Biol.* **5**, 325—347 (1962).
- MAIN, R. K., L. J. COLE, and V. P. BOND: Effect of spleen irradiation producing factor on nucleic acid metabolism reversal of X-irradiation induced inhibition of  $^{14}\text{C}$  formate incorporation into mouse nucleic acid purines. *Arch. Biochem.* **56**, 143—156 (1955).
- — and M. E. ELLIS: Chromatographic characterization of soluble deoxypolynucleotides released in mouse spleen by X-irradiation. *Nature (Lond.)* **180**, 1285—1286 (1957).
- — and E. R. WALWICK: X-radiation inhibition of the induction of kidney enzymes catalysing synthesis of deoxyribonucleic acid *in vitro*. *Nature (Lond.)* **193**, 995—996 (1962).
- MALEY, G. F., and F. MALEY: Nucleotide interconversions in embryonic and neoplastic tissues. *J. biol. Chem.* **234**, 2975—2980 (1959).
- — Nucleotide interconversions. IX. The regulatory influence of deoxy-cytidine 5'-triphosphate and deoxy-thymidine 5'-triphosphate on deoxycytidylate deaminase. *J. biol. Chem.* **237**, PC3312 (1962).
- MANDEL, P., and P. CHAMBON: A new approach to the mechanism of mutations. *Nature (Lond.)* **184**, 1501—1502 (1959).
- — Some effects of X-rays on the *in vivo* biosynthesis of nucleic acids capable of explaining the reduction of enzymatic activities and the occurrence of mutations. Intermediate and low level effects of ionizing radiations (Ed. A. A. BUZZATI-TRAVERSO), p. 71—85. London: Taylor & Francis 1963.
- MANDL, A. M.: A quantitative study of the sensitivity of oocytes to X-irradiation. *Proc. roy. Soc. B* **150**, 53—71 (1958).
- — The radiosensitivity of oocytes at different stages of maturation. *Proc. roy. Soc. B* **158**, 119—141 (1963).
- MANT'ÉVA, V. L.: Existence of RNA-DNA complex in animal tissues. *Fed. Proc.* **23**, T 1011—1014 (1964).
- MANTSARINOS, R., and E. L. CANELLAKIS: Studies on the biosynthesis of DNA by cell-free extract of mouse leukaemia cells. *Cancer Res.* **19**, 1239—1243 (1959).
- MARQUARDT, H., u. E. GRUNDMANN: Der Gehalt an DNS von normalen und röntgenbestrahlten Interphasekernen bei *Vicia faba*. *Seme Congr. Int. Bot. Paris* 1958, S. 11—14.
- MARRIAN, D. H.: Studies of potential radiosensitizing agents. An effect of tetra-sodium 2-methyl-1:4-naphthohydroquinone diphosphate (Synkavit) on the Ehrlich mouse ascites tumour. *Brit. J. Cancer* **13**, 461—468 (1959).
- MARSHAK, A.:  $^{32}\text{P}$  uptake by cell nuclei. *J. gen. Physiol.* **25**, 275—291 (1942).
- MAXWELL, E., and G. ASHWELL: Effects of X-rays on P metabolism in spleen mitochondria. *Arch. Biochem.* **43**, 389—398 (1953).
- MCCONKEY, E. H., and J. W. HOPKINS: The relationship of the nucleolus to the synthesis of ribosomal RNA in HeLa cells. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **51**, 1197—1204 (1964).
- MC EWEN, B. S., V. G. ALLFREY, and A. E. MIRSKY: Dependence of RNA synthesis in isolated thymus nuclei on glycolysis, oxidative carbohydrate catabolism and a type of "oxidative phosphorylation". *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **91**, 23—28 (1964).
- MEEK, E. S., and S. M. SPARSHOTT: Total cellular deoxyribonucleic acid content following exposure to 5-bromo-uracil. *Naturwissenschaften* **48**, 726 (1961).
- MEISSEL, M. N., E. M. BRUMBERG, T. M. CONKRATJEVA, and I. J. BARKSY: Fluorescence studies of the changes undergone by nucleoproteins and their derivatives in irradiated cells. The initial effects of ionizing radiations on cells (Ed. R. J. C. HARRIS), p. 107—126. London and New York: Academic Press 1961.
- —, i V. A. SONDAK: Studies by means of luminescence microscopy. *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **105**, 1221—1224 (1955).
- MELCHING, H.-J.: Untersuchungen über den chemischen Strahlenschutz. *Dtsch. med. Wschr.* **85**, 2284—2288 (1960).
- — Experimentelle Untersuchungen über die Beeinflussung der Strahlenempfindlichkeit beim Säugetier. *Hab.-Schr., Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg i.Br.* 1962, S. 1—240.
- — Zur Frage einer Beeinflussung der Strahlenempfindlichkeit beim Säugetier. *Strahlentherapie* **120**, 34—73 (1963).
- — Biochemische Veränderungen am strahlengeschädigten System. *Strahlenbehandlung und Strahlenbiologie (Sonderbände zur Strahlentherapie, Bd. 56)*, S. 11—24. München u. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1964.
- — H. ERNST u. H. RÖSLER: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz. XXXVI. Mitt. Zum Stoffwechsel des 5-Hydroxytryptamin bei der Ganzkörperbestrahlung weißer Mäuse und Ratten. *Strahlentherapie* **113**, 394—401 (1960).
- — H. LANGENDORFF u. H.-A. LADNER: Über die Abhängigkeit der Strahlenschutzwirksamkeit des 5-Hydroxytryptamins von Konzentration und Zeitfaktor. *Naturwissenschaften* **45**, 545 (1958).
- — O. MESSERSCHMIDT u. C. STREFFER: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz. XXXIX. Mitt. Über die Bedeutung der Milz beim Strahlenschaden. *Strahlentherapie* **114**, 179—186 (1961).
- — — C. STREFFER, and K. SHIBATA: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz. XLIV. Mitt. Der therapeutische Einfluß der Splenektomie auf den Strahlenschaden. *Strahlentherapie* **116**, 395—403 (1961).
- MENDELSON, M. L.: Chronic infusion of tritiated thymidine into mice with tumors. *Science* **135**, 213—215 (1962a).
- — Autoradiographic analysis of cell proliferation in spontaneous breast cancer of C3H mouse. III. The growth fraction. *J. nat. Cancer Inst.* **28**, 1015—1029 (1962b).
- — F. C. DOHAN, and H. A. MOORE: Autoradiographic analysis of cell proliferation in spon-

- taneous breast cancer of C3H mouse. I. Typical cell cycle and timing of DNA synthesis. *J. nat. Cancer Inst.* **25**, 477—484 (1960).
- METCALF, W. K.: The effects of whole-body irradiation on the nitrite sensitivity of intracorporeal haemoglobin in rats. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research*, Harrogate, 1962, p. 346—347 and 348. Amsterdam: North Holland Publ. Co. 1963.
- MILLER, D. S.: Effects of low level radiation on audiogenic convulsive seizures in mice. Response of the nervous system to ionizing radiation. Proceedings of an Internat. Symposium held at Northwest University Medical School, Chicago, Illinois, Sept. 7—9, 1960 (Ed. J. HALEY and R. S. SNIDER), p. 513—531. New York and London: Academic Press 1962.
- MIRSKY, A. E., and S. OSAWA: The interphase nucleus. *The cell* (Ed. J. BRACHET and A. E. MIRSKY), vol. 2, p. 677—770. New York: Academic Press 1961.
- , and A. W. POLLISTER: Chromosin, a deoxyribonucleoprotein complex of cell nucleus. *J. gen. Physiol.* **30**, 117—147 (1946).
- , and H. RIS: The composition and structure of isolated chromosomes. *J. gen. Physiol.* **34**, 475—492 (1950/51).
- MITCHELL, J. S.: Increase in ultra-violet absorption of cytoplasm after therapeutic X- and gamma-irradiation. *Nature (Lond.)* **146**, 272—273 (1940).
- Disturbance of nucleic acid metabolism produced by therapeutic doses of X- and gamma-radiations. Part I. Methods of investigation. *Brit. J. exp. Path.* **23**, 285—295 (1942a).
- Disturbance of nucleic acid metabolism produced by therapeutic doses of X- and gamma-radiations. Part III. Inhibition of synthesis of thymonucleic acid by radiation. *Brit. J. exp. Path.* **23**, 309—313 (1942b).
- Metabolic effect of therapeutic doses of X- and gamma-radiations. *Brit. J. Radiol.* **16**, 339—343 (1943).
- Disturbance of nucleic acid metabolism produced by therapeutic doses of X- and gamma-radiations. *Ann. Rep. Brit. Emp. Cancer Camp.* 1944, p. 62—63.
- Experimental radiotherapeutics. *Schweiz. med. Wschr.* **76**, 883—889 (1946).
- The 'macromolecular' lesion involving deoxyribonucleic acid in radiobiology and radiotherapy. *J. Colloid Sci.* **11**, 317—323 (1956).
- Studies of the mechanism of the therapeutic action of ionising radiations. *Ann. Rep. Brit. Emp. Cancer Camp.* 1957, p. 274.
- Studies in radiotherapeutics. Oxford: Blackwells 1960, 274 p.
- Über die Möglichkeit der Verwendung strahlensensibilisierender Substanzen. *Strahlenschutz in Forschung und Praxis* (Hrsg. von H.-J. MELCHING, H. R. BECK, H.-A. LADNER u. E. SCHERER), S. 139—160. Freiburg i.Br.: Rombach 1963.
- Zur Entwicklung radioaktiver Pharmaka. *Anglo-Germ. med. Rev.* **2**, 524—534 (1964).
- MITCHELL, J. S., D. BRINKLEY, and J. L. HAYBITTLE: A clinical trial of radiosensitizers including Synkavit and oxygen inhaled at atmospheric pressure. *Acta radiol. (Stockh.)* **3**, 329—341 (1965).
- E. A. KING, D. H. MARRIAN, and B. CHIPPERFIELD: An investigation of the therapeutic possibilities of a radioactive drug, 2-methyl-5,6,7-tritritio-1,4-naphthaquinol bis (disodium phosphate) (TRA 119) with special reference to autoradiographic and related studies. *Acta radiol. (Stockh.)* **1** (N.S.) 321—350 (1963).
- , and D. H. MARRIAN: Radiosensitization of cells by a derivative of 2-methyl-1,4-naphthaquinone. Chap. in *Biochemistry of quinones* (Ed. R. A. MORTON). London: Academic Press Chap. 15 (1965).
- MOHLER, W. C., and M. M. ELKIND: Radiation response of mammalian cells grown in culture. III. Modification of X-ray survival of Chinese hamster cells by 5-bromodeoxyuridine. *Exp. Cell Res.* **30**, 481—491 (1963).
- MOLE, R. H., and D. M. TEMPLE: The DNA content of the small intestine as a quantitative measure of damage and recovery after whole body irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **1**, 28—42 (1959).
- MONESI, V.: Relation between X-ray sensitivity and stages of the cell cycle in spermatogonia of the mouse. *Radiat. Res.* **17**, 809—838 (1962).
- MONTAGNA, W., and J. W. WILSON: A cytologic study of the intestinal epithelium of the mouse after total body X-irradiation. *J. nat. Cancer Inst.* **15**, 1703—1735 (1955).
- MONTY, K. J., and A. L. DOUNCE: The properties and the enzymatic degradation of desoxyribonucleoprotein from liver cell nuclei. *J. gen. Physiol.* **41**, 595—608 (1958).
- MORKOVIN, D., and A. FELDMAN: End point of one of the actions of radiations on living tissue important in radiation therapy and in acute radiation syndrome. *Brit. J. Radiol.* **33**, 197 (1960).
- MORTON, R. K.: Enzymic synthesis of coenzyme I in relation to the chemical control of cell growth. *Nature (Lond.)* **181**, 540—542 (1958).
- MOSELEY, B. E. B., and A. H. SCHEIN: Radiation resistance and deoxyribonucleic acid base composition of *Micrococcus radiodurans*. *Nature (Lond.)* **203**, 1298—1299 (1964).
- MOTOKAWA, K., J. UMETSU, M. KOBAYASHI, and M. KAMEYAMA: The effect of a small dose of roentgen rays upon the human body as revealed by the method of electric flicker. *Tohoku J. exp. Med.* **64**, 151—159 (1956).
- MUELLER, G. C., K. KAJIWARA, E. STUBBLEFIELD, and R. R. RUECKERT: Molecular events in the reproduction of animal cells. I. The effect of puromycin on the duplication of DNA. *Cancer Res.* **22**, 1084—1090 (1962).
- MÜLLER, A.: Efficiency of radical production by X-rays in substances of biological importance. Biological effects of ionizing radiation at the molecular level. *Internat. Atomic Energy Agency*, Vienna, 1962, p. 61—71.

- MÜLLER, A., W. KÖHNLEIN, and K. G. ZIMMER: X-ray induced unpaired spins in nucleic acid bases and in 5-bromouracil. *J. molec. Biol.* **7**, 92—94 (1963).
- , u. K. G. ZIMMER: Einige Anwendungsmöglichkeiten der Mikrowellenspektroskopie in der quantitativen Strahlenbiologie. *Strahlentherapie* **109**, 192—199 (1959).
- MUNRO, T. R.: The mechanisms determining curative doses in fractionated radiotherapy. *Brit. J. Radiol.* **36**, 461 (1963).
- Survival curves and autoimmunity against cancer. *Brit. J. Radiol.* **37**, 715—717 (1964).
- MURAMATSU, M., and H. BUSCH: Studies of nucleolar RNA of the Walker 256 carcinoma and the liver of the rat. *Cancer Res.* **24**, 1028—1034 (1964).
- J. L. HODNETT, and H. BUSCH: Studies on the "independence" of nucleolar ribonucleic acid synthesis. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **91**, 592—597 (1964).
- MYERS, D. K.: Synthesis of diphosphopyridine nucleotide in irradiated rats. *Nature (Lond.)* **187**, 1124—1125 (1960).
- Effects of X-irradiation on enzyme synthesis during liver regeneration. Report at 4th Ann. Meeting Canadian Federation of Biological Societies, Guelph, Ont. 1 June 1961. A.E.C.L. No 1482.
- Effects of x-irradiation on enzyme synthesis during liver regeneration. *Canad. J. Biochem.* **40**, 619—630 (1962).
- An immediate effect of X-radiation on thymus cells. *Nature (Lond.)* **205**, 365—367 (1965).
- NAGY, J.: Discussion. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962*, p. 349—350. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- NAKAMOTO, T., and S. B. WEISS: The biosynthesis of RNA: priming by ribonucleotides. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **48**, 880—887 (1962).
- NATHANS, D., and F. LIPMANN: Amino-acid transfer from amino-acyl-ribonucleic acids to protein on ribosomes of *Escherichia coli*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **47**, 497—502 (1961).
- NEARY, G. J., H. J. EVANS, S. M. TOMKINSON, and F. S. WILLIAMSON: The relative biological efficiency of single doses of fast neutrons and gamma-rays on *Vicia faba* roots and the effect of oxygen. Part III. Mitotic delay. *Int. J. Radiat. Biol.* **3**, 230—240 (1959).
- R. J. MUNSON, and R. H. MOLE: Chronic radiation hazards. An experimental study with fast neutrons, 191 p. London: Pergamon Press 1957.
- J. R. J. SAVAGE, and H. J. EVANS: Chromatid aberrations in *Tradescantia* pollen tubes induced by monochromatic X-rays of quantum energy 3 and 1.5 keV. *Int. J. Radiat. Biol.* **8**, 1—19 (1964).
- S. M. TOMKINSON, and F. S. WILLIAMSON: The relative biological efficiency of single doses of fast neutrons and gamma-rays of *Vicia faba* roots and the effect of oxygen. Part I. Reduction of root growth. *Int. J. Radiat. Biol.* **1**, 201—215 (1959).
- NEWTON, A., P. P. DENDY, C. L. SMITH, and P. WILDY: A pool size problem associated with the use of tritiated thymidine. *Nature (Lond.)* **194**, 886—887 (1962).
- NIAS, A. H. W., and J. PAUL: DNA content of giant cells produced by irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **3**, 431—438 (1961).
- NICOLA, M. DE: Azione dei raggi X sub metabolismo degli acidi nucleinici in cellule proliferative e cellule secretici. *Experientia (Basel)* **6**, 432—433 (1950).
- NIRENBERG, M. W., and J. H. MATTHAEI: The dependence of cell-free protein synthesis in *E. coli* upon naturally occurring or synthetic polyribonucleotides. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **47**, 1588—1602 (1961).
- NITZ-LITZOW, D., and G. BÜHRER: Die Wirkung von Röntgenstrahlen *in vivo* auf die Atmungskettphosphorylierung und ihre Beeinflussung durch Vitamin K<sub>1</sub> und E. *Strahlentherapie* **113**, 201—206 (1960).
- NIZET, A., et A. HERVE: Augmentation de la synthèse de l'hémoglobine *in vitro* par les réticulocytes après irradiation. *Radiobiology Symposium 1954, Liège (Ed. Z. M. BACQ and P. ALEXANDER)*, p. 194—199. London: Butterworths 1955.
- S. LAMBERT, A. HERVE et Z. M. BACQ: Influence de l'irradiation préalable sur la synthèse de l'hémine par les hématies jeunes «*in vitro*». *Arch. int. Physiol.* **62**, 129—131 (1954).
- NORMAN, A., and J. A. FIELD: Electric birefringence studies of irradiated desoxyribonucleic acid. *Arch. Biochem.* **71**, 170—178 (1957).
- , and W. GINOZA: Molecular interactions in irradiated solids. *Radiat. Res.* **9**, 77—83 (1958).
- NORRIS, G., and S. L. HOOD: Some problems in the culturing and radiation sensitivity of normal human cells. *Exp. Cell Res.* **27**, 48—62 (1962).
- NOTTER, G., u. C. A. GEMZELL: Veränderungen im Plasmaspiegel der 17-Hydroxy-Corticosteroide und Anzahl der eosinophilen Leukozyten beim Menschen nach Röntgenbestrahlung der Nebennieren. *Strahlentherapie* **99**, 203—212 (1956).
- NOVÁK, R.: Die Latenzzeit der Strahlenwirkung. *Strahlentherapie* **103**, 125—128 (1957).
- NOVELLI, G. D., T. KAMEYAMA, and J. M. EISENSTADT: The effect of ultraviolet light and X-rays on an enzyme-forming system. *J. cell. comp. Physiol., Suppl. 1 to vol. 58*, 225—244 (1961).
- NYGAARD, O. F.: Insensitivity to ionizing radiation of DNA-polymerase in a slime mould. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962*, p. 216—218, Abstracts, C-2-1, p. 26. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- , and S. GUTTES: Effects of ionizing radiation on a slime mould with synchronous mitosis. *Int. J. Radiat. Biol.* **5**, 33—44 (1962).
- , and R. L. POTTER: Effect of X-radiation on DNA metabolism in various tissues of the rat.

- I. Incorporation of  $C^{14}$ -thymidine into DNA during the first 24 hours post-irradiation. *Radiat. Res.* **10**, 462—476 (1959).
- NYGAARD, O. F., and R. L. POTTER: Effect of X-radiation on DNA metabolism in various tissues of the rat. III. Retention of labelled DNA in normal and irradiated animals. *Radiat. Res.* **12**, 131—145 (1960).
- — Effect of radiation on DNA metabolism in various tissues of the rat. IV. Early effects. *Radiat. Res.* **16**, 243—252 (1962).
- OAKBERG, E. F.: Sensitivity and time of degeneration of spermatogenic cells irradiated in various stages of maturation in the mouse. *Radiat. Res.* **2**, 369—391 (1955a).
- Degeneration of spermatogonia in the mouse following exposure to X-rays, and stages in the mitotic cycle at which cell death occurs. *J. Morph.* **97**, 39—54 (1955b).
- Gamma-ray sensitivity of spermatogonia of the mouse. *J. exp. Zool.* **134**, 343—356 (1957).
- , and R. L. DI MINNO: X-ray sensitivity of primary spermatocytes of the mouse. *Int. J. Radiat. Biol.* **2**, 196—209 (1960).
- O'BRIEN, J. S.: The role of folate coenzymes in cellular division. A review. *Cancer Res.* **22**, 267—281 (1962).
- OCHOA, S., D. P. BURMA, H. KRÖGER, and J. D. WEILL: Deoxyribonucleic acid-dependent incorporation of nucleotides from nucleoside triphosphates into ribonucleic acid. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **47**, 670—679 (1961).
- OEHLERT, W., P. LAUF u. N. SEEMAYER: Autoradiographische Untersuchungen über den Generationszyklus der Zellen des Ehrlichschen Mäuse-Aszites-Carcinoms. *Naturwissenschaften* **49**, 137 (1962).
- OKADA, S.: Incorporation of tritium-labelled thymidine and tritium-labelled deoxycytidylic acid into deoxyribonucleic acid after irradiation of the deoxyribonucleic acid primer with  $\gamma$ -rays. *Nature (Lond.)* **185**, 193—194 (1960).
- , and L. H. HEMPELMANN: Enzymatic activity related to DNA-synthesis in regenerating liver of irradiated rats. *Int. J. Radiat. Biol.* **3**, 305—311 (1959).
- , and L. D. PEACHEY: Effect of gamma irradiation on the deoxyribonuclease. II. Activity of isolated mitochondria. *J. biophys. biochem. Cytol.* **3**, 239—247 (1957).
- OPARA-KUBINSKA, Z., Z. LORKIEWICZ, and W. SZYBALSKI: Genetic transformation studies. II. Radiation sensitivity of halogen labelled DNA. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **4**, 288—291 (1961).
- , and W. SZYBALSKI: Fractionation and physicochemical characterization of genetic markers in transforming DNA. Abstracts, Biophysical Soc. Sixth Annual Meeting, February 14—16, 1962. Washington, D.C., p. WA8 (1962).
- ORD, M. G., and L. A. STOCKEN: Biochemical aspects of the radiation syndrome. *Physiol. Rev.* **33**, 356—386 (1953).
- ORD, M. G., and L. A. STOCKEN: Deviations in nucleic acid metabolism induced by radiation. *Rapports Congr. Internat. Biochim.*, 1955, p. 491.
- — The effects of radiation *in vitro* on oxidative phosphorylation and on adenosine triphosphatase. *Brit. J. Radiol.* **28**, 279—282 (1955).
- — The effects of X- and  $\gamma$ -radiation on nucleic acid metabolism in the rat *in vivo* and *in vitro*. *Biochem. J.* **63**, 3—8 (1956).
- — The effect of X-radiation on rat thymus nucleic acids at short intervals after exposure *in vivo*. *Advances in radiobiology* (Ed. G. C. DE HEVESY, A. G. FORSSBERG and J. D. AB-BATT), p. 65—69. Edinburgh: Oliver & Boyd 1957.
- — Studies in synthesis of deoxyribonucleic acid. *Nature (Lond.)* **182**, 1787—1788 (1958a).
- — Deoxyribotide accumulation in rat thymus after X-radiation. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **29**, 201—202 (1958b).
- — Studies in synthesis of deoxyribonucleic acid. Radiobiochemical lesion in animal cells. (*Nature Lond.*) **182**, 1787—1788 (1958c).
- — Deoxyribonucleic acid synthesis — a serial story. The cell nucleus (J. S. MITCHELL), p. 151—154. London: Butterworths 1960a.
- — Structural changes in DNA after X-radiation *in vitro*. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **37**, 352—353 (1960b).
- — Acid-soluble phosphate metabolism in nuclei from rat thymus gland. *Biochem. J.* **81**, 1—8 (1961).
- — Phosphate-transfer reactions by nuclei from rat thymus gland. *Biochem. J.* **84**, 595—600 (1962a).
- — The effects of 200 r of X-radiation *in vivo* on phosphate-transfer reactions in nuclei from rat thymus gland. *Biochem. J.* **84**, 600—601 (1962b).
- — Biochemical effects of X-irradiation and the sulphhydryl hypothesis: A re-appraisal. *Nature (Lond.)* **200**, 136—138 (1963).
- ORD, M. J., and J. F. DANIELLI: The site of damage in Amoebae exposed to X-rays. *Quart. J. micr. Sci.* **97**, 29—37 (1956).
- OSAWA, S., V. G. ALLFREY, and A. E. MIRSKY: Mononucleotides of the cell nucleus. *J. gen. Physiol.* **40**, 491—513 (1957).
- OSTERBERG, K. A., and L. W. WATTENBERG: Coenzyme Q concentration in proliferative lesions of liver. *Proc. Sec. exp. Biol. (N.Y.)* **108**, 300—303 (1961).
- PAINTER, R. B.: Nucleic acid metabolism in HeLa S-3 cells after X-ray induced mitotic delay. *Radiat. Res.* **13**, 726—736 (1960).
- The direct effect of X-irradiation on HeLa S-3 deoxyribonucleic acid synthesis. *Radiat. Res.* **16**, 846—859 (1962).
- , and J. S. ROBERTSON: Effect of irradiation and theory of role of mitotic delay on the time course of labelling of HeLa S-3 cells with tritiated thymidine. *Radiat. Res.* **11**, 206—217 (1959).

- PARCHWITZ, H. K., u. E. PARCHWITZ: Wirkung einzeliger Röntgenbestrahlung auf den Funktionsformwechsel des Nuklearapparates der Walker-Karzinomzelle. *Strahlentherapie* **104**, 6—20 (1957).
- , u. E. WITTEKIND: Photometrische Untersuchungen über das Verhalten der Ribonukleoproteide in der Walker-Karzinomzelle nach einziger lokaler Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **106**, 282—288 (1958).
- PAŘÍZEK, J.: The excretion of deoxycytidine in the urine after irradiation. *The cell nucleus* (J. S. MITCHELL), p. 82—88. London: Butterworths 1960.
- M. ARIENT, Z. DIENSTBIER, and J. ŠKODA: The detection of desoxycytidine in urine as an indicator of changes after irradiation. *Proc. Sec. U.N. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy, Geneva, U.N. 22*, P/2498, 206—207 (1958).
- PARSONS, D. F.: An electron microscope study of radiation damage in the mouse oocyte. *J. Cell Biol.* **14**, 31—48 (1962).
- PASQUALINO, A., and G. H. BOURNE: Histochemical effects of X-radiation. *Acta anat. (Basel)* **42**, 1—11 (1960).
- PASSONNEAU, J. V., and T. R. TOTTER: Effects of radiation on the synthesis of DNA in chick embryo. *Radiat. Res.* **1**, 557 (Abstract) (1954).
- PASSYNSKY, A. G.: Action of radiation on proteins and nucleic acids in solution and at interphases. The initial effects of ionizing radiations on cells (Ed. R. J. C. HARRIS), p. 45—47. London: Academic Press 1961.
- PAUL, J.: Effects of X-irradiation on deoxyribonucleic acid synthesis in cultured cells. *The cell nucleus* (J. S. MITCHELL), p. 147—150. London: Butterworths 1960.
- PAULY, H.: Synthesis of protein, RNA, DNA and induced enzyme in *Bacterium cadaveris* after X-irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **6**, 221—231 (1963a).
- Biophysikalische Grundlagen der Strahlenbiologie. *Strahlenschutz in Forschung und Praxis* (Ed. H.-J. MELCHING, H. R. BECK, H.-A. LADNER u. E. SCHERER), S. 15—34. Freiburg i.Br.: Rombach 1963b.
- PAYNE, O. H., L. S. KELLY, and C. ENTENMAN: Effects of X-irradiation on the relative turnover of nucleic acid phosphorus. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **81**, 698—701 (1952).
- PELČ, S. R.: Nuclear uptake of labelled adenine in the seminal vesicle of the mouse. *Exp. Cell Res.* **14**, 301—315 (1958).
- Metabolic activity of DNA as shown by autoradiographs. *Lab. Invest.* **8**, 225—233 (1959).
- , and L. F. LA COUR: The incorporation of  $H^3$ -thymidine in newly differentiated nuclei of roots of *Vicia faba*. *Experientia (Basel)* **15**, 131—137 (1959).
- , and A. HOWARD: Effect of irradiation on DNA synthesis in *Vicia* as shown by autoradiographs. *Acta radiol. (Stockh.), Suppl.* **116**, 699 (1954).
- — Effects of various doses of X-rays on the number of cells synthesizing deoxyribonucleic acid. *Radiat. Res.* **3**, 135—142 (1955).
- PERRY, R. P., and M. ERRERA: The influence of nucleolar ribonucleic acid metabolism on that of the nucleus and cytoplasm. *The cell nucleus* (J. S. MITCHELL), p. 24—29. London: Butterworths 1960.
- — A. HELL, and H. DÜRWARD: Kinetics of nucleotide incorporation into nuclear and cytoplasmic RNA. *J. biophys. biochem. Cytol.* **11**, 1—13 (1960).
- A. HELL, and M. ERRERA: The role of the nucleolus in ribonucleic acid and protein synthesis. I. Incorporation of cytidine into normal and nucleolar inactivated HeLa cells. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **49**, 47—57 (1961).
- PETERS, H.: Radiation sensitivity of oocytes at different stages of development in the immature mouse. *Radiat. Res.* **15**, 582—593 (1961).
- , and E. LEVY: The effect of radiation in infancy on the fertility of female mice. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962*, p. 410—411, Abstracts, E-3-1, p. 59. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- — and M. CRONE: Deoxyribonucleic acid synthesis in oocytes of mouse embryos. *Nature (Lond.)* **195**, 915—916 (1962).
- PETRAKIS, N. L.: Quantitative histologic analysis of the early effects of whole body irradiation on the mouse thymus. *Radiat. Res.* **5**, 569—572 (1956).
- P. M. ASHLER, and R. L. FERKEL: Histochemical studies of the effect of total body X-irradiation on the alkaline phosphatase, ribo- and deoxyribonucleic acid contents of rat liver cells. *Naval Radiol. Def. Lab. Rep. AD-126B*, 18 pp. (1949).
- PETROVIĆ, S., D. T. KANAZIR, and A. BEĆAREVIĆ: Effects of X-irradiation on the metabolism of ribonucleic acids in resting rat liver. I. Disturbance of the metabolism of rat liver subcellular RNA fractions induced by X-irradiation. II. Effects of native homologous DNA on the disturbance of metabolism of subcellular RNA fractions induced by X-rays. Biological effects of ionizing radiation at the molecular level. *Internat. Atomic Energy Agency, Vienna, 1962*, p. 429—441.
- PHILLIPS, D. M. P.: The histones. *Progress in Biophysics and Biophysical Chemistry*, p. 211—280. Oxford: Pergamon Press 1961.
- PIRIE, A.: The activity of enzymes and coenzymes in irradiated tissues. *Ciba Foundation Symposium on Ionizing Radiations and Cell Metabolism*, p. 38—56. London: Churchill 1956.
- R. VAN HEYNINGEN, and J. W. BOAG: Changes in lens during the formation of X-ray cataract in rabbits. *Biochem. J.* **54**, 682—688 (1953).
- PORTER, E. H.: Extrapolation numbers. *Brit. J. Radiol.* **36**, 372—377 (1963).
- POTTER, R. L., and F. H. BETHELL: Oxidative phosphorylation in spleen mitochondria. *Fed. Proc.* **11**, 270 (1952).
- , and O. F. NYGAARD: The conversion of thymidine to thymine nucleotides and deoxyribonucleic acid *in vivo*. *J. biol. Chem.* **238**, 2150—2155 (1963).

- POTTER, R. VAN: Feedback inhibition of thymidine kinase by thymidine triphosphate. *Exp. Cell Res.*, Suppl. **9**, 259—261 (1963).
- POTTER, V. R., and V. H. AUERBACH: Adaptive enzymes and feedback mechanisms. *Lab. Invest.* **8**, 495—509 (1959).
- POWERS, W. E., and L. J. TOLMACH: Correlation between radiation cure of a mouse lymphosarcoma and radiation sensitivity of its cells. *Radiat. Res.* **16**, 588 (Abstract) (1962).
- PROSSER, C. L., E. E. PAINTER, H. LISCO, A. M. BRUES, L. O. JACOBSON, and M. N. SWIFT: The clinical sequence of physiological effects of ionizing radiation in animals. *Radiology* **49**, 299—313 (1947).
- PRYDZ, S., and T. HENRIKSEN: Radiation induced free radicals in alanine and some related amino acids. *Acta chem. scand.* **15**, 791—802 (1961).
- PUCK, T. T.: Action of radiation on mammalian cells. III. Relationship between reproductive death and induction of chromosome anomalies by X-irradiation of euploid human cells *in vitro*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **44**, 772—780 (1958).
- Quantitative studies on mammalian cells *in vitro*. *Rev. Mod. Phys.* **31**, 433—448 (1959).
- Quantitation of growth of mammalian cells. *The Harvey Lectures, Series 55*, p. 1—12. New York: Academic Press 1961.
- S. J. CIECIURA, and A. ROBINSON: Genetics of somatic mammalian cells. III. Long-term cultivation of euploid cells from human and animal subjects. *J. exp. Med.* **108**, 945—956 (1958).
- , and P. I. MARCUS: Action of X-rays on mammalian cells. *J. exp. Med.* **103**, 653—666 (1956).
- — and S. J. CIECIURA: Clonal growth of mammalian cells *in vitro*. *J. exp. Med.* **103**, 273—284 (1956).
- D. MORKOVIN, P. I. MARCUS, and S. J. CIECIURA: Action of X-rays on mammalian cells. II. Survival curves of cells from normal human tissues. *J. exp. Med.* **106**, 485—500 (1957).
- , and J. STEFFEN: Life cycle analysis of mammalian cells. I. A method for localizing metabolic events within the life cycle and its application to the action of colcemide and sublethal doses of X-irradiation. *Biophys. J.* **3**, 379—397 (1963).
- , and M.-A. YAMADA: Chromosomal dynamics in irradiated mammalian cells. *Radiat. Res.* **16**, 589 (1962).
- PUGH, R. P., W. J. HARRINGTON, V. K. MAYER, J. ROTHSCHILD, C. J. GRAEFE, and P. M. LANGSAM: Evidence for immunological injury to leukocytes exposed to ionizing radiation. *J. Lab. clin. Med.* **64**, 425—432 (1964).
- QUASTLER, H.: The nature of intestinal radiation death. *Radiat. Res.* **4**, 303—320 (1956).
- Information theory in radiobiology. *Ann. Rev. nuclear Sci.* **8**, 387—400 (1958).
- Effects of radiation on synthesis and loss of DNA. In: *Chemical and biological effects of radiations* (Ed. HAISINSKY). Paris: Masson & Cie. 1963. Pp. 196.
- QUASTLER, H., and F. G. SHERMAN: Cell population kinetics in the intestinal epithelium of the mouse. *Exp. Cell Res.* **17**, 420—438 (1959).
- RAGNI, G., and W. SZYBALSKI: Molecular radiobiology of human cell lines. II. Effects of thymidine replacement by halogenated analogues on cell inactivation by decay of incorporated radio-phosphorus. *J. molec. Biol.* **4**, 338—346 (1962).
- RAHMAN, Y. E.: Acid phosphatase and  $\beta$ -glucuronidase activities of thymus and spleen of rats after whole body X-irradiation. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **109**, 378—381 (1962).
- RANDOLPH, M. L., and D. L. PARISH: Measurements of electron spin resonances induced in amino acids by radiation. *Radiat. Res.* **9**, 170—171 (1958).
- RAPPOPORT, D. A.: Formation of phosphate esters from purine nucleosides by testicular extracts from X-irradiated rats. *Radiat. Res.* **11**, 229—241 (1951).
- R. A. SEIBERT, and V. P. COLLINS: C<sup>14</sup> formate metabolism by isolated tissue from X-irradiated rats. *Radiat. Res.* **6**, 148—152 (1957).
- RATHGEN, G. H., u. H. MAASS: Die Strahlenschädigung des DPN-Stoffwechsels in der Tumorzelle. *Strahlentherapie* **106**, 266—268 (1958a).
- — Untersuchungen zur strahleninduzierten Glykolysehemmung: Enzymaktivitäten in bestrahlten Yoshida-Ascites-Sarkomzellen. *Naturwissenschaften* **45**, 393 (1958b).
- RAUEN, H. M., H. KERSTEN u. W. KERSTEN: Zur Wirkungsweise von Actinomycinen. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **321**, 139—147 (1960).
- REICH, E., G. ACS, and R. M. FRANKLIN: Inhibition of nuclear and cytoplasmic ribonucleic acid synthesis by actinomycin in mouse-fibroblast cultures. *Biochim. biophys. Acta, Previews* **3**, No 6, B.B.A. 8348 (1963).
- REICH, E. R., R. M. FRANKLIN, A. J. SHATKIN, and E. L. TATUM: Effect of actinomycin-D on cellular nucleic acid synthesis and virus production. *Science* **134**, 556—557 (1961).
- — — Action of actinomycin D on animal cells and viruses. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **48**, 1238—1245 (1962).
- REICHARD, P.: Utilization of doubly labelled pyrimidine ribosides and deoxyribosides by the rat. *Acta chem. scand.* **11**, 11—16 (1957).
- Characterization of the hydrogen donor in the ribonucleotide reductase system. *Biochem. J.* **91**, 28P (1964).
- Z. N. CANNELLAKIS, and E. S. CANNELAKIS: Regulatory mechanisms in the synthesis of deoxyribonucleic acid *in vitro*. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **41**, 558—559 (1960).
- REIS, A., u. L. KLUGE: Die Unabhängigkeit des malignen Wachstums vom Stoffwechseltypus. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **181**, 281—284 (1936).
- RÉVÉSZ, L.: Effect of X-irradiation on the growth of the Ehrlich ascites tumour. *J. nat. Cancer Inst.* **15**, 1691—1701 (1955).
- Effect of lethally damaged tumour cells upon the development of admixed viable cells. *J. nat. Cancer Inst.* **20**, 1157—1186 (1958a).

- RÉVÉSZ, L.: Experimentella undersökningar över tillväxt förhållanden i partiellt stralskadade tumörer. *Nord. Med.* **59**, 836—842 (1958b).  
 — Studies on the multiplication of mouse tumour cells *in vivo* under various experimental conditions. Thesis. Uppsala: Almqvist & Wiksells 1958c.  
 —, and H. BERGSTRAND: Radiation protection by cysteamine and cellular sulphhydryl levels. *Nature (Lond.)* **200**, 594—595 (1963).  
 — — and H. MODIG: Intrinsic non-protein sulphhydryl levels and cellular radiosensitivity. *Nature (Lond.)* **198**, 1275—1277 (1963).  
 — U. GLAS, and G. HILDING: Relationship between chromosome number and radiosensitivity of tumour cells. *Nature (Lond.)* **198**, 260—261 (1963).  
 —, and U. NORMAN: Chromosome ploidy and radiosensitivity of tumours. *Nature (Lond.)* **187**, 861—862 (1960).  
 RHO, J. M., and J. BONNER: The site of ribonucleic acid synthesis in the isolated nucleus. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **47**, 1611—1619 (1961).  
 RICHARDS, B. M., and N. B. ATKIN: DNA content of human tumours: change in uterine tumours during radiotherapy and their response to treatment. *Brit. J. Cancer* **13**, 788—800 (1959).  
 RICHMOND, J. E., K. J. ALTMAN, and K. SALOMON: The effects of X-irradiation on the biosynthesis of hemoglobin. *J. biol. Chem.* **190**, 817—825 (1951).  
 — M. G. ORD, and L. A. STOCKEN: The effect of X-radiation *in vivo* on, protein and nucleoprotein metabolism in the rat. *Biochem. J.* **66**, 123—127 (1957).  
 RINGERTZ, N. R.: The effect of X-radiation on nuclear histone content. *Exp. Cell Res.* **32**, 401—404 (1963).  
 RISEBROUGH, R. W., A. TISSIÈRES, and J. D. WATSON: Messenger-RNA attachment to active ribosomes. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **48**, 430—436 (1962).  
 ROBSON, J. M., and R. S. STACEY: Recent advances in pharmacology, 3rd edn., p. 135. London: Churchill 1962.  
 RÖRSCH, A., A. EDELMAN, and J. A. COHEN: The gene-controlled radiation sensitivity in *Escherichia coli*. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **68**, 263—270 (1963).  
 — — C. VAN DER KAMP, and J. A. COHEN: Phenotypic and genotypic characterization of radiation sensitivity in *Escherichia coli* B. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **61**, 278—289 (1962).  
 ROGERS, R. W., and R. C. v. BORSTEL: Alpha-particle bombardment of the *Habrobracon* egg. I. Sensitivity of the nucleus. *Radiat. Res.* **7**, 484—490 (1957).  
 ROITT, J. M.: The inhibition of carbohydrate metabolism in ascites tumor cells by ethyleneimines. *Biochem. J.* **63**, 300—307 (1956).  
 ROTH, J. S., J. BUKOVSKY, and H. J. EICHEL: The effect of whole-body X-irradiation on the activity of some acid hydrolases in homogenates and subcellular functions of rat spleen. *Radiat. Res.* **16**, 27—36 (1962).  
 ROTHER, J.: Die chemischen Grundlagen der gesamten Strahlentherapie. *Handbuch der gesamten Strahlenheilkunde* (Ed. P. LAZARUS), Bd. 1, S. 423—443. München: J. F. Bergmann 1928.  
 RUBINI, J. R., E. P. CRONKITE, V. P. BOND, T. M. FLIEDNER, and W. L. HUGHES: Metabolism of tritiated thymidine in man. *Clin. Res.* **6**, 267 (1958).  
 — — — and T. M. FLIEDNER: Urinary excretion of beta-aminobutyric acid (BAIBA) in irradiated human beings. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **100**, 130—133 (1959).  
 RUSSELL, W. L.: Effect of radiation dose rate on mutation in mice. *Symp. on recovery of cells from injury. J. cell. comp. Physiol.* **58**, Suppl. 1, 183—187 (1961).  
 —, and E. M. KELLY: Comparison between mutation rates induced by chronic gamma and acute X-irradiation in mice. *Science* **127**, 1062. (1958). See also W. L. RUSSELL, L. B. RUSSELL and E. M. KELLY, Radiation dose rate and mutation frequency. *Science* **128**, 1546—1550 (1958).  
 SAINTE-MARIE, G., and C. P. LEBLOND: Tentative pattern for renewal of lymphocytes in cortex of the rat thymus. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **97**, 263—270 (1950).  
 SAMPSON, M., A. KATOH, Y. HOTTA, and H. STERN: Metabolically labile deoxyribonucleic acid. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **50**, 459—463 (1963).  
 SAMS, C. F., and G. D. ADAMS: Low-level X-irradiation and EEG changes in dogs. UCSF Progress Report, 30 Sept. 1962, p. 15.  
 SANDRITTER, W., u. A. KRYGIER: Cytophotometrische Bestimmungen von proteingebundenen Thiolen in der Mitose und Interphase von HeLa-Zellen. *Z. Krebsforsch.* **62**, 596—610 (1959).  
 SARKAR, N. K., A. DEVI, and L. H. HEMPELMANN: Effects of irradiation on the incorporation of amino-acid into normal and regenerating rat liver. *Nature (Lond.)* **192**, 179—180 (1962).  
 SATO, M., G.-M. AUSTIN, and W. R. STAHL: Delayed radiation effects on neuronal activity in the spinal cord of the cat. Effects of ionizing radiation on the nervous system. *Internat. Atomic Energy Agency, Vienna*, 1962, p. 93—108.  
 SAX, K.: X-ray induced chromosomal aberrations in *Tradescantia*. *Genetics* **25**, 41—68 (1940).  
 —, and R. T. BRUMFIELD: The relation between X-ray dosage and the frequency of chromosomal aberrations. *Amer. J. Bot.* **30**, 510—564 (1943).  
 SCAIFE, J. F.: Effect of ionizing radiation on the pyridine nucleotides of thymocytes. *Canad. J. Biochem.* **41**, 1469—1481 (1963a).  
 — Effect of ionizing radiation on the oxidation of succinate by rat thymus mitochondria. *Canad. J. Biochem.* **41**, 1486—1490 (1963b).

- SCAIFE, J. F.: The demonstration of morphological nuclear changes in pyknotic irradiated thymocytes. *Canad. J. Biochem.* **41**, 823—825 (1963c).
- The role of thiol groups in the development of radiation damage in thymocytes and Ehrlich ascites carcinoma cells. *Canad. J. Biochem.* **42**, 1717—1727 (1964a).
- The nature of the radiation-induced lesion of the electron transport chain of thymus mitochondria. *Canad. J. Biochem.* **42**, 431—434 (1964b).
- The effect of X-irradiation on the metabolism of ribonucleic acid in the nuclei of thymocytes and Ehrlich ascites carcinoma cells. *Canad. J. Biochem.* **43**, 119—122 (1965).
- , and P. ALEXANDER: The physical properties of nucleoprotein and deoxyribonucleic acid from X-irradiated thymocytes. *Int. J. Radiat. Biol.* **31**, 389—398 (1961).
- , and B. HILL: The uncoupling of oxidative phosphorylation by ionizing radiation. *Canad. J. Biochem.* **40**, 1025—1042 (1962).
- — Uncoupling of oxidative phosphorylation by ionizing radiation. II. The stability of mitochondrial lipids and cytochrome c. *Canad. J. Biochem.* **41**, 1223—1233 (1963).
- SCHAUFER, W. G.: The effect of selective X-ray irradiation on the histologic structure of the rat salivary glands. *J. dent. Res.* **31**, 486—487 (1952); **32**, 796—806 (1953).
- SCHERER, E., u. K. VOELKER: Das Farbstoffbindungsvermögen isolierter Lebermitochondrien nach Röntgenbestrahlung *in vitro* und *in vivo*. *Strahlentherapie* **111**, 237—243 (1960).
- , u. W. VOGEL: Elektronenoptische Untersuchungen zur Strahlenwirkung auf Leber, Milz und Niere. *Strahlentherapie* **106**, 202—211 (1958).
- SCHINZ, H. R., u. B. SLOPOVSKY: Der Röntgenhoden. *Ergebn. med. Strahlenforsch.* **1**, 443—526 (1925).
- SCHNEIDER, D. O., and G. F. WHITMORE: Fast neutron irradiation of mammalian cells grown and assayed *in vivo* and *in vitro*. *Radiat. Res.* **14**, 499. (Abstract) (1961).
- SCHNEIDER, J. H.: The level of phosphorylation of nucleotides as related to the incorporation of (6-<sup>14</sup>C) orotic acid into ribonucleic acid by rat-liver homogenates. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **51**, 60—65 (1961).
- , and V. R. POTTER: Nucleotide metabolism. VIII. Heterogeneous labeling in ribonucleic acid of rat liver. *J. biol. Chem.* **233**, 154—158 (1958).
- SCHNEIDER, W. C.: Enzymes of cancer nuclei. *Exp. Cell Res., Suppl.* **9**, 430—434 (1963).
- SCHOLES, G., and J. J. WEISS: Effects of ionizing radiations on nucleic acids and nucleoproteins. Biological effects of ionizing radiation at the molecular level. *Internat. Atomic Energy Agency, Vienna, 1962*, p. 127—134.
- SCHOLTISSEK, C.: An unstable ribonucleic acid in rat liver. *Nature (Lond.)* **194**, 353—355 (1962).
- SCHRECKER, A. W., and A. KORNBERG: Reversible enzymatic synthesis of flavinadenine dinucleotide. *J. biol. Chem.* **182**, 795—803 (1950).
- SCHREK, R.: Cytologic changes in thymic glands exposed *in vivo* to X-rays. *Amer. J. Path.* **24**, 1055—1065 (1948).
- SCHUBERT, G.: Das Problem der Strahlenresistenz in Biologie und Medizin. *Strahlentherapie* **96**, 271—273 (1955).
- G. BETTENDORF, H. A. KÜNKEL, H. MAASS u. G. H. RATHGEN: Untersuchungen zum Einfluß von Röntgenstrahlen auf den C<sup>14</sup>-Alanin Einbau in die Proteine von Leberhomogenaten und Tumorzellen. *Strahlentherapie* **106**, 483—490 (1958).
- SCHUPPL, R., u. H. H. WAGENER: Über ein neues Verfahren zur Erfassung der Sofortwirkung von Röntgenstrahlen. *Strahlentherapie* **112**, 561—566 (1960).
- — Untersuchungen zur Frage des Sofort-Nachweises biologischer Wirkungen von Röntgenstrahlen. *Dermatologica (Basel)* **122**, 30—36 (1961).
- SCHWARTZ, S.: Industrial medicine on the plutonium project (Ed. R. S. STONE), vol. 20, chap. 6, p. 197, *Nat. Nuclear Energy Series*. New York: McGraw-Hill 1951. See also *Metallurgical Laboratory Report CH-3820* (1945).
- SCHWARZ, G.: Über Desensibilisierung gegen Röntgen- und Radiumstrahlen. *Münch. med. Wschr.* **56**, 1217—1218 (1909).
- SCHWEET, R. S., H. LAMFROM, and E. H. ALLEN: The synthesis of hemoglobin in a cell-free system. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **44**, 1029—1035 (1958).
- SCOTT, C. M.: Some quantitative aspects of the biological action of X- and  $\gamma$ -rays. *Medical Research Council. Special Rep. Series No 223*. London: H. M. Stationery Office 1937.
- SCOTT, D. B. McN., A. B. REISKIN, and A. M. PAKOSKEY: Changes in thiol content of the hamster cheek pouch after X-irradiation and some speculations on the relationship between phospholipids and protein thiol groups. *Biochem. J.* **93**, 1—3C (1964).
- SCOTT, K. G.: A comparison of two levels of roentgen and neutron irradiation of normal and lymphomatous mice, using radiophosphorus as an indicator of cellular activity. *Radiology* **46**, 173—175 (1946).
- SCOTT, O. C. A.: Some aspects of the effect of ionizing radiation on tumors in experimental animals. *Advanc. biol. med. Phys.* **6**, 121—173 (1958).
- SEARLE, A. G., and R. J. S. PHILLIPS: Genetic effects of neutron irradiation in mice. In: *Biological effects of neutron and proton irradiations*, vol. I, p. 361—369. Vienna: *Int. At. En. Ag.* 1964.
- SEED, J.: Inhibition of nucleic acid synthesis caused by X-irradiation of the nucleolus. *Proc. roy. Soc. B* **152**, 387—396 (1960a).
- X-irradiation of the nucleolus and its effect on nucleic acid synthesis. The cell nucleus (J. S. MITCHELL), p. 49—52; see also p. 53. London: Butterworths 1960b.

- SEED, J.: Action of radiation on synthesis of deoxyribonucleic acid in normal and tumour cell strains. *Nature (Lond.)* **192**, 944—945 (1961).
- The synthesis of deoxyribonucleic acid and nuclear protein in normal and tumour strain cells. *Proc. roy. Soc. B* **156**, 41—56 (1962).
- The relations between DNA, RNA and protein in normal embryonic cell nuclei and spontaneous tumour cell nuclei. *J. Cell Biol.* **20**, 17—23 (1964).
- SHAW, E. I.: The existence of two types of X-ray induced mitotic inhibition. *Radiat. Res.* **9**, 181 (1958).
- SHEEK, M. R., R. M. DES ARMIERS, B. P. SAGIK, and W. E. MAGEE: Biochemical changes during the formation and growth of giant cells from irradiated HeLa cells. *Exp. Cell Res.* **19**, 549—558 (1960).
- SHERMAN, F. G., and A. FORSSBERG: Incorporation of  $P^{32}$  into the trichloroacetic acid fractions of liver from irradiated and non-irradiated mice. *Arch. Biochem.* **48**, 293—299 (1954).
- , and H. QUASTLER: DNA synthesis in irradiated intestinal epithelium. *Exp. Cell Res.* **19**, 343—360 (1960).
- SHIELDS, H., and W. GORDY: Electron spin resonance studies of radiation damage to the nucleic acids and their constituents. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **45**, 269—281 (1959).
- SHOOTER, K. V., and A.-R. CRATHORN: The effects of gamma-irradiation on DNA synthesis in ascites cells *in vitro*. *Brit. J. Radiol.* **36**, 150 (1963).
- R. H. PAIN, and J. A. V. BUTLER: The effect of heat and X-rays on deoxyribonucleic acid. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **20**, 497—502 (1956).
- SIBATANI, A.: Ribonucleic acids of cancer cells. *Exp. Cell Res., Suppl.* **9**, 289—329 (1963).
- S. R. DE KLOET, V. G. ALLFREY, and A. E. MIRSKY: Isolation of a nuclear RNA fraction resembling DNA in its base composition. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **48**, 471—477 (1962).
- K. YAMANA, K. KIMURA, and T. TAKAHESHI: Fractionation of two metabolically distinct classes of ribonucleic acids in animal cells and its bearings on cancer. *Nature (Lond.)* **186**, 215—217 (1960).
- SIEBERT, G.: *Biochemie der normalen und der malignen Zelle. Grundlagen und Praxis chemischer Tumorbehandlung* (Ed. J. PIRWITZ), S. 82—97. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954.
- Enzymes of cancer nuclei. *Exp. Cell Res., Suppl.* **9**, 389—417 (1963).
- SILHA, M.: The effect of radiation on the mitosis-stimulating activity of hepatectomized rat serum. *Experientia (Basel)* **19**, 226—227 (1963).
- SINCLAIR, W. K.: Change in plasma clearance rate and red cell uptake of radio-active iron in patients following total body X-radiation. *J. Appl. Rad. Isotopes* **3**, 93—99 (1958).
- The relative biological effectiveness of 22MeVp X-rays, cobalt-60 gamma rays and 200 kVcp X-rays. VII. Summary of studies for five criteria of effect. *Radiat. Res.* **16**, 394—398 (1962).
- SINCLAIR, W. K., and L. H. BLACKWELL: The relative biological effectiveness of 22-MeVp X-rays, cobalt-60 gamma-rays and 200 KVcp X-rays. III. Determined by acute lethality in rats. *Radiat. Res.* **16**, 352—362 (1962).
- and R. M. HUMPHREY: The relative biological effectiveness of 22-MeVp X-rays, cobalt-60 gamma rays, and 200-KVpc X-rays. IV. Determined by effects on the iron-59 uptake in rats. *Radiat. Res.* **16**, 363—368 (1962).
- SINGH, B. B., B. VENKATARAMAN, N. K. NOTARI, CHANDRA MOULI, and K. C. BORA: Role of chemical composition of biological material on the production and decay of radiation-induced free radicals and their identification. Biological effects of ionizing radiation at the molecular level. *Internat. Atomic Energy Agency, Vienna, 1962*, p. 3—12.
- SINGH, U. N., and R. KOPPELMAN: Relationship between nuclear and cytoplasmic ribonucleic acid. *Nature (Lond.)* **198**, 181—183 (1963).
- SINSHEIMER, R. L.: A single stranded deoxyribonucleic acid from bacteriophage X-174. *J. molec. Biol.* **1**, 43—53 (1959).
- SKALKKA, M., J. MATYÁŠOVÁ, and J. SOŠKA: The effect of radiations on deoxyribonucleoproteins. Biological effects of ionizing radiation at the molecular level. *Internat. Atomic Energy Agency, Vienna, 1962*, p. 323—331.
- SKOOG, F.: The effect of X-irradiation on auxin and plant growth. *J. cell. comp. Physiol.* **7**, 227—270 (1935).
- SMELLIE, R. M. S.: Some studies of the enzymes of DNA biosynthesis. *Exp. Cell Res., Suppl.* **9**, 245—258 (1963).
- SMITH, C. L.: Effect of  $\alpha$ -particle and X-ray irradiation on DNA synthesis in tissue cultures. *Proc. roy. Soc. B* **154**, 557—570 (1961).
- Effect of alpha-particle and X-ray irradiation on DNA synthesis in tissue cultures. Tritium in the physical and biological sciences. *Internat. Atomic Energy Agency, Vienna, 1962a*, vol. II, p. 381—391.
- Effect on nucleic acid synthesis of irradiation of parts of single cells in tissue culture with a microbeam of  $\alpha$ -particles. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962b*, Abstract, C-2-1, p. 27.
- , and P. P. DENDY: Relation between mitotic index, duration of mitosis, generation time and fraction of dividing cells in a cell population. *Nature (Lond.)* **193**, 555—556 (1962).
- SMITH, CHRISTIANNA: Studies on the thymus of the mammal. XIII. Histochemistry of irradiated thymuses of C57BL strain mice. *J. nat. Cancer Inst.* **29**, 337—387 (1962).
- SMITH, H., and T. H. BATES: Changes in the urinary excretion of beta-amino-isobutyric acid after irradiation. *Brit. J. Radiol.* **36**, 861. (1963a).
- Effect of X-irradiation upon the metabolism in rat of certain  $^{14}C$ -labelled molecules. *Int. J. Radiat. Biol.* **8**, 390 (Abstract) (1964).

- SMITH, H., and T. H. BATES: An assessment of those metabolites considered to be of value in the diagnosis of exposure to radiation. In: Symposium Vienna Intern. At. En. Ag. 1965 (in the press).
- —, and C. I. SMITH: Excretion of  $\beta$ -amino-isobutyric acid as an index of radiation exposure. *Int. J. Radiat. Biol.* **8**, 263—270 (1964).
- —, and B. DYMOND: The determination of  $\beta$ -amino-isobutyric acid in urine. *Clin. chim. Acta* **8**, 614—620 (1963).
- SMITH, J. C., D. J. KIMELDORF, and E. L. HUNT: Motor responses of moths to low-intensity X-ray exposure. *Science* **140**, 805—806 (1963).
- —, and D. D. MORRIS: Effects of atropine sulphate on the conditioned aversion to saccharin fluid with X-rays as the unconditioned stimulus. *Radiat. Res.* **28**, 186—190 (1963).
- SMITH, K. C., and B. V. A. LOW-BEER: The effect of whole-body X-irradiation in the enzymatic activity of several rat tissues toward uridine, uridylic acid, cytidine and cytidylic acid. *Radiat. Res.* **6**, 521—531 (1957).
- SMITH, L. H., and O. VOS: Radiation sensitivity of mouse lymph node cells relative to their proliferative capacity *in vivo*. *Radiat. Res.* **19**, 485—491 (1963).
- SOMERS, C. E., A. COLE, and T. C. HSU: Isolation of chromosomes. *Exp. Cell Res., Suppl.* **9**, 220—234 (1963).
- SOUPART, S.: Discussion. Biological effects of ionizing radiation at the molecular level. Internat. Atomic Energy Agency, Vienna, 1962, p. 285—286.
- SPARGO, B., J. R. BLOOMFIELD, D. GLOTZER, E. LEITER, and G. O. NICHOLS: Histological effects of long-continued whole-body irradiation of mice. *J. nat. Cancer Inst.* **12**, 615—665 (1951).
- SPARROW, A. H.: Radiation sensitivity of cells during mitotic and meiotic cycles with emphasis on possible cytochemical changes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **51**, 1508—1540 (1951).
- —, R. L. CUANY, J. P. MISCHKE, and L. A. SCHAIERER: Some factors affecting the responses of plants to acute and chronic radiation exposures. *Radiat. Bot.* **1**, 10—34 (1961).
- —, and H. J. EVANS: Nuclear factors affecting radiosensitivity. I. The influence of nuclear size and structure, chromosome complement and DNA content. Fundamental aspects of radiosensitivity. Brookhaven Symposia in Biology, No 14, 76—100 (1961).
- SPEAR, F. G.: Immediate and delayed effects of radium (gamma rays) on tissue cultures *in vitro*. *Brit. J. Radiol.* **4**, 146—165 (1931).
- —, Tissue culture. II, III. Its application to radiological research. *Brit. J. Radiol.* **8**, 68—86, 280—297 (1935).
- —, On some biological effects of radiation. *Brit. J. Radiol.* **31**, 114—124 (1958).
- SPERTZEL, R. O., T. J. BUCCI, and M. INGRAM: Platelet size distribution following X-irradiation. Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962, p. 342—344. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- STACEY, K. A.: The inhibition of DNA synthesis by calf-thymus polymerase by X-irradiation of the primer DNA. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **5**, 486—490 (1961).
- —, DNA and the effects of radiation. Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962, p. 96—112; see p. 103. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- STAEHELIN, T., F. O. WETTSTEIN, and H. NOLL: Breakdown of rat-liver ergosomes *in vivo* after actinomycin inhibition of messenger RNA synthesis. *Science* **140**, 180—183 (1963).
- STANNERS, C. P., and J. E. TILL: DNA synthesis in individual L-strain mouse cells. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **37**, 406—419 (1960).
- STEDMAN, E., and E. STEDMAN: Probable function of histone as a regulator of mitosis. *Nature (Lond.)* **152**, 556—557 (1943).
- —, Chromosin, a protein constituent of chromosomes. *Nature (Lond.)* **152**, 267—269 (1943).
- —, **153**, 500—502 (1944).
- —, Functions of deoxyribose nucleic acids in the cell nucleus. Symp. Soc. exp. Biol. No 1, 232—251 (1947).
- —, Cell specificity of histones. *Nature (Lond.)* **166**, 780—781 (1950).
- —, The basic proteins of cell nuclei. *Phil. Trans. roy. Soc. B* **235**, 565—595 (1951).
- STEFANI, S., and R. SCHREK: Cytotoxic effect of 2 and 5 roentgens on human lymphocytes irradiated *in vitro*. *Radiat. Res.* **22**, 126—129 (1964).
- STEFFENSEN, D.: Chromosome rupture in *Tradescantia* by calcium deficiency. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **41**, 155—160 (1955).
- STEIN, G., and J. SWALLOW: The reduction of diphosphopyridine nucleotide and some model compounds by X-rays. *J. chem. Soc.* **60**, 306—312 (1958).
- STENT, G., and S. BRENNER: A genetic locus for the regulation of RNA synthesis. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **47**, 2005—2014 (1961).
- STERN, K., and R. WILLHEIM: The biochemistry of malignant tumours, p. 377—381. Brooklyn, N.Y.: Reference Press 1943.
- STOCKEN, L. A.: Phosphate metabolism in the nucleus. The initial effects of ionizing radiations on cells (Ed. R. J. C. HARRIS), p. 195—199. London: Academic Press 1961.
- STONE, R. S.: Health protection activities of the plutonium project. *Proc. Amer. phil. Soc.* **90**, 11—19 (1946).
- STONER, R. D., and W. M. HALE: Increased susceptibility of mice to anaphylactic shock following cobalt-60 gamma radiation. *J. Immunol.* **72**, 419—423 (1954).
- STRAUBE, R. L., and H. M. PATT: Effect of local X-irradiation on growth capacity of mouse kidney. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **108**, 808—810 (1961).
- STRAZHEVSKAYA, N. B., and A. M. KUZIN: On the influence of ionizing radiation on the metabolism of phosphorus containing compounds in the roots of wheat. *Biophysics* **2**, 82—89 (1957).

- STRAZHEVSKAYA, N. B., and V. A. STRUCHKOV:  
(a) On the role of DNA supramolecular structure in cell radiation injury. *Radiobiology*. Translation of vol. 2 (1962). AEC-tr-5428, 10—20.  
— (b) Molecular structure of DNA and radiation damage to cells. *Proc. Sec. Int. Congr. of Radiation Research, Harrogate, 1962* (Ed. M. EBERT and A. HOWARD), p. 101—103 and 113. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- STRELIN, G. S.: *Zh. Med. radiol.* No 2 (1956). Quoted by A. V. LEBEDINSKY, U. G. GRIGORYEV and G. G. DEMIRCHOGLYAN 1958.
- STRELZOFF, E., and F. J. RYAN: The necessary involvement of both complementary strands of DNA in the specification of messenger RNA. *Biochem. biophys. Res. Commun.* 7, 471—476 (1962).
- STROUD, A. N., A. M. BRUES, and B. R. SVOBODA: DNA synthesis in mammalian kidney cells in tissue culture after single and periodic doses of irradiation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 95, 942—959 (1961).
- — — Studies on radiosensitivity and uptake of tritiated thymidine by mammalian kidney cells. *Radiat. Res.* 14, 507 (Abstract) (1961).
- STUBBLEFIELD, E., and G. C. MUELLER: Molecular events in the reproduction of animal cells. II. The focalized synthesis of DNA in the chromosomes of HeLa cells. *Cancer Res.* 22, 1091—1099 (1962).
- SUBOTIČ-NIKOLIČ, S. P., and A. ZUPPINGER: Effect of 31 MeV gamma and 200 kV roentgen whole-body irradiation on the nucleic acid content of mouse tissues. *Acta radiol.* (Stockh.) 51, 74—80 (1959).
- SUGINO, Y., E. P. FRENKEL, and R. L. POTTER: Effect of X-radiation on DNA metabolism in various tissues of the rat. V. DNA metabolism in regenerating thymus. *Radiat. Res.* 19, 682—700 (1963).
- SUIT, H. D., F. ELLIS, and R. OLIVER: Effects of total body irradiation on iron metabolism in human bone marrow. *Brit. J. Radiol.* 30, 553—559 (1957).
- L. G. LAJTHA, R. OLIVER, and F. ELLIS: Studies on the <sup>59</sup>Fe uptake by normoblasts and the failure of X-irradiation to affect uptake. *Brit. J. Haemat.* 3, 165—174 (1957).
- SWALLOW, A. J.: The reduction of diphosphopyridine nucleotide by ethanol under the influence of X-irradiation. *Biochem. J.* 61, 197—203 (1955).
- SYLVÉN, B.: Studies on the liberation of sulphuric acids from the granules of the mast cells in the subcutaneous connective tissue after exposure to roentgen and gamma rays. *Acta radiol.* (Stockh.) 21, 206—212 (1940).
- Über das Vorkommen von hochmolekularen Esterschwefelsäuren im Granulationsgewebe und bei der Epithelregeneration. *Acta chir. scand.* 86, Suppl. 66, 1—140 (1941).
- Ester sulphuric acids of high molecular weight and mast cells in mesenchymal tumors. *Histochemical studies on tumorous growth. Acta radiol.* (Stockh.), Suppl. 59, 1—99 (1945).
- SZENT-GYÖRGYI, A., A. HEGYELI, and J. A. McLAUGHLIN: Growth and cellular constituents. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* 49, 878—879 (1963).
- SZTANYIK, L., O. GESZTI, and E. MANDI: Effects of whole-body X-irradiation on iron metabolism of rabbits and mice. *Proc. Sec. Int. Congr. Radiation Research, Harrogate, 1962*, p. 344—345. Amsterdam: North-Holland Publ. Co. 1963.
- SZYBALSKI, W.: Ultraviolet light sensitivity and other biological and physico-chemical properties of halogenated DNA. *Proc. 3rd Int. Congr. Photobiology, Copenhagen, 1960* (Ed. B. CHR. CHRISTENSEN and B. BUCHMANN), p. 543—545. Amsterdam: Elsevier 1960a.
- The radiosensitizing effect of the halogenated thymidine analogues. *Carmel conference on "Experimental Advances in Radiotherapy"* 1960b.
- Properties and applications of halogenated deoxyribonucleic acids. In: *The molecular basis of neoplasia*, p. 146—171. Austin: University of Texas Press 1962a.
- Radiosensitization of cells by halogen labeling of DNA, the principal target of radiation effects. *Second Int. Congr. Radiation Research, Harrogate. Abstracts of Papers B-3-1*, p. 19. (1962b).
- Radiobiological aspects of the use of halogenated pyrimidine nucleosides as sensitizing agents. *Abstracts. X. Int. Congr. Radiobiology, 1962, Montreal, Canada*. In press 1962c.
- , and Z. LORKIEWICZ: On the nature of the principal target of lethal and mutagenic radiation effects. In: *Strahleninduzierte Mutagenese* (Erwin Baur-Gedächtnisvorlesungen II, 1961, H. STUBBE, Ed.). *Abh. dtseh. Akad. Wiss. Berlin, Kl. Med.* No 1, 63—71 (1962).
- , and Z. OPARA-KUBÍNSKA: DNA as principal determinant of cell radiosensitivity. *Radiat. Res.* 14, 508—509 (Abstract) (1961).
- TAKAHASHI, T., R. B. SWINT, and R. B. HURLBERT: Synthesis of RNA in isolated nuclei of the Novikoff ascites tumor. *Exp. Cell Res., Suppl.* 9, 330—344 (1963).
- TALIAFERRO, W. H., and L. G. TALIAFERRO: Effects of X-rays on immunity: a review. *J. Immunol.* 66, 181—212 (1951).
- TAYLOR, J. H., W. F. HAUT, and J. TUNG: Effects of fluorodeoxyuridine on DNA replication and chromosome breakage and reunion. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* 48, 190—198 (1962).
- TEICHMANN, B.: Untersuchungen über das Verhalten von Tumorgewebe in Diffusionskammern gegenüber eindringenden Wirtszellen bei tumorresistenten Ratten. *Experientia* (Basel) 20, 327 (1964).
- TERASIMA, T., and L. J. TOLMACH: Growth and nucleic acid synthesis in synchronously dividing populations of HeLa cells. *Exp. Cell Res.* 30, 344—362 (1963) with corrections to Table III.

- TERASIMA, T., and L. J. TOLMACH: Variations in several responses of HeLa cells to X-irradiation during the division cycle. *Biophys. J.* **3**, 11—33 (1963).
- TERZI, M.: Comparative analysis of inactivating efficiency of radiation on different organisms. *Nature (Lond.)* **191**, 461—462 (1961).
- THIER, P. F. X.: Over Actiestroomden der Retina bij bestraling met Radium. Thesis, Utrecht 1933.
- THODAY, J. M., and J. READ: Effect of oxygen on the frequency of chromosome aberrations produced by X-rays. *Nature (Lond.)* **160**, 608 (1947).
- THOMSON, J. F.: Possible role of catalase in radiation effects in mammals. *Radiat. Res.*, Suppl. **3**, 93—109 (1963).
- M. CARTAR, and W. W. TOURTELOTTE: Some observations on the effect of  $\gamma$ -irradiations on the biochemistry of the regenerating rat liver. *Radiat. Res.* **1**, 165—175 (1954).
- TILL, J. E.: Radiosensitivity and chromosome numbers in strain L mouse cells in tissue culture. *Radiat. Res.* **15**, 400—409 (1961a).
- Radiation effects on the division cycle of mammalian cells *in vitro*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **95**, 911—915 (1961b).
- , and E. A. MCCULLOCH: Early repair processes in marrow cells irradiated and proliferating *in vivo*. *Radiat. Res.* **18**, 96—105 (1963).
- TIMASHEFF, S. N.: The macromolecular parameters of ascites tumour cell H-RNA. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **88**, 630—641 (1964).
- TOTTER, J. R.: The utilization of formate in thymine formation by bone marrow cell suspensions. *Fed. Proc.* **12**, 281 (1953).
- Influence of radiation and of aminopterin on the metabolism of formate by rabbit bone marrow *in vitro*. *Radiat. Res.* **1**, 232 (1954).
- TRAMS, E. G., M. V. NADKARNI, and P. K. SMITH: On the mechanism of action of alkylating agents. II. Effects of nitrogen mustard, myletan and X-radiation on nucleic acid biosynthesis. *Cancer Res.* **21**, 567—570 (1961).
- — — On the mechanism of action of alkylating agents. I. Interaction of alkylating agents with nucleic acids. *Cancer Res.* **21**, 560—566 (1961).
- TRENDELENBURG, U.: Modification of transmission through the superior cervical ganglion of the cat. *J. Physiol. (Lond.)* **132**, 529—541 (1956).
- TRICOU, B. J., and J. DOULL: Pharmacological and toxicological compounds as protective or therapeutic agents against radiation in experimental animals. 3. Pharmacological studies on the radioprotective activity of serotonin. U.S.A.F. *Radiat. Lab. Univ. Chicago Quart. Progr. Rep.* **36**, 85—86 (1960).
- TROWELL, O. A.: The sensitivity of lymphocytes to ionizing radiation. *J. Path. Bact.* **64**, 687—704 (1952).
- The lymphocyte. International review of cytology, vol. 7, p. 267—293. New York: Academic Press 1958.
- TROWELL, O. A.: In: Haemopoiesis, cell production and its regulation. Ciba Symposium, p. 172—175 (1960).
- Radiosensitivity of the cortical and medullary lymphocytes in the thymus. *Int. J. Radiat. Biol.* **4**, 163—173 (1961).
- M. J. CORP, and W. R. LUSH: Paradoxical resistance of thymus lymphocytes to high doses of X-radiation. *Radiat. Res.* **7**, 120—128 (1957).
- TSCHERMAK-WOESS, E.: Über den Einbau von  $H^3$ -Thymidin in die DNS und die Endomitose-tätigkeit in der Wurzel von *Vicia faba*. *Chromosoma (Berl.)* **11**, 25—28 (1960).
- TSO, P. O. P., J. BONNER, and J. VINOGRAD: Microsomal nucleoprotein particles from pea seedlings. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 451—465 (1956).
- UENO, Y., M. HORIKAWA, T. AOYAMA, and T. SUGAHARA: Radiosensitivity and SH compounds in mammalian cells. *Folia biol. (Praha)* **10**, 39—44 (1964).
- UMETSU, J.: The effect of roentgen rays upon the electrical excitability of the human eye. *Tohoku J. exp. Med.* **64**, 325—332 (1956).
- VENINGA, T. S.: Radioprotection by combination of bio-amines. (Abstract.) *Int. J. Radiat. Biol.* **6**, 493. (1963).
- , and J. E. DE BOER: X-ray induced liberation of histamine from the isolated rat's uterus. *Int. J. Radiat. Biol.* **6**, 501—505 (1963).
- , and R. BRINKMAN: Random liberation of biogenic amines as a cause of early radiation effects. *Int. J. Radiat. Biol.* **5**, 283—289 (1962).
- VERMUND, H., C. P. BARNUM, R. A. HUSEBY, and K. W. STENSTROM: Effect of X-rays on incorporation of  $^{32}P$  into nucleic acids and other constituents of mouse mammary carcinoma. *Cancer Res.* **13**, 633—638 (1953).
- WACKER, A., H. DELLWEG u. E. LODEMANN: Strahlenchemische Veränderung der Nucleinsäuren. *Angew. Chem.* **73**, 64—65 (1961).
- H. D. MENNIGMANN, and W. SZYBALSKI: Mechanism of photochemical inactivation of halogenated DNA. *Fed. Proc.* **21**, 374 (1962).
- WAKE, R. G.: Sequential reduplication of DNA in synchronously germinating *Bacillus subtilis* spores. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **13**, 67—70 (1963).
- WAKONIG-VAARTAJA, R.: Correlation of chromosome size and radiosensitivity. *Nature (Lond.)* **198**, 1105—1106 (1963).
- WALKER, P. M. B., and H. B. YATES: Nuclear components of dividing cells. *Proc. roy. Soc. B* **140**, 274—299 (1952).
- WANG, R. I. H., J. G. KEREIAKES, R. R. ANDERSON, and A. T. KREBS: Synergistic effects of certain radioprotective compounds. U.S. Army Med. Res. Lab. Rep. **407**, 1—14 (1959).
- WANG, T. Y.: Saline soluble proteins of isolated thymus nuclei. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **49**, 239—244 (1961).
- The chemical composition of nuclear ribosomes of calf thymus. *Arch. Biochem.* **97**, 387—392 (1962).

- WANG, T. Y., W. R. KIRKHAM, R. D. DALLAM, D. T. MAYER, and L. E. THOMAS: Acidic proteins of cellular nuclei. *Nature (Lond.)* **165**, 974—975 (1950).
- WARNER, J. R., P. M. KNOPF, and A. RICH: A multiple ribosomal structure in protein synthesis. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **49**, 122—129 (1963).
- WATSON, G. M.: The origin of taurine excreted in the urine after whole body irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **5**, 79—83 (1962).
- WATTENBERG, L. W.: Histochemical studies of the effects of coenzyme Q<sub>10</sub> and menadione on oxidative enzymes in normal and neoplastic cells. Quinones in electron transport. Ciba Foundation Symposium, p. 367—377. London: Churchill 1961.
- , and S. SCHWARTZ: Radiation induced changes in ultraviolet absorption spectra of urine. II. Quantitative spectrophotometric studies. Biological effects of external X and gamma-radiation (Ed. R. E. ZIRKLE), p. 453—472. New York: McGraw-Hill Book Co. 1954.
- WEISS, J.: Action of ionizing radiation on nucleoproteins. *Ann. Rep. Brit. Emp. Cancer Camp.* p. 423—424 (1962).
- WEISS, J. J., and C. M. WHEELER: Effect of gamma-radiation on deoxynucleoprotein acting as a primer in RNA synthesis. *Nature (Lond.)* **203**, 291—292 (1964).
- WEISS, S. B.: Enzymatic incorporation of ribonucleotide triphosphates into the interpoly-nucleotide linkages of ribonucleic acid. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **46**, 1020—1030 (1960).
- , and T. NAKAMOTO: On the participation of DNA in RNA biosynthesis. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **47**, 694—697 (1961).
- WEISSMAN, S. M., R. M. S. SMELLIE, and J. PAUL: Studies on the biosynthesis of deoxyribonucleic acid by extracts of mammalian cells. IV. The phosphorylation of thymidine. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **45**, 101—110 (1960).
- WELLING, W., and J. A. COHEN: Disturbance of RNA turnover in the cell nucleus by X-irradiation in the early phase of rat liver regeneration. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **42**, 181—182 (1960).
- WELS, P., u. A. THIELE: Der Einfluß der Röntgenstrahlen auf Eiweißkörper. II. *Mitt. Pflügers Arch. ges. Physiol* **209**, 49—64 (1925).
- WETTSTEIN, F. O., T. STAEHELIN, and H. NOLL: Ribosomal aggregate engaged in protein synthesis: characterization of the ergosome. *Nature (Lond.)* **197**, 430—436 (1963).
- WEYMOUTH, P. P.: The effect of a single systemic X-irradiation of the C57BL mouse on the nucleodepolymerase of the thymus. *Radiat. Res.* **8**, 307—321 (1958).
- WHITFIELD, J. F., and R. H. RIXON: Effects of X-radiation on multiplication and nucleic acid synthesis in cultures of L-strain mouse cells. *Exp. Cell Res.* **18**, 126—137 (1959).
- WHITFIELD, J. F., and R. H. RIXON: Some properties of radiation resistant derivatives of L strain mouse cells. *Exp. Cell Res.* **20**, 242—244 (1960).
- WHITMORE, G. F., C. P. STANNERS, J. E. TILL and S. GULYAS: Nucleic acid synthesis and the division cycle in X-irradiated L-strain mouse cells. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **47**, 66—77 (1961).
- J. E. TILL, R. B. L. GWATKIN, L. SIMONOVITCH, and A. F. GRAHAM: Increase of cellular constituents in X-irradiated mammalian cells. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **30**, 583—590 (1958).
- WILDY, P., C. L. SMITH, A. A. NEWTON, and P. DENDY: Quantitative cytological studies on HeLa cells infected with herpes virus. *Virology* **15**, 486—500 (1961).
- WILHELM, G.: Über die Kortikoid- und Kosteroidausscheidung im Urin der weißen Maus nach Röntgenbestrahlung. *Strahlentherapie* **97**, 75—77 (1955).
- WILLIAMS, M. W., R. D. BAKER, and R. W. COVILL: Effect of gamma irradiation and AET on rat blood cholinesterase. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **106**, 603—605 (196).
- WILLIAMS, R. B., J. N. TOAL, J. WHITE, and H. M. CARPENTER: Effect of total-body X-irradiation on near-threshold to tissue-lethal doses on small-bowel epithelium of the rat. I. Changes in morphology and rate of cell division in relation to time and dose. *J. nat. Cancer Inst.* **21**, 17—61 (1958).
- WILLIAMS, R. J.: Individual metabolic patterns and human disease. *Tex. Univ. Publ.* **5109** (1959).
- WILLOUGHBY, D. A.: Pharmacological aspects of the vascular permeability changes in the rat's intestine following abdominal radiation. *Brit. J. Radiol.* **33**, 515—519 (1960).
- The effect of D.F.P. on the acute intestinal radiation syndrome in the rat. *Brit. J. Radiol.* **34**, 807—813 (1961g).
- WIMBER, D. E.: Duration of the nuclear cycle in *Tradescantia paludosa* root tips as measured with H<sup>3</sup> thymidine. *Amer. J. Bot.* **47**, 828—834 (1960a).
- The effect of chronic gamma irradiation on the irradiation on the duration of the nuclear cycle in *Tradescantia paludosa* root-tips. *Radiat. Res.* **12**, 484 (1960b).
- Asynchronous replication of deoxyribonucleic acid in root tip chromosomes of *Tradescantia paludosa*. *Exp. Cell Res.* **23**, 402—407 (1961b).
- WINTZ, H.: Die Methodik der Röntgentherapie. Handbuch der gesamten Strahlenheilkunde (Hrsg. v. P. LAZARUS), Bd. 2, S. 113—193; see p. 171. München: J. F. Bergmann 1931.
- WOLFF, S.: Some postirradiation phenomena that affect the induction of chromosome aberrations. *J. cell. comp. Physiol.*, Suppl. 1 to vol. **58**, 151—158 (1961).
- , and H. E. LUIPPOLD: Metabolism and chromosome-break rejoining. *Science* **122**, 231—232 (1955).

- WOLFF, S., and H. E. LUIPPOLD: Chromosome splitting as revealed by combined X-ray and labeling experiments. *Exp. Cell Res.* **34**, 548—556 (1964).
- YAMADA, M., and T. T. PUCK: Action of radiation on mammalian cells. IV. Reversible mitotic lag in the S3HeLa cell produced by low doses of X-rays. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **47**, 1181—1191 (1961).
- ZBARSKII, J. B., and G. P. GEORGIEV: Cytological characteristics of protein and nucleoprotein fractions of cell nuclei. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **32**, 301—302 (1959).
- ZIMMER, K. G.: Evidence for free radical production in living cells exposed to ionizing radiation. *Radiat. Res., Suppl.* **1**, 519—529 (1959).
- ZIMMER, K. G.: Studien zur quantitativen Strahlenbiologie. *Abh. Akad. Wiss. u. Lit. Mainz, math.-nat. Kl. Nr 3*, 111—127 (1960).
- L. EHRENBERG u. A. EHRENBERG: Nachweis langlebiger magnetischer Zentren in bestrahlten biologischen Medien und deren Bedeutung für die Strahlenbiologie. *Strahlentherapie* **103**, 3—15 (1957).
- ZUBKOVA, S. R., and T. V. PRVADICH-NEMINSKAYA: AN SSSR, Otdel. Biol. Nauk (Papers of the Academy of Sciences USSR, Department of Biological Sciences), p. 371 (1945). Quoted by N. N. DEMIN and N. V. KORNEEVA 1962.

# H. Genetic effects of ionizing radiations

By

**H. B. Newcombe**

With 10 plates and 47 figures

## I. Introduction and description of the genetic materials

### 1. Scope

It is now over 35 years since the production of hereditary changes, or mutations, by exposure to Roentgen rays was demonstrated by MULLER (1927, 1928a and b) in the fruit fly, *Drosophila*, and by STADLER (1928a, b and c) in maize and barley. Since then, the mutagenic effects of various ionizing radiations, ultraviolet light and a growing number of radiomimetic chemicals have been quantitatively studied in a wide variety of living materials ranging from microorganisms to man himself.

Interest in these mutations was first aroused because hereditary changes of natural origin appeared to constitute the raw material of evolution. Agents increasing the frequency with which genetically variant forms arose opened up a completely new method for studying a fundamental part of the evolutionary process. An apparent simplicity in the relationship between the dose of ionizing radiation and the yield of mutations held forth the possibility of interpreting the mutation process in relatively simple physical and chemical terms.

In addition, certain gross structural changes in the hereditary materials of irradiated cells (such as chromosome breaks and rearrangement) were found to be readily visible in cytological preparations. The importance of these visible changes became apparent when it was found some of them cause cell death after irradiation and others alter cell behaviour. Studies of gross structural alterations in the genetic apparatus have therefore been of particular interest as indicating the means by which radiation damages body tissues and such alterations are believed to play an important part in the control of neoplastic growths by irradiation.

Practical use has been made of radiation to induce gene mutations in agricultural plants and thus to increase the supply of variant forms from which new lines may be bred. The majority of mutations are undesirable but a small proportion (e.g. those resulting in disease resistance) have proved valuable. Gross alterations of the hereditary materials have likewise been employed by plant breeders. An important factor limiting the use of wild relatives of commercial varieties as a source of desirable genetic characters is the difficulty of subsequently eliminating the more closely associated undesirable wild traits transferred at the same time. Radiation induced changes (chromosome breaks) have been employed successfully to hasten this process when conventional breeding techniques alone proved excessively laborious.

Finally, the development and increasing use of very potent sources of radiation (nuclear reactors, nuclear weapons and the radioactive products of nuclear reactions) has emphasized the need for a more quantitative understanding of the effects of radiation on man's heredity. It is also conceivable that damage to the genetic materials of the body cells plays a part in the initiation of tumours, and that small doses of radiation may cause small increases in tumour frequency. This possibility has raised unanswered

questions about the somatic effects of exposing large human populations to low doses of radiation.

The present account will discuss the nature of the changes induced in the hereditary materials of cells by radiation, and the consequences thereof. These will be considered at a number of different levels of organization: in individual cells and their descendant cell lines, in the somatic tissues of individual organisms, in the descendants of irradiated individuals, and in whole populations of organisms. Finally, attempts which have been made to assess the social importance of radiation induced genetic changes in humans will be discussed.

The remaining portion of the introductory section (I. 2.) describes the nature and behaviour of the genetic apparatus of the cell. It has been written primarily to review the necessary minimum of background information for those in other fields and to indicate briefly the ways in which the normal behaviour of the genetic material may be upset by irradiation. As a result it is more elementary than the sections which follow.

## 2. The genetic apparatus

### a) The bearers of the genetic information

The *chromosomes*, the chief carriers of the hereditary materials, are contained within the nucleus of the cell. During cell division they appear as rods with a sausage-like shape. The chromosomes contain some protein and are particularly rich in deoxyribonucleic acid. Early cytologists tended to emphasize the protein as the probable genetically important component. However, there is now strong evidence, derived largely from the bacterial viruses, that the nucleic acid is the carrier of the genetic information.

Except during division, the chromosomes are present as long thin threads (*chromonemata*). These are capable of producing precise replicas of themselves prior to each cell division. Shortening follows the replication process and is achieved by the formation of a closely packed cylindrical helix which can be clearly seen in some plant chromosomes in the divisions preceding pollen grain formation. There is reason to believe that the strand forming the visible (major) spiral is in turn made up of a much finer (minor) spiral, and the extent of the shortening of the chromonemata is most readily explained in terms of a multiple helix. Following cell division the coils relax and the chromosomes elongate.

Each chromosome has a specialized point or region known as a *centromere* which functions during the division to pull the sister strands (known individually as *chromatids*) to opposite ends of the cell. The two daughter nuclei are a result of this movement. It is not known what causes the centromeres to move. During this period that part of the cytoplasm in which they are embedded is organized into a spindle shaped body (the *spindle*) in which there is a visible orientation of protein material giving the appearance of fibres extending between opposite poles. The centromeres interact with the spindle and orient themselves on its equatorial plane prior to the separation of the chromatids. At this time the centromeres still appear single. Subsequently they become functionally split and sister centromeres move towards opposite poles, along the apparent lines of the spindle, drawing the chromatids after them. Centromeres were once regarded simply as organs of attachment to the spindle fibres which were thought to contract and so pull the chromosomes to the poles. It now seems likely that they play a more active part in chromosome movement and that mutual repulsion between sister centromeres is important in the early stages of separation.

Since each chromosome divides prior to a cell division the number in a nucleus remains constant over successive cell generations. In most higher organisms half of the chromosomes of the somatic (body) cells are derived from the mother and half from the father, the two sets being essentially similar to each other. For each chromosome of the paternal set there is a corresponding, or *homologous*, chromosome of the maternal set.

Cells and organisms which contain both sets are referred to as *diploid* and those with one as *haploid*. Gametes of diploid organisms contain a haploid set and fertilization restores the diploid number.

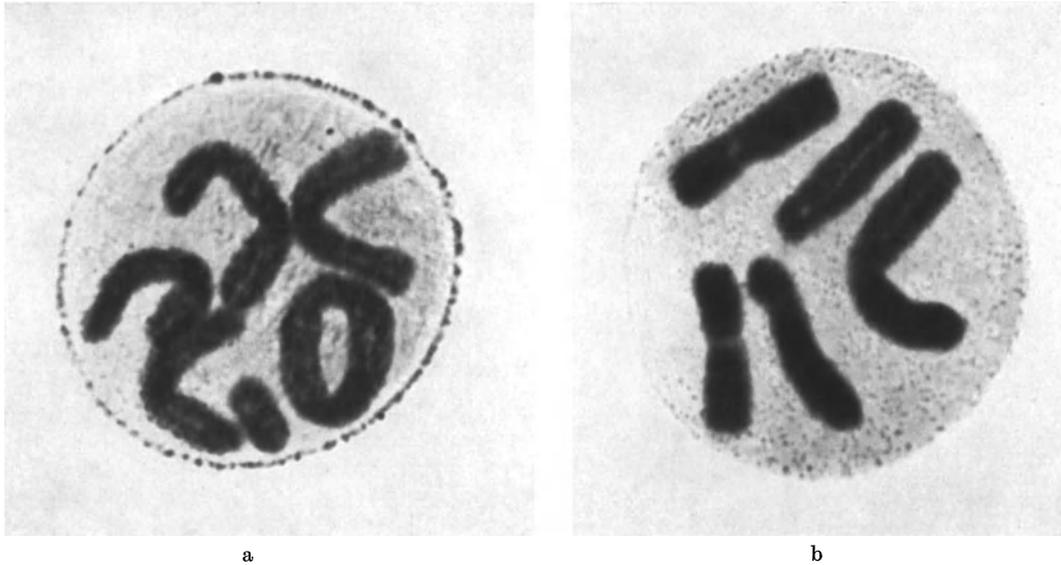


Plate I. *Trillium erectum*, metaphase of the haploid pollen grain (microspore) division. (Photo by SPARROW unpublished)

Exceptions occur, especially among plants but sometimes also in animals, in which the body cells contain more than two sets of chromosomes. Such individuals are known as *triploids*, *tetraploids*, and so on, depending on the number of sets.

The number and sizes of the chromosomes tend to be constant within a species. In man it was long believed that there were 48 chromosomes (24 paternal and 24 maternal). More recently the number has been reported as 46 (FORD and co-workers 1956, 1958; see also KODANI 1958a and b). Chromosome numbers in plants vary from as few as 3 in the haploid cells (eggs and pollen) of certain *Crepis* and *Crocus* species to more than a hundred in the diploid somatic cells of certain of the sugar canes. In animals the numbers vary from a single chromosome in eggs and sperms of the parasitic worm *Ascaris*, to about 1600 in diploid cells of the radiolarian *Aulacantha*. The lengths of the chromosomes in the contracted state likewise may vary from a small fraction of a micron to 10 or 20 microns in such plants as *Lilium*, *Tradescantia*, and *Vicia*.

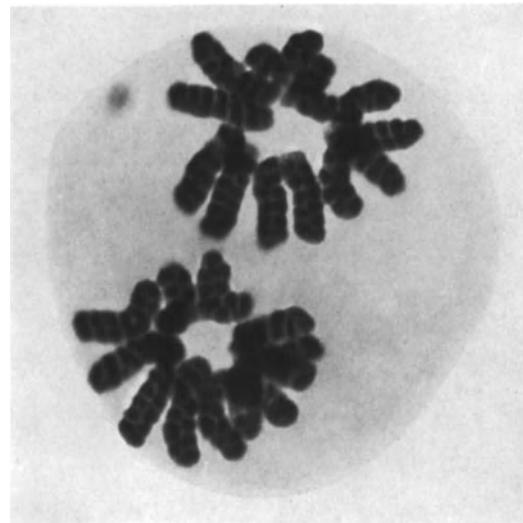


Plate II. *Trillium erectum*, late anaphase of the haploid pollen grain (microspore) division. (Photo by SPARROW unpublished)

#### b) Cell division (see Plates Ia and b, II)

The process of cell division, known as *mitosis*, has been divided on the basis of the visible events into five stages: *interphase*, *prophase*, *metaphase* (Plate Ia and b), *anaphase* (Plate II), and *telophase*.

Interphase is the period between divisions. It is sometimes called a resting stage but in view of the metabolic activities of the cell this would seem to be a misleading description. The interphase nucleus usually has a granular appearance and although there is little visible evidence of the chromosome threads they are believed to be present in a very elongated state.

Prophase begins when the chromosomes first shorten and thicken. They become more clearly stainable in fixed preparations and also more readily visible in the living state when viewed through a phase contrast microscope. The splitting of the chromosomes occurs very early in the division cycle prior to the onset of a visible prophase. The time at which the split can be clearly seen, however, varies with different organisms. A further division into half chromatids has also been claimed, but most of the chromosomal breaks which occur when cells are irradiated during this stage are of whole chromatids and these will be considered as the functional units.

In animal cells another important event can be observed during prophase. The *centrosome*, a body which lies against the nuclear membrane, divides and the two halves migrate over the surface of the membrane to opposite sides of the nucleus. The daughter centrosomes (and their respective central granules known as *centrioles*) determine the subsequent orientation of the spindle and are presumably instrumental in organizing it.

At metaphase the nuclear membrane usually disappears and the spindle forms. The centromeres at this stage are still single and act as if repelled by the poles of the spindle, while the arms of the chromosomes are seemingly uninfluenced by the spindle but position themselves away from its central axis as if mildly repelled by one another. During late metaphase when the centromeres become visibly double the sister halves can be seen to be stretched towards opposite poles. In general, sister chromatids remain close together until anaphase.

Anaphase begins suddenly with the rapid separation of sister centromeres followed by the chromosome arms. A full complement of chromatids moves to each pole.

Telophase is the period during which the two chromosome complements become enclosed in separate nuclear membranes and in which the chromosome threads elongate again within the daughter nuclei.

### c) Chromosomal genes (see Plate III)

Each chromosome contains a large number of small segments, known as *genes*, arranged in linear sequence along the chromonema. The genes determine the hereditary characteristics of an organism and a change in a particular gene will frequently alter a particular character. The position of a gene is spoken of as the *gene locus* and for any one locus there can be a number of variant forms of the gene. These are known as *alleles*. The hereditary characteristics of an organism are thus dependent upon the alleles which are present at each of the gene loci.

Normally the chromosomes and their component genes reproduce (or replicate) with an extremely high degree of accuracy so that an identical set of genes is passed to each daughter cell. With rare exceptions each gene is therefore handed on unchanged from generation to generation. The exceptions, in which a new allele appears, are known as *gene mutations*. Mutations of individual genes are extremely rare events occurring with frequencies which range from one new mutation in  $10^5$  sperms or eggs per generation to less than one in  $10^8$ . In microorganisms the mutation rates per cell division can sometimes be measured and mutations occurring as infrequently as once in  $10^{10}$  cell divisions have been studied. However, since the number of gene loci in a cell is large (perhaps of the order of  $10^4$  or more) the chance of a mutation occurring at one of these loci is correspondingly greater.

The sequence of the genes along the chromosome can be studied in a number of ways. Breeding tests were the first used and these have been based on an effect known as

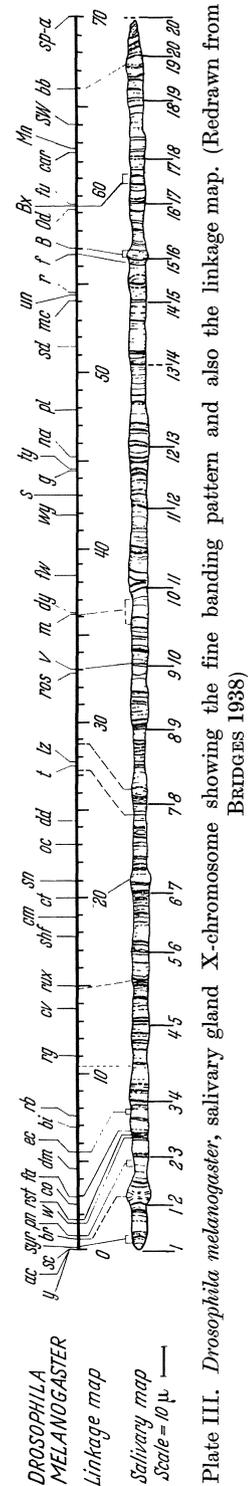
*linkage.* Linkage is simply a tendency for genes which are present on the same chromosome to be inherited together (i.e. paternal alleles, or maternal alleles, tending to remain together during gamete formation). Such genes are said to form a linkage group. Linkage is seldom complete but the closer two genes are on the chromosomes the more rarely do they become separated when passing from one generation to the next. Appropriate breeding tests can show differences in the distances between a gene and the other members of its linkage group. That the linkage maps reflect accurately the sequence of the genes on the physical chromosomes has been confirmed using other mapping techniques.

The most precise identification of the physical positions of the loci has been carried out in the fruitfly, *Drosophila* (see Plate III), and has made use of the distinctive fine banding patterns which are visible on the enormously elongated and thickened chromosomes of the salivary gland cells (BRIDGES 1938).

That the genes occupy linearly differentiated segments of the chromosome thread was originally predicted on *a priori* grounds from the simple fact that certain important chemical substances (such as the vitamins) are manufactured by the cell in exceedingly minute quantities. Such syntheses have been called "millimicromolar reactions" and probably require only one, or a very few, enzyme molecules in each cell. Therefore it seemed likely that the enzyme was the gene, since this provided the only simple explanation of the regular transmission of such small numbers enzyme molecules to daughter cells at division. Further, successive steps in a synthesis involving very small numbers of substrate molecules could be most readily visualized if these molecules were handed along in a stepwise fashion to closely adjacent parts of the gene (to avoid the possibility of loss of the intermediate products by diffusion into the relatively large volume of the nucleus). The chromosome thread in the region of the gene was thus construed to have an "assembly-line" type of structure (see PONTECORVO 1952). The predicted linear differentiation within gene loci has been demonstrated in considerable detail in a number of organisms including a mould (PONTECORVO 1956) and a bacterial virus (BENZER 1957).

Microorganisms have a particular advantage in this kind of genetic study because of the ease with very large numbers of progeny can be examined and the consequent high order of precision with which linkage maps of the chromosomes can be prepared. In essence the mapping extends to the fine structure of the gene locus. Such studies indicate that mutation can alter a limited part of a gene while leaving the remainder unchanged. Most of the hereditary characters which have been studied have proved to be determined by differences in the chromosomal genes.

In such cases the cytoplasm can be considered as the medium through which the nuclear genes exert their influence upon the whole cell. Direct evidence of the active part played by the nucleus in determining cell characteristics, and of the relatively passive role of the cytoplasm, has been obtained in a striking form by grafting experiments in which a nucleus from one species is permitted to function through the cytoplasm of another (HÄMMERLING 1953). These experiments used the large one-celled alga, *Acetabularia*, which consists of a



thin cylindrical rhizoid or stalk having at the base a nucleus and at the top a mushroom-like cap. Two species differ in cap morphology and, by grafting the upper portion of the rhizoid of one species onto the base of the other, it was found that the upper portion always grew into a cap characteristic of the nucleus contained in the base. The cytoplasm transferred with the grafted portion of rhizoid apparently exerted no influence on the morphological development of the cap.

Many characters in a wide range of organisms are known to be determined by differences at single gene loci. These hereditary traits may affect the colour, morphology or biochemical function of organisms and their component cells. Still other characters are influenced by differences at a number of gene loci. A considerable range of genetic constitutions are possible in such cases and as a result the expressions frequently form an unbroken series between the two extremes. Stature, longevity, and intelligence in mammals are examples of such *polygenic* or *continuously distributed characters*. Mutations are almost always harmful and the mutant alleles are eliminated from a population by deaths of the carrier individuals and by failures to reproduce. The very occasional beneficial mutants tend to spread and become incorporated permanently into a population. In humans an estimated 5 per cent of all children born are more or less seriously affected at some time in their lives by diseases of largely hereditary origin. These include some forms of blindness, deafness and deafmutism, severe mental defect, diabetes, epilepsy and a large number of individually rare conditions which are nevertheless collectively important.

In a diploid organism homologous loci may contain the same allele, or different alleles, the organism being said to be *homozygous*, or *heterozygous*, for the genes at this locus. In the heterozygote it sometimes happens that only one allele is expressed; this one is termed the *dominant*, and the other the *recessive* allele. Dominance is not always complete and may vary in degree, or may be absent all together (the heterozygote then being strictly intermediate in character between the two homozygotes). In still other cases the outward appearance or behavior of the heterozygote may be unlike that of either homozygote and may even be more extreme. The genetic constitution (i.e. the alleles which are present) is termed the *genotype* and the outward expression of this constitution the *phenotype*.

#### d) Non-chromosomal genes

The majority of hereditary differences are attributable to differences in the chromosomal genes but a small fraction of those studied have proved to be cytoplasmic in origin. It is thought that the cytoplasm may contain a limited number of different kinds of particles which resemble the chromosomal genes in that they are essentially self-duplicating and are subject to mutation or loss. Except in certain microorganisms the characters which are determined by the cytoplasm are usually maternally inherited, owing to the almost complete absence of cytoplasm in the sperm and the very considerable quantity in the egg.

The terms *plasmagene* and *cytogene* have been applied where it is believed that cytoplasmic inheritance is associated with actual particles, and the term *plasmon* has been used to indicate collectively all plasmagenes contained in the cytoplasm of a cell. The plastids of some plant cells are known to be capable of permanent alterations which might be described as cytogene mutations (e.g. see RHOADES 1954). Numerous other examples of cytoplasmic inheritance exist (see CASPARI 1948; CATCHESIDE 1959) but most of these are less clearly indicative of similarities between nuclear genes and cytoplasmic genes. The "petite" character in yeast (which is associated with a respiration deficiency) appears to be due to loss, rather than mutation, of a cytoplasmic factor. The kappa factor which determines the "killer" character in *Paramoecium* would seem to be a large virus (or rickettsia-like organism) which can infect the *Paramoecium*, living in harmony with cells which have the appropriate nuclear genes but destroying those

which lack them (PREER 1950). Cytoplasmic male sterility in maize and streptomycin resistance in *Chlamydomonas* might perhaps involve extranuclear genes but no microscopically visible structures in the cytoplasm have as yet been shown to be associated with these characters (CATCHESIDE 1959).

Since, in general, cytoplasmic particles (e.g. the mitochondria) are not as precisely apportioned to the two daughter cells at division as are the chromosomes it follows that they must be fairly numerous in the cytoplasm if they are to be retained in both daughter cells. Thus, although mutations in such particles may perhaps occur, the effects would be expected to be masked for a number of cell generations by the presence of normal particles. No mutations of cytoplasmic particles have been clearly demonstrated except for the plastids.

#### e) Meiosis (see Plates IV and V)

Since diploid cells contain two sets of chromosomes (one of paternal and the other of maternal origin) it is apparent that a reduction to the haploid number must take place at some point in the reproductive cycle. In the higher forms of life it occurs during or just prior to the production of the gametic cells. Each chromosome of a haploid set is different from all others in the set and the gametes must therefore receive one chromosome of each kind. This ensures that every gene locus is represented once in each sperm or egg nucleus.

The two specialized cell divisions by which the reduction in number is accomplished are called the first and second *meiotic divisions*. They can be thought of as specialized forms of mitosis and so are sometimes referred to as the meiotic mitoses.

During the first conspicuous movement of the chromosomes in early prophase of the first meiotic division they pair while still long thin threads. Herein lies the most striking difference between meiosis and the normal mitotic divisions. The pairing takes place even before the chromatids have formed (i.e. while the chromosomes are still single). Each gene locus of a chromosome is paired with the corresponding locus of the homologous chromosome.

These movements of the chromosome threads indicate that highly specific forces of attraction exist between each gene (among the thousands present in the nucleus) and its particular homologue. Also, the forces must operate over distances which are large in comparison to the size of the genes. The specificity of the forces is particularly evident when two haploid sets differ in the sequence of gene loci along an otherwise homologous chromosome pair. Pre-existing rearrangements are sometimes present in one of the sets and may take a number of forms. Sometimes the gene sequence may be inverted in a region of one of the chromosomes, or the terminal regions of two of the chromosomes may have been exchanged (to take two common examples). The rearrangements make no difference to the pairing of gene loci, each locus retaining the specific attraction for its homologue regardless of its position on the chromosome. In such cases chromosome pairing no longer consists of a simple parallel alligning of two strands over the whole of their lengths. (The consequences of the structural rearrangements will be considered elsewhere.)

The nature of the specific forces of attraction is not understood, although physical analogies have been devised (see FABERGÉ 1942). It is known that the forces lead simply to an association by twos. This is evident later in the meiotic prophase when the chromosomes split into chromatids. Sister chromatids remain closely paired but there is no close association of the four strands. Also, in triploids where three homologous strands are present during the pairing close association occurs only by twos, one of the three strands always remaining unpaired. (This is true of any region of a chromosome, but a strand which is unpaired over one region may, of course, be paired further along its length; one of the other two strands is then unpaired over this second region.) The forces of attraction are apparently satisfied by the association in pairs and if a strand

has failed to find a pairing partner before it splits (as sometimes happens) it will not be expected to do so later. Meiotic prophase has been thought to occur earlier than prophase of normal mitosis relative to chromosome splitting (i.e. taking place while the chromosomes are still unsplit and capable of pairing). Some workers regard this apparent "precocity" of the meiotic prophase as a basic cause of the other differences between meiosis and normal mitosis.

The prophase of the first meiotic division has been divided for convenience into five parts. The period prior to pairing (when the chromosomes are seen as single long thin threads) is known as *leptotene*, and that over which the pairing occurs as *zygotene*. A visible

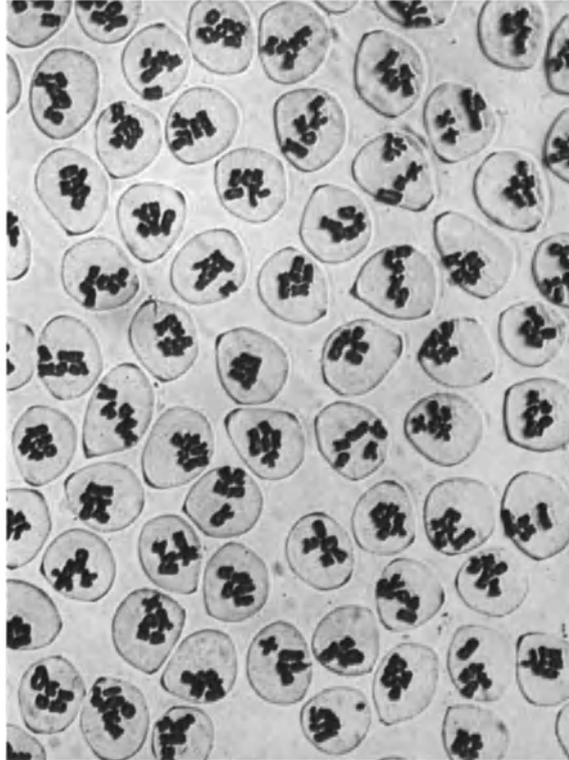


Plate IV. *Trillium erectum*, first meiotic metaphase of pollen mother cells. Note the high degree of synchrony. (Photo by SPARROW unpublished)

thickening of the chromosomes follows during the *pachytene stage*, and subsequent to this the doubleness of the individual chromosomes becomes apparent in the *diplotene* stage. The pairs of chromosomes, consisting at this time of four chromatids, are known as *bivalents*. The shortening and thickening of the chromosomes continues through the *diakinesis* ("opening out") stage; sister chromatids remain in close proximity during diakinesis while pairs of sisters become much more widely separated. This stage immediately precedes the metaphase in which the centromeres are arranged on the equatorial plate of the spindle.

During both diakinesis and metaphase points of contact can be seen between homologous chromosomes. These are known as *chiasmata*. The nature of the chiasmata is apparent in favourable materials in which all four chromatids can be distinguished. At these points a chromatid from each of the two chromosomes crosses the space between the two and becomes associated with the homologous chromosome. The chromatids are said to "exchange pairing partners" along their length.

The chiasmata are formed either during, or shortly after, the splitting of the chromosomes into two chromatids. Two homologous chromatids break at identical points in

the gene sequence (the other two strands remaining unbroken). The broken ends then reunite so that one end of a paternal chromatid becomes joined to the other end of a maternal chromatid (and *vice versa*).

Chiasmata are the visible expression of a genetic phenomenon known as *crossing over* in which there is an exchange of alleles between homologous chromatids. Crossing over ensures that the chromosomes will not be inherited as indivisible blocks of genes but that different alleles, some of maternal and some of paternal origin, can become incorporated into the same chromosome thread. The identical position of the two breaks ensures that the original sequence of gene loci is retained in both chromatids without loss or addition.

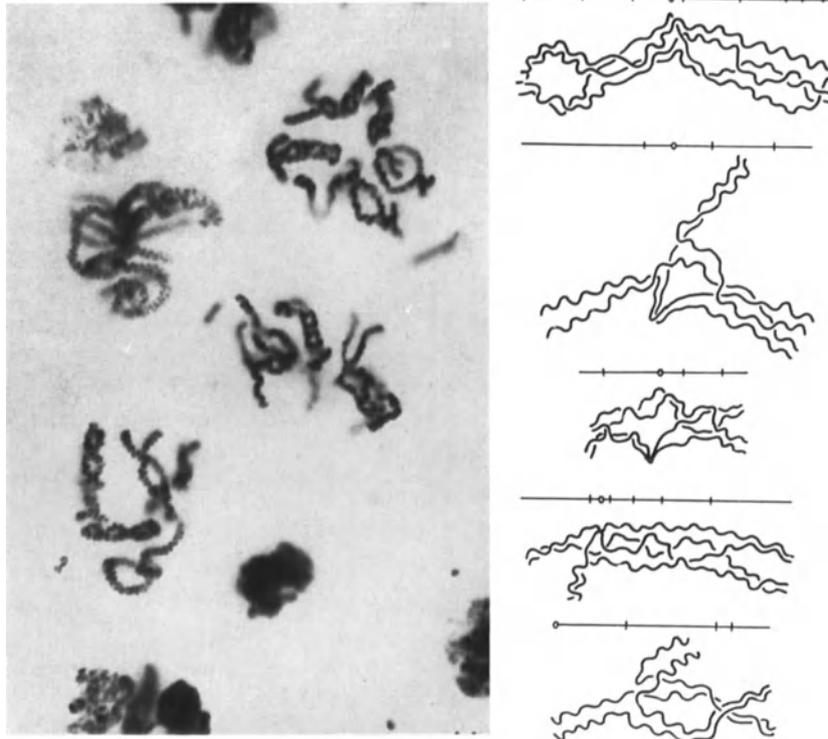


Plate V. *Trillium erectum*, first meiotic metaphase of pollen mother cells. Note chiasmata, and arrangements of chromatids as shown in interpretive drawing of cell at centre right

Either of the sister strands in one chromosome of a bivalent can undergo crossing over with either of the homologous pair of sisters. Also, a number of crossovers (and chiasmata) can occur along a chromosome pair. At each point of crossing over the strands which break may, or may not, be the same strands which have entered into a crossover at some other point. The association in this respect is largely random except where the two points of crossing over are close together on the chromosome.

The likelihood of a crossover occurring between a gene and one of the other genes on the same chromosome increases with increasing distance apart. This makes possible the use of breeding tests to prepare the "linkage maps" mentioned earlier. In such maps "marker" genes are assigned an unambiguous linear sequence, and the distance apart of any two genes is expressed in terms of the likelihood of a crossover in the intervening region (one "*crossover unit*" representing a region in which there is a one per cent likelihood of a crossover).

The events of prophase set the stage for the subsequent reduction in chromosome number. At metaphase of the first division (see Plates IV and V) there are only two centromeres in each bivalent, these having remained functionally single when

the chromosomes split into two chromatids. At anaphase, the homologous centromeres move to opposite poles so that the daughter nuclei each receive two of the four chromatids from every bivalent.

The second meiotic division may, or may not, be preceded by a telophase and interphase. Prior to the second meiotic metaphase the centromeres become functionally double (although the chromatids do not undergo further replication). Thus, at second anaphase a haploid number of single chromatids passes to each of the four cells which are the product of the two meiotic divisions.

The two divisions were formerly known respectively as the "reductional" division and the "equational" division in the belief that the chromosome number was halved during the first and that the second was strictly comparable to a normal mitosis. These terms became meaningless, however, when it was shown that the number of chromatids is halved both in the first and again in the second division (following a single replication of the chromosome material in the meiotic prophase). Further, the separation of a maternal region of a chromosome (or chromatid) from the paternal homologue (i.e. its *segregation*) can take place at either division, depending upon the number of crossovers between the particular region and the centromere. The second meiotic division is thus not "equational" either in a quantitative or a qualitative sense.

In a normal diploid organism the result of the meiotic divisions is the incorporation of a full haploid set of chromosomes (and gene loci) into each of the resulting cells so that functional gametes can be formed. Usually each chromosome of the set will then contain some regions derived from the maternal chromosome and some from the paternal homologue. Thus meiosis accomplishes two things; not only will a diploid organism result from the fusion of a male and female gamete, but genes derived from homologous chromosomes of more than one ancestor can occur in the same chromosome strand of the new individual.

#### f) Somatic crossing over

An essentially similar exchange of homologous regions of maternal and paternal chromosomes may sometimes occur in the somatic cells of an organism without a reduction in chromosome number. Such events have been extensively studied in the fruitfly, *Drosophila*, and in a mould, *Aspergillus*, but tend to be rare in most organisms. As in meiotic crossing over, no change occurs in the sequence of loci along a chromosome but the alleles represented at these loci may be maternal over parts of the chromosome and paternal over other parts (see Fig. 1). The consequences of somatic crossing over are most readily recognized in individuals heterozygous for alleles with noticeably different effects (e.g. upon the colour of the cells). Two areas of tissue may become homozygous for the two alleles; the homozygous recessive area will then be clearly delineated (i.e. will have a different phenotype from the rest of the tissue).

#### g) Sex determination

In mammals each chromosome of the diploid complement has a precise homologue, with a single exception. In the male, one of the chromosomes, known as the *X-chromosome*, pairs with a much shorter partial homologue, the *Y-chromosome*. The haploid ova all contain an X-chromosome while there are two types of haploid spermatozoa, half containing an X- and half a Y-chromosome. Eggs fertilized by X-bearing sperm develop into XX individuals (i.e. females) and eggs fertilized by Y-bearing sperms develop into XY individuals (i.e. males).

Since in man and many other species the Y-chromosome is the smallest and is deficient in most of the gene loci which are present in the X-chromosome, the genes of the X-chromosome are inherited somewhat differently from those of the other chromosomes. They cannot, for example, be passed from father to son. When a mutant allele on the

X-chromosome is inherited by a female from a single parent it will be present together with its normal homologue and if recessive will not be expressed. When inherited by a male, however, it occurs alone with no normal homologue and can therefore be expressed whether dominant or recessive. Since a large proportion of mutant genes are recessive, mutations in the X-chromosomes of females have, in general, a greater chance of expression in sons than daughters.

A similar system of sex determination exists in certain insects including the fruitfly (*Drosophila*), on which many of the classical genetic studies have been carried out. Variants of this system are widely distributed throughout the animal kingdom and include species in which the female has the unequal pair of sex-determining chromosomes.

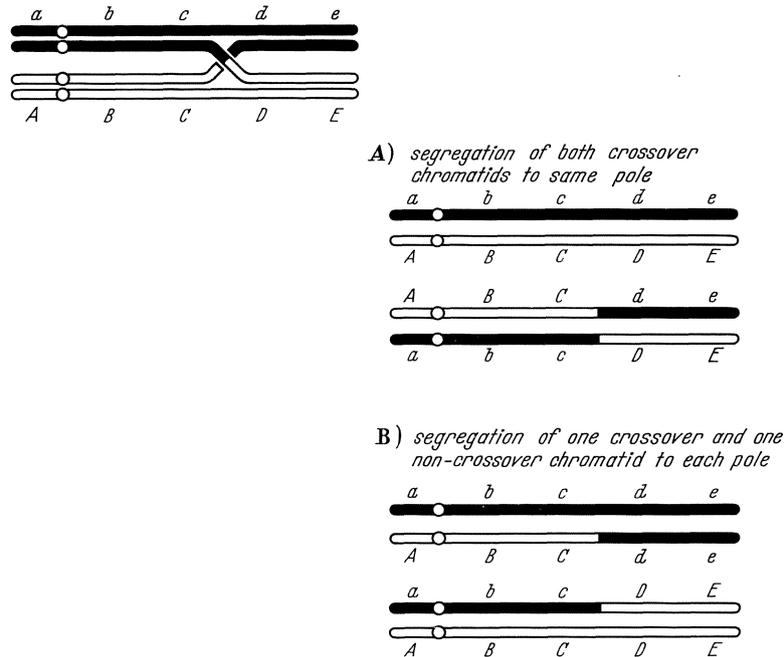


Fig. 1. The consequences of somatic crossing over. Segregation (A) does not normally lead to any change in function. Segregation (B) yields daughter nuclei which have identical alleles (i.e. are homozygous) at homologous loci in the segments distal to the crossover

### h) Responses to radiation (see Plate VI)

Ionizing radiation has three main effects upon the genetic material. It causes marked increases in the frequencies of gene mutation, chromosome breakage, and somatic crossing over. In addition, physiological damage to the cell can interfere with the onset of cell division and with the normal behavior of the spindle. The latter effects, although essentially non-genetic, sometimes have indirect genetic consequences.

The frequency of gene mutation may be increased a hundred times, or more, by large doses of radiation. In general, the radiation induced mutations are similar in kind to those occurring naturally. Some are lethal and others result in non-lethal changes in the behaviour or function of cells and organisms; both dominant and recessive mutations occur.

Radiation induced chromosome breaks behave in a number of ways. The damage may be repaired by broken ends rejoining in the original manner (*restitution*). Rearrangements of the chromosome material may be produced by ends from two separate breaks uniting in a new sequence (*exchanges*). Some breaks fail to enter into any unions. Fragments which, as a result of the changes, lack a centromere are usually lost during cell division; while if strands have two centromeres there is a risk of these moving in

opposite directions at division and forming bridges of chromosome material between daughter nuclei (see Plate VI). In either case the daughter nuclei lack a full set of genes. Also, chromosome bridges may result in lethal effects which are independent of the gene deficiencies. Still other rearrangements while not interfering with the transmission of a full set of genes to the daughter cells at mitosis nevertheless lead to the production of inviable gametes following the meiotic divisions.

Sensitivity to the induction of both gene mutations and chromosome breaks varies with the stage of the mitotic cycle when the cell is irradiated. The proportions of the various gross chromosomal rearrangements depend in part on the physical orientation

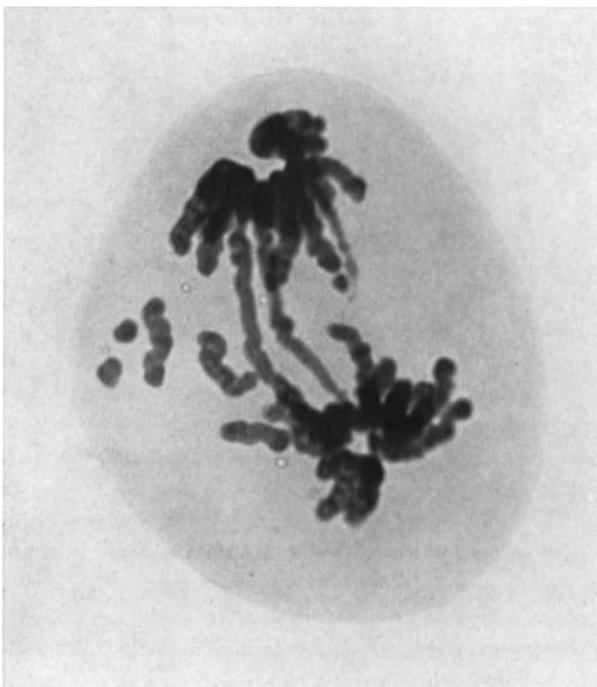


Plate VI. *Trillium erectum*, first meiotic anaphase following an X-ray exposure to 50 R at pachytene. Note acentric fragments and anaphase bridges. (Photo by SPARROW unpublished)

and state of coiling of the chromosomes, and also whether or not they are split into daughter chromatids.

The quality of the radiation and the rate at which it is administered affect the efficiency of induction of both the gene changes and the chromosomal rearrangements. The capacity of broken ends of chromosomes to reconstitute or exchange is influenced by the degree of clustering of the ionizations which cause the breaks.

Cells of different tissues may differ in the likelihood of radiation induced somatic crossing over, and the distributions of the crossovers along the chromosomes may not be the same as those characteristic of meiosis.

Radiation effects upon the spindle may have a number of genetic consequences apart from any breakage of the chromosomes. Multipolar spindles may prevent the daughter nuclei from receiving the full complement of genetic material; whereas paralysis of the spindle may result in a doubling of the chromosome number by preventing

anaphase separation. The centrosome with its associated centriole may also be vulnerable to the damaging influence of radiation. In addition to these known organs it is possible that other parts of the division mechanism may be interfered with, and certain unexplained damaging effects which become apparent during prophase suggest that this is the case.

Exposure of populations of organisms to ionizing radiation increases the number of mutant genes. Most of these, in the natural course of events, are later eliminated by deaths and failures to reproduce. In human populations this elimination would be accompanied by an increase in the frequency of hereditary handicaps and disease. There are strong reasons for believing that the genetic effects are proportional to the radiation dose even at very low doses and that there is no "threshold" level below which changes are not produced. Also, radiation induced changes in the genetic materials of the body cells might perhaps contribute to an increased incidence of such conditions as leukaemia and bone tumours. However, much less is known concerning the dose-effect relationships for somatic damage, and it is still uncertain whether or not there is a threshold dose below which no increase occurs.

The various genetic changes induced by ionizing radiation, and their consequences, will be discussed in greater detail in the sections which follow.

## II. Effects on the genetic materials

### 1. Changes in the fine structure

#### a) Kinds of gene change

The terms *gene mutation* and *point mutation* have been used interchangeably to indicate a localized change in a chromosome which results in a detectable alteration of some hereditary character. It is usual to distinguish between these localized changes and the gross alterations of genetic material which arise through breakage of the chromosome threads and subsequent loss or rearrangement of whole blocks of genes. The distinction may, however, be arbitrary and one of size alone. The regions involved in the observed rearrangements vary in size down to the limits of visibility and it is likely that there are still smaller rearrangements of the chromosome thread which cannot be identified as such by ordinary methods. A proportion of the gene mutations almost certainly arise in this manner but whether or not all of them do is still unknown. Thus, although the distinction between the "point mutations" and the gross chromosomal rearrangements is in part arbitrary it serves a practical purpose.

Experimental studies of the mutation process frequently make use of mutant characters that present a particularly striking appearance and are accurately identifiable. Thus, some of the early work on the relationship between radiation dose and mutation frequency in *Drosophila* was carried out using such characters as *eosine* eye colour, *white* eye colour, *miniature* wings, and *forked* bristles (TIMOFÉEFF-RESSOVSKY and DELBRÜCK 1936). Among the readily visible mutations of *Drosophila* the majority are not expressed in an individual if the normal allele is present on the homologous chromosome (i.e. a large proportion of the mutant characters are recessive). Recessive mutations induced by irradiation of *Drosophila* sperms are not detected in the immediate offspring by normal females whereas dominant mutations are.

In order to study the frequencies of recessive "visible" mutations at specific gene loci it is usual to irradiate normal ("wild type") male flies and to mate them with females homozygous for recessive alleles at these loci. Most of the offspring from the cross will be heterozygous at all of the loci and therefore normal in appearance. Only when a recessive mutation occurs at one of the loci in a sperm (or when a locus is deleted) will an offspring with a recessive mutant phenotype appear. The distinction between a deletion and a recessive mutation is only possible if the missing region is large enough to be identified cytologically. However, mutant alleles which in subsequent breeding tests are found to be lethal when homozygous will be suspected of being minute deletions, although this is probably only true for a proportion of them. Usually a number of the mutant alleles have non-lethal effects in the homozygous state and are treated as "point" mutations.

Examples of visible mutations in other organisms are numerous, ranging from colour and colony-morphology mutations in microorganisms to the coat colour variations and hereditary skeletal anomalies of rodents and other mammals. In humans the visible mutations include many which cause hereditary diseases and abnormalities (e.g. some forms of dwarfism, polydactyly, aniridia, multiple neurofibromatosis, retinoblastoma, etc.).

Another class of mutation, the recessive lethals, has been used extensively in the early quantitative investigations of mutagenesis in *Drosophila*. Since these changes are not detectable in the immediate offspring from irradiated sperm, special tests have had to be devised in order to make the appropriate observations. The techniques will be described later.

Also of interest for the purposes of experimental study are certain readily detectable mutant characters of microorganisms. These variously include growth factor requirements (in bacteria, moulds and yeasts), resistance to drugs and antibiotics (in bacteria), inability to ferment certain sugars (in yeasts and bacteria), and extended host range (in the bacterial viruses, or *phages*).

The mutants described above are far from representative since they have been chosen for study largely because they fulfil special requirements of the experimenter. A representative sample of the kinds of mutation induced by radiation would undoubtedly include many with slight effects and experiments which attempt to explore the spectrum of severity of the effects will be discussed later.

#### b) The nature of the mutated gene. Kinds of evidence

Some mutations are known to be due simply to losses of minute regions of chromosome (see MULLER 1940). These are frequently identifiable as such in *Drosophila* by the absence of one or more of the bands normally present in the banding patterns of the large salivary gland chromosomes. This suggests that some of the seemingly "genuine" point mutations might likewise be due to deletions that are too small to be seen even when the most suitable cytological materials are used.

Other changes in gene function are known to result from gross rearrangements in the chromosome thread which bring a gene into close proximity with a different part of the chromosome material (DUBININ and SIDOROV 1935; MULLER 1941; SUTTON 1943). This suggests that a part of the seeming point mutations may be due to similar "*position effect* rearrangements" which are too small to be identified cytologically. In addition, there may well be further kinds of gene change which do not take place by breakage and rearrangement within the chromosome thread, but by mechanisms as yet unknown.

Evidence of the nature of a mutated gene is derived largely from studies of its behaviour. Linkage mapping can indicate the position and length of a deleted or otherwise inactivated region within the gene locus. The ability of a mutated gene to undergo *back mutations* which restore its original function can also be studied and evidence of this kind provides some indication of whether or not a loss in gene function is due to the loss (or destruction) of some of the gene material. Where the mutant gene is capable of reverse mutation, such studies have also yielded detailed information about the numbers and variety of allelic forms to which a locus could mutate. Still other evidence concerning the nature of the mutated genes is derived from comparisons of mutations arising in different ways, i.e. spontaneously, and as a result of exposure to ionizing radiation and other inducing agents.

#### c) Evidence from recombination

The position of a mutated gene in relation to other gene loci in the same chromosome is usually determined using studies of recombination frequencies in offspring of individuals heterozygous for a number of "marker" loci. Since the likelihood of recombination between two loci is less the closer they are together, the resolving power of the method increases with the numbers of offspring which can be screened for the presence of a rare recombinant. This approach represents a powerful tool for exploring the fine structure of the chromosome thread.

In practice the resolving power of the method is greatest where microorganisms are used as the experimental materials and where special screening procedures can be employed to select a relatively small number of genetic recombinants from a large number of offspring. With appropriate techniques the number of products of meiosis which it is feasible to analyse in a single experiment is sometimes of the order of  $10^8$  or more. The method might therefore be expected to yield information concerning the length of a region of the chromosome thread associated with a particular gene locus, and the positions within this region at which the mutations occur causing recognizable changes in the function of the locus as a whole.

The earliest applications of this approach used a laboratory strain of the mould *Aspergillus nidulans*. Visible mutations affecting colony colour and morphology are frequent in this organism and provide convenient markers with which to develop gross

linkage maps. Detailed mapping of minute regions of the chromosome thread was carried out with another class of gene mutation, associated with requirements for extra growth factors such as vitamins, amino acids and nucleic acid components. These so called auxotrophic mutants are obtained in quantity by irradiating the spores either with ultraviolet or roentgen rays. (About 2 per cent of the surviving spores give rise to auxotrophs following a dose of 50,000 R.) To reduce the labour of testing every spore for the presence of a mutation there are selection techniques using the special ability of spores which are doubly auxotrophic to survive long periods of starvation (i.e. deprivation of the required supplements). Thus, starting with a single supplementary requirement it is possible to secure further auxotrophic mutants which need a second growth factor.

The fine mapping is done by mating two strains which carry independently derived mutant alleles of the same gene locus. If identical parts of the genes have been altered in the two mutants, genetic recombination within the region will not be expected to

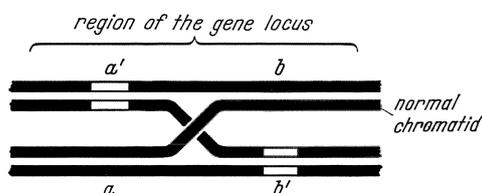


Fig. 2

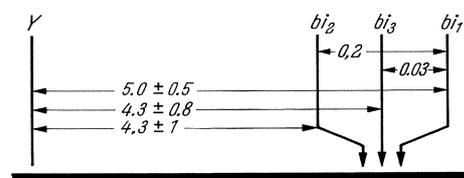


Fig. 3

Fig. 2. Crossing over within a gene "locus". The production of a normal (prototrophic) chromatid from two mutant alleles of a gene locus by crossing over within the gene.  $a'$  and  $b'$  represent the respective portions of the gene locus which have been altered by mutation in two homologous chromosomes;  $a$  and  $b$  are the corresponding portions in the unaltered state

Fig. 3. Biotin mutations in *Aspergillus*. Map of the chromosome region of *Aspergillus nidulans* which includes the portions altered as a result of three mutations affecting biotin synthesis. The distances are crossover units. (Redrawn from ROPER 1950)

result in the production of other than mutant offspring, but if different parts have been altered a normal allele can be reconstituted by crossing over between the two alterations (see Fig. 2).

The first test made use of three biotin requiring mutants ( $bi_1$ ,  $bi_2$  and  $bi_3$ ) located about four crossover units from a marker locus for yellow spore colour (ROPER 1950). By crossing the mutant lines two at a time it was shown that the three mutations had altered three closely adjacent parts of the chromosome thread all lying within a region associated with biotin synthesis (see Fig. 3). Thus, functionally similar mutations can occur through alterations of different parts of a minute region of chromosome which normally would be described as a single locus. Similar observations were subsequently made using other mutations, within the same chromosome, associated with requirements for adenine ( $ad_1$ ,  $ad_3$ ) and for para-aminobenzoic acid ( $paba_1$ ,  $paba_6$ ) (PONTECORVO 1952).

The region associated with a particular function might be regarded either as a single gene locus or as consisting of a number of adjacent loci which have closely related functions. The latter terminology leads to difficulties, however, if it is found that mutations having indistinguishable effects can occur through alterations at many sites within the same region. It is convenient therefore to retain the present usage in which the gene locus is the region as a whole and to use new terms for the smaller units within such a region. One proposal is that the smallest unit of mutation be called a *muton* and the smallest unit distinguishable by recombination a *recon*.

Similar experiments have also been carried out with the bacterial viruses. In these, genetic recombination occurs when infected bacteria are subsequently "superinfected" with a second strain of virus during the vegetative replication of the original virus. The two viruses must of course be related strains and must differ with respect to a number

of readily recognizable marker characters. Genetic recombination in the viruses does not follow precisely the pattern outlined for meiotic crossing over. (In particular, the complementary products of single crossovers are not always recovered in equal numbers.) However, the manner of constructing a linkage map is essentially similar for viruses and for the genetically more conventional forms of life. The sequence of gene loci in the T4 bacteriophage of *Escherichia coli* has been mapped in considerable detail; this virus behaves as a haploid organism with a single linkage group.

In the fine mapping of the chromosome regions altered by mutation in the bacteriophage T4 a group of variants, known as the "rII" mutants, has special advantages. These mutants are termed "defective" since they are unable to multiply in the cells of

Table 1. *The smallest distance measured by genetic recombination expressed as a fraction of the total length of the gene string as mapped by the same method*

Organism and reference	Total linkage map units (c.o. per cent)	(a) Minimum distance measured by genetic recombination (c.o. per individual)	(a) as a fraction of the total map	Number of nucleotide pairs in an equivalent fraction of the total DNA
1. <i>Phage T4</i>	800	$1 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-5}$	2
2. <i>Escherichia</i>	2,000	$2 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-6}$	10
3. <i>Aspergillus</i>	660	$1 \times 10^{-6}$	$1.5 \times 10^{-7}$	3
4. <i>Drosophila</i>	280	$8 \times 10^{-6}$	$2 \times 10^{-6}$	40
5. <i>Mouse</i>	1,954	$2 \times 10^{-3}$	$1 \times 10^{-4}$	500,000
6. <i>Maize</i>	1,350	$2 \times 10^{-3}$	$2 \times 10^{-4}$	350,000

Based on tables of PONTECORVO and ROPER 1956, and PONTECORVO 1958.

References (as quoted in PONTECORVO 1958):

1. BENZER 1957
2. JACOB and WOLLMAN 1958
3. PONTECORVO and ROPER 1956
4. KURNICK and HERSKOWITZ 1952, MACKENDRICK, unpublished
5. VENDRELI 1955, GRUNEBERG 1952
6. RHOADES 1950, OGUR and ROSEN 1950

Map distances are in crossovers (per 100 progeny, or per individual).

*Aspergillus*. Essentially similar mutant strains arise from alterations at a variety of positions within a region of the gene string. The mutants used in the phage work, unlike those of *Aspergillus*, were not produced by radiation but occurred either spontaneously or as a result of chemical treatment during growth (BENZER and FREESE 1958). Similar conclusions have likewise been drawn from independently derived mutations at the *Drosophila* loci *bx* (bithorax), *lz* (lozenge eye), and *w* (white eye).

In all these studies crossing over has been used to prepare genetic maps of the various organisms with a precision extending down to a minute part (sometimes as little as one millionth part) of the lengths their respective gene strings (see Table 1). Also, the distance between the closest mutational changes studied have sometimes represented as little as 1/360th of the length of a region which would normally be described as a gene locus (see Table 2). If the sites at which a mutation can occur within a gene or region are as numerous as these studies suggest, the chance of two mutants of independent origin involving precisely identical sites appears to be small (see PONTECORVO 1955; PONTECORVO and ROPER 1956).

#### d) Evidence from reversible and irreversible mutations

A large fraction of the induced mutations studied represent obvious losses of existing functions. This does not necessarily indicate a corresponding loss of genetic material but

certain kinds of the host bacteria (although they infect and kill the cells). Thus, the occasional normal recombinant from a cross between two mutant strains of phage is easily identified among a very large number of mutant offspring by virtue of its ability to multiply on cells of the differential host (BENZER 1957). Evidence from recombination studies involving a considerable number of mutations in the *rII* region supports the conclusions reached earlier for the growth factor mutations in

the likelihood seems much greater where the altered gene locus is unable to undergo a further change restoring the function. Conversely, restoration of the function at least suggests that all of the parts are still available for the repair of the initial damage.

Intragenic changes are rare or absent following Roentgen irradiation of maize pollen, the apparent mutations being due largely to small deletions. (For detailed discussions of the maize work the reader is referred to review articles by STADLER 1954, and MULLER 1955.)

Unsuccessful attempts to induce back mutations have been reported in *Drosophila* using the loci yellow (*y*), white (*w*), singed-3 (*sn<sup>3</sup>*) and forked (*f*), and exposing the male parents to radiation doses in the region of 4000 R (LEFEVER 1950). The fly stocks employed were specially marked with other genes and had inversions of large regions of chromosome to ensure that contaminant flies and their descendants would in no case be mistaken for back mutants. No reversions were observed in over 166,000 offspring (although on the basis of earlier work in which fewer precautions were taken at least a few would have been expected in this number).

Somatic tissues have also been used in reverse mutation studies. These permit much larger number of exposed cells to be screened. Forward mutations at the white (eye colour) locus are visible as an absence of colour in sectors or spots of the mature eyes and the reverse mutations in white eyed mutant lines, if they occurred, would present the opposite picture (i.e. local restorations of colour in otherwise white eyes). The number of eye facets showing the change depends, of course, on the number of cell divisions which follow the mutational event. The reliability of the method can be tested by using it to study the forward mutations. A rate of  $14 \times 10^{-8}$  mutations per gene per R has been observed for the eye colour changes from normal to white in these tests. This is approximately the same as the mutation rate observed for the same gene when germinal cells

Table 2. *Examples of the very high resolution of the crossover mapping of mutational changes within short regions of the gene thread*

Organism, gene and reference	Number of different mutational sites	(a) Recombination distance between the two sites found farthest apart (c.o./10 <sup>6</sup> )	(b) Recombination distance between the two sites found closest together (c.o./10 <sup>6</sup> )	Ratio b/a
<i>Drosophila</i>				
1. <i>bx</i>	5	300	30	1/10
2. <i>lz</i>	3	1,400	600	1/2.5
3. <i>w</i>	4	560	8	1/70
<i>Aspergillus</i>				
4. <i>bi</i>	3	1,000	400	1/2.5
5. <i>ad 8</i>	6	1,800	15	1/360
6. <i>bi</i> <sup>1</sup>	2	1,000	1 <sup>1</sup>	1/1000 <sup>2</sup>
7. <i>ad 8</i> <sup>1</sup>	2	1,800	1 <sup>1</sup>	1/1800 <sup>2</sup>
<i>Phage T4</i>				
8. <i>r(II)A</i>	39	43,000	130	1/330
9. <i>r(II)B</i>	18	35,000	1,000	1/35
10. <i>h</i>	6	20,000	200	1/100
<i>Schizosaccharomyces</i>				
11. <i>ad 2</i>	3	40,000	150	1/2.5
12. <i>ad 7</i>	9	1,500	6	1/251

<sup>1</sup> The value of (b) being obtained for the *paba* or *pro 3* locus.

<sup>2</sup> Comparing (a) from *bi* or *ad 8* with the very small values of (b) obtained for either *paba* or *pro 3*.

Based on tables of PONTECORVO and ROPER 1956, PONTECORVO 1958.

References (as quoted in PONTECORVO 1958):

1. LEWIS 1954
2. GREEN and GREEN 1949, 1956
3. MACKENDRICK 1953, and unpublished
4. ROPER 1950, and unpublished
5. PRITCHARD 1955
6. ROPER 1950, and unpublished
7. FORBES 1956
8. and 9. BENZER 1955, 1957
10. STREISINGER and FRANKLIN 1956
11. and 12. LEUPOLD 1957

Map distances are in crossovers per 10<sup>6</sup> progeny.

are exposed to radiation and mutated gametes are detected by breeding tests. Thus, the technique provides a reliable method for studying somatic mutations, and the radiation induced mutability of the locus has been shown to be similar in different kinds of cells.

This system for studying somatic mutations has been used in an attempt to detect induced reverse mutation (from white to normal). White alleles of three diverse origins were used: spontaneous, Roentgen ray induced, and mustard gas induced. The test indicates that reversions either do not occur at this locus, or that their rate of induction must be less than  $0.03 \times 10^{-8}$  per gene per R (i.e. less than 1/500th of the forward rate). No reversion was found in tests which were equivalent to the exposure of 600,000 white loci to 5000 R.

Failure to undergo reverse mutation is not characteristic of all mutant genes. More recent *Drosophila* studies have yielded reversions of one of the forked alleles,  $f^{3n}$  (LEFEVER and GREEN 1959). Also, in moulds, bacteria and viruses there are numerous examples of mutant genes capable of mutating back to approximately their original function. The use of microorganisms in such studies depends almost entirely upon an appropriate choice of characters and screening systems permitting a very small number of mutated cells to be detected and counted in the presence of extremely large numbers of unmutated cells of the parent strain.

Mutation to streptomycin resistance and dependence in the bacteria has offered a unique opportunity to study changes in both directions. The forward changes (from sensitivity to resistance and from sensitivity to dependence) can be selected by using streptomycin as the screening agent, whereas the reverse mutations from dependence back to independence are detected by omitting the drug from the nutrient medium. Radiation induced mutations in both directions in *Escherichia coli* have been shown by genetic recombination (in crosses between different mutant lines) to be due to changes at a single region or locus of the linkage map (NEWCOMBE and NYHOLM 1950). The streptomycin locus evidently has a large series of qualitatively and quantitatively different alleles. Sensitive bacteria mutate directly both to resistance and to dependence, and the dependent forms differ among themselves, requiring various streptomycin concentrations for growth. The back mutants from dependence to independence are also a mixed group consisting of some which are sensitive, some which are resistant, and many exhibiting intermediate degrees of resistance. In addition there are broad categories of mutation (from sensitivity to partial resistance, and from dependence to lower grades of dependence coupled with incomplete resistance) which have not been studied in detail.

The ability to back-mutate, as well as the wide variety of apparently allelic forms, argues against loss of genetic material as the sole kind of change. Also, in a haploid organism such as *E. coli* any extensive losses would be expected to be lethal. Unfortunately, a more rigorous test demonstrating the ability of the locus to mutate back and forth repeatedly (a performance which could hardly take place an indefinite number of times by a process of successive losses) proved unsuccessful. The locus had seemed to be particularly suitable for this kind of test in view of the ease with which mutations in either direction could be selected, but none of the observed changes represented precise restorations of an earlier sensitive state. The test did not work because of the tendency for the back mutations to give rise almost entirely to forms which still possessed some degree of partial resistance and partial dependence (NEWCOMBE 1952).

Other back mutation studies have been carried out in the mould *Neurospora*, starting with growth factor requiring mutants and observing the reversions to non-requiring forms. The bulk of the mutants studied (requirers of *inositol*, *choline*, *methionine*, and *riboflavine*) are capable of reverse mutation and the rate has been shown to be increased by exposure to radiation and other mutagens. However, some of the mutant genes (e.g. *pantothenicless*) have not reverted following any of the mutagenic treatments employed (GILES and LEDERBERG 1948). In subsequent studies it has been shown that the gene loci *inositol*-, *tryptophane*- and *adenineless* are each capable of mutating to a

wide range of allelic forms both in the forward and in the reverse direction. The mutant alleles at a particular locus differ among themselves with respect to: the reverse mutation rates following a standard test exposure to radiation (see Table 3), the effect of temperature during growth on the amount of growth substance required, and the release into the medium of various intermediate products of metabolism which are readily detected because of their fluorescence in the presence of the longer wavelengths of ultraviolet (GILES 1955a).

In addition, some of the seeming reverse mutations have proved to be a result of changes, not at the original gene locus, but at some different locus; these are called *suppressor* mutations, and the mutant alleles of a growth factor locus may react differently to the presence of various suppressor genes. Suppressors thus provide an additional means by which one can distinguish between the various mutant alleles at a growth factor locus. Presumably still more refined tests would increase further the numbers of recognizably different alleles and the total number may well be very large.

All of the *Neurospora* loci studied in detail have given rise to multiple allelic series of mutants. Extracts of certain adenine requiring mutants, and of the reverse mutants, have been used to show that the forward mutation results in a loss of detectable enzyme activity and that reverse mutation restores this activity. (Whether the original state is completely restored is not known.) Unfortunately, studies of repeated forward and back mutation at an individual locus (which would rule out deletion as an important mechanism) would be difficult in *Neurospora* because of the lack of an efficient method for detecting all forward mutations.

Stable mutations incapable of reversal are usually suspected of being due to minute deletions of genetic material. Evidence for this is provided by the cross-over mapping studies of the bacterial virus known as phage T4, referred to earlier (BENZER 1957). Of the *rII* mutants obtained for the purpose of these studies, some were capable of reverse mutation and others were stable in the sense that large cultures of mutant phage particles contained no wild virus (and the frequency of reversions if they occurred at all must have been less than 1 per  $10^8$  particles). In a number of these mutants it has been shown that measurable regions of the map have either permanently lost their function or been removed. Estimates of the lengths of the regions lost has been obtained in a number of ways.

First, the crossover distances between a mutated region and two neighbouring regions (one to either side of it) are sometimes found to add up to less than the crossover distance between the neighbours themselves (see Fig. 4). In other words, a portion of the genetic material of the middle one of the three mutated regions appears to have been altered so that it cannot enter into the production of a normal crossover strand. Since these mutants are also incapable of back mutation it seems probable that the mutational event has consisted simply of the physical removal of a portion of the gene string.

Second, when three presumed deletions occupy overlapping positions in the linkage map, crossovers will sometimes be expected to occur between the first and third, but not between the middle one and either of the neighbouring regions (see Fig. 5). This effect has been observed and a limited amount of mapping has been carried out by means of such presumed "overlapping deletions".

Table 3. *A comparison of the reverse mutation rates for 14 independently induced inositol mutants in Neurospora crassa (grouped according to reverse mutability)*

Group	Number of different inositol mutants in group	Mutagenic treatment <sup>1</sup>	Average reverse mutation frequency per $10^8$ surviving spores
I	1	none	100.0
II	1	u.v.	3.5
III	7	u.v.	0.5
IV	3	u.v.	0.01
V	3	u.v.	0.00

<sup>1</sup> Where mutagenic treatment was used the exposure was to 1000 ergs per sq. mm. of 2537 Ångstrom ultraviolet. Group I had an exceptionally high spontaneous reversion rate.

Finally, occasional deletions of long pieces of genetic material will be expected and these may overlap with a number of shorter mutated or deleted regions (see Fig. 6). Such "anomalous" mutants have been observed and have failed to yield recombinants with as many as 20 well separated *rII* mutants. Deletion would seem to be the only reasonable explanation in cases such as this.

The emphasis on deletion as an important product of the mutation process leads one to wonder whether there are any likely mechanisms by which "constructive" mutations might take place. It is known that parts of the chromosome thread are sometimes deleted from one chromosome and re-inserted elsewhere in the complement. When this occurs, replacement of the deficiency-containing chromosome with a normal homologue (by breeding) will result in a chromosome complement which contains an extra set of

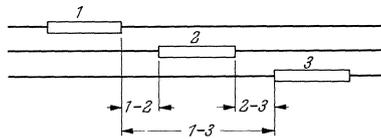


Fig. 4

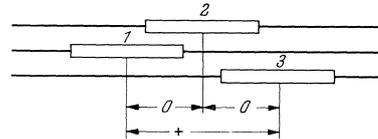


Fig. 5

Fig. 4. Method of determining the "length" of a mutation. The discrepancy between the long distance and the sum of the two short distances measures the length of the central mutation. (Redrawn from BENZER 1957)

Fig. 5. Method of overlapping deletions. Three mutations are shown, each differing from wild type in the deletion of a portion of genetic material. Mutants numbers 1 and 3 may recombine with each other to produce wild type but neither of them can produce wild recombinants when crossed to mutant 2. (Redrawn from BENZER 1957)

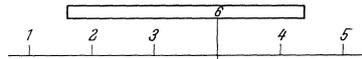


Fig. 6. Illustration of the behavior of an "anomalous" mutant. Mutant number 6 is anomalous with respect to the segments of the map indicated by the bar; it fails to give recombinants with mutants nos. 2, 3, and 4 located within that segment. (Redrawn from BENZER 1957)

all genes present in the inserted (i.e. *duplicated*) region. One set of these genes thus becomes free to take on altered functions through mutations which would otherwise have been destructive. Direct evidence that such inserted regions can "cover" losses of parts of the duplicate set, which would otherwise behave as recessive lethals, has been obtained in *Drosophila* using a number of radiation induced duplications involving the white locus (LEFEVER and RATTY 1953).

Whether structural rearrangements of the chromosome thread other than deletions contribute significantly to gene mutation is not known. Rearrangements on a gross scale, however, have been shown to alter the functions of genes which are thereby brought into proximity with heterochromatic (less readily stainable) regions of the chromosomes. In such cases the original functions of a gene are only restored by further rearrangements which remove it from the heterochromatic region. The phenomenon has for this reason been termed a *position effect* (STURTEVANT 1925; LEWIS 1950). There is in addition one known case of a position effect, altering the expression of the gene for Bar eye in *Drosophila*, in which the rearrangement does not involve a heterochromatic region (SUTTON 1943). It is possible therefore that rearrangements on a more minute scale, perhaps internal to the structure of what is commonly termed a gene locus, may be responsible for a proportion of mutational events. If so, some reverse mutations are in all probability a result of further rearrangements, and analogous in this respect to the known position effect reversals.

#### e) Evidence from comparisons of induced and spontaneous mutations

The seeming absence of Roentgen ray induced gene mutations in maize other than those apparently due to the loss of a locus (STADLER 1941) suggests that radiation induced

mutations might differ from the spontaneous gene changes. It might also imply that only the spontaneous mutation process is capable of producing the more minute kinds of alterations in the internal structure of the gene. On the other hand, maize is probably exceptional and the multiple allelic series of radiation induced mutations in both *Neurospora* and *Escherichia* strongly suggest fine, rather than coarse, changes. Nevertheless there is reason to enquire whether any differences at all can be detected in detailed comparisons of induced and spontaneous mutation in organisms other than maize.

Radiation does not increase the likelihood of mutation at all loci by the same factor and there seems to be some tendency for a greater increase to occur in genes with low natural mutation rates. For example, mutations to phage T1 resistance and to streptomycin resistance in *Escherichia coli* occur naturally at rates of  $3 \times 10^{-8}$  and  $2 \times 10^{-10}$ , respectively, per bacterium per cell division. The rates of the two kinds of mutation increase a 100- and a 1000-fold respectively following exposure to the same dose of ultraviolet and the responses to Roentgen rays differ similarly. Some exceptionally high spontaneous mutation rates have also been reported (e.g. in *Streptomyces*) which cannot be increased by radiation (NEWCOMBE 1953b).

Differences in the proportions of the different kinds of alleles produced at a single locus by spontaneous and induced mutation have been observed both in *E. coli* and *Neurospora*. Mutations arising from the actions of a number of mutagenic agents, roentgen rays, ultraviolet, and chemicals, have been used in these comparisons and a diversity in the proportions of the resulting alleles (associated with the causal agent) has been reported at the locus for streptomycin

Table 4. *Types of streptomycin resistant and dependent mutants of Escherichia coli strain B/r occurring spontaneously and as a result of Roentgen or ultraviolet irradiation*

Origin of streptomycin mutations	Number of mutants tested for degree of streptomycin dependence	Percentages of three mutant types <sup>1</sup>		
		resistant (Sr)	partially dependent (Sd <sub>p</sub> )	strongly dependent (Sd <sub>s</sub> )
Spontaneous	369	37	48	15
Roentgen ray <sup>2</sup>	240	39	40	21
Ultraviolet <sup>3</sup>	120	22	21	57

(From NEWCOMBE 1952)

<sup>1</sup> All three types of mutation involve the same locus.

<sup>2</sup> 9,000 and 18,000 R; survival = 36 and 7%. Both doses yielded similar proportions.

<sup>3</sup> 500 ergs per mm<sup>2</sup>; survival = 40%.

Table 5. *Types of fluorescent back-mutations from two purple adenine-requiring strains of Neurospora*

Origin of reverse mutants	Number of reversions	Per cent showing blue fluorescence	
		grown at 25° C	grown at 35° C
<i>From adenine strain 38701</i>			
Spontaneous . . . . .	50	2.0	8.0
Ultraviolet. . . . .	171	7.6	8.1
Roentgen ray . . . . .	200	8.5	12.3
Epoxide . . . . .	54	5.6	5.6
<i>From adenine strain 35203</i>			
Spontaneous . . . . .	24	4.1	4.1
Ultraviolet. . . . .	67	1.4	1.4
Roentgen ray . . . . .	139	0.0	0.0

(From GILES 1955a)

Table 6. *Types of fluorescent mutants in Neurospora occurring spontaneously and as a result of Roentgen or ultraviolet irradiation. (Tryptophane partially deficient mutants)*

Origin of mutant	No. of cultures tested	No. of fluorescent cultures			
		Bright yellow	pale blue	bright blue	miscellaneous
Spontaneous	1500	0	0	6	6
Roentgen ray <sup>1</sup>	2050	60	6	0	1
Ultraviolet <sup>2</sup>	2700	32	1	7	2

(From GILES 1955a)

<sup>1</sup> 35,000 R.

<sup>2</sup> 6,000 erg/mm<sup>2</sup>.

resistance in *E. coli* (NEWCOMBE 1952) and at the tryptophane and adenine loci in *Neurospora* (GILES 1955a) (see Tables 4, 5, and 6).

These observations provide little indication that Roentgen ray induced mutations are distinct from those occurring spontaneously at the same loci. Qualitative differences cannot be ruled out but are more difficult to establish experimentally when large numbers of alleles arise at most loci following all treatments. Evidence, both from *Drosophila* and from the bacterial viruses, suggests that chemically induced mutants may diverge noticeably from spontaneous mutants. However, in *Drosophila* these dissimilarities frequently appear associated with the choice of loci mutating rather than with the direction of mutation within a locus. In phage, alterations at certain sites within a locus appear to be characteristic of specific inducing agents. Nevertheless, no mutant phenotype is known to be uniquely associated with a particular treatment, although differences in the proportions of mutant types resulting from various treatment are sometimes large.

#### f) Mechanisms of mutation. Target theory and copy error theory

Radiation induced mutations were once thought to be chemical changes which occurred as direct and instantaneous consequences of single ionizations within the genes. Spontaneous mutations, however, were often regarded as products of an inaccuracy during reduplication. The first of these views represents in the simplest form the *target theory*, and the second the *copy error theory*. Thus, different theories have been developed to account for the mutations arising under different conditions. Yet an essential similarity in the products of induced and spontaneous mutation would seem to argue strongly for an interpretation in terms of mechanisms which are (at least in part) common to all mutations and independent of the causal agent. However, the two theories are both capable of considerable modification and are not necessarily as divergent as they appear.

The tests by which a "direct" action of radiation upon a molecule is recognized usually involve observing the differences in response which result from variations in: (1) the numbers of ionizations (the dose), (2) their distribution in time (the intensity or fractionation of the dose), and (3) their distribution in space (the linear ion density or "quality" of the radiation). Additional evidence is sometimes derived by varying the physical and chemical environment during irradiation.

In addition, tests for an association between the mutation process and the process of replicating or synthesizing a new gene may be carried out in a number of ways. One approach is to search for pairs of daughter genes of which only one has mutated (assuming that a copy error may sometimes affect a single daughter). Other tests have been directed towards modifying the effect of the irradiation: (1) by means of treatments applied subsequent to the irradiation at a time when the next gene replication is thought to take place, and (2) by chemical treatments known to interfere specifically with certain synthetic processes believed to be important in the replication of the genetic material.

In many tests, radiation induced gene mutations vary as expected on a simple target hypothesis. The observed responses are linear with radiation dose, unaffected by intensity differences and, in some experiments, tend to be reduced in frequency when the ionizations are clustered. The experiments will be discussed elsewhere in this article.

It is unlikely, however, that the effect occurs directly in the gene molecule. An indirect effect, mediated through water, has been well established for inactivations of viruses and, although the inactivations are probably not due to mutation, this at least suggests a similarly indirect effect upon the gene. Also, an increased sensitivity in the presence of oxygen (as compared with that in pure nitrogen) can be most readily interpreted in terms of differences in the products of irradiated water under the two conditions.

The "target" is therefore thought to consist, not of the gene alone, but of the gene in association with the water in its immediate vicinity. The important volume is presumably determined by the range of diffusion of the active products of irradiated water.

The free radicles have lifespans in pure water which are of the order of  $10^{-9}$  to  $10^{-7}$  seconds, but these times are almost certainly reduced by the presence of materials with which the radicles may react before reaching the gene. There is no doubt that the action of the ionizations is highly localized. As dual evidence of this, genes in unirradiated sperm do not mutate when this is used to fertilize irradiated eggs (WHITING 1950), and micro-beam irradiations of parts of cells result in only localized consequences (ZIRKE *et al.* 1956). Also, sensitivity to the induction of genetic change varies widely with the stage in the nuclear division cycle, and with degree of hydration (as observed in seed irradiations).

One early attempt to account for both the induced and the spontaneous mutations in terms of a common mode of origin treated the mutation process as a chemical change occurring only in the presence of a very high energy level source. In irradiated cells the energies are provided by the ionizations. In unirradiated cells they were thought to be derived as rare events from the extreme high end of the distribution of thermal energies, i.e. from molecular agitation (TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, ZIMMER and DELBRÜCK 1935). If this were the correct explanation of the spontaneous mutation frequencies they would be expected to have a positive temperature coefficient. Observations on four different organisms have yielded: (1) the expected relationship in one species (*Drosophila melanogaster* — MULLER 1928; TIMOFÉEFF-RESSOVSKY *et al.* 1935), (2) the opposite relationship in two others (maize — RHOADES quoted in FABERGÉ and BEALE 1942, and *Portulaca* — FABERGÉ and BEALE 1942), and (3) no appreciable effect of temperature in a fourth (*Drosophila virilis* — DEMEREC 1932). Spontaneous mutations to phage resistance in bacteria have also been studied and the rate per cell division has been found to be the same over a temperature range from 16 to 37° C (WITKIN 1953).

In view of the complexity of the biological material it is almost inevitable that attempts to interpret the behavior of its most intricate organelle in terms of simple physical and chemical principles will meet with many failures. Such attempts nevertheless provide one of the chief stimuli to experimental studies and result in an accumulation of evidence around an evolving framework of rationales.

The copy error theory could also be used to account for both spontaneous and radiation induced mutations. The final step in radiation induced mutation might, for example, occur only at the time of gene replication and be the end product of a change either in the gene itself or in certain closely adjacent materials essential for the gene's orderly replication. Evidence favouring this view will be discussed in the next section.

### g) Evidence from the times of completion of mutations

At least some of the gene mutations induced by ionizing radiations are not completed immediately. This possibility was first suggested by the discovery of photo-reversal of the lethal effects of ultraviolet light by KELNER (1949a) and the subsequent finding that the reversal extended to the mutagenic effects as well (KELNER 1949b; NEWCOMBE and WHITEHEAD 1951). Reversals of the mutagenic effects of roentgen irradiation on *Streptomyces* were first obtained by WAINWRIGHT and NEVILL (1955) and by NEWCOMBE (1955) using incubation in distilled water; later, a much greater reduction was achieved by storage in the cold (NEWCOMBE 1956). Unfortunately no genetic crossover mapping has yet been possible in *Streptomyces* and in its absence there is little certainty that the mutations studied represent changes at individual loci. However, a similar reduction in mutant frequency as a result of post-irradiation treatments has also been reported by HOLLAENDER, BILLEN and DOUDNEY (1955) in *Escherichia*.

Only recently has evidence been found of a delay in the completion of Roentgen ray induced mutations in *Drosophila*. An increase in the yield of recessive lethals has long been known to be associated with exposure in the presence of oxygen. Using fractionated doses LÜNING and HENRIKSSON (1959) have shown the effect to be just as great if oxygen is present during only a part of the radiation exposure. Further, the fraction administered

in the presence of oxygen may be delayed as much as 30 minutes without any decline in yield. The result indicates that at least some of the mutations pass through an intermediate form which for a limited time is capable either of repair or of going forward to completion. In addition to this evidence, the observation of a decreased yield of mutations in mice per unit dose, when this is delivered at low intensities (RUSSELL *et al.* 1958) indicates a similar period of indeterminacy in the mutations of higher organisms.

The chief uncertainty in the interpretation of such observations arises from the possibility that a proportion the mutations scored may in fact be rearrangements or deletions of chromosome material involving breaks which remain "open" for a time before either restituting or entering into an exchange. Indeterminacy of this latter kind has been extensively studied in gross chromosome aberrations, and similar effects may well occur at much finer levels of rearrangement than previously believed. Now, changes in individual gene loci, and detailed crossover mapping of the regions involved, need to be studied in a similar manner.

Another line of evidence comes from studies on the influence of temperature, and restriction of required growth factors, at varying times following irradiation. Both kinds of treatment affect the numbers of ultraviolet induced mutations in *Escherichia* (WITKIN 1955, 1958). Such studies also indicate a relationship between the stage in the nuclear division cycle at which the treatment is administered following irradiation and the numbers of eventual mutations (there being none at all under some conditions). Less extensive observations of cells exposed to ionizing radiation suggest similar although not identical effects.

Some similar experiments relate to the mechanism of spontaneous mutation in *Escherichia* (RYAN 1958). In these, attempts have been made to prevent the synthesis of polymers thought to be necessary for gene replication, using inhibitors of certain synthetic functions (chloramphenicol and growth factor analogues) and starvation (absence of required growth factors). Although the effects of these treatments on the synthesis of protein and nucleic acids can only be inferred, they successfully reduce the numbers of mutations. This result suggests that polymer synthesis is necessary in order for spontaneous gene mutations to occur. The important synthesis may be that of the gene itself, or perhaps of substances close to the gene which are necessary for its orderly replication. In either case a relationship between mutation and gene replication is implied.

#### h) Evidence from irradiated viruses

If radiation induced mutation occurred as an instantaneous chemical change in the genetic material it would be surprising that no mutations have yet been induced in bacteriophage particles when exposed outside the host cell. These particles (apart from their protein coats) consist almost entirely of deoxyribonucleic acid, and probably represent one of the closest approaches to an isolation of the genetic material of an organism in pure form. Irradiation of the extracellular virus particles does not appear to increase the mutation rate.

The reason for this seeming inability of extracellular phage to undergo radiation induced mutation is not known. Perhaps some of the materials which are normally associated with gene replication, but which are absent in extracellular phage, must be irradiated at the same time for mutations to result. There are reports that ultraviolet causes genetic changes when both the host cells and the phage are exposed separately prior to infection (see WEIGLE 1953) but similar experiments have not been carried out with ionizing radiation. Also, it is now believed that the above changes are not mutations; instead, the variant genes appear to be derived from the genetic material of the bacterial host by recombination (STENT 1958). Thus, there is as yet no good evidence that mutations are induced by irradiation of extracellular phage.

Most of the chemically induced mutations at the *rII* locus of phage T4 (used in the fine mapping studies) have not been obtained through treatment of extracellular bacteriophage particles. Instead, the phage has been grown in the presence of the inducing chemical. Analogues of the nucleic acid bases (e.g. bromouracil, aminopurine and proflavine) are used and these are believed to become temporarily incorporated into the genetic material of the virus so that at replication defective copies result. The final mutant forms of the gene do not contain the inducing chemical since they can be propagated indefinitely in its absence.

#### i) Evidence from chimaeras and sectorials (see Plate VII)

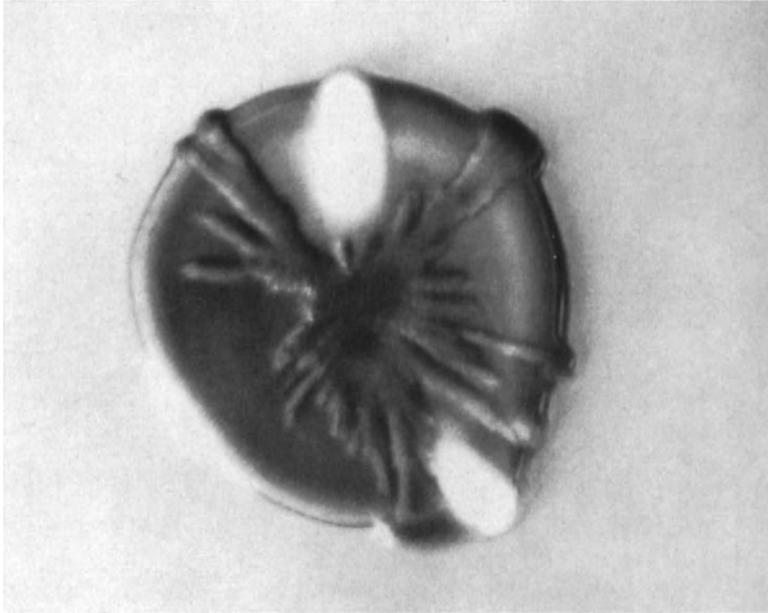
One of the kinds of evidence which supports the view that radiation induced mutations arise as copy errors during the replication period immediately following exposure is the observation of a mutant and non-mutant daughter from a single irradiated gene. Evidence of this kind exists but is by no means easy to interpret because the copy error concept could embrace any one of a number of mechanisms and thus does not give rise to any single unambiguous set of predictions. If the replication is thought of simply as the production of one "new" gene from one "old" gene it is obvious that the consequences of any errors in the process will be confined to the new gene.

In *Drosophila*, a visible mutation (such as that for yellow body colour) usually affects the whole of the individual fly arising from the sperm in which the mutation occurred, and not just half of it. This can be interpreted as indicating that exposure of the old gene causes it to mutate and that the mutant form of the old gene is subsequently duplicated (see MULLER 1955). Rare exceptions occur in which part of the body of a fly from an irradiated spermatozoon shows a mutant character (the fly is then a *chimaera*). Spontaneous mutations are sometimes thought to affect the old gene since an increase is observed when unirradiated *Drosophila* sperm is stored for long periods in the seminal vesicles (KAUFMANN 1947). The occasional production from irradiated sperm of offspring which are half mutant and half normal could be due either to a division of some of the genes into two functional halves prior to the irradiation, or to a proportion of the mutations being of the copy error type.

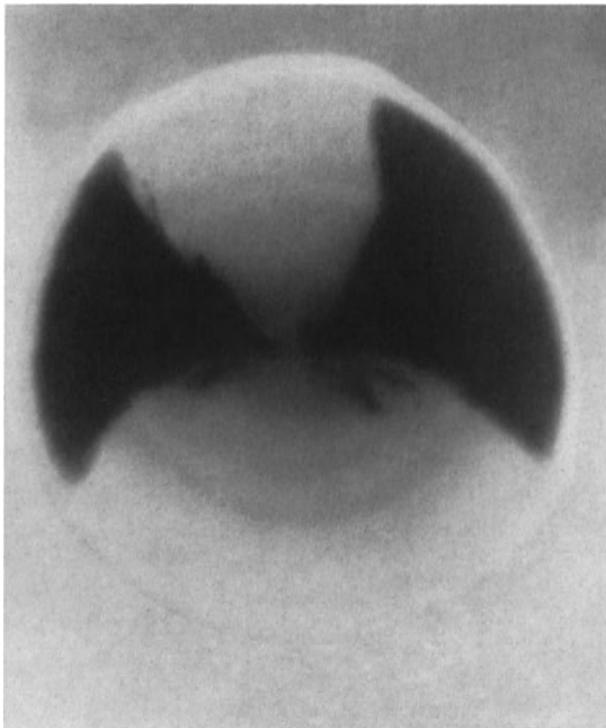
Alternatively, both whole mutant offspring and chimaeras could arise through a single mechanism if the information content of the gene were temporarily stored in closely adjacent structures serving as templates for the production of two new daughter genes during replication. An error would then affect both daughters if it occurred in the initial transfer to the template, and only one daughter if it occurred during the subsequent transfer. Also, the potential template might itself be a part of the target. While the gene tends currently to be thought of as self duplicating this may be an oversimplification and the extent to which it needs "assistance" during the process is hard to assess. However, it is attractive to interpret both the induced and the spontaneous mutations in terms of a single mechanism which would account for both chimaeras and whole mutant offspring. Applying the same interpretation to the bacterial viruses, the inability to mutate when exposed to radiation might be construed as due to a temporary absence of the auxiliary organs of replication while the gene string is present in an infective virus particle.

The chimaeras which sometimes arise from irradiated *Drosophila* sperm might, of course, be due to premature splitting of a chromosome prior to irradiation. However, similar observations made on *Escherichia coli* seem to dispose of this ambiguity. Mutant colonies grown from irradiated bacteria under appropriate conditions are seen to be sectorial (i.e. part mutant and part normal). Most suitable for this purpose are mutations which cause a loss of ability to ferment certain sugars (e.g. mannitol or lactose). When colonies are grown in the presence of the sugar and suitable dyes (eosin-methylene blue or tetrazolium) the colour of the mutant sectors contrasts sharply with that of the rest of the colony (see Plate VIIa and b).

Since a bacterial cell may be multinucleate when irradiated, the sectoring was originally thought to be due to a segregation of mutated and non-mutated nuclei into different cell lines. However, colonies have been derived from single irradiated nuclei by plating



a



b

Plate VII. *Escherichia coli*, showing sectoring in a colony grown from a single irradiated cell. The colony is grown on a lactose eosin-methylene-blue indicator medium and the white sectors represent a mutation to an inability to ferment lactose

large numbers of cells in the presence of bacteriophage or streptomycin. These agents permit only mutant lines of cells, resistant to phage or streptomycin, to survive and form colonies. So the colonies on such plates are descended from single nuclei in which the mutation to resistance has occurred. Further, cross-over studies have determined that the loci for phage resistance, streptomycin resistance and for the sugar fermentation characters, are all present on a single gene thread. Thus, even if

this is split at the time of the irradiation, only one daughter strand (the one with the mutation to phage or streptomycin resistance) is able to give rise to a colony. Therefore, colonies which are in addition mutant for one of the sugar fermentation characters would be expected to be wholly mutant instead of sectoring.

The experiment has been carried out independently by WITKIN (1951) using ultraviolet and by NEWCOMBE (1951) using both ultraviolet and ionizing radiation. About 3 to 10 per cent of all colonies showing sugar fermentation mutations are sectoring under these conditions. This is true following exposure to either kind of radiation and the effect is essentially the same regardless of the sugar locus studied or the kind of resistance used for selection. The result indicates that the induced mutations are frequently delayed until gene replication.

Ultraviolet induced mutations are already known to be delayed since the mutagenic effects can be

reversed by visible light some time after the ultraviolet exposure. The period of indeterminacy extends until approximately the time of replication. The result of the sectoring experiment is therefore not surprising when applied to the ultraviolet induced mutations. This consideration lends additional support to the conclusion that Roentgen ray induced mutations are also similarly delayed. Other less likely interpretations of the sectoring studies have, however, to be recognized: (1) The chromosome thread may have been incompletely split at the time of the irradiation (i.e. split at the sugar locus but not at the locus for phage resistance or streptomycin resistance). (2) There is also the somewhat remote possibility of genetic recombination between the mutant and non-mutant nuclei in the period before the latter are eliminated by the selective agent.

### k) The coding of the genetic information

Chromosomes of higher organisms consist mainly of deoxyribonucleic acid (DNA) and protein. The nature of the chemical association between these two substances is unknown and it was at one time thought that the gene string was protein surrounded by nucleic acid. The ability of DNA to carry genetic information was first demonstrated in 1944 when AVERY, McLEOD and McCARTY found that highly purified preparations of DNA from one strain of *Pneumococcus* could cause transformations in type specificity in other strains. The transformed strains became identical in type to those from which the DNA had been derived and it was inferred that the change was achieved through a transfer of genetic material between the two strains.

Bacterial virus experiments (using phosphorus-32 to label the DNA and sulphur-35 to label the protein) have shown that the DNA enters the bacterial host during infection but that the protein, most of which forms the external coat of the virus particle, stays outside. The material which enters contains not more than 3 per cent protein (HERSHEY 1955, 1957). While there is little supporting evidence from higher organisms it is assumed, by analogy with the viruses, that the primary genetic material in these is likewise DNA rather than protein.

Tobacco mosaic virus appears to be an exception in that it consists entirely of ribonucleic acid (RNA) and protein, and the RNA has been shown to carry the genetic information (FRAENKEL-CONRAT, SINGER, and WILLIAMS 1957; GIERER and SCRAMM 1956). RNA is present in the cells of higher organisms but not to any appreciable extent in their chromosomes.

There is now good reason to believe that the polynucleotide chains of DNA occur normally in the form of a double helix, the two chains being held together by hydrogen bonds so that they are linearly rigid. Evidence for this structure has been derived from the Roentgen ray diffraction pattern and from analytical data on the nucleic acid base ratios (WATSON and CRICK 1953; CRICK 1957; WILKINS 1956). WATSON and CRICK have proposed that in the double helix the adenine (A) of one helix is always hydrogen-bonded to the thymine (T) of the other to form a *base pair*, and that guanine (G) and cytosine (C) are similarly bonded to form a second kind of *base pair*. This hypothetical model agrees with the observation that the proportions of A and T are always equal and that the same is true of G and C, although the base pairs may be present in different proportions.

The Watson-Crick model permits an ingenious explanation of the replication process. Any sequence of the four *nucleolides*, A, T, G, and C is possible on one of the strands, but the pairing partner must have the appropriate nucleotide at each point (T, A, C, or G respectively) to form one or other of the two possible base pairs (A—T or G—C) at each point. Replication occurs when the two strands separate; each contains unambiguous information from which it can rebuild the missing strand using appropriate nucleotide units (see Fig. 7).

If the Watson-Crick model is correct the genetic information resides in the sequence of base pairs. Since there are two ways in which a base pair can be oriented at each level

of the double helix there are thus four alternative ways in which each position can be filled. Mutations are thought to occur through alterations in the sequence of base pairs. By analogy with the observed gross chromosomal changes these finer changes might be expected to occur through deletion, duplication, inversion, etc., of short segments of the chain. Such mechanisms do not, of course, rule out the possibility that a proportion of mutations are due to chemical changes in individual base pairs (see FREESE 1959).

The older idea of a protein gene string presented difficulties which are removed by the concept of a DNA gene string. Some of the gross chromosomal rearrangements such as those leading to centric rings, inverted segments and dicentric chromosomes would be impossible in a single polypeptide chain owing to the polarization of the amino acid groups. No corresponding polarization exists in the double helix of a polynucleotide chain. The individual helices are polarized, but in opposite directions, and there is no theoretical difficulty in the production of rearrangements of all sorts.

On the other hand it is difficult to see how a ring chromosome made up of DNA can replicate according to the Watson-Crick model, since the parallel helices formed by the

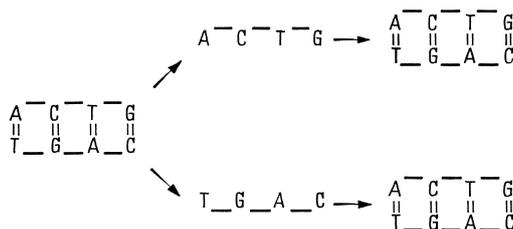


Fig. 7. Watson-Crick model of the replication of deoxyribonucleic acid

original base pairs would be expected to give rise to an interlocking of the daughter strands by one gyre of relational coiling for every gyre of the original helix. Untwisting is impossible in a ring chromosome without breakage of the strand and for this reason the model in its simplest form cannot account for the perpetuation of centric ring chromosomes over many cell generations.

Rotation of the plane of splitting is sometimes observed in ring chromosomes of maize and *Tradescantia*. (One half twist results in a single daughter ring of double length, two half twists in an interlocking pair of daughter rings, and increasing numbers of twists give rise to increasing amounts of entanglement of the products of chromosome replication.) Completely free daughter pairs of ring chromosomes are also commonly produced and rotation of the plane of splitting, when it does occur, rarely exceeds a few half gyres. This high degree of constancy in the plane of splitting, over distances equal to an enormous number of gyres of the DNA helix, has not yet been adequately explained on the Watson-Crick model. Nevertheless, the model offers the most promising interpretation of the replication process so far advanced, although this does not imply that whole chromosomes consist necessarily of un-interrupted DNA chains.

A bacteriophage particle contains approximately  $10^{-16}$  grams of DNA and in phage T4 there are about  $2 \times 10^5$  nucleotide pairs. Since the distances between the mutational changes studied by the linkage technique are in some cases as little as  $1/10^5$  of the total linkage map it is attractive to think of the identifiable changes as separated by as few as 2 nucleotide base pairs or a physical distance of 7 Ångstrom units (and the discriminating power of the crossover mapping as extending to that degree of resolution). A similar calculation can be done for *Aspergillus* with almost the same result.

The assumptions on which this conclusion is reached may not be too far wrong in the case of bacteriophage. The amount of DNA is known with reasonable accuracy (and protein is virtually absent from the part entering the cell). Also: (1) If the gene string were really protein instead of DNA, the discriminating power of the mapping would be even greater than the calculation suggests; (2) If the gene string were thicker

than the Watson-Crick double helix, the linear discriminating power would be greater than calculated: (3) If genetic recombination were less frequent in some regions than in others, the discriminating power would be less in these regions than the calculation suggests but it would be correspondingly greater in the others. It is therefore difficult to escape the conclusion that in the most favourable experimental materials the positions of the mutational changes in the gene string, and the extents of the regions affected, have been determined with a unique precision by the recombination method.

Qualitative information regarding the sequence of chemical units in the original gene string compared with that in the mutated strings is still lacking. However, in certain protein molecules, such as insulin, the sequence of amino acid residues has been determined using chemical methods. Since the genes control protein synthesis and structure (and single amino acid differences are sometimes a result of single gene differences) there exists the possibility that a protein may reflect in some simple manner the structure of a gene which influences its synthesis. This attractive speculation has recently been supported by experimental findings.

## 2. Coarse changes

### a) Kinds of change in the gene string

In addition to causing the more minute kinds of changes which have been discussed under the general name of gene mutations, ionizing radiations also cause breaks which either remain unjoined or which result in rearrangements of major portions of whole chromosomes. Many of these gross changes interfere with the movement of the two complete sets of genetic material to the daughter cells at mitosis. Thus, the study of chromosomal rearrangements has provided some idea of how individual cells may be killed or altered by radiation. The practical implications of such studies in relation to medical therapy and radiation protection are obvious.

If a cell is irradiated during interphase or very early prophase the chromosomes behave as single strands and the various breaks and rearrangements will usually appear in an identical form in both daughter chromatids at the following metaphase (see Fig. 8). If a cell is irradiated at a later stage in prophase the chromosomes behave as two, largely independent, chromatids. Under these conditions a break will be observed at metaphase in one chromatid of a pair but usually not at the corresponding position in its sister chromatid. Likewise, rearrangements resulting from the union of the broken ends of chromatids will tend to affect only one of a sister pair (see Fig. 9). Most of the changes which have been observed are kinds expected from these simple rules.

However, other types are sometimes encountered. There is, of course, a transitional period, prior to recognizable prophase, when the chromosomes behave as if partly single and partly double. The rearrangements which occur following irradiation at this stage sometimes result in both of a sister pair of chromatids being similarly affected and sometimes in one being affected independent of the other. Sometimes sister chromatids break at identical positions, the sister ends reuniting to form two hairpin shaped loops. In such cases the chromosome has evidently behaved as a single strand with respect to breakage and as a double strand with respect to reunion. When this occurs the other rearrangements in the same cells frequently indicate that the chromosomes were double at the time of exposure. It is therefore believed that sister chromatids which are close to one another may both be broken by the same event and this is termed *isochromatid* breakage.

These various gross aberrations of the genetic materials have been observed and studied in a wide range of organisms but certain materials have special advantages for particular kinds of study. The exceptionally large size of *Drosophila* salivary gland chromosomes and the precision with which maps of the banding pattern can be related to the genetic crossover maps makes them especially suitable for studies of both minute

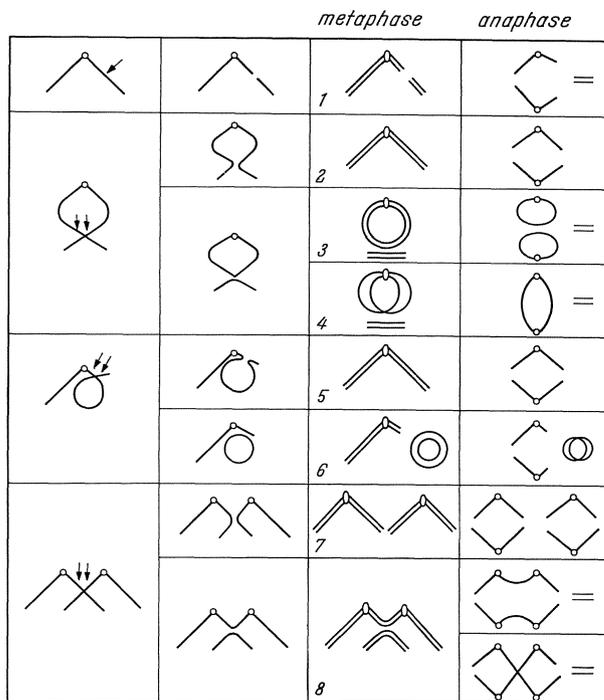


Fig. 8

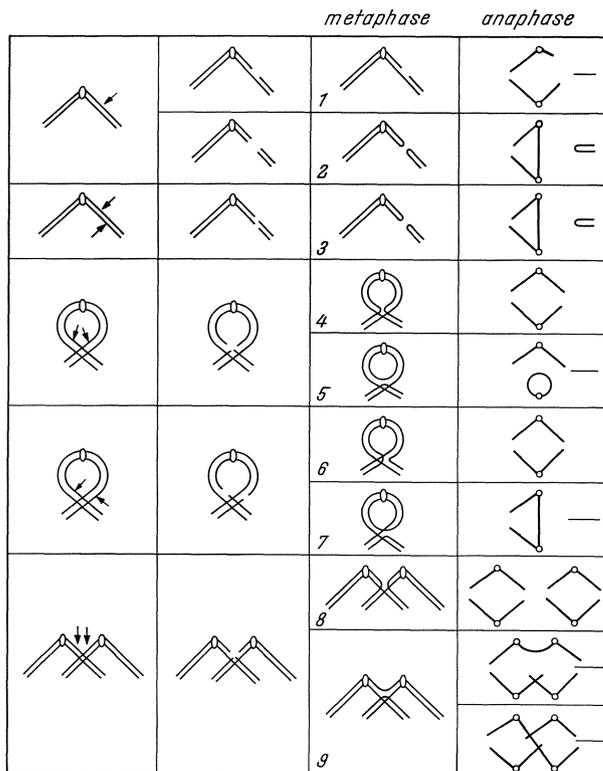


Fig. 9

inversion. 5. Centric ring and acentric fragment. 6. Duplication and deficiency (reciprocal exchange between sister chromatids). 7. Dicentric and acentric fragment. 8. Reciprocal exchange between chromatids of different chromosomes. 9. Dicentric and acentric fragment (sometimes resulting in anaphase bridge)

changes (down to one band in length) and gross changes. However, only viable alterations can be present in the salivary gland chromosomes of an individual arising from an irradiated spermatozoon or egg.

Quantitative study of the various kinds of radiation induced rearrangements, including those which are lethal to the cell, requires the use of materials that can be examined shortly after irradiation. It is also important that these have small numbers of chromosomes which are large and clearly visible at metaphase, and the metaphases immediately following the irradiation should be distinguishable from those of subsequent cell generations. If, in addition, the cell divisions are synchronized, it is possible to relate the consequences of irradiation to the stage in the division cycle at the time of exposure. The relatively synchronous pollen grain and pollen tube divisions of *Tradescantia* and of various plants in the lily family have proved particularly useful in this respect. A considerable amount of work has also been done with the asynchronously dividing root tip cells of the broadbean (*Vicia faba*) and of the onion (*Allium cepa*). Neuroblast cells from grasshopper embryos, and more recently mammalian cells in artificial

Fig. 8. Chromosome breakage and reunion (exposed before replication). 1. Simple break. 2. Pericentric inversion. 3. Centric ring and acentric fragment. 4. Same as (3) but with half twist in the plane of splitting of the ring chromosome (with resulting anaphase bridges). 5. Paracentric inversion. 6. Interstitial deletion and acentric ring. 7. Reciprocal translocation. 8. Dicentric with acentric fragment (sometimes resulting in anaphase bridges)

Fig. 9. Chromatid breakage and reunion (resulting from exposure after replication). 1. Simple break. 2. Isochromatid break (single breakage event affecting identical positions). 3. Isochromatid break (two breakage events at neighbouring positions). 4. Pericentric

culture, have been used as well. The reader is referred to CATCHESIDE (1948), LEA (1946, 1956) and HOLLAENDER (1954, 1955) for reviews, and to DARLINGTON and LACOUR (1942) for the techniques of preparing these materials for study.

The proportions of the various types of rearrangement are influenced by the coiling and orientation of the chromosome threads within the nucleus at the time of breakage. For example, minute ring deletions are sometimes produced in large numbers in *Tradescantia* microspores, especially following high doses, and are almost certainly the result of pairs of breaks in adjacent gyres of the helically coiled chromosome threads. The size of the coils influences the sizes of the deletions.

The anaphase orientation of the chromosomes sometimes persists throughout interphase and this influences the types of rearrangements produced. When two breaks occur close together in the nucleus the four broken ends have two possible ways of rejoining to produce rearrangements of the genetic material (see illustrations of chromosome breaks nos. 2, 3, 4, 7, and 8, in Fig. 8, and of chromatid breaks nos. 4, 5, 6, 7, 8, and 9, in Fig. 9). In the chromatid rearrangements the two kinds of reunion are readily distinguishable at metaphase because of the presence of the unchanged chromatid. They are known as *symmetrical* if they result in a reciprocal exchange of the terminal regions of two chromosome arms (chromatid rearrangements nos. 4, 6, and 8) and as *asymmetrical* if they result in rings or dicentrics (nos. 5, 7, and 9). If the symmetrical and asymmetrical reunions do not take place in equal numbers it implies that the orientation of the two threads is not random with respect to one another. Equal numbers have been reported in some experiments (NEWCOMBE 1942a). However, a slight excess of symmetrical interchanges has been observed by CATCHESIDE, LEA and THODAY (1946b) for pairs of breaks involving opposite arms of the same chromosome, and also by the same authors (1946a) for interchanges involving different chromosomes. A difference in the opposite direction has been reported by SAX (1940). Although these differences are statistically significant they are usually put down to scoring difficulties rather than to any polarization of the chromosomes. It would seem possible, however, that variability of the biological material itself may be responsible for the differences between observations.

Symmetrical exchanges do not interfere with the division of the genetic materials into two full complements at mitosis. They are therefore not lethal to the daughter cells. The asymmetrical exchanges, on the other hand, lead to loss of chromosome material since the acentric fragments are not moved to the poles at anaphase, and the bridges may interfere with the completion of mitosis. Asymmetrical exchanges are thus almost always lethal in haploid cells and a considerable proportion of them are lethal in diploid cells (although diploid organisms differ in their tolerance to losses of parts of chromosomes).

The proportions of rearrangements occurring (A) within the arms of the chromosomes, (B) between the two arms of the same chromosome and (C) between different chromosomes, will be determined not only by the numbers of chromosomes and the lengths of the arms, but by the extent to which proximity between chromosome regions is random. Assuming randomness, the expected relative frequencies of A:B:C will be:

$$\frac{1}{(2m+t)} : \frac{2m}{(2m+t)^2} : 1 - \frac{4m-t}{(2m+t)^2}$$

where a cell has  $m$  chromosomes with centrally placed centromeres and  $t$  chromosomes with terminally placed centromeres (NEWCOMBE 1942a). The observations of a number of workers have been compared with this expectation by LEA (1956) (see Tables 7 and 8).

There is, in general, very little preference for rearrangements within a chromosome arm, if minute deletions are excluded (but a considerable excess if these are included). However, an excess (of the larger rearrangements) within chromosomes as compared with those involving two different chromosomes has been observed quite consistently in a number of materials. Extreme examples of the latter effect arise when unfertilized eggs of *Sciara* (BOZEMAN 1943) and of *Drosophila* (GLASS 1940, 1955) are irradiated.

The large preponderance of exchanges within chromosomes in these more extreme cases probably occurs because the egg chromosomes are in meiosis at the time of the irradiation.

In *Drosophila*, Roentgen ray induced breaks are distributed uniformly with respect to mitotic chromosome length. However, owing to a compression of heterochromatic regions in salivary chromosomes there is an apparent clustering of breaks close to the centromere when the consequences are studies in salivary chromosomes. The distribution in *Vicia* root tip chromosomes is also approximately uniform along the mitotic chromosome lengths (FORD 1949).

The frequency distribution of the numbers of breaks in individual cells agrees closely with the expected Poisson distribution (the expected proportions of cells containing  $R$

Table 7. Proportions of interchanges in which both breaks are in the same arm of a chromosome

Material irradiated <sup>1</sup>	Chromosome or chromatid	Proportion of interchanges in which both breaks are in the same arm	Expected	Reference
<i>Drosophila</i> sperm	c'some	27/ 41 = 0.66	0.55	1
<i>Tulip</i> microspores	c'some	18/ 33 = 0.55	0.50	2
<i>Tradescantia</i> pollen grains	c'some	74/121 = 0.61	0.50	2
pollen grains	c'tid	2/ 6 = 0.33	0.50	3
microspores	c'tid	331/853 = 0.39	0.50	4

<sup>1</sup> Roentgen rays.

Based on Table of LEA 1956.

References and notes:

1. CATCHESIDE 1938; examining salivary gland chromosomes of individuals from irradiated X-bearing spermatozoa (two major chromosomes with median centromeres and one with a terminal centromere).

2. NEWCOMBE 1942a; (12 chromosomes with median centromeres in *Tulip* microspores, 6 in *Tradescantia*).

3. CATCHESIDE and LEA 1943.

4. CATCHESIDE, LEA and THODAY 1946a and b; combined results from 1, 20, and 30° C.

observed directly, their occurrence may be inferred from a number of different kinds of observation. The excess of rearrangements within chromosomes, for example, implies a hidden reserve of breaks which only become detectable where the proximities of chromosome strands permits them to enter into exchanges. The same conclusion must also be drawn from the observation that the number of 2-break rearrangements increases approximately as the square of the dose. (Twice the dose produces twice the number of primary breaks, but four times as many enter into exchanges and are thus made detectable. Therefore, the breaks which were not detectable at the lower dose must have restituted.)

It has been asked concerning the broken ends: (a) over what distance can the ends move to enter into a new union, (b) what proportion of them reconstitute, and (c) how long do the ends remain capable of entering into a union? These questions will be considered in the three sections which follow.

### e) The distance over which rejoining may occur

A number of methods have been devised for estimating the distances over which the broken ends may move to enter into a new union (LEA 1946, 1956).

aberrations being  $e^{-m} \cdot m^R/R$ ; where  $m$  is the mean number per cell). This is true of *Chortophaga* and *Tradescantia* following Roentgen irradiation and of *Tradescantia* after exposure to fast neutrons. A more extreme variation would be expected if there were any considerable heterogeneity with respect to sensitivity at the time of the exposure.

That the number of exchanges (2-break rearrangements) of all kinds increases as the square of the radiation dose also argues for an influence of spatial relationships upon the rejoining of broken ends. This will be considered in greater detail later.

### b) Breakage and its consequences

A proportion of breaks reunite in the original manner. Although the restitutions cannot be ob-

One of these makes use of a difference in the dose-response curves for Roentgen rays and fast neutrons. Roentgen ray induced exchanges are mainly "2-hit" effects, increasing as the square of the dose because the two breaks are caused by ionizations from different photoelectrons. Those induced by fast neutrons are mainly "1-hit" effects, increasing linearly with dose at the lower doses because both breaks are caused by an ion cluster from a single proton. With physically equivalent neutron and Roentgen ray doses corresponding to 50 R, about 23 protons and 303 photoelectrons pass through a *Tradescantia* nucleus of  $12 \mu$  diameter. The neutron induced exchanges show a single hit relationship with dose solely because each break tends to exchange with the closely adjacent breaks resulting from the same ion cluster and not with the other more distant breaks (while Roentgen ray induced exchanges show a 2-hit relationship because each break is independently produced).

To treat this quantitatively, suppose that a given break will only take part in an exchange if a second break is produced within a distance  $h$ . For a 2-hit exchange to result from a neutron irradiation of 50 Rep (Roentgens equivalent physical) a second proton would have to pass through a sphere of radius  $h$  centered at the given break. Neutron exchanges at a dose of 50 Rep are not usually 2-hit because a second neutron does not usually pass through this sphere. It follows that the cross sectional area of such a sphere must be less than  $1/23$  of the cross sectional area of a nucleus of diameter  $12 \mu$  and  $h$  must therefore be less than  $1.3 \mu$ . However, since independent Roentgen ray induced breaks do exchange, the cross-sectional area of the sphere as calculated from the equivalent Roentgen ray exposure is  $1/303$  of the cross-sectional area of the nucleus and  $h$  must be greater than  $0.9 \mu$ .

This range of  $>0.9$  to  $<1.3 \mu$  for the distance over which a break will rejoin is relatively crude. The neutron induced breaks usually do not have to search as far as the Roentgen ray induced breaks to find another break with which to reunite, a fact which favours short-range unions in the former case and long-range unions in the latter. Thus the distances over which broken ends find others with which to reunite are probably smoothly distributed over a much wider range.

Table 8. Proportion of exchanges in which both breaks are in the same chromosome

Material irradiated <sup>1</sup>	Chromosome or chromatid	Proportion of exchanges in which both breaks are in the same arm		Expected	Reference
<i>Drosophila</i> sperm	c'some	41/	81 = 0.51	0.36	1
	c'some	143/	361 = 0.40	0.20	2
<i>Onion</i> root-tip	c'some		0.1	0.03	3
<i>Tulip</i> microspores	c'some	33/	191 = 0.17	0.08	4
<i>Tradescantia</i> microspores	c'some	2408/10,344 =	0.23	0.09	5
	c'some	366/ 1,485 =	0.25	0.09	6
	c'some <sup>2</sup>	106/ 337 =	0.32	0.09	7
	c'tid	853/ 3,890 =	0.22	0.17	8
	c'tid <sup>2</sup>	68/ 774 =	0.09	0.17	7
	c'tid <sup>3</sup>	16/ 181 =	0.09	0.17	9
	c'some	121/ 336 =	0.36	0.17	4
pollen grains	c'tid	6/ 27 =	0.22	0.17	10

<sup>1</sup> Roentgen rays, except where otherwise stated.

<sup>2</sup> Neutrons.

<sup>3</sup> Alpha rays.

Based on table of LEA 1956.

References and notes:

1. CATCHESIDE 1938. *D. melanogaster* (two major chromosomes with median centromeres, one with terminal centromere), examining salivary gland chromosomes.
2. KOLLER and AHMED 1942. *D. pseudoobscura* (one chromosome with median centromere, three with terminal centromeres), examining salivary gland chromosomes.
3. SAX 1941a. Centric rings and dicentrics were scored.
4. NEWCOMBE 1942a.
5. SAX 1940.
6. SAX and ENZMANN 1939.
7. THODAY 1942.
8. CATCHESIDE, LEA and THODAY 1942a and b.
9. KOTVAL and GRAY 1947.
10. CATCHESIDE and LEA 1943.

At higher doses an increasing number of neutron induced exchanges will be 2-hit and where the proportion becomes appreciable the calculation as based on the number of protons traversing the nucleus yields too low a value. So also does the calculation as based on the number of photoelectrons since an increasing proportion of the rearrangements will be between breaks more closely adjacent than is absolutely necessary to permit rejoining. With lower neutron doses the method is insensitive, while with lower Roentgen ray doses it yields a spuriously low value because it does not take into account the chance proximities of photoelectron paths which become increasingly important as the dose is decreased. Thus, the calculation will have the greatest precision at a dose which for neutrons yields only a few-fold predominance of 1-hit over 2-hit changes.

Although the figure of  $1 \mu$  is useful only as an indication of the order of magnitude, it is nevertheless of interest that other methods of estimating the distance over which a union of broken ends can occur yield similar values. For example, the most frequent size of the minute deletions is about  $1 \mu$ , and a similar value is also obtained from a calculation based on the relative frequencies of minute deletions and gross asymmetrical exchanges.

#### d) The proportion of breaks which restitute

A number of methods have been devised for estimating the proportion of primary breaks which restitute. One of these is based on a comparison of the proportions of interchanges which are incomplete, with the proportion of isochromatid breaks which fail to show sister union (CATCHESIDE, LEA, and THODAY 1946a). The calculation would be relatively straightforward if all of the failures to rejoin were due simply to chance failure of the broken ends to come into sufficiently close proximity to one another. However, the failure is probably due in some cases to the ends being incapable of rejoining. As evidence of this, alpha-ray induced isochromatid breaks undergo sister union less often than do their Roentgen ray induced counterparts. Also, in Roentgen ray induced isochromatid breaks union of one sister pair of ends is correlated with union of the other pair. This indicates that certain breaks are less likely to rejoin than others and that the likelihood is correlated in ends which have resulted from a single breakage event.

A break will be unable to restitute if either or both of the two ends has been damaged so that it is unable to join with another broken end. Thus, the proportion of primary breaks which are incapable of rejoining ( $f$ ) will be equal to the observed unjoined breaks divided by the total breaks. On the assumption that isochromatid breaks stand an equal chance of undergoing either restitution or sister union of all ends (except where one or more of the ends is incapable of union)  $f$  can be calculated from the proportions of isochromatid breaks in which the observed numbers of sister unions are zero ( $S_0$ ), one ( $S_1$ ), and two ( $S_2$ ), using the formula:

$$f = \frac{S_1 + S_0}{2 S_2 + S_1 + S_0}.$$

(Strictly random union of broken ends would lead to twice as many restitutions as sister unions, but separation of the broken ends would tend to favour sister unions; the error is unlikely to be greater than twofold where equal numbers are assumed.)

The estimates obtained from observations on isochromatid breaks are supported by the fact that the ratio of isochromatid breaks with one and with two sister unions ( $S_1:S_2$ ) is the same as the ratio of incomplete interchanges to complete interchanges (as would be expected if the isochromatid breaks with one or two sister unions are regarded simply as special cases of incomplete and complete interchange). However, if there are any primary breaks which have a special predisposition to restitute rather than to enter into an exchange, these will not be detected by the present method.

Another method is based on the expectation that the number of exchanges will be limited by the supply of primary breaks and will therefore fail to vary as the square of the

dose at higher doses. Although this is, in fact, observed the method is less sensitive than the preceding one. However, it does yield values of  $f$  (.05 to .08) for chromosome breaks which are not too far divergent from those obtained by the first method for chromatid breaks. In addition, other methods of calculating  $f$  have been based on: (1) differences in the yield resulting from differences in the spatial relationships of the ionizing particles, (2) comparisons of the proportion of chromatid breaks undergoing exchange with isochromatid breaks and with other chromatid breaks, and (3) the ratio of chromatid to isochromatid breaks. It is somewhat surprising that such diverse methods should yield values which are for the most part in close agreement.

Treatments which modify the yield of observable breaks and rearrangements may operate by altering either the frequency of restitution or the frequency of primary breakage.

#### e) The time over which the breaks remain open

When a break restitutes it is no longer available to enter into recombination with another break. Thus, the yield of 2-break rearrangements resulting from a given radiation dose will decrease as the exposure is spread over increasing periods of time. If the time required for a break to reconstitute were known it would be possible to predict the extent to which the yield would be decreased by a given increase in the duration of the exposure and, conversely, the time can be derived if this relationship is known. The relative numbers of exchanges which will result from a particular dose administered over varying periods of time is given by the formula:

$$G(x) = \frac{2}{x^2} (x - l + e^{-x}),$$

where  $x$  is the duration of the exposure in terms of the average time over which the breaks remain unrestituted, and  $G(x)$  is the yield of exchanges relative to a yield of unity with short durations of exposure (LEA and CATCHESIDE 1942).

The average time over which the breaks remain unrestituted can be derived by fitting an observed decline in yield with increasing duration of exposure to a theoretical curve based on the above equation. A value of four minutes for both chromosome and chromatid breaks has been obtained in this manner by LEA (1946, 1956) applying the method to *Tradescantia* data of SAX (1939, 1940). The figure varies with temperature and also somewhat as derived from results of independent experiments in different laboratories.

#### f) Number of ionizations required to produce a break

Estimates of the numbers of ionizations required to break the chromosome thread are based on the relative efficiencies of radiations that differ in the extent to which the ionizations are clustered. If most of the breaks are not caused by single ionizations the relative efficiency of the different radiations will be expected to rise with increasing ion density and decline again when the number of ionizations in the clusters is greater than is required to produce a break.

This kind of relationship has been observed. The number of primary breaks per R increases with increasing wavelength from 1 Ångstrom to a peak at about 4 Ångstroms and drops again at the longer wavelengths; from this it is inferred that about 15 to 20 ionizations must occur in a chromatid (or very closely adjacent to it) for the probability of breakage to be unity. Fast neutrons are more effective than the most efficient Roentgen rays, while alpha-rays (which are much more densely ionizing than they need be for the purpose) are less effective.

While most of the information comes from chromatid and isochromatid breakage in *Tradescantia* there are also limited supporting data from structural chromosome changes in bean roots and mouse tumours.

### g) Induced crossing over

Roentgen rays and gamma rays have been shown to increase the amount of genetic recombination in both sexes of *Drosophila*. In females the increase is greatest in chromosome regions near the centromere. In males, crossing over is normally absent and irradiation causes it to occur; as in the female the chromosome regions most affected are close to the centromere. The increase is not due to a change in the number of meiotic crossovers, but is a result of induced mitotic crossing over in the spermatogonial and oogonial divisions prior to meiosis.

The pertinent kinds of evidence have been summarized by WHITTINGHILL (1950, 1951, 1955). The following manifestations would be expected with spermatogonial and oogonial crossing over: (1) an excess of crossovers from one region in the progeny of a single irradiated fly, (2) an imbalance of the complementary crossover classes (independent of viability differences), (3) a reduced recombination rate in regions distal to those showing the increase (since in 50 per cent of the products of meiotic crossing over the regions distal to the crossover will be homozygous, the effects of subsequent meiotic crossovers will be masked), (4) a reduced interference between crossovers (since an increased proportion occur in different divisions as independent events), and (5) a non-random distribution of the rarer crossover classes.

Each of these expectations, derived chiefly from a consideration of the manner of mitotic segregation, has been reported in the accumulated studies of Roentgen ray induced crossing over in *Drosophila*. From Whittinghill's own studies it appears that the crossovers may sometimes be induced many cell divisions before meiosis, so that considerable numbers of gametes are affected by the same crossover.

Somatic crossing over has also been induced in yeast by radiation (JAMES and LEE-WHITING 1955). The consequences have been studied using strains heterozygous for two linked characters (*galactose<sub>2</sub>*, and *tryptophane*) and a number of other unlinked characters (*galactose<sub>1</sub>*, *uracil*, and the gene for sex determination). The bulk of this work was done with ultraviolet but observations were also made following Roentgen ray exposure to ionizing radiation. More recent Roentgen ray studies have confirmed these results (see MORTIMER 1957).

## 3. Genetic consequences of physiological damage

### a) Methods of study

Radiation induced changes in cell function which are not due to chromosome breakage or gene mutation are usually classed as physiological effects. They include: a delaying influence on cell division, damage to the spindle, chromosome "stickiness", and cell death. The physiological damage may have genetic consequences in that it can interfere with the normal transmission of the chromosomes to the daughter cells at division, but these are essentially secondary.

Studies of fixed and stained preparations yield only limited information concerning the changes in cell function. In particular, the timing of events in the division cycle following irradiation is much more readily studied in living cells maintained under conditions which permit them to be observed continuously from the time of exposure onward.

Neuroblast cells of the grasshopper *Chortophaga viridifasciata* fulfil this requirement. They can be grown in hanging drop suspensions of artificial culture media for periods of 6 to 8 hours, the internal structures of these large cells are clearly visible and the mitotic stages are accurately identifiable in the living condition. The period of the normal division cycle in culture is approximately three to four hours. Thus cells can be irradiated at various stages in mitosis and can be observed for more than the usual duration of a division cycle after the exposure.

Eggs of the marine invertebrate *Arbacia* have also been used in many studies and have the advantage of dividing in approximate synchrony following fertilization *en masse*. The internal structures are not visible in the living cell and samples from a treated group of cells must be fixed at intervals for subsequent examination.

The use of the above materials avoids one of the chief limitations inherent in many of the observations of asynchronously dividing cells in tissues following irradiation. An increase in the number of cells in the process of division (or in a particular stage of division) could be due either to an increase in the rate at which the cells enter division (or that particular stage of it) or to a decrease in the rate at which they leave it. The resulting ambiguity, where observation is limited to fixed and stained preparations of mitotically active tissues, has led to frequent misinterpretation.

#### b) Spindle effects and induced polyploidy

The spindle seems to be exceedingly resistant to radiation damage. With doses of approximately 60,000 R to either gamete of *Arbacia* prior to fertilization multipolar spindles are formed in the zygotes (HENSHAW 1941). Exposure of amphibian eggs to similar doses during division has been found to cause sufficient damage to the presumed spindle material to interfere with the arrangement of the metaphase chromosomes. However, even large doses such as lead to rapid fusion of the chromosomes into a single mass do not noticeably alter the appearance of the spindle or its behavior in *Chortophaga* neuroblast cells (CARLSON 1941). In contrast with these observations there have been reports of an apparent absence of the metaphase spindle in *Scilla* root tips (MARQUARDT 1938) and in *Tradescantia* microspores (KOLLER 1943) following doses of a few hundred R.

Presumably as a consequence of repairable damage to the spindle which inhibits anaphase separation, a doubling of the chromosome number has been reported following Roentgen irradiation in a number of plant materials (*Trillium*, SPARROW and SPARROW 1954; rice, ICHIJIMA 1934, OKURA 1953; and rye, BRESLAVETS 1939).

In seeking for causes of death in irradiated cells, other than those associated with chromosome breakage and gene mutation, damage to the spindle once it has formed seems unlikely to be of special importance. The events which lead to its formation may, however, represent a vulnerable system.

#### c) Chromosome stickiness

Irradiation at the end of prophase with doses of 250 R or more can produce an effect on the chromosomes known as "stickiness" which is not due to breakage and reunion of chromosome threads (see KOLLER 1943, and DEUFEL 1951). Stickiness has been observed in a very large number of organisms and is thought to be a result of the depolymerization of the nucleic acids. Numerous bridges are produced at anaphase and these act to delay the separation process.

Since stickiness has usually been studied in fixed and stained preparations it is difficult to be certain whether the chromosomes eventually succeed in separating after a delay. A similar kind of stickiness has been observed in a mutant line of maize in the absence of irradiation and it therefore seems likely that the radiation induced effect is not always lethal. However, the more extreme expressions involving large numbers of anaphase bridges must almost certainly cause cell death.

#### d) Division lag

Changes in the timing of the division process following irradiation at different stages has been extensively studied in neuroblast cells of *Chortophaga*. A critical period occurs in these cells between the late and the very late prophase about five minutes before the disappearance of the nuclear membrane (CARLSON 1941, 1950). Exposure to radiation

prior to this critical period usually causes cell division to stop and may result in a reversion to the appearance characteristic of an earlier stage. Exposure to doses of 250 R or less after the critical period has passed has little or no effect on the timing of the subsequent mitotic events. Larger doses, however, cause breakdown of the nuclear membrane and stickiness of the chromosomes.

Sensitivity to the induction of prophase delay appears to be greatest just before the critical period. At this time as little as 8 to 16 R is sufficient to stop the progress of the division for an interval which increases with increasing dose. During interphase much larger doses (e.g. 250 R) are required to produce a similar delay (or reversal). Such delays, when followed by recovery, result in a more or less synchronous onset of division in the delayed cells and in cells which would have divided earlier but which, because of the irradiation, had previously failed to enter prophase.

The relationships between dose and delay have been extensively studied in *Arbacia* eggs by HENSHAW (1938, 1941). Irradiation of either sperm or eggs, just prior to fertilization, is equally effective in delaying the first cleavage division and the extent of the delay increases as the logarithm of the dose. Less effect is observed if the dose is divided equally between the sperm and the eggs, as might be expected if recovery goes on independently in the two gametic nuclei following fertilization.

Studies of samples taken at intervals following fertilization indicate that the delay does not begin until the time of nuclear fusion. The greater part of the effect occurs in the interval between fusion and the end of prophase, while metaphase, anaphase and telophase are prolonged to a lesser extent. Irradiations following fertilization vary in effectiveness depending on the stage irradiated. The sensitivity is greatest in the period between fusion and early prophase, less during the approach of the sperm to the egg nucleus, and much less from late prophase onward.

If eggs are irradiated and there is then an interval before fertilization, active recovery takes place during this period. In eggs receiving 250,000 R division is delayed more than an hour if they are fertilized immediately, but by only about 20 minutes if there is a two hour interval before fertilization. Irradiated sperm shows no corresponding recovery and it is inferred that the damage occurs in the nucleus but that the cytoplasm is necessary for repair.

If the cells of a tissue are in different stages of division at the time of irradiation, prophases are the first to disappear. Later stages disappear in succession as the cells which have already passed the point of no return complete the division process. Following high doses a tissue may subsequently show no mitotic figures for a period which varies according to the dose. Likewise on recovery, prophases are the first to reappear followed by the later stages. During this first wave of divisions the number of mitotic figures may exceed that in untreated tissues.

The early disappearance of prophases after irradiation, as seen in fixed and stained preparations of asynchronously dividing tissue, was at one time thought to be due to an insensitivity which enabled them to proceed to a later stage. Only when living cells are followed (as in *Chortophaga* neuroblasts) does it become clear that prophases are sensitive and revert to a condition resembling interphase (CARLSON 1954). It is conceivable, of course, that there are genuine differences in the time of greatest sensitivity in different tissues, and the physical appearance of different parts of the prophase might perhaps vary and so lead to differences in the supposed stage of greatest sensitivity. Cells of a variety of tissues need to be observed in the living state to determine whether irradiated prophases generally revert or go forward to complete the division.

Cell death sometimes occurs during the prophase following irradiation. The causes must be physiological since no opportunity exists for loss of genetic material. A later section will discuss the relative importance of the physiological and genetic causes of death in irradiated cells.

#### 4. Non-chromosomal structures

Mutation or loss of self-reproducing cytoplasmic particles might be expected to occur under the influence of radiation. However, where the particles are numerous the odds are weighted against the detection of mutations since the treated cells would have to be propagated for many generations before descendants with predominantly mutant particles would emerge. Also, since many mutations result simply in a loss of function, rather than in some distinctive qualitative change, cells with an excess of mutated particles might be at a selective disadvantage and only in especially favourable systems would their presence be detected at all.

This reasoning does not apply to mutations of readily visible cytoplasmic bodies which are present in small numbers in each cell. The chloroplasts of plant cells might therefore be expected to yield information on the mutability of semi-autonomous cytoplasmic particles. In choosing suitable experimental materials for studies of chloroplast mutations the visibility of the growing cells is an important consideration. A few tissues of higher plants occur as single celled layers and are thus suitable for observation under the microscope in the living state.

A number of studies have, for this reason, been carried out with *fern prothallia* grown from irradiated spores (KNUDSON 1934, 1940; MALY 1951). An additional advantage is that fern spores are very resistant to the lethal effects of irradiation.

Germination of spores of *Polypodium aureum* is relatively unaffected following doses up to 25,000 R and is approximately halved after 50,000 R (KNUDSON 1934). Growth rate of the *prothallia* declines with increasing dose to the spores in an almost linear (slightly sigmoid) relationship, there being a 5- to 10-fold reduction at 50,000 R. Morphological changes in the plastids have been observed in 0.24 and 0.4 per cent of *prothallia* from spores exposed to 30,000 and 50,000 R respectively, a rate of approximately  $10^{-5}$  per spore per R.

Morphological characteristics of eleven distinct variant kinds of chloroplasts have been described in detail by KNUDSON. *Prothallia* containing these types have been propagated vegetatively for seven years without apparent reversion. Certain of the types are transmitted to the sporophyte fern and, after sexual reproduction, are transmitted to a new generation of gametophytes. Others, associated with a clumping of the plastids into part of the cell, disappear in the adult leaves of the sporophyte and do not reappear in the new gametophyte generation.

Although there have been claims that the mitochondria are especially sensitive to destruction by irradiation, this view is strongly opposed on the basis of evidence both from sectioned material and from *in vitro* cell cultures (see BLOOM and BLOOM 1954). Mitochondria have been observed to persist unchanged long after the exposed cells are obviously undergoing irreversible degeneration. Other kinds of cytoplasmic particles appear to possess a similar degree of radioresistance.

Very high doses, for example, are required to rid *Paramecium* of the so-called kappa particles (PREER 1948). These are rich in deoxyribonucleic acid and are similar in appearance to certain large virus-like particles (the *Rickettsia* causing Rocky Mountain spotted fever) which exist as cytoplasmic bodies in ticks. The production of cytochrome deficient lines of yeast known as "petites", by exposure to Roentgen rays, is likewise accomplished only when large doses (20,000 to 200,000 R) are used (RAUT and SIMPSON 1955). Indirect evidence indicates that the deficient lines arise through loss of cytoplasmic particles (which may perhaps be mitochondria).

In both examples it is possible that the exposed particles are not immediately destroyed by the radiation. Probably the exposure interferes with their capacity for subsequent reproduction so that they are no longer in step with the divisions of the cells in which they live. Conceivably the mitochondria might be found to behave in this manner if they could be observed over a number of successive divisions in cells which had survived such large doses of radiation.

Among the other known cytoplasmic particles which appear to be semi-autonomous, and which might be subject to losses and mutations, should be included the centrosomes and centrioles, and the pi and mu particles of ciliates (which resemble kappa). Other extranuclear sources of genetic information, which have not as yet been identified with any visible cytoplasmic particle, determine such characters as streptomycin resistance in *Chlamydomonas*, self sterility in maize, and the "SG" (slow growth) and "pokey" characters of *Neurospora*.

Although of considerable interest to geneticists, it is unlikely that either the mutations or losses of cytoplasmic particles play more than a minor part in tissue damage and the production of genetic changes in higher organisms following irradiation. This view might have to be altered if, in the future, autonomous particles are found which are especially sensitive. Also, the possibility that carcinogenesis may be influenced by damage to cytoplasmic particles cannot be ruled out although at present it seems unlikely.

### 5. Effects during prolonged interphase (see Plate VIII)

Non-dividing cells, with a few notable exceptions, tend to be highly resistant to the destructive effects of radiation. Muscle, nerve tissue and liver, are much more resistant in adult mammals than skin, gut and bone marrow. Adult brain tissue withstands large exposures, and when conspicuous injury occurs it is usually caused by damage to the blood vessels in the irradiated area. In contrast, the brains of young animals and especially of embryos are particularly sensitive.

Adult insects, which consist almost entirely of non-dividing cells, are extremely resistant and many of them can survive doses approaching a quarter of a million Roentgens. Adults of the parasitic wasp *Dahlbominus* go into temporary coma following 200,000 R. The coma is characterized by twitching motions of the limbs and lasts about two hours; afterwards the insects appear to recover completely and feed and mate normally (although they are presumably sterile).

Cytoplasmic streaming in stamen hairs and pollen tubes of *Tradescantia* exhibits a similarly high degree of radiation resistance (BISHOP *et al.* 1959). The normal rate of streaming in stamen hairs is approximately 250 to 300 microns per minute; to halve this rate more than 300,000 R are required and to stop the streaming altogether doses of 750,000 R must be administered. In pollen tubes, approximately 250,000 R are required to stop the streaming. The pollen tubes from diploid plants are slightly more sensitive than those from tetraploids, but ploidy makes no detectable difference to the resistance of stamen hairs. A limited degree of recovery is inferred from an observed reduction in the effectiveness of a given dose when it is fractionated. There are other reports of a similar degree of radiation tolerance of non-dividing cells of *Allium* and *Hydrocharis* based on observations of cytoplasmic streaming (WARNER 1945).

Motility in the protozoan *Paramecium* is unaffected by doses up to 100,000 R and animals survive as much as 700,000 R (BACK and HALBERSTAEDTER 1945). Although these cells are capable of division following very high doses, it would seem that the presence of a highly polyploid macronucleus bestows upon them the degree of radio-resistance characteristic of many cells in the non-dividing state.

Similarities between radiation killing and heat killing have been noted in (mitotically inactive) adults of the wasp *Dahlbominus* (BALDWIN 1956 and 1958): (1) diploid females are more resistant than the haploid males; (2) sensitivity increases with increasing age; and (3) the dose-mortality curve shows a discontinuity at about 50 per cent survival. (These relationships hold for both radiation and heat killing.) Also, prior exposure to sub-lethal heat makes the female more resistant to both agents (although prior exposure to sub-lethal radiation has the opposite effect).

Where such massive doses of radiation are required to kill, it is not altogether surprising that the effects should resemble those of heat. Both agents probably cause considerable protein denaturation. However, in spite of the apparent similarities in response to the two agents, the mechanisms of killing have been shown to differ.

The dissimilarity has been demonstrated in experiments with combined exposures to Roentgen rays ( $X$ ) and heat ( $H$ ). Choosing a standard dose of each such that ( $H+H$ ), ( $X+X$ ), and ( $H+X$ ) all result in approximately 10 to 20 per cent lethality, the reverse sequence of exposure ( $X+H$ ) causes about 70 to 80 per cent killing (BALDWIN and NARRAWAY 1957). Thus, radiation doses in the region of 80,000 R sensitize the insects to heat.

The sensitization is a transient effect of the radiation and when subsequent heat exposure is delayed 24 hours no special sensitivity is observed. However, the repair processes by which the heat sensitization is lost are greatly slowed down when the irradiated insects are stored in the cold ( $12^{\circ}\text{C}$ ), or in carbon monoxide (which is not lethal over the period of the experiment). When the insects are transferred back to a normal environment the process is resumed at the usual rate. The presence or absence of food or of oxygen makes little difference to the rate of this kind of repair.

The ability of interphase cells to survive large doses of radiation is presumably conditional upon their remaining indefinitely in the non-dividing state. Chromosome breakage alone would be expected to cause cell death at anaphase if the heavily irradiated cells attempted to divide at some later time, and it is just possible that the physiological damage is not all repairable and might kill the cells during prophase if the division processes were once started. Insects and other arthropods would be well suited to test this prediction were some means available by which cell divisions could be initiated at will, either in adult organisms or in forms where the cells remain in interphase over very extended periods. For this reason blood sucking arthropods, of kinds which moult only when fed and which are able to wait long periods between feeds, are a promising experimental material.

Work of this sort has been done with the blood sucking insect *Rhodnius prolixus* by BALDWIN (1958). Between moults an immature *Rhodnius* is much like an adult insect in that the cells are all in interphase. In the early stages of moulting (brought on by the distention which follows a meal of blood) a wave of cell divisions sweeps over the epidermal layer. The whole moulting process is completed within about two weeks. Following this, the insect may wait as long as a year or more for the next feed and the accompanying moult.

If the whole insect is heavily irradiated between moults and then fed it is unable to moult, presumably because of the effect of the radiation on the moulting glands (the neurosecretory cells in the head and the thoracic gland which is closely adjacent to the head). However, exposure of a limited region of the lower abdomen does not interfere with the moulting process. Local exposures (e.g. of an area 2 mm in diameter) to 50,000 R do not produce any immediately detectable effects, nor does any effect develop as long as the cells remain in a non-dividing state. When the insect is fed, the cells of the exposed area are unable to divide; the new cuticle and epidermis in that region must be derived from migratory cells and as a result the area has a blister-like appearance after the moult is completed (see Plate VIII a and b).

The seemingly resistant non-dividing cells evidently harbour a latent damage following the exposure and this is expressed only when the cells attempt to divide. A major part of the latent damage remains indefinitely and will result in a visible "burn" even when the moult is delayed for months after the radiation exposure. It can be concluded from this that non-dividing cells are, in general, resistant simply because the vulnerable machinery of cell division does not have to be brought into play and can remain in the damaged state without apparent harm to the cell.

A part of the damage, however, is repairable. Irradiation even of limited areas of *Rhodnius* tends to delay the moult if the insect is fed immediately; but if there is a sufficient lapse of time between the exposure and the feed the moult takes only the normal period. In either case a "burn" appears following the moult and it is clear that the repairable and the irreparable kinds of damage are quite distinct.

In contrast to these examples of radiation resistance, mammalian lymphocytes are sensitive to destruction by very low doses and die without attempting division (TROWELL

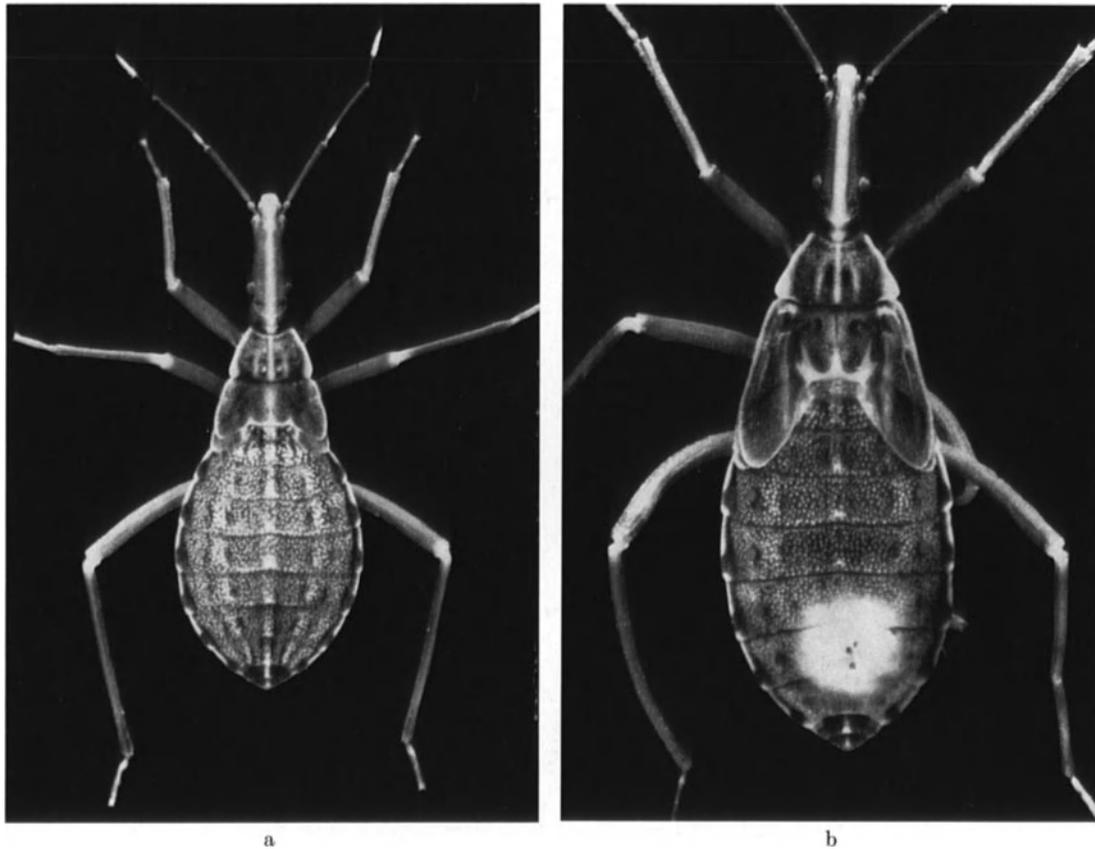


Plate VIII. *Rhodnius prolixus*, showing damage from a localized X-ray exposure to the abdomen. The damage remains latent until the next moult when it appears as an area of abnormal tissue. The photos show the insect before and after moulting. (Photo by BALDWIN unpublished)

1952). Interest in the sensitivity of lymphocytes in the present context depends upon whether or not they can be considered as strictly non-dividing during the period from exposure until death.

The life history of lymphocytes has been reviewed in detail by TROWELL (1958). Within the body their fate is still uncertain. A 200 gram rat produces 8 million per hour but it is not known in what organ they die. A few are believed to turn into monocytes or macrophages and some authors claim to have observed individual lymphocytes hypertrophy to macrophages. However, the process occurs solely in the presence of damaged tissue and bears no resemblance to a mitotic division, or even to a preparation for a division. Under the best culture conditions lymphocytes can be kept alive for about a week and (apart from malignant forms) they do not divide.

Exposure of whole animals to doses of 25 R kills some of the lymphocytes of lymphoid tissue and 600 R kills most of them. This sensitivity in a strictly non-mitotic cell has not been adequately explained. Somewhat surprisingly, the exceptional sensitivity of

the lymphocytes from lymphoid tissue is not shared by the thymus lymphocytes. The latter are in addition paradoxical in their response to different doses of radiation, destruction and disappearance from the thymus being less marked with very high doses (20,000 to 30,000 R) than with moderate doses (250 to 1000 R). Perhaps one clue to the nature of the radiation sensitivity of lymphocytes from lymphoid tissue will be found in their vulnerability to other agents such as cortisone and nitrogen mustard. As yet, however, none of these responses has been satisfactorily explained.

### III. Response in relation to dose and its distribution in time and space

#### 1. Linear responses with dose

##### a) Gene mutations

The target theory predicts that the number of radiation induced gene mutations will vary in direct proportion to the dose and, provided sufficient cells are exposed, all doses, including very low ones, will produce some mutations. At higher doses deviations from a linear response may occur if a proportion of the changes scored are due to 2-hit or multiple-hit events, or if the cells of a population differ among themselves with respect to a correlated mutability and sensitivity to killing. However, neither of these kinds of deviation from linearity appreciably affects the low-dose end of the response curve.

The expectation of a linear response is unaffected by modifications of the target theory to include water and other materials close to the gene as part of the target. Neither does mutation delay until the time of gene replication alter the theory (i.e. the changes occurring during irradiation being of a different kind to those which immediately precede the formation of the end product). A linear response does not prove the theory but is one line of supporting evidence. During the last thirty years or so considerable research has been carried out on the dose-effect curve for gene mutation in a wide variety of organisms.

The implications of linearity in relation to low dose exposures of large human populations has recently caused renewed interest in the low dose end of the response curve. The question is, is there or is there not a threshold dose below which no effect at all is produced? The evidence follows and will be discussed in detail.

The most detailed studies of the dose-effect relationships for mutations have been on the fruit fly (*Drosophila melanogaster*). Since the majority of mutations are recessive, special breeding tests are needed to detect a major fraction of the induced changes. These tests are designed to ensure that a recessive mutant gene will be expressed in certain descendants of an irradiated individual. The gene must therefore occur either in a homozygous state or in the absence of an homologous locus (i.e. as a *hemizygote*) so that no normal allele is present to mask it. Mutations in the X-chromosome are more easily investigated than those in the other chromosomes (known as *autosomes*) since the males have a single X.

Dose-effect relationships have been studied by means of two techniques. The simpler uses an aberrant stock of flies in which the two X-chromosomes of the females are permanently attached at the centromeres. These "attached-X" females produce eggs having either a pair of X's attached to one another (which prevents them from developing into males) or no X at all; the males of the stock have a normal X-chromosome. Males arise when an X-bearing spermatozoon fertilizes an egg having no X-chromosome. In a normal stock a male would receive its single X-chromosome from the mother, but sons of attached-X females receive theirs from the father. Any X-chromosome mutations that occur in the males are therefore expressed in their sons by the attached-X females.

The method is used to detect "visible" mutations in X-chromosomes of irradiated male flies. Both dominant and recessive changes are expressed, and recessive lethals are indicated by a shift in the sex ratio. The disadvantages of the method arise from the

possibility of overlooking single mutant flies and from the reduced viability of some visible mutants. Both effects contribute to an underestimation of the numbers of mutations. Also, the method is insensitive as applied to recessive lethals.

The second method achieves greater precision by rearing the flies for an additional generation. In the stock used, known as *CLB*, three peculiarities are associated with one of the X-chromosomes: (1) a minute duplication which acts as a dominant marker and causes a narrowing of the eyes (Bar eye), (2) a long inversion which effectively suppresses crossing over between this chromosome and any other X-chromosome in the

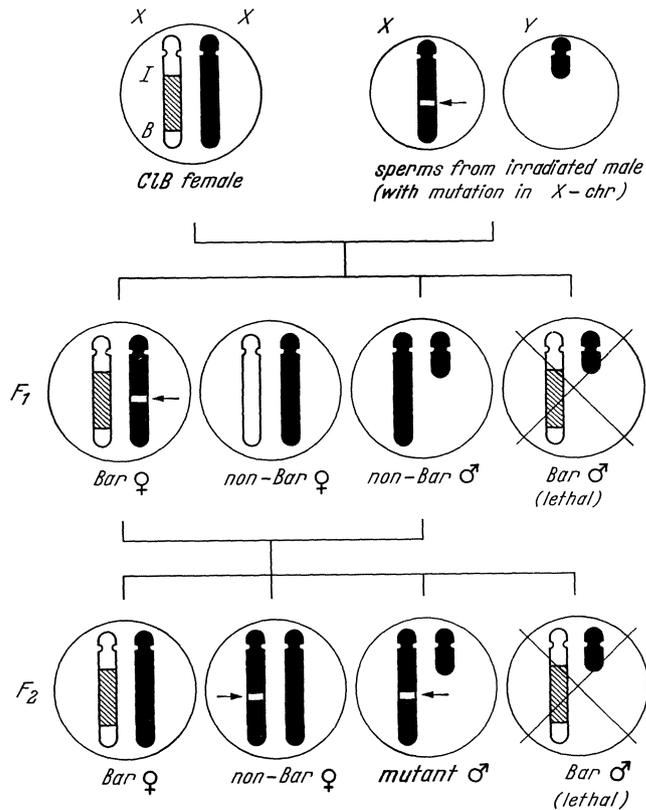


Fig. 10. The *CLB* method (see text)

female, and (3) an excessive lethal which kills any male zygote receiving the *CLB* chromosome (see Fig. 10). Females from this stock are mated with irradiated males. Brother — sister matings are carried out in the F<sub>1</sub> generation using only those females showing the Bar eye character. These females each have one *CLB* chromosome from the mother and one irradiated X-chromosome from the father. Their sons (the F<sub>2</sub> generation) receive one or other these two X-chromosomes; since the *CLB* chromosome is lethal, only those with irradiated X's survive.

F<sub>2</sub> sons from any female carrying a mutant X-chromosome will be mutant. Both dominant and recessive characters are expressed, and recessive lethals result in an absence of sons from any females with these mutations. The method was developed by MULLER and has proved a powerful tool for quantitative studies of radiation induced mutation.

The labour involved is consider-

able, however, since to test one irradiated spermatozoon 50 to 100 flies (offspring from a daughter of an irradiated male) must be reared and examined.

A linear relationship between numbers of mutations and dose has been observed by TIMOFÉEFF-RESSOVSKY and DELBRÜCK (1936) for sex linked recessive lethals (detected both by the attached-X and the *CLB* methods) and for visible mutations to eosine eye colour involving a single locus (detected by mating irradiated wild type males with females homozygous for the recessive allele). In all cases the response is linear for doses from 1000 to 6000 R. Statistical tests of *goodness of fit* have been carried out at three doses (1500, 3000 and 6000 R) on the frequencies of recessive lethals using results accumulated over a period of years by TIMOFÉEFF-RESSOVSKY (1937) (see Fig. 11). These data were drawn from examinations of some 16,000 F<sub>2</sub> cultures and the tests show no deviation from linearity.

Roentgen rays, soft Roentgen rays, gamma rays and fast neutrons have been compared in studies of this kind by WILLELMY, TIMOFÉEFF-RESSOVSKY and ZIMMER (1936). Similar linear relationships have been observed for all radiation. Neutrons are slightly less effective per ionization but the other radiations are essentially equivalent.

The occasional induction of two recessive lethal mutations in the same X-chromosome is scored as a single mutant chromosome in these experiments. The number of mutant chromosomes follows the curve  $1 - e^{-mD}$ , where  $D$  is the dose and  $m$  is the initial gradient, and will tend to fall away from a strictly linear relationship at the higher doses. The curve is linear when the results are corrected to indicate total mutations instead of mutant chromosomes.

Other early workers carrying out similar experiments have used doses as low as 385 R of Roentgen rays (OLIVER 1932) and 400 R gamma rays from radium (RAYCHAUDHURI 1944). Although most radiation geneticists are agreed that the linear dose-response curve

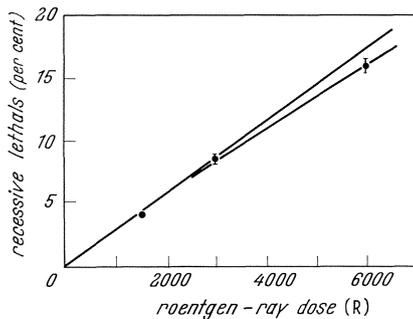


Fig. 11

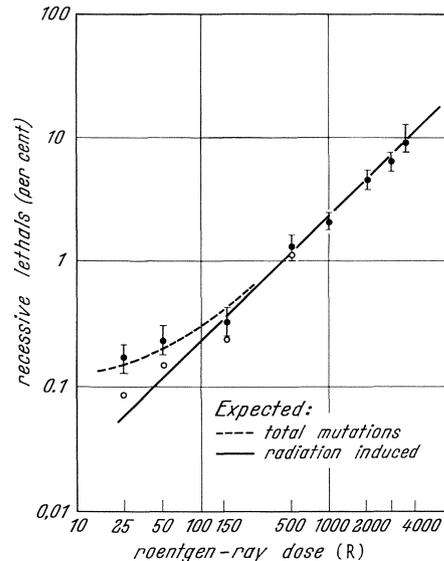


Fig. 12

Fig. 11. Yield of Roentgen ray induced sex-linked recessive lethals in *Drosophila* sperm. The lower of the two curves follows the expected relationship between dose and numbers of spermatozoa with one or more mutations; the upper curve represents the numbers of mutations (see text). (From data of TIMOFFÉEFF-RESSOVSKY 1939)

Fig. 12. Yield of *Drosophila* mutations in experiments designed to test the effects of low doses. Black points indicate induced plus spontaneous mutations; to obtain the white points the control values are subtracted. (From data of SPENCER and STERN 1948)

probably extends to the origin, it has seemed important recently to check this theoretical expectation against still more refined experimental observations at substantially lower doses.

Doses as low as 25 R have been used in an extensive test of linearity carried out by SPENCER and STERN (1948). The difficulty in such an undertaking lies in the increasing number of flies which must be handled to obtain adequate numbers of mutants at successively lower doses. In this particular study the Canton special stock of *Drosophila melanogaster* which has a low natural rate of mutation was used, and results were based on a total of over 200,000 X-chromosomes (i.e. more than 200,000  $F_2$  cultures from daughters of irradiated and control males). The results are shown in Fig. 12. It is concluded that the linear dose-mutations relationship holds for Roentgen ray doses as low as 50 and 25 R. Further tests in this series of experiments indicate that the relationship is independent of dose rate down to rates as low as 2.5 R per day (CASPARI and STERN 1948; UPHOFF and STERN 1949).

It has been argued that there is no need to extend the test of linearity below 5 r and that this limit could be reached in *Drosophila* using techniques already available. (If the curve is linear down to doses at which the average number of photoelectrons per nucleus is less than unity, it must be linear down to zero dose.) Probably such a test

will not be carried out, unless plausible reasons of a theoretical nature are advanced for expecting non-linearity, due to the labour involved.

Mature sperm only was irradiated in the foregoing tests and linearity has yet to be proven for irradiated spermatogonia. There is little reason, from previous experiments, to anticipate a threshold (or "safe dose") for mutations in these cells, but anomalous departures from linearity might occur at low doses in any tissue which is particularly sensitive to the lethal effects of radiation. For example, spermatogonial stages in mice have been shown to be sensitive to killing by doses in the range from 5 to 100 R (OAKBERG and DiMINNO 1955). Any correlation in sensitivity to induction of both lethal and mutagenic effects could result in a break in the slope of the response curve due to differential killing of mutant cells at the higher doses. As a result the increase in mutations

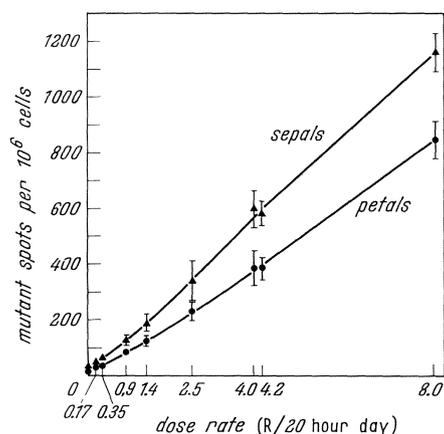


Fig. 13

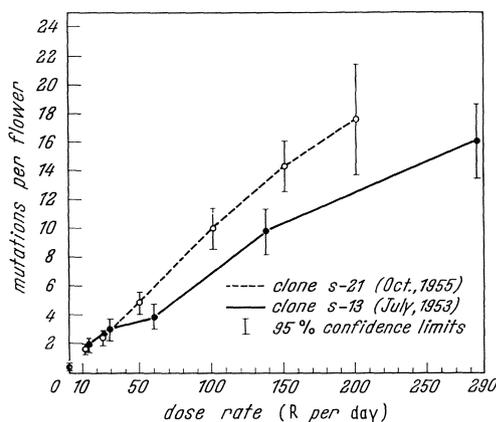


Fig. 14

Fig. 13. Yield of somatic mutations from chronic gamma irradiation in plants. Somatic mutation rate in chronically irradiated *Lilium testaceum*. (From A. H. SPARROW and R. L. CUANY unpublished)

Fig. 14. Yield of somatic mutations from chronic gamma irradiation in plants. Frequency of somatic mutations in two clones of heterozygous *Antirrhinum majus* after prolonged exposure to chronic gamma irradiation. (From A. H. SPARROW unpublished)

at low (sublethal) doses might be more rapid than at higher doses from which only the more resistant cells would survive (see Appendix H, *Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation*, 1958). This theoretical relationship has not been observed.

A wide variety of organisms, in addition to *Drosophila*, have been used for studies of dose-mutation curves. Linear relationships for visible mutations have been obtained in *Neurospora* with doses up to 20,000 R (DEMEREK and co-workers, see LEA 1946, p. 143) in *Aspergillus* with doses up to 60,000 R (STAPLETON, HOLLAENDER and MARTIN 1952). Similar relationships have been observed for the production of somatic mutations in plants by chronic gamma irradiation (SPARROW and co-workers, see Fig. 13 and 14). Recent data on induced mutations in mice seem compatible with a linear response over the lower part of the dose range, i.e. down to about 300 R (RUSSELL and RUSSELL 1958).

The only critical test of linearity at indefinitely low doses has used bacterial viruses. Rigorous proof extending to zero dose may at first sight seem an unattainable ideal. However, it has been achieved using a change which, although not typical of most mutations, is nevertheless an alteration of genetic material. So called *lysogenic* strains of *Escherichia coli* K12 are capable of releasing infective virus particles from individual cells as rare spontaneous events. This occurs more frequently following irradiation with either ultraviolet or ionizing radiation.

Detailed linkage maps of the bacterial gene string involving many marker genes have been obtained by crossing different lines of *E. coli* K12. In lysogenic strains a bacterial

virus, *lambda* (or rather the *provirus* of *lambda*), has a known position in the gene sequence near to one of the loci controlling sugar fermentation. The events leading to rapid multiplication of the virus, i.e. lysis of the bacterial cell and liberation of infective particles, therefore affect a known part of the genetic material of the bacterium. The liberated virus particles (about 150 per lysed cell) are readily counted by plating suitable dilutions of the bacterial lysates on agar seeded with of sensitive indicator bacteria. The number of cleared areas (*plaques*) in the confluent bacterial growth indicates the number of virus particles plated (one plaque for each particle). The numbers of virus particles liberated following various doses of ionizing radiation can thus be determined with considerable accuracy.

Notable refinements have been developed by MARKOVICH (1956a and b). Antiserum active against *lambda* virus is used just prior to lysis of the irradiated cells to rid a culture of all particles accumulated from previous spontaneous events. Immediately following this, the addition of streptomycin causes all bacteria containing ripe phage to burst and the liberated virus particles are counted using streptomycin resistant indicator bacteria. (The antiserum is effectively eliminated by dilution when the streptomycin is added.) The system yields extremely small numbers of virus particles in unirradiated control cultures, and serves as a uniquely sensitive indicator of the effects of very low doses of radiation. The approach has permitted a plotting of the dose-effect relationships over the range from 0.3 R up to 3200 R, employing doses which increase in 2- to 3-fold steps (see Fig. 15).

With the 15 kilovolt radiations is used, and at 1 R exposure, approximately  $4 \times 10^9$  photons are absorbed per ml (equivalent to 1 photon per 250 cubic microns) and each of the resulting photoelectrons produces 430 ion pairs over a  $5 \mu$  track representing a volume of 2.5 cubic microns. The likelihood of two such volumes having a point in common is one in a hundred. If a bacterium must be traversed by two photoelectron paths to induce the liberation of virus, the efficiency of induction would be only 1/100 of that observed; similarly, the efficiency at 10 R would be 1/10 that observed. A parallel argument may be based on the numbers of ionizations. With one exposure there are less than  $2 \times 10^{12}$  ionizations per  $\text{cm}^3$ , or less than two ionizations per cubic micron, and the bacterial volume is approximately  $0.4 \mu^3$  (a cylinder of  $1.2 \mu$  in length with a diameter of  $0.66 \mu$  measured by electron microscopy). Thus, less than one ionization per bacterium results from an exposure of 1 R. If two ionizations were required to produce the liberation of phage, the efficiency of the radiation would be noticeably reduced at 1 R, and more so at 0.6 and 0.3 R.

Intensity has also been varied in these experiments while maintaining a constant total dose of 10 R. With Roentgen rays, the dose rates cover a  $10^4$ -fold range (from 6 up to 60,000 R per minute) and with gamma rays this range has been extended downward to make an overall range of  $10^6$ -fold (from 10 R per  $10^{-2}$  seconds to 10 R per  $10^4$  seconds). No significant differences in response occur over these ranges. It follows rigorously that this particular kind of change in the genic material arises from the action of a single ionization and that the likelihood of an effect is strictly proportional to dose down to zero dose.

A wide variety of dose-mutation experiments bear on the problem of a possible genetic effect of exposing large human populations to low levels of ionizing radiation. The

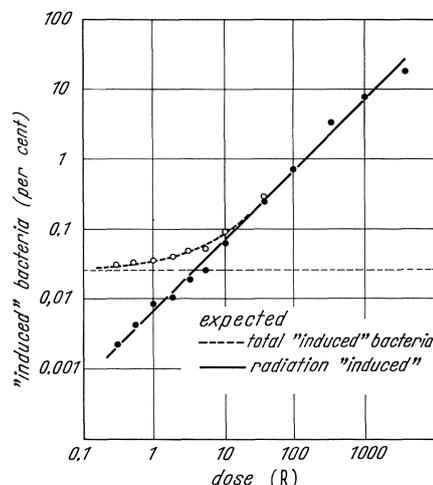


Fig. 15. Yield of "inductions" in lysogenic bacteria (see text). (Redrawn from MARKOVICH 1956)

evidence ranges from limited observations on vertebrates to the increasingly elegant experiments on organisms far removed from man. The collective weight of evidence for a non-threshold response to the induction of genetic changes by radiation is considerable, and there is no special reason to suppose that man differs from other living creatures in this respect.

It is not implied that the information on this particular point is complete, or that there is no possibility of unexpected experimental findings in the future. At present, however, it would be unreasonable to assume that there is a threshold dose below which no mutations at all are produced.

### b) Single hit chromosome and chromatid aberrations

Dose-effect relationships for the various kinds of chromosomal aberration have been studied following exposure to Roentgen rays and other ionizing radiations. The clearest

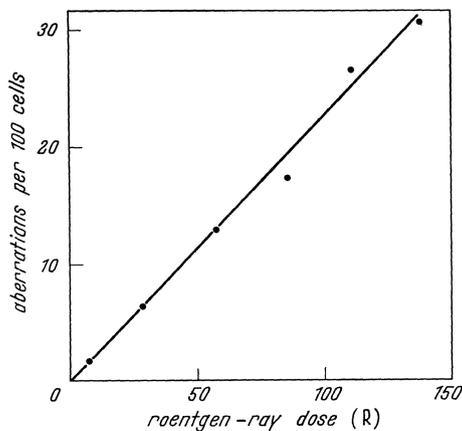


Fig. 16

Fig. 16. Yield of Roentgen ray induced isochromatid breaks. (Redrawn from SAX 1940)

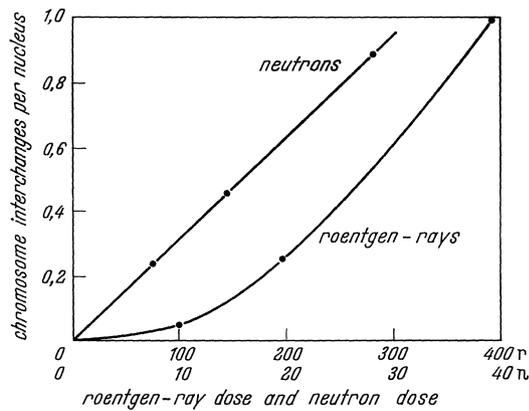


Fig. 17

Fig. 17. Yield of Roentgen ray induced and neutron induced chromosome interchanges. Chromosome dicentric and rings produced by Roentgen rays and fast neutrons (one "n" = ca. 2.5 R). (Redrawn from GILES 1954)

evidence has been drawn largely from a single plant, *Tradescantia*. The small number and large size of the chromosomes enable the different kinds of change to be readily recognized, especially during division of the haploid pollen grain nucleus. In each anther division starts synchronously so that a homogeneous cell population, in any desired stage of division, may be irradiated. Using this material and Roentgen ray doses in the range 25 to 150 R, SAX (1938, 1940) obtained the first detailed evidence of a simple relationship between dose and yield of chromosomal aberrations. The results have since been confirmed and extended by numerous workers (including RICK 1940; THODAY 1942; NEWCOMBE 1942b; CATCHESIDE *et al.* 1946a and b; SWANSON and SCHWARTZ 1953).

At lower Roentgen ray doses, the breaks which fail to exchange or restitute behave as single-hit phenomena and occur in direct proportion to the dose (Fig. 16). These are of three kinds: (1) chromosome breaks (in which the breakage occurs before the chromosome is split and therefore affects both of a sister pair of chromatids at metaphase), (2) chromatid breaks (affecting only one chromatid at metaphase) and (3) isochromatid breaks in which sister chromatids are broken at the same point. As will be discussed later, this simple relationship does not necessarily hold at the higher doses, but the non-linear effects are all of a kind rare at the lower doses and a strictly linear relationship is presumed to hold down to zero dose.

Single ion clusters from the more densely ionizing radiations might be expected to break closely adjacent strands so that chromosomal rearrangements involving union of

ends from two breaks occur as one-hit phenomena. GILES has shown (1943, 1954) that rearrangements which increase exponentially with increasing Roentgen ray dose increase linearly with increasing exposure to fast neutrons (see Fig. 17). The yield of chromatid exchanges resulting from alpha-ray exposure is likewise directly proportional to dose (KOTVAL and GRAY 1947).

### c) Changes of uncertain origin

Linear relationships with dose have been observed for a variety of responses of biological materials in which the precise nature of the change is uncertain.

Inactivation of viruses behaves as a 1-hit function of Roentgen ray dose over an extremely wide range of doses (see Fig. 18, and LEA 1956 for review). In bacteriophages,

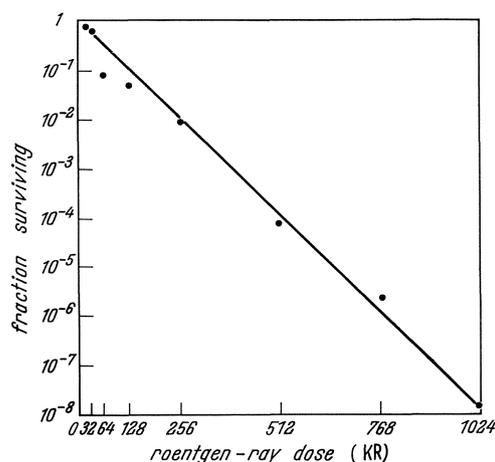


Fig. 18

Fig. 18. Survival of bacteriophage "lambda" following Roentgen irradiation in broth. (J. F. MCGREGOR — unpublished)

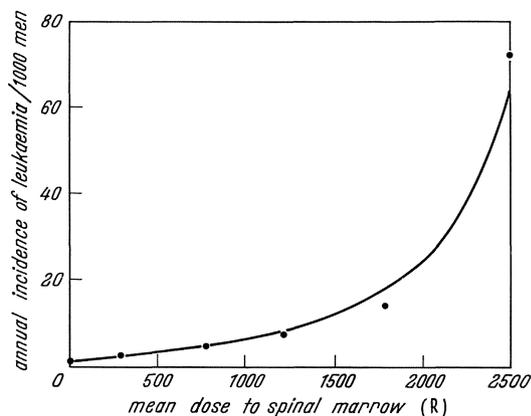


Fig. 19

Fig. 19. Leukaemia in man in relation to Roentgen ray dose. The incidence of leukaemia, standardized by age, in relation to mean dose to the spinal marrow. (Redrawn from COURT-BROWN and DOLL 1957)

viable mutations do not seem to be induced by radiation, so the view that the damage is due to lethal gene mutation must be treated with caution. A large proportion of the inactivations, however, are a result of changes in the nucleic acid part of the virus; changes in the protein coat lead to a failure of the phage to adsorb, a consequence which is readily distinguishable from a loss of the capacity for infection. Inactivations might therefore be due to unjoined breaks in the gene string which lead to losses of large regions of genetic material, or to gross rearrangements arising out of multiple breaks produced by single "hits" although this seems much less likely. In either case the inactivation would be thought of as a genetic consequence of irradiation.

Killing of haploid yeast cells follows a 1-hit function of Roentgen ray dose while killing of diploid cells follows a 2-hit function (LATERJET and EPHRUSSI 1949; TOBIAS 1952). It has been inferred from this that a single haploid chromosome set constitutes the effective "target" and that in diploid cells death only follows inactivation of both targets.

In man the frequency of leukaemia following exposure to ionizing radiation seems to vary in direct proportion to dose at low doses down to about 250 R (mean dose to the spinal marrow); above 1000 R it varies as a higher power of dose (COURT-BROWN and DOLL 1957; see Fig. 19). The evidence is not conclusive but it suggests the possibility of a linear relationship down to zero dose. The curve resembles that for the induction of mixed 1-hit and 2-hit chromosomal rearrangements, and although there is no direct evidence that the carcinogenic action of radiation is mediated through chromosomal rearrangements the theory has been current for some time.

## 2. Non-linear responses with dose

### a) Two-hit rearrangements

Exchanges resulting from two independent breaks are expected to increase as the square of the dose. The expectation is realized for chromatid exchanges in Roentgen irradiated *Tradescantia* microspores when the different doses are administered over a constant period of time (SAX 1939). However, where dose is increased by lengthening the duration of the exposure (intensity remaining constant) the yield of exchanges rises as a power of dose less than two. The reason lies in the increased opportunity for restitution of broken ends as the duration of the exposure is extended.

Deviations from these simple expectations occur for a number of reasons. An intermediate dose-response relationship would be predicted where the two breaks entering into an exchange are in some instances the product of a single event and in others of two separate events. Interstitial deletions in *Tradescantia*, most of which are minute acentric rings, are sometimes 1-hit and sometimes 2-hit rearrangements. These increase as a function of Roentgen ray dose intermediate between the first and second power, although the yield is linear with neutron dose (GILES 1940; MARINELLI *et al.* 1942; NEWCOMBE 1942). Similarly, isochromatid deletions, which are usually produced by roentgen rays as 1-hit rearrangements, contain an admixture of 2-hit rearrangements, as a result the yield rises more rapidly at higher doses. It is characteristic of any such changes of mixed origin that the 2-hit component comprises a smaller part of the whole when the dose is low. Deviation from a linear response is therefore less at low doses.

Eye colour mutations in *Mormoniella*, although arising chiefly through changes in the function of a single gene locus, exhibit the Roentgen ray dose-effect relationships characteristic of a mixture of 1-hit and 2-hit effects (CASPARI 1958). It is believed that position effect rearrangement must account for an increasing proportion of these mutations following high doses.

Other mechanisms probably operate to cause the yield of chromosomal aberrations in *Drosophila* sperm to deviate from the simple expectation. Exchanges in this material are detected in salivary gland chromosomes of  $F_1$  larvae, or by breeding tests. Acentric fragments and dicentric chromosomes are lost during cell division and are not represented. However, reciprocal translocations, inversions, and both terminal and interstitial deletions may be studied except when a deleted region is large enough to act as a dominant lethal.

The number of minute structural changes involving two breaks, separated by a distance of about one per cent of the length of a chromosome, vary in direct proportion to Roentgen ray dose. This suggests that a single ionizing particle almost always causes both breaks. Rearrangements of large regions of chromosomes vary as a function of Roentgen ray dose intermediate between the first and second power. The precise shape of the response curve varies in different experiments but is generally said to follow the 1.5 power of dose.

Extensive cytological studies of the yields of these gross structural rearrangements in irradiated *Drosophila* sperm (BAUER, DEMEREC and KAUFMAN 1938; BAUER 1939) and equally extensive genetic studies (KHOVOSTOVA and GAVRILOVA 1938; TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1939; MULLER 1940) all agree in indicating that yield varies as a power of Roentgen ray dose and that this is consistently less than two, averaging about 1.5. There is no satisfactory explanation for this deviation from the expected relationship. One suggestion is that some of the changes may exist as potential breaks and that these enter into rearrangements when adjacent breaks initiate the process.

Variations in intensity of the exposure over the range 0.05 to 250 R per minute do not affect the yield of rearrangements from irradiated *Drosophila* sperm. This would be expected if breaks and potential breaks remain capable of exchange over long periods of time. It is believed that such is the case and they do not participate in the formation of new rearrangements until after the spermatozoon has entered the egg. Such a pro-

longed delay might be thought to provide greater opportunity for exchange with the result that fewer breaks would reconstitute, even at low doses, than in *Tradescantia*. It is estimated that about half of the breaks (or potential breaks) reconstitute in chromosomes of irradiated sperm (LEA and CATCHESIDE 1945; BAKER 1949).

### b) High dose effects

At high doses the observed yield of gene mutations and of 1- and 2-hit structural changes is sometimes altered so that the variation with dose is not the same as at low doses. A diversity of causes may operate and in many instances the reason is not yet clearly understood.

The numbers of unjoined chromosome breaks (*fractures*) in a nucleus is determinable with a high degree of accuracy both at metaphase and at anaphase, even when there

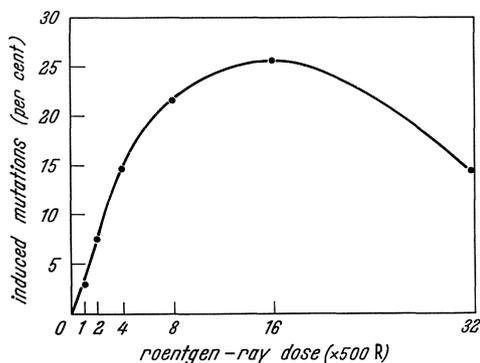


Fig. 20

Fig. 20. Colony morphology mutations induced by Roentgen rays in *Streptomyces* spores. (From data of NEWCOMBE and MCGREGOR 1954)

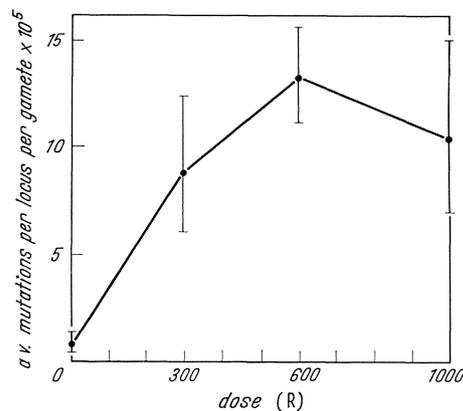


Fig. 21

Fig. 21. Coat colour mutations induced by Roentgen rays at seven specific loci in mice. (Redrawn from RUSSELL, RUSSELL and KELLY 1958)

have been many rearrangements. At metaphase the fractures equal the number of extra chromosome bodies minus the number of rings, whereas at anaphase the fractures equal the number of acentric fragments minus the number of monocentric rings and dicentric chromosomes (tricentrics being treated as two separate dicentrics). Using this method of scoring, NEWCOMBE (1942b) has shown that the unjoined chromosome breaks in *Tradescantia* microspores increase as the 2.5 power of Roentgen ray dose in the range from 240 to 960 R, when exposure time remains constant; when the same total doses are administered at a constant intensity the yield varies as the 2.1 power of dose. An analysis of the earlier data of FABERGÉ (1940) likewise shows an exponential increase with dose at high doses. At low doses, fractures normally behave as 1-hit changes.

This is thought to indicate an effect of high doses which reduces the likelihood of restitution of broken ends. Since under some conditions the yield increases as a power of the dose greater than two so it is inferred that the actions of a second and a third ionizing particle each successively reduce the likelihood that the broken ends will be capable of union. In view of the known tendency for densely ionizing particles to produce breaks having a reduced capacity for union this might be expected. Alternative interpretations are possible; for example, the physiological effects of high doses might interfere with the union of broken ends.

An opposite effect (i.e. a reduced yield at high doses) has been observed both for colony morphology mutations in *Streptomyces* spores (NEWCOMBE and MCGREGOR 1954) and for coat colour mutations in mice (RUSSELL 1956; RUSSELL, RUSSELL and KELLY 1958) (see Fig. 20 and 21). In mice it is thought that the effect could be due to differential

killing of certain spermatogonial cells which happen to be in stages of high sensitivity to the induction of both the lethal and the mutagenic changes. However, the consequences of heterogeneity in a cell population at the time of irradiation cannot be readily distinguished from those of *intracellular* effects operating to interfere with the completion of the mutation process following high doses.

An extreme example of a non-linear response at very high doses has been observed in *Neurospora* by ATWOOD and PITTINGER (1955 and unpublished) who have developed precise tests to reveal the presence of recessive lethal mutations in the conidia. Mycelial growth in *Neurospora* is not inhibited by exposures as high as a number of hundreds of thousands of Roentgens. This resistance to destruction may be due to the large numbers of nuclei present in the coenocytic mycelial strands. The mutations induced in these nuclei as a result of irradiation may be studied by sampling the spores produced by the mycelium. The frequency of recessive lethals rises with increasing dose to a maximum of about 3 per cent following an exposure to 10,000 R or more; i.e. the response curve reaches a plateau at 10,000 R which extends unchanged to 250,000 R, the highest dose used. However, a second exposure delivered after a short interval raises the frequency of recessive lethals by another 3 per cent, and so on.

This temporary "saturation" of the capacity of the mycelial nuclei to undergo induced mutation has not been satisfactorily explained. It is as if only a few of the nuclei are in a mutable state at any one time, the rest being able to withstand very large doses without mutating; at some later time, however, other nuclei are presumably in the susceptible state so that successive irradiations have a cumulative effect. It is attractive to speculate that the mutable state is associated in some way with the division process. The possible existence of an immutable state would not be too surprising in view of the seeming inability of the genetic material of bacteriophage particles to yield mutations when exposed to radiation outside the host cells.

No immutable state has been demonstrated in any higher organism. Nevertheless, it is possible that the changes induced by radiation are mutagenic rather than completed mutations. Mutagenic changes might therefore be subject to repair if they occurred at certain stages, or if division were sufficiently delayed. Alternatively, the initial change may perhaps occur in materials closely adjacent to the gene and necessary for its precise replication, rather than in the gene itself. If this were the case, mutation might fail to occur during a temporary absence of these auxiliary materials. Thus, there are a number of possible ways in which nuclei might become incapable of mutation.

### 3. Dose rate and fractionation effects

Experiments described earlier showed how the *average* period during which induced breaks in chromosomes remain capable of exchange is measured by fractionating the exposure or varying the intensity. This time is about 4 minutes for *Tradescantia* chromosomes. To measure the *longest* period over which a small proportion of breaks remain capable of exchange a different experimental design is required.

Studies of the latter kind have been carried out with *Tradescantia* microspores by BORA (1954). In these experiments the interval between two exposures was varied and an observed decline in effectiveness with increasing interval is interpreted as due to restitution of breaks induced by the first exposure so they are unable to exchange with those induced by the second. The result indicates that some breaks may stay "open" (i.e. capable of union) for more than an hour. Different intensities of exposure were combined with the varying time interval in these experiments.

Short intervals between exposures apparently do not reduce the effectiveness. With high intensities (greater than 60 R per minute) a reduction is observed when the interval between the two fractions exceeds 4 minutes. With lower intensities, of 18 and 3.3 R per minute, no reduction is observed until the intervals exceed 16 and 6 minutes respectively. The results are interpreted as indicating that at low intensities the breaks are

formed less rapidly than following high intensities. It is inferred that breakage is not simply a chemical destruction of parts of the chromosome thread but involves both an initial injury and a subsequent physiological step. Such a conclusion does not invalidate the target theory since there is evidence that the events, whatever their nature, are highly localized.

No effect of intensity differences or fractionation has been reported for simple (unjoined) breaks induced by Roentgen rays in *Tradescantia* microspores (SAX 1939, 1940). The same is true of neutron induced exchanges in *Tradescantia*, presumably because both breaks arise from a single event (GILES 1940).

The yield of recessive lethal mutations in irradiated *Drosophila* sperm is likewise independent of intensity and fractionation of the exposure. Long-term fractionation studies also indicate that irradiations of both larvae and mature sperm, when combined in the same male individuals, have strictly additive effects on the production of recessive lethal mutations in the sperm. Thus, neither short term nor long term fractionation of the exposure has yet been found to have any detectable effect on the yield of recessive lethals in this organism.

In mice, however, the frequency of coat colour mutations has recently been shown to be reduced to about one third when the dose to spermatogonia is distributed over an extended period of time instead of being given as a single short exposure (see Table 9; RUSSELL *et al.* 1958). This finding does not affect the concept of linearity since both curves are compatible with a linear response in the lower dose range. It does indicate that mutations must pass through an intermediate form which for a limited period of time is capable either of repair or of going forward to completion. The presence or absence of other ionizations while the genes are in the indeterminate state apparently influences this choice.

The idea of an indeterminate state of the irradiated gene is further supported by recent evidence from *Drosophila* (LÜNING and HENRIKSSON 1959). Fractionation of the Roentgen ray dose is in these experiments combined with the use of oxygen during the second of the two exposures. The oxygen is found to increase the yield of mutations from the first as well as from the second of the two, except where these are separated by more than thirty minutes. This interval would seem to indicate the length of the period over which some of the irradiated genes remain in an indeterminate state.

A reduction in the intensity (or the fractionation) of a given exposure might, in general, be expected either to reduce its effectiveness or to make no difference, yet it is theoretically possible that an increase in effectiveness might occur under certain circumstances. For example, if nuclei pass through a particular sensitive stage (as they do during division) distributing the dose over a period of time could have the effect of catching a larger proportion of them at this stage. This mechanism has already been suggested to account for the greater accumulation of recessive lethals in *Neurospora* mycelium when repeated exposures are used. It is also conceivable that the damaging effects of radiation on mitotically active tissues might under certain conditions show a similar increase in response to a given dose when it is spread over a longer period of time.

Table 9. *Mutations at specific loci induced in mouse spermatogonia by acute and chronic irradiation*

Dose	Intensity*	No. of offspring	Mutations at 7 loci	Mutations per locus per gamete ( $\times 10^6$ )	Induced mutations per locus per gamete per R ( $\times 10^6$ )
0	—	288,616	17	0.84	—
300	80 R/min	40,408	25	8.85	26.7
600	80 R/min	119,326	111	13.29	20.7
1000	80 R/min	31,815	23	10.33	9.5
86	10 R/week	48,500	6	1.77	10.8
516	90 R/week	20,752	4	2.75	3.7
861	90 R/week	20,993	9	6.12	6.1

\* High intensity exposures were to Roentgen rays, low intensity exposures were to gamma rays.

Data from RUSSELL and RUSSELL 1958; and RUSSELL, RUSSELL and KELLY 1958.

## 4. Ion density effects

The densely ionizing radiations are relatively ineffective (per ion pair) in inducing mutations of individual genes. Presumably this is because only a single ionization is

Table 10. *Efficiency of different qualities of radiation in inducing mutations*

Materials and mutations	Standard radiation	Radiation compared	Relative effectiveness	Reference
<i>Drosophila</i> rec. lethals	Roentgen	fast neutrons	0.66 ± 0.06	1
			0.75	2
			0.41 ± 0.06	3
			0.56 ± 0.19	4
			0.73 ± 0.1	5
			0.80 ± 0.3	6
			(1.09) <sup>1</sup> (1.60)	7
dom. lethals	Roentgen	fast neutrons	1.5	8
<i>Mormoniella</i> eye colour	Roentgen	fast neutrons	(17—21) <sup>2</sup> (2—4)	9
<i>Aspergillus</i> visible	Roentgen	slow neutrons	0.6	10

<sup>1</sup> Dose dependent; 1000 and 4000 R.

<sup>2</sup> Dose dependent; 1136—3000 and 3000—5680 Rep.

References:

1. ZIMMER and TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1938.

2. DEMPSTER 1941.

3. ZIMMER and TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1942.

4. DEMEREC, KAUFMANN and SUTTON 1942.

5. GILES 1943.

6. FANO 1944.

7. EDINGTON 1956.

8. DEMPSTER 1941 (see also FANO 1944; BAKER and von HALLE 1954).

9. KAYHART 1956.

10. STAPLETON, HOLLAENDER and MARTIN 1952.

Table 11 a. *Efficiencies of different qualities of radiation in inducing chromosome and chromatid aberrations. (Excluding Tradescantia)*

Material and type of chromosomal aberration	Standard radiation	Radiation compared	Special variables	Linear energy transfer (keV/μ)	Relative effectiveness	Reference
<i>Drosophila</i>						
c'some transloc.	γ (Ra)	X (50 kV)	—	3.5	1.0	1
c'some transloc.	X (200 kV)	fn (Be+d)	—	8.0	1.25	2
c'some breaks	X (70 kV)	fn (Li+d)	—	15.0	0.68	3
<i>Tumours</i> (mouse) aberrations	X (200 kV)	fn (Be+d)	—	8.5	2.3—3.5	4
<i>Tumours</i> (rat) aberrations	X (200 kV)	fn (Be+d)	—	8.0	2.4—4.3	5
<i>Vicia faba</i> aberrations	X (200 kV)	fn (Be+d)	(1)	8.0	3.2—6.7	6
aberrations	X (200 kV)	fn (Be+d)	(2)	8.0	2.6	6
<i>Pisum sativum</i> aberrations	X (200 kV)	fn (Be+d)	—	8.0	6.2	7
<i>Solanum</i> (tomato) aberrations	X (200 kV)	fn (Be+d)	—	8.0	6.5	7
<i>Datura</i> aberrations	X (250 kV)	fn	—	—	4.0	1

needed in most instances to cause the change and thus the ionizations in any cluster tend to be wasted. This is apparently true not only for recessive lethals in *Drosophila* when comparing fast neutrons with Roentgen rays, and Roentgen rays with cobalt-60 gamma rays, but also for visible mutations in *Aspergillus* when comparing slow neutrons with Roentgen rays (see Table 10).

Table 11 b. *Efficiency of different qualities of radiation in inducing chromosome and chromatid aberrations. (Tradescantia pollen grain division)*

Material and type of chromosomal aberration	Standard radiation	Radiation compared	Special variables	Linear energy transfer (keV/μ)	Relative effectiveness	Reference
<i>Tradescantia</i> (pollen grain division)						
c'tid exch.	X	fn (Be+d)	(3)	11	—	8
c'tid dicent.	X	fn (Be+d)	—	11	6.6	9
c'tid dicent.	X	fn (Be+d)	—	20	11.7	9
c'tid dicent.	X	fn (U fiss.)	—	41	23.4	9
c'tid breaks	X (0.15 Å)	fn (Li+d)	—	15	2.4	10
iso c'tid br.	X (0.15 Å)	fn (Li+d)	—	15	3.6	10
c'some breaks	X (0.15 Å)	fn (Li+d)	—	15	4.5	10
c'some interch.	X (0.15 Å)	fn (Li+d)	—	15	5.3	10
c'some rings	X (0.15 Å)	fn (Li+d)	—	15	6.5	10
c'tid interch.	X (0.15 Å)	fn (Li+d)	—	15	9.6	10
c'tid breaks	X (0.15 Å)	alpha	—	120	1.4	11
iso c'tid br.	X (0.15 Å)	alpha	—	120	4.2	11
c'tid interch.	X (250 kV)	fn	—	—	13.0	13
c'some interch.	X (250 kV)	fn	—	—	10.0	13
c'some breaks	X (250 kV)	fn	—	—	7.0	13
c'some reunions	X (30 MeV)	X (220 kV)	(4)	—	1.5	14
c'some reunions	X (30 MeV)	X (220 kV)	(5)	—	1.3	14
c'some breaks	X (30 MeV)	X (220 kV)	(4)	—	1.6	14
c'some breaks	X (30 MeV)	X (220 kV)	(5)	—	1.4	14
c'some breaks	γ ( <sup>60</sup> Co)	X (200 kV)	—	—	1.22	15
c'some reunions	γ ( <sup>60</sup> Co)	X (200 kV)	—	—	1.19	15
aberrations	X	fn (d, T)	—	15	2.0	16
aberrations	X	fn (d, T)	—	39	4.0	16
c'some reunions	X (220 kV)	fn T(d, n) <sup>4</sup> He	—	—	2.6	17
c'some breaks	X (220 kV)	fn T(d, n) <sup>4</sup> He	—	—	2.7	17
c'some reunions	X (220 kV)	fn T(d, n) <sup>4</sup> He	—	—	2.9	17
minute delet.	X (220 kV)	fn T(d, n) <sup>4</sup> He	—	—	4.0	17
c'some breaks	X (220 kV)	fn (14 MeV)	(6)	—	3.3—3.0	17
c'some breaks	X (220 kV)	fn (14 MeV)	(7)	—	2.3—1.9	17
minute delet.	X (220 kV)	fn (14 MeV)	(6)	—	5.1—4.7	17
minute delet.	X (220 kV)	fn (14 MeV)	(7)	—	3.4—3.1	17
c'some reunions	X (220 kV)	fn (14 MeV)	(8)	—	2.7	17
c'some reunions	X (220 kV)	fn (14 MeV)	(9)	—	3.5	17
c'some delet.	X (220 kV)	fn (14 MeV)	(8)	—	2.9	17
c'some delet.	X (220 kV)	fn (14 MeV)	(9)	—	4.1	17

An opposite relationship has been observed for dominant lethal changes in *Drosophila* but is not surprising since these changes consist chiefly of gross chromosomal rearrangements rather than gene mutations. Eye colour mutations of *Mormoniella* are also induced with greater efficiency by densely ionizing radiation. These latter changes affect mainly a single locus and are unlikely to be due to deletions, being viable in the haploid males. However, they could be due in part to gross chromosomal aberrations leading to modification of the functions of the locus through position effects. The non-linear dose-effect

Table 11c. *Efficiency of different qualities of radiation in inducing chromatid and isochromatid aberrations. (Tradescantia pollen tube division)*

Material and type of chromosomal aberration	Standard radiation	Radiation compared	Special variables	Linear energy transfer (keV/ $\mu$ )	Relative effectiveness	Reference
<i>Tradescantia</i> (pollen tube division)						
c'tid breaks	X (0.15 Å)	X (1.5 Å)	—	4.5	1.4	11
c'tid breaks	X (0.15 Å)	X (4.1 Å)	—	10	2.1	11
c'tid breaks	X (0.15 Å)	X (8.3 Å)	(10)	15	0.2	11
c'tid breaks	X (0.15 Å)	alpha	—	120	2.0	11
iso c'tid br	X (0.15 Å)	X (1.5 Å)	—	4.5	1.2	11
iso c'tid br	X (0.15 Å)	X (4.1 Å)	—	10	1.8	11
iso c'tid br	X (0.15 Å)	X (8.3 Å)	(10)	15	0.2	11
iso c'tid br	X (0.15 Å)	alpha	—	120	2.5	11

Tables 11a, b and c.

Based on tables of ZIRKLE 1954, and BORA 1958.

Special variables:

1. Irradiated in interphase.
2. Irradiated in prophase.
3. The yield of exchanges varied linearly with neutron dose but as the square of the Roentgen ray dose.
4. 100—500 R.
5. 600—1,000 R.
6. 200—300 rad.
7. 500—600 rad.
8. 22° C.
9. 2° C.
10. The low efficiency at 8.3 Å radiation is ascribed by the authors to the inability of an entire ionization track to transfer enough energy to break a chromatid.

References:

1. MULLER 1940.
2. DEMPSTER 1941.
3. EBERHARDT 1943.
4. MARSHAK 1939, 1942b.
5. MARSHAK and BRADLEY 1945.
6. MARSHAK 1939, 1942a.
7. MARSHAK 1939.
8. GILES 1940.
9. GILES and CONGER 1950.
10. THODAY 1942.
11. CATCHESIDE and LEA 1943.
12. SPENCER and BLAKESLEE 1954.
13. KIRBY-SMITH and SWANSON 1954.
14. BORA 1955.
15. ARNASON and MORRISON 1955.
16. CONGER, RANDOLPH, and JOHNSTON 1956.
18. BORA 1958.

Abbreviations:  $\gamma$  = gamma ray, X = Roentgen ray, fn = fast neutron.

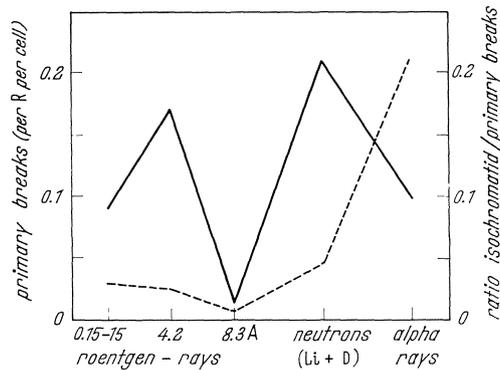


Fig. 22. Radiobiological efficiency as a function of ion density. Based on chromatid aberrations in *Tradescantia* microspores. Solid line = primary breaks; broken line = isochromatid/primary. (From calculations of LEA 1956)

relationships for the *Mormoniella* eye colour mutations induced by Roentgen rays supports this view.

A greater effectiveness of the more densely ionizing radiations is almost always observed in the case of chromosomal breaks and rearrangements (see Tables 11a, b, and c). Roentgen rays of wavelength 4 Ångströms are more effective per ionization than either longer or shorter wavelengths for the breaking of *Tradescantia* chromosomes, whereas neutrons are more effective than the most efficient Roentgen rays (increasing with decreasing energies from 7.5 MeV to 1.0 MeV). There is also evidence that neutrons are more effective in inducing structural changes in chromosomes of *Drosophila*, rodent tumours, and a variety of plants in addition to *Tradescantia*.

Alpha rays are more effective than Roentgen rays in causing observable breaks. However, this is partly due to a decreased likelihood of primary breaks reuniting when induced by very dense clusters of ionizations. The efficiency of alpha rays in producing primary breaks is less than that of neutrons (see Fig. 22).

## IV. Sensitivity, resistance and the modification of genetic damage

### 1. Sensitivity of the nucleus and cytoplasm

The extent of cleavage delay in sea urchin eggs is the same whether fertilized eggs, or the sperm prior to fertilization, are irradiated. The amount of cytoplasm exposed is therefore relatively unimportant and the nucleus must be considered the most radio-sensitive part of the cell. This conclusion has been confirmed by HENSHAW (1938) using a more direct test. Half eggs, some without nuclei and some with nuclei, can be obtained by centrifugation; both are capable of cleavage following fertilization, but only the half eggs having nuclei show a cleavage delay when irradiated prior to fertilization.

#### a) Microbeam experiments

Direct confirmation of the high sensitivity of the nucleus as compared with the cytoplasm has been obtained by microbeam irradiations of parts of cells. ZIRKLE and co-workers (1956) have used microbeams of 1.6 MeV protons in which 80 per cent of the protons fall within a 2.5 micron diameter circle and 96 per cent within a 5 micron circle. The beams produce anaphase chromosome bridges in cells of adult newt (*Triturus*) heart, cultured *in vitro*, provided that the nuclear material receives the exposure. The localized nature of the effect is most clearly apparent when individual metaphase chromosomes are irradiated; anaphase bridges usually involve only the chromosome arm or arms which have been in the beam. About 20 to 30 protons delivered to a chromosome group nearly always produce stickiness and anaphase bridges; by contrast, spindle destruction occurs only when 1,000,000 or more protons are delivered to the cytoplasm.

#### b) Other tests

An ingenious demonstration of the sensitivity of the nucleus and of the relative resistance of the cytoplasm has been possible using eggs of the parasitic wasp *Habrobracon*. Normally, unfertilized eggs develop into haploid males whereas fertilized eggs give rise to diploid females. Irradiation of an egg renders the nucleus non-functional, so development will only take place if an undamaged nucleus is supplied in the form of an unirradiated sperm. After fertilization, however, an irradiated egg will develop into a haploid male offspring which resembles its father genetically since the only functional nucleus is that from the sperm. The egg cytoplasm is thus still functional following an exposure which has inactivated its nucleus. About 2400 R is required to inactivate the nucleus when administered during first meiotic metaphase, but the cytoplasm remains functional with doses up to 54,000 R (WHITING 1948).

Not only is the cytoplasm resistant to destruction by irradiation but it is also incapable of transmitting to an unirradiated nucleus any mutagenic effect of an exposure. Mutations are not induced even by the action of heavily irradiated cytoplasm on unirradiated sperm nuclei, although mutations occur frequently in irradiated sperm (WHITING 1950).

## 2. Natural variations in sensitivity

Radiosensitivity varies in different groups of organisms and in different lines of closely related organisms. Both physiological and genetic factors are known to influence the degree of susceptibility and some of these factors have been studied in detail. In addition, the sensitivity of individual cells varies with the stage in the mitotic cycle at the time of irradiation and that of whole tissues may in turn be related to the extent of mitotic activity. Some of the more important relationships will be discussed.

### a) Chromosome number and size

Wide variations in resistance of plants to stunting and dwarfing due to chronic gamma irradiation have been observed. Some flowering plants are severely affected by as little as 30 R per day while others are only mildly affected by as much as a few thousand R per day (SPARROW and CHRISTENSEN 1953). Probably many factors operate to determine these differences, but auxin and ascorbic acid concentrations may well be involved. Curiously, plant studies have not shown any simple correlation between the resistance of *different* species and their chromosome number. However, species with especially large chromosomes (such as *Lilium*, *Tradescantia* and *Vicia*) are considerably more sensitive than are other plants with smaller chromosomes (i.e. out of about 30 species tested).

### b) Polyploidy

Very high levels of polyploidy, such as occur in the macronuclei of some protozoans, are associated with correspondingly high levels of resistance to killing by ionizing radiation. To kill half of the animals in a *Paramecium* culture, for example, requires 50,000 R (KIMBALL 1955). Similar or higher levels of resistance are found in *Tillina* (BRIDGMAN and KIMBALL 1954) and in *Tetrahymena* (ELLIOTT and CLARK 1957).

Resistance in polyploid organisms is generally attributed to the relative unimportance of deletions as a cause of death when many chromosome sets are present in the nucleus. The functions associated with lost fragments are thought to be performed by the remaining homologous (or identical) regions. However, the presence of large numbers of chromosomes might conceivably operate in the opposite direction, under certain conditions, to make the cell more vulnerable to radiation. Thus, if gross rearrangements of the kinds leading to anaphase bridge formation were an important cause of death (as they are in some organisms) radioresistance might diminish with increasing degrees of ploidy.

Polyploid cells of some organisms are capable of passing through many divisions after heavy irradiation. This indicates that dominant lethal changes are characteristically rare in such forms and, where the degree of ploidy is extreme as in the *Paramecium* macronucleus, are probably absent. Most dominant lethals have been shown to be dicentrics. It might be inferred therefore that gross rearrangements of the 2-break (exchange) type do not occur in *Paramecium*. If so, this could be due to any one of a number of circumstances: (1) An inability of broken ends to join would result in terminal deletions being the chief kind of radiation induced chromosomal aberration. (2) A preference for restitution of broken ends as compared with exchanges, or an inability of broken ends to enter into unions, might reduce the frequency of dicentrics. (3) The presence of "diffuse centromeres" (such that all regions of the chromosomes possess the capacity for anaphase separation) would presumably eliminate both losses of terminal fragments and

the formation of anaphase bridges. There is evidence which will help to discriminate between these possibilities.

The *Paramecium* cell contains both a highly polyploid macronucleus and two diploid micronuclei. When a clone of genetically identical individuals is grown in a nutrient deficient medium, pairs of individuals unite to take part in a process resembling mating and termed *autogamy*. At autogamy the two micronuclei each undergo two meiotic divisions. One of the eight haploid nuclei divides mitotically and the products, known as *pronuclei*, fuse to form a diploid nucleus (containing two identical sets of chromosomes) from which is produced the new macronucleus and micronuclei of the exautogamous clone. Where the original clone is derived from an irradiated individual, a chromosomal or gene changes in the irradiated micronucleus from which the new macronucleus and micronuclei are descended will stand a 50 per cent chance of inclusion in the new clone. Such a change would be present in the homozygous state in both the macronucleus and micronuclei.

If dicentrics and major terminal deletions were common following irradiation, the new clones would frequently be deficient for chromosomes or regions of chromosomes. However, the bulk of the mutations occurring in the micronucleus have been shown to be non-lethal and often only mildly deleterious (KIMBALL 1949a and b). This indicates that 2-break chromosomal changes are rare in the irradiated micronuclei. Presumably a similar conclusion may be drawn for the macronucleus to account for the absence of induced dominant lethality. Thus the radioresistance of protozoans with macronuclei may be due as much to an absence of lethal chromosomal aberrations as to the polyploidy of the macronucleus. The above observation suggests that the chromosomes might perhaps have diffuse centromeres, a topic which will be considered in greater detail in a later section.

Differences in radiosensitivity associated with lesser degrees of ploidy have been studied in a number of organisms. Diploid yeast cells (LATARJET and EPHRUSSI 1949) and diploid *Habrobracon* pupae and prepupae (CLARK and KELLY 1950) are more resistant than their haploid counterparts. Consistent correlations between radiosensitivity and degree of ploidy have been shown by STADLER (1929), MÜNTZING (1941a and b), FRÖIER, GELIN and GUSTAFSSON (1941) and SMITH (1943, 1946) for cereals, and by WHITING and BOSTIAN (1931) and CLARK and MITCHELL (1951) for *Habrobracon*.

This evidence of a greater resistance with higher degrees of ploidy has been taken to indicate that radiation damage is primarily chromosomal, and that recessive lethal effects of deletions (occurring only when all representatives of a chromosome region are lost from a cell) are of greater importance in causing cell death than are the dominant lethal effects of dicentrics (since the former would tend to diminish with increasing ploidy while the latter would increase). The evidence of SPARROW and SCHAIRER (1958) and of SPARROW (1959) for a progressive increase in resistance to chronic irradiation in *Chrysanthemum* throughout the polyploid sequence  $2\times$ ,  $4\times$ ,  $8\times$ ,  $10\times$ ,  $22\times$ , supports this concept as applied to some organisms under certain conditions of irradiation.

However, the expected relationship between radioresistance and degree of ploidy is not necessarily the same for chronic and for acute exposure. The former favour one-hit (predominantly recessive lethal), and the latter two-hit (dominant lethal), rearrangements. Thus a relationship observed with chronic irradiation might conceivably be reversed under conditions of acute exposure.

Degree of ploidy would not be expected to have any major effect on resistance and sensitivity of non-dividing cells, since these do not lose chromosome fragments or form anaphase bridges even if breaks are produced. In fact, adult females of *Dahlbominus*, which are diploid, are only slightly more radioresistant than the haploid males (BALDWIN 1956). By analogy, in tissues having little mitotic activity, differences in ploidy may be relatively unimportant.

Under certain conditions, death in irradiated cells occurs during prophase and it must then be attributed to physiological rather than genetic effects, since loss of chromosome fragments prior to division is impossible. Where physiological damage outweighs genetic damage, degree of ploidy would be expected to have little effect on radiosensitivity. Diploid and triploid *Drosophila* embryos, for example, are equally radiosensitive (LAMY and MULLER 1939). In *Habrobracon*, the relative sensitivity of diploid (female) and haploid (male) embryos changes with stage of development. Diploids are more resistant than haploids during the cleavage divisions (i.e. the first three hours of growth) and again at a much later stage; in the intervening period, following the formation of the blastema, diploids and haploids are equally radiosensitive (CLARK and MITCHELL 1952; CLARK 1957). During the periods of equal sensitivity the physiological causes of death are presumably more important than the genetic causes.

A diversity of relationships between radioresistance and degree of ploidy have been observed in yeasts. In some experiments radioresistance decreases with increasing ploidy from diploid to hexaploid (MORTIMER 1952, 1955, 1957) while in others the reverse relationship holds (LUCKE and SARACHEK 1953). (Haploids, however, are consistently more sensitive than diploids in all experiments.) Losses of regions of chromosomes presumably act as recessive lethals and result in death when the same locus or group of loci is lost from all sets of chromosomes (i.e. is no longer represented in) the cell. The likelihood of this diminishes with increasing ploidy. However, the chance of deaths due to dominant lethal changes increases with increasing ploidy and the net effect is probably a balance between the two. Such differences between observations might be expected since there is no reason to suppose that the relative numbers of recessive and dominant lethal changes would be constant in all strains of yeast or under all conditions of irradiation.

It is conceivable that differences in degree of ploidy might act in yet another way, by altering the sensitivity of individual chromosomes to the breakage effects of irradiation. However, BISHOP (1950a, 1952) found no appreciable differences in the numbers of induced breaks per chromosome in irradiated pollen mother cells of diploid ( $2n = 12$ ) and of tetraploid ( $2n = 24$ ) lines of *Tradescantia*; this means twice as many breaks are induced per cell in the tetraploid line.

Seedlings of the tetraploid line of *Tradescantia* are able to survive higher radiation doses than those of the diploid line indicating that dominant lethal changes are less important than recessive lethal changes. This inference is supported by the observation that dicentrics are outnumbered 4 to 1 by deletions (rings, acentric fragments and minute deletions) in pollen grain mitoses following irradiation in both lines.

Unfortunately, the relationships between survival and the types of chromosomal aberration observed in the above studies do not lend themselves to quantitative treatment since two different tissues are involved. A more precise test of the relationships might be achieved by comparing the chromosomal changes observed at metaphase of pollen grain division (which immediately precedes the development of a mature pollen grain) with survival as indicated by the ability of the resulting mature pollen grains to germinate. Pollen grains of the diploid line are haploid and therefore affected by both recessive and dominant changes, while those of the tetraploid line have two (or approximately two) sets of chromosomes and are therefore expected to be buffered against the (presumably recessive) effects of deletions. The system has an added advantage in that pollen grain division is not greatly delayed or inhibited by even large doses of radiation except when these are administered during late prophase. Physiological damage is therefore relatively unimportant when an exposure occurs in interphase or early prophase.

Another organism in which studies of radiosensitivity might be of value is sugarcane and its immediate relatives (the genus *Saccharum*). Here there are polyploid series with chromosome numbers ranging from 40 up to 156.

A number of generalizations may be drawn from studies of related organisms with differing numbers of chromosome complements. Three main causes of death are involved:

(1) homozygous or hemizygous deficiencies, (2) dominant lethal chromosomal rearrangements, and (3) physiological damage. Deficiencies decline in importance with increasing degrees of ploidy whereas dominant lethal rearrangements increase in importance. However, the balance between the two is presumably influenced both by total dose and by dose rate (high doses and high dose rates being expected to favour the 2-hit dominant changes). High ploidy is associated with high resistance under conditions of chronic exposure (which minimizes the production of dominant changes) and in systems which, for special reasons, fail to yield 2-hit rearrangements in appreciable numbers. Effects of degree of ploidy on resistance are not evident in non-dividing cells, and in cells of certain tissues may be masked by the physiological causes of death. Presumably this is also the case when irradiation is carried out at certain stages of cell division (such as late prophase).

### c) Stages in the mitotic cycle

Sensitivity of the chromosomes to induction of breakage by Roentgen rays is greatest during the period of active cell division and least during interphase. This is true for such diverse organisms as *Ascaris* (MOTTRAM 1913; HOLTHUSEN 1921; PACKARD 1916), *Habrobracon* (WHITING 1940, 1945), *Sciara* (BOZEMAN 1943; REYNOLDS 1941), frog (VINTEMBERGER 1928), onion (CONGER 1947), *Tradescantia* (SAX 1940; SAX and SWANSON 1941; NEWCOMBE 1942a; KOLLER 1946; BISHOP 1950a), tulip and hyacinth (NEWCOMBE 1942a). It is also true for both mitotic and meiotic cell divisions.

In the earlier literature a number of reports conflict with this generalization and state that metaphase and anaphase chromosomes are resistant to radiation damage. Such an impression is probably the result of a failure to observe divisions subsequent to the one in which the exposure occurred. Breaks induced at metaphase or anaphase usually fail to become apparent until the chromosomes have been through an interphase and the cell divides again. Where observation is limited to the division in which the exposure occurs, metaphase and anaphase chromosomes will seem immune to breakage when in point of fact the reverse is true.

Detailed studies of changes in sensitivity throughout different stages of the division cycle are possible only in tissues in which large numbers of cells enter division synchronously. The synchrony must also extend to the next cell division following the interphase so that there is opportunity to observe the consequences of the irradiation.

The most precise study of this kind (SPARROW 1951) employs the highly synchronized divisions preceding pollen formation in the anthers of *Trillium erectum*. Irradiation is carried out at successive stages of the first and second meiotic divisions (between which there is no interphase stage). Chromosome fragments resulting from irradiations in early meiotic prophase are, for the most part, scorable at anaphase I, while those from the later irradiations become scorable at metaphase of the subsequent pollen grain mitosis which occurs after a prolonged interphase. The number of fragments resulting from exposure to a low dose of Roentgen rays (i.e. 50 R) is greatest when the chromosomes are in the condensed state (diakinesis, metaphase and anaphase) and least during mid-interphase. The difference between maximum and minimum sensitivity is approximately 50-fold (see Fig. 23).

This study may underestimate the real variation in sensitivity since the interphase period has not been investigated in detail and might include a time of even less sensitivity to breakage than observed with irradiations on the seventh day following meiosis. Since sensitivity declines following telophase and rises again prior to the next prophase, it may perhaps reach still lower levels in more prolonged interphases.

Such studies contribute to a better understanding of the apparent relationship between mitotic activity in tissues and degree of radioresistance. A number of factors may contribute to the apparent resistance of tissues in which mitotic activity is low: (1) Only a few cells are in the highly sensitive stages of division at any one time. (2) Prolonged

interphase may be associated with an increased resistance to the induction of chromosome breakage. (3) The average period between irradiation and the onset of the next division, being long, presumably provides greater opportunity for repair of physiological damage

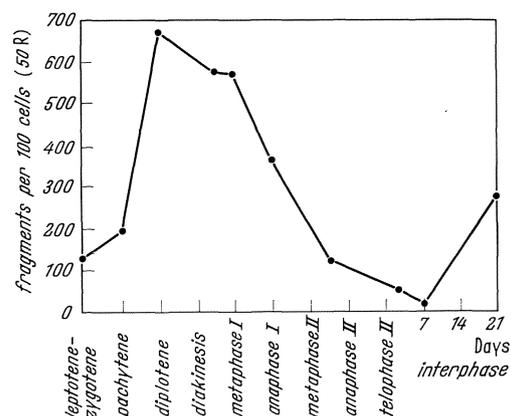


Fig. 23. Sensitivity to the induction of chromosome breaks by Roentgen rays in different stages of cell division. (Redrawn from SPARROW 1951)

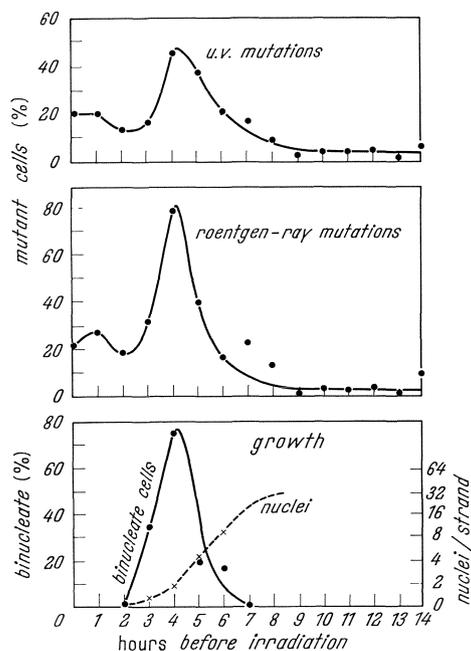


Fig. 24. Sensitivity to the induction of colony morphology mutations in germinating *Streptomyces* spores by ultraviolet and Roentgen rays. (Redrawn from NEWCOMBE 1954b)

nisms include the green alga *Spirogyra* (GEITLER 1930), the flowering plant *Luzula* (CASTRO, CÂMARA and MALHEIROS 1949a and b; OSTEGREN 1949), the Hemiptera and Coccids in the insects (HUGHES-SCHRADER and RIS 1941; RIS 1942), and probably the protozoan *Spongospora* (HORNE 1930), the mites *Pediculoides* (PATAU 1936) and *Pediculopsis* (COOPER 1939), the scorpion *Tityus* (PIZA 1940) and the nematode *Ascaris megalocephala* (WHITE 1936).

which might interfere with the division. (4) Few damaged cells attempt division at any one time.

It is unfortunate that mammalian tissues, in which there is the greatest interest, do not always lend themselves to appropriate experiments. However, such studies might be possible with tissue culture cells if methods for synchronizing the divisions could be found. They might also be possible in liver and kidney (which can be caused to regenerate) if adequate cytological preparations could be made.

A similar increase in sensitivity to the induction of visible mutations has been observed in *Streptomyces* associated with the completion of the first nuclear division in the germinating spores but not with subsequent nuclear divisions (see Fig. 24). In this material, changes in sensitivity to the mutagenic action of Roentgen rays and 2537 Ångstrom ultraviolet very closely parallel the changes in sensitivity to the lethal effects.

#### d) Diffuse centromeres

The lethal effects of chromosome breakage and rearrangement depend almost entirely on the localized nature of the centromere. Loss of acentric fragments and dicentric bridge formation during anaphase of cell division are both peculiar to chromosomes in which the capacity for active movement at anaphase is confined to a small specialized region. If all regions were equally capable of anaphase movement, chromosome breakage and rearrangement would have little effect on the orderly distribution of a complete set of chromosome material to daughter cells during mitosis.

Localization of the centromere is by no means universal and there is a diverse assortment of organisms in which its functions are distributed over the length of the chromosome, so that each part is essentially autonomous in its anaphase movements. These organisms

In cells with distributed centromeres the important genetic causes of death following irradiation (i.e. deletions and dicentrics) are absent. As a result, such cells are either resistant to killing by irradiation, or are susceptible mainly because of the physiological effects of the exposure. Organisms with distributed centromeres are suited to studies of physiological damage uncomplicated by lethal genetic changes. It is therefore regrettable that the studies so far carried out have used radiation almost exclusively for investigating the nature of the diffuse centromere. As a result no detailed quantitative observations, comparable with those in organisms having more conventional chromosomes, have yet been made.

In *Spirgyra crassa* (haploid chromosome number = 12) the effects of exposure to 3,000 and 15,000 R have been studied by GOODWARD (1954). The lower dose produce about 6 fragments per nucleus which move to the poles at anaphase, the cells continuing to live and divide normally, the fragments remaining throughout. The higher dose gives about 90 fragments and cells die within about nine days. Only occasionally are chromosomes or fragments left on the equator of the mitotic spindle following either dose. No comparison has been made with the radioresistance of other algae, but haploid cells would not usually be expected to survive such large doses.

In *Luzula purpurea* (a sedge with a diploid chromosome number of 6) exposures of 1,000 to 10,000 R to early seedlings have produced from 1 to 30 fragments per cell, and occasionally more. During cell division all fragments behave like separate chromosomes, orienting themselves in the metaphase plate, undergoing division, and moving to the poles at anaphase as if each were an independent unit. This behavior continues throughout the life of the irradiated plant and through the eventual meiotic divisions preceding pollen grain formation (CASTRO, CÂMARA and MALHEIROS 1949a and b; CASTRO and NORONHA-WAGNER 1952). Losses, if they occur at all, are rare.

These observations agree closely with the classical descriptions of the behavior of irradiated coccid chromosomes. In *Steatococcus tuberculatus* (in which haploid males have a chromosome number of 2) the number of fragments resulting from exposure of male embryos to doses of 100 to 300 R is, in some cells, as high as 20 or more (HUGHES-SCHRADER and RIS 1941). The fragments vary in size but behave exactly like normal chromosomes, and synchrony of movement during divisions is unaffected. No anaphase bridges or other kinds of lethal change have been observed in cytological preparations up to five days after irradiation, and development is normal in individuals followed until emergence as nymphs 44 days after irradiation. Fragments survive successive cell divisions and may be observed in nymphs from irradiated embryos.

Losses of fragments sometimes occur, and are presumably lethal to cells of haploid males. Three different mechanisms of loss are involved: (1) A chromosome fragment may sometimes lag on the spindle at anaphase; the reason is not known but similar observations have been made in *Luzula*. (2) Fragments sometimes become "vesiculated" and fail to participate in the formation of the spindle, as a result of which they remain outside the spindle body; again, the cause is unknown but injury other than chromosome breakage is indicated. (3) Spindles with more than two poles are sometimes formed, as if the spindle organizer (centriole) at one of the poles had divided precociously in preparation for the next mitosis; this results in loss of parts of the chromosome complement from one daughter nucleus, or in the formation of three daughter nuclei two of which have incomplete complements. However, all of these events are rare and cell deaths from genetic causes appear to be relatively unimportant.

As yet there has been no quantitative study in *Luzula* of the frequency of induced fragments in relation to dose, or of the possible frequency of losses over varying time intervals following exposure. Nor has survival been studied in relation to dose, or compared with survival in other insect embryos following irradiation. Since only low doses have been used in these experiments it is not known whether the presence of diffuse centromeres in this organism is associated with any high degree of radioresistance.

Similar experiments in the aphid *Tamalia* have been carried out by RIS (1942). (Males of this organism have 4 autosomes plus one X-chromosome, and females have 4 autosomes plus 2 X-chromosomes.) Doses of 150 to 1000 R to parthenogenetic females yield up to about 20 fragments per cell. No lagging of the fragments at anaphase has been seen in the many embryos studied.

Whether broken ends of chromosomes with distributed centromeres ever reunite is not clear from the insect studies. Reattachments and anaphase bridges have been reported in meiotic divisions of *Steatococcus* shortly after irradiation but not in the mitotic divisions. These bridges have not been followed through subsequent cell divisions and it is not clear whether they represent genuine unions and rearrangements of fragments or merely temporary associations of parts. A few reciprocal translocations (indicating breakage and union) have been reported in *Luzula* (CASTRO, HORONHA-WAGNER and CÂMARA 1954), and it seems reasonable to expect that 2-break rearrangements do occur in chromosomes with distributed centromeres but that their detection depends on a careful observation of the pairing relationships at a subsequent meiotic division.

There is reason to speculate that the exceptionally high resistance of *Paramecium* to radiation, which was discussed earlier, may be due as much to the presence of distributed centromeres as to polyploidy of the macronucleus, since: (1) Such centromeres have already been observed in another group of protozoans (HORN 1930). (2) The absence of dominant lethals in irradiated macronuclei could perhaps be readily accounted for in this way. (3) The relative infrequency of recessive lethals (e.g. deletions) in irradiated micronuclei is an expected consequence of the presence of diffuse centromeres.

The behavior of irradiated epidermal cells of the Hemipteran *Rhodnius* likewise suggests that its chromosomes may have distributed centromeres. No chromosome bridges or lagging fragments are seen at anaphase following irradiation and the causes of cell death are obscure. Irradiated cells are not prevented from proceeding to metaphase of cell division, but tend to remain in an arrested metaphase stage over long periods (BALDWIN 1959a, b and c). The damage, whatever its nature, can persist indefinitely in a latent form following irradiation in interphase. Only when the heavily irradiated cells attempt to divide do they die.

If distributed centromeres are the rule throughout the Hemiptera as believed by HUGHES-SCHRADER and RIS (1941), eggs and embryos of this group should show greater radioresistance than those of other groups of insects at stages of development in which the physiological causes of death are relatively unimportant, but not at other stages. In view of the evidence of CLARK and MITCHELL (1952) that induced chromosomal aberrations are an important cause of cell death in *Habrobracon* embryos irradiated during cleavage, but that physiological causes of death predominate shortly after the completion of this stage, it might perhaps be expected that Hemipteran embryos would show an initial high level of resistance followed by a decline during the stage in which the physiological effects normally predominate.

### 3. Mutations to radioresistance

(see Plates IX and X)

Hereditary changes which result in increased radioresistance occur in *Escherichia coli* and in mammalian cells cultured *in vitro*. Evidence from these indicates something of the nature of radiation resistance and sensitivity and is also relevant to the more specific problem of how tumors become resistant to radiotherapy.

Bacterial mutations to radiation resistance are of special interest because of the thoroughness with which they have been investigated. Resistant mutants of *Escherichia coli* strain B were originally found by WITKIN (1946, 1947) following high doses of 2537 Å ultraviolet which left only about one surviving cell per 10<sup>4</sup> exposed. The resistant strain, known as B/r, proved to have a much higher resistance than the parent strain to both

ionizing radiation and ultraviolet (see Fig. 25 and 26). Survival curves for the sensitive parent strain show a characteristic abrupt change in slope at approximately 1 per cent survival, with both roentgen ray and ultraviolet exposures, which is absent in the corresponding curves for the resistant mutant. The change in killing rate at this point, however, is not due to an admixture of genetically resistant cells in cultures of the sensitive strain since the average number of such cells has been shown to be only about one or two per  $10^5$  of the parent type. No satisfactory explanation of the shape of the survival curve for strain *B* has yet been advanced.

Special screening procedures have been developed to detect and count the few resistant mutant cells in the presence of large numbers of parent type sensitive cells. The survival curves for the two strains show that any single exposure large enough to kill all sensitive bacteria must also eliminate most of the resistant cells. This difficulty is overcome by

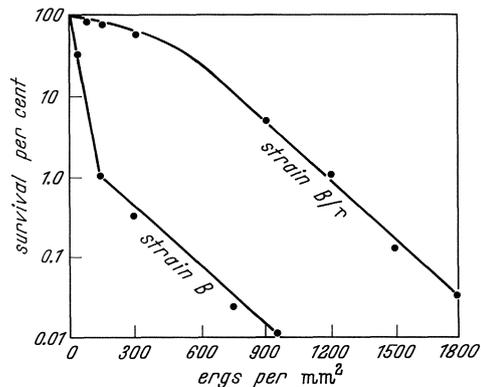


Fig. 25. Resistance of *Escherichia coli* strains B and B/r to ultraviolet. (Redrawn from WITKIN 1947)

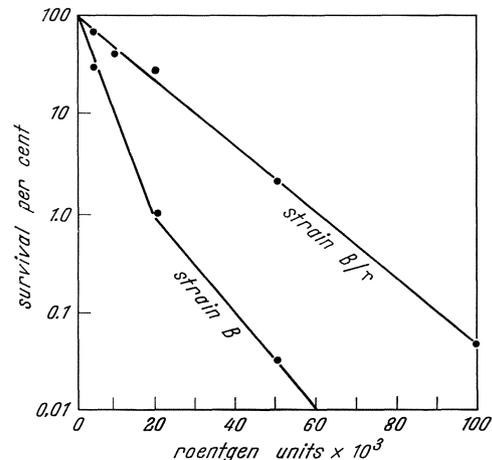


Fig. 26. Resistance of *Escherichia coli* strains B and B/r to Roentgen rays. (Redrawn from WITKIN 1947)

using a small initial exposure (e.g. 50 erg per mm<sup>2</sup>, of ultraviolet) which permits 100 per cent of the resistant bacteria to survive but reduces the sensitive cells to about 10 per cent. Further, during a subsequent incubation on agar the resistant cells multiply over a 3 hour period to form microcolonies of about 100 cells each, while division of the surviving sensitive cells is still inhibited. The sensitive cells elongate into snake-like filaments which are sometimes hundreds of times the normal cell length but which nevertheless prove to be as sensitive to radiation killing as are single parent type cells. Thus, a second and much heavier exposure sufficient to kill all but 10 per cent of the resistant cells (700 erg per mm<sup>2</sup>) administered at this time completely eliminates the sensitive cells, while leaving a microcolony of approximately 10 surviving cells for each original resistant cell. Using this technique, a number of quantitative studies have been possible.

The mutant strain has been shown to be stable over long periods of subculture and storage in the cold. In mixed cultures with the parent strain it grows at almost precisely the same rate. However, when the mixed cultures are permitted to age in liquid medium at 37° C without being subcultured, the proportion of B/r cells declines rapidly (i.e. by factors of  $10^5$  to  $10^6$  over a 20 day period).

Most important, cells of the resistant strain have been clearly shown to arise in sensitive cultures by spontaneous mutation, prior to exposure to radiation. The experimental design and statistical methods used were developed some time earlier by LURIA and DELBRÜCK (1943) for the study of spontaneous mutations of bacteria to bacteriophage resistance. The test consists of growing a number of cultures of the parent strain from inocula which are much too small to contain pre-existing mutants. (In the present experi-

ments the cultures are started from about 20 cells each and grown to about  $10^6$  cells.) The number of mutant cells in each fully grown culture is then counted.

A wide fluctuation in number of mutant cells is expected in different replicate cultures, the number in any one tube depending upon the time of the mutational event during growth. In some cultures a mutations will occur by chance during the early stages while the population is still small, and will result in many mutant descendants; but in the majority of cultures mutations will occur after the population has already increased and will therefore give rise to fewer descendants. This fluctuation is especially noticeable when a series of independently grown cultures of appropriate size is compared with a series of samples from a single culture. It can be shown that in the former the statistical *variance* will greatly exceed the average number of mutants per culture, while in the

Table 12. *Evidence for the mutational origin of radiation resistant clones in independent cultures of Escherichia coli strain B based on the "fluctuation test"*

The numbers of resistant bacteria are determined by the double-irradiation technique using 2537 Å ultraviolet irradiation: first dose 50 erg/mm<sup>2</sup> followed by 3 to 5 hours incubation and a second dose of 1500 erg/mm<sup>2</sup>.

Experiment	No. of samples tested	Cells per sample ( $\times 10^6$ )	Resistant bacteria per sample					
			range	average	variance	var/av	$\chi^2$	p
Samples from independent cultures								
1	10	1.0	0—98	19.5	764.7	39.0	373	—
2	10	1.1	0—76	18.3	574.7	31.0	280	—
3	20	0.95	0—116	16.1	1509.8	94.0	844	—
Samples from single cultures								
1	10	0.97	5—16	9.3	12.9	1.4	13	0.2
2	10	1.0	0—4	1.3	1.8	1.4	12	0.2
3	20	1.2	6—18	10.8	6.9	0.6	12	0.8

From data of WITKIN 1947.

rate (see LURIA and DELBRÜCK 1943 for the derivation of this formula). Mutations of *E. coli* strain *B* to radiation resistance occur about once or twice in every  $10^5$  bacterial cell divisions.

Although the mutations to radiation resistance occur spontaneously, they presumably can also be induced by exposure to radiation, as are other mutations. WITKIN (1947) has found that following heavy doses of ultraviolet the number of surviving cells which develop into resistant colonies is far increased above the value expected simply from the original proportion of resistant cells and the theoretical difference in survival. This is interpreted as evidence that some mutations to radiation resistance are in fact induced by the radiation.

One of the characteristics of the resistant strain *B/r* is that it does not grow into filaments following exposure to ionizing radiation and ultraviolet as does the parent strain *B*. This property is characteristic of all the independently derived radiation resistant mutants from strain *B*. Some of these mutations are also associated with resistance to penicillin or to sulphathiazole, all combinations of resistance and sensitivity to the two drugs being observed in the series of mutants studied. Strain *B/r* (one of the radioresistant mutant lines) is capable of further mutations to higher levels of drug resistance and it is apparent that the successive mutations have an additive effect, the drug resistant variants derived as double mutants from strain *B/r* possessing higher levels of drug resistance (but not of radiation resistance) than those derived directly from strain *B*.

Although resistant to the lethal effects of both ultraviolet and ionizing radiations, strain *B/r* is as sensitive to the induction of mutations by irradiation as is the parent

latter these two values will be approximately equal (see Table 12). This test of the mutational origin of variant forms of bacteria has been called the "fluctuation test".

The spontaneous mutation rate to radiation resistance can be estimated from the data shown in Table 12 using the equation:

$$r = a N_t \log_e (C a N_t)$$

where  $r$  is the experimental average of the number of mutants in a series of similar cultures,  $N_t$  the number of bacteria at the time of observation,  $C$  the number of cultures, and  $a$  the mutation

strain *B*. Probably radiation killing in strain *B* (and perhaps in both strains) occurs mainly through physiological mechanisms rather than through the production of lethal mutations.

These observations on bacteria raise the question of whether the cells of higher organisms undergo similar hereditary changes to increased levels of radiation resistance. It has long been known that tumours become resistant to radiotherapy but a number of different interpretations could account for this. Probably a proportion of such cases are due to injury of the connective tissue in which the neoplastic cells are embedded. As evidence in support of this, there are examples of radioresistant tumours of experimental animals which lose their resistance when transplanted to a new host (NICE 1957; BAGG 1938; MONTGOMERY and WARREN 1953) and of unsuccessful attempts to select radioresistant lines of ascites tumours (CONGER and LUIPPOLD 1957). In view of this it has sometimes been concluded that selection of resistant tumour cells is probably not a major mechanism in the development of radioresistance (UPTON 1958). So long as direct evidence was lacking the case for the development of genetically resistant lines of tumour cells had to be based on analogy with the development of radiation resistance in bacteria, and drug resistance in both bacteria (DEMEREC 1955; NEWCOMBE and HAWIRKO 1949; NEWCOMBE and NYHOLM 1950) and leukaemic cells (LAW 1952).

However, there are now clearcut demonstrations of changes in the radioresistance of tumours, arising as a result of repeated irradiation, which persist after transplantation (DITTRICH, HÖHNE and SCHUBERT 1956), and of similar effects in mammalian cells cultured *in vitro* (RHYNAS and NEWCOMBE 1960; WHITFIELD and RIXON 1960).

Resistant Ehrlich ascites carcinoma cells have been obtained by DITTRICH and his co-workers (1956) by repeated irradiation and transplantation of the tumours into muscle of the hind legs of mice (unirradiated control lines being also transplanted at the same time into the muscles of the opposite hind legs) (see Fig. 27). Accumulated exposures totaling 22,000 to 28,000 R have been used to develop the resistant lines. The lines are characterized by considerably less inhibition of growth as compared with controls, when exposed *in vivo* to test doses of 2000 R, and by less mitotic inhibition following *in vivo* exposures to 1200 R.

The increase in radioresistance is associated with an increase of anaerobic glycolysis, i.e. the resistant lines are more capable than the parental line of obtaining energy even when deprived of oxygen. It is concluded that radioresistant cells are probably formed by spontaneous mutation and that the character is transmitted to the descendant cells, the mutant cells having a better chance for survival and multiplication under conditions of repeated irradiation. In the present connection "mutation" is used in the broad sense of any heritable change and does not necessarily imply gene mutation. These workers

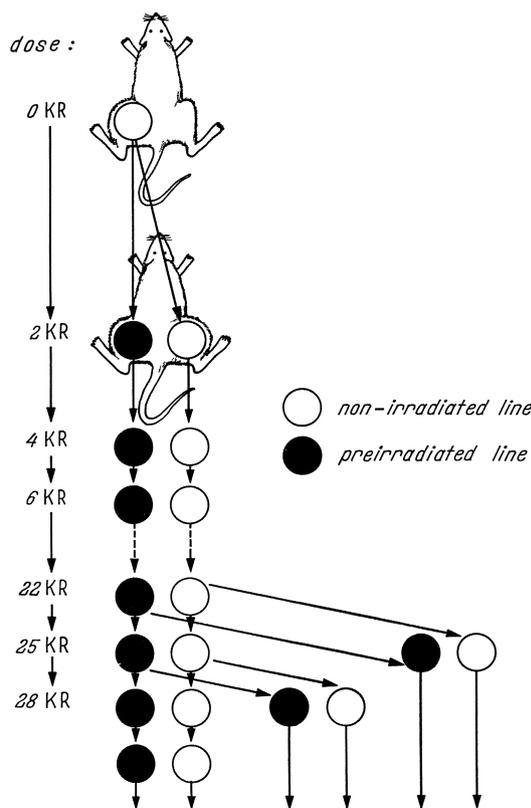


Fig. 27. Pre-irradiation of Ehrlich ascites carcinoma. (Redrawn from DITTRICH, HÖHNE & SCHUBERT 1956)

have not looked for chromosomal changes in the resistant lines, nor has resistance been developed in tumour cells under the more strictly controllable conditions prevailing in *in vitro* cultures.

More recently, radioresistant variants of mouse fibroblast cells (Earle's L strain) have been obtained during growth in *in vitro* culture. These studies have led to the discovery

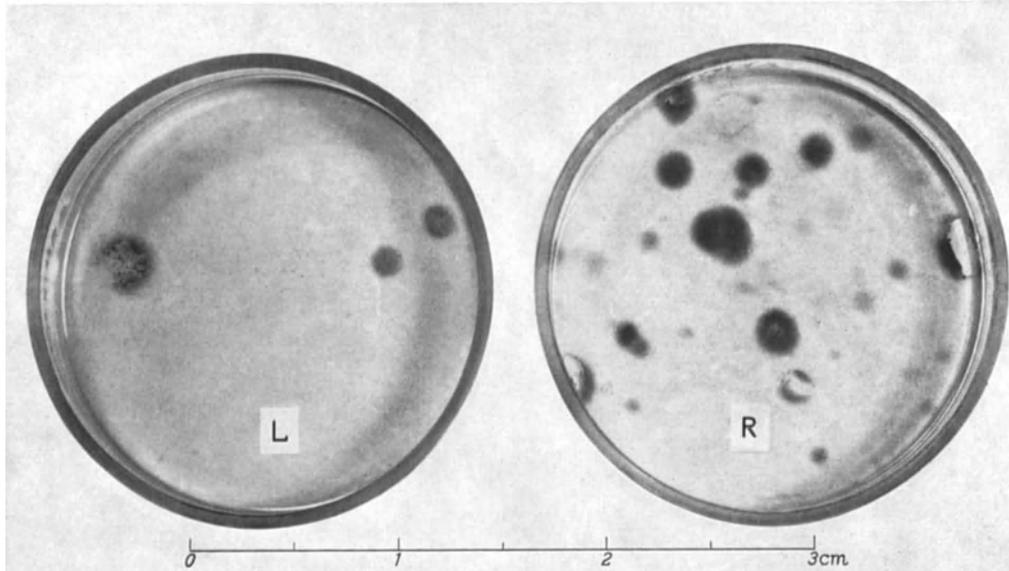


Plate IX. Radioresistant and radiosensitive colonies of Earle's L mouse fibroblast cells. The colonies are grown from survivors of a heavily irradiated cell culture; large colonies are radioresistant and small colonies radiosensitive. (Photo by WHITFIELD unpublished)

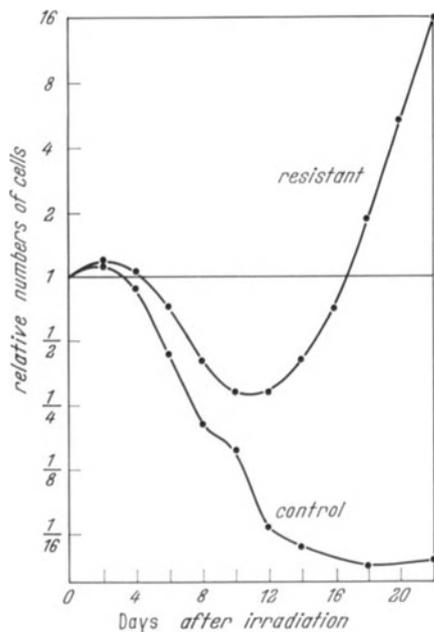


Fig. 28

Fig. 28. Behavior of resistant and normal lines of mouse fibroblast cells following test exposures to 2,000 R. (Not all of the cells counted were viable.) (From RHYNAS and NEWCOMBE 1960)

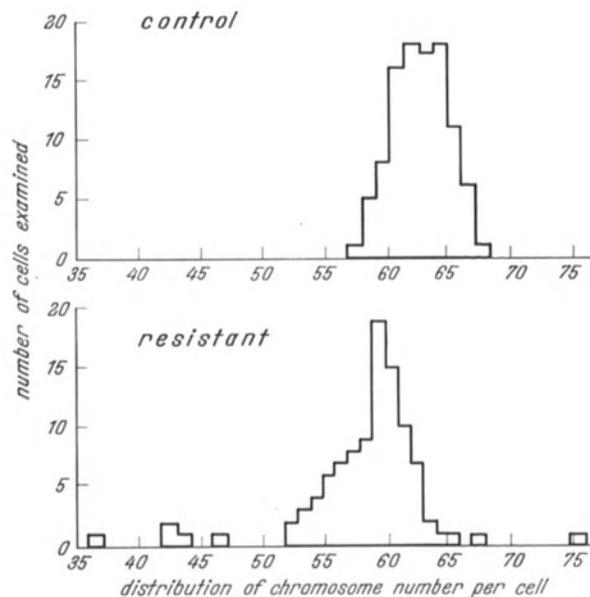


Fig. 29

Fig. 29. Distribution of chromosome numbers in resistant and normal lines of mouse fibroblast cells. (From RHYNAS and NEWCOMBE 1960)

of consistent chromosome differences in the resistant as compared with the parent lines. Two methods of selection have been successful: repeated irradiation and growth in liquid suspension (RHYNAS and NEWCOMBE 1960), and irradiation followed by colony growth with selection from the larger colonies (WHITFIELD and RIXON 1960; see Plate IX). Resistance is indicated both by viable cell counts (see Fig. 28), and by colony counts, following a test exposure. The former authors have demonstrated consistently lower modal chromosome numbers in eight resistant lines as compared with the parent strain; the lower numbers are associated also with an increased variation in number (see Fig. 29, and Plate X). The latter authors have derived sublines from their original resistant lines by means of subsequent irradiations and have shown that these are not characterized by any further increase in resistance. Resistant lines were found by them to possess altered metabolic properties (i.e. rates of anaerobic glycolysis, oxygen consumption and catalase activity) but the directions of the observed changes are not consistently correlated with radiation resistance in the different lines compared.

Although mammalian cells clearly undergo genetic changes resulting in an increased level of radioresistance the evi-

dence does not indicate which is the more important of the two possible mechanisms by which tumours develop resistance to radiotherapy. However it does suggest that genetically variant tumour cells may, in some cases at least, be selected by repeated

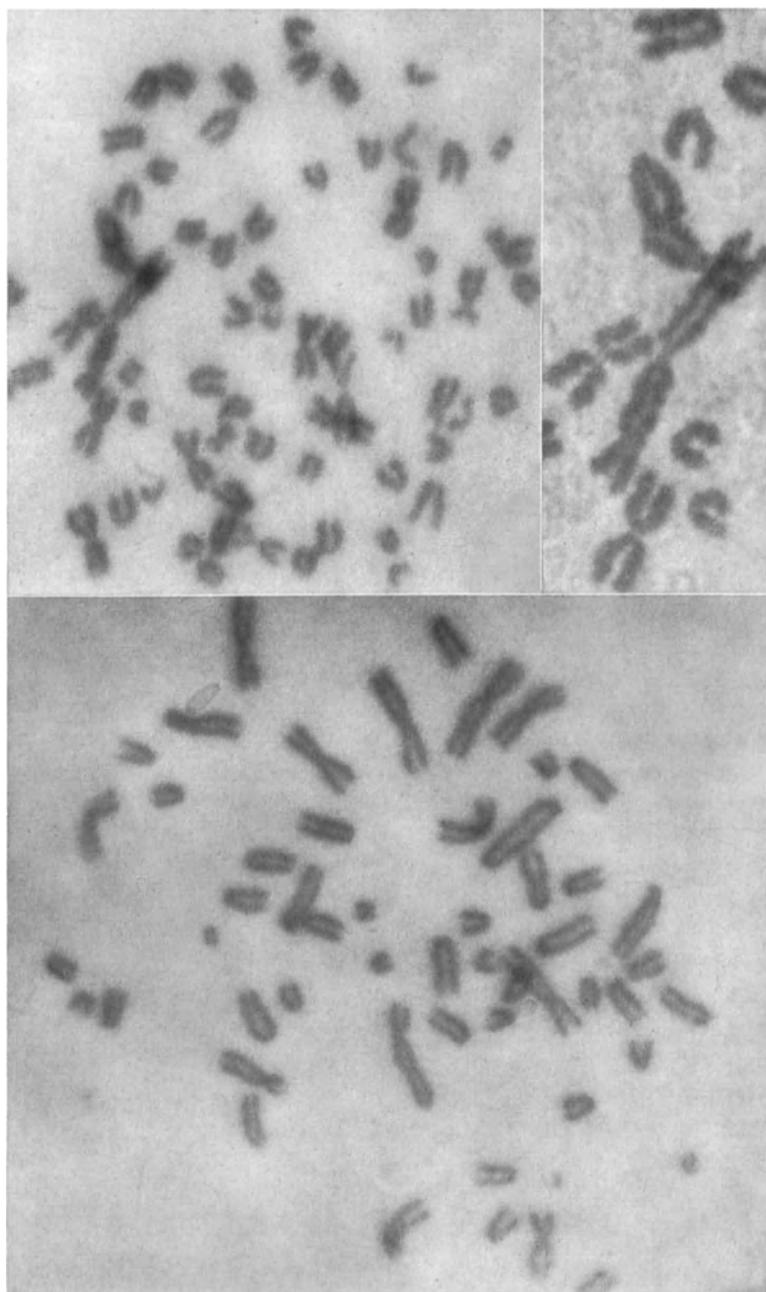


Plate X. Chromosomes of normal and resistant strains of Earle's L mouse fibroblast cells. Upper left — Chromosomes of a normal cell; note one very long chromosome, shown enlarged at upper right. Bottom — Chromosomes of a radiation resistant cell, characteristically lacking the long chromosome and having a lower total number. (From RHYNAS and NEWCOMBE 1960)

irradiations to yield a more resistant cell population within tumours. In view of the increased capacity for anaerobic glycolysis observed by DITTRICH and co-workers (1956) in radioresistant cells it is conceivable that in the absence of radiation a restriction in oxygen supply within a tumour might likewise favour the selection of resistant cells. If so, some tumours might become progressively more radioresistant through the selection of resistant cells, in the absence of therapy.

There is as yet no evidence that genetically resistant lines of multicellular organisms can be developed artificially. It is also unlikely that changes in the genetic materials of somatic cells play any important part in the "acclimatizations" or "adaptations" of organisms to radiation that have been reported (DACQUISTO 1959; CRONKITE *et al.* 1950).

#### 4. Artificial modification of the effects

Manipulation of the external conditions during irradiation has been a valuable tool for discriminating between the various possible mechanisms of damage. Thus, as indicated earlier, variations in the distribution of the ionizations both in time and space have yielded information concerning the manner of chromosome breakage and of union of broken ends. In addition, the effects of differences in the external environment of the cell, before, during, and after the irradiation, upon the yield of aberrations have been extensively studied.

Sometimes a simple rationale has determined the nature of the supplementary treatment, as the use of centrifugation (SAX 1943) and sonic vibrations (CONGER 1948) to prevent restitution and obtain more direct evidence of the inferred excess of primary breaks. The effects of other supplementary treatments have often been less readily predictable at the outset of the experiments. Discoveries of modifying agents have usually stimulated further experiments designed, in part, to discriminate between alternative interpretations of their effects. However, due to the complexity of the genetic apparatus, it is hardly surprising that a large body of empirical observations has resulted, of which only a limited part has been satisfactorily interpreted so far. Nevertheless, such studies have both practical and theoretical implications. As an example, discovery of the oxygen effect has suggested ways in which an improved differential between damage to a tumour and damage to the tumour bed may sometimes be achieved during therapeutic irradiations.

##### a) Oxygen and other gases

A reduction in the radiosensitivity of tumour cells resulting from anaerobiosis was demonstrated by CRABTREE and CRAMER in 1934, and a similar phenomenon in broadbean (*Vicia faba*) root tips was used by MOTTRAM (1935) to demonstrate that this reduced sensitivity could not be the result of a reduction in number of dividing cells at the time of irradiation. Since the lethal effect of ionizing radiation on the growing tip of the *Vicia* root was believed to be due predominantly to genetic damage it was reasonable to suppose that the numbers of induced chromosomal aberrations would probably be greater when an exposure is made in the presence of oxygen.

The predicted difference has been demonstrated by THODAY and READ (1947) using *Vicia* root tips grown in water bubbled either with nitrogen or pure oxygen. Under these two conditions, Roentgen ray exposures (to 143 R) result in numbers of subsequent abnormal anaphases differing by a factor of approximately three (see Fig. 30). The reduced sensitivity of the chromosomes to radiation induced breakage in the absence of oxygen is associated with a decrease in the inhibitory effect of the irradiation on growth. Oxygen is known to be the important variable because nitrous oxide, carbon dioxide, or hydrogen, when substituted for nitrogen during an exposure, result in similar reductions in radiosensitivity as judged by measurements of root tip growth.

It would be a mistake to suppose that such an experiment proves the effect of ionizing radiation on root tip growth to be mediated necessarily through chromosomal damage, since sensitivity to radiation in the presence of oxygen might be a common property of more than one system. However, there are other reasons for believing that genetic rather than physiological damage is the important factor in inhibition of growth of *Vicia* root tips.

A clue to the probable physical basis of the increased sensitivity in the presence of oxygen is provided by the fact that water in which oxygen is dissolved forms hydrogen peroxide as a decomposition product under Roentgen irradiation, at a rate of about one half to one molecule per ion pair, and that peroxide occurs only in small quantities when oxygen is absent (FRICKE 1934; BONET-MAURY and LEFORT 1948). However, when water is exposed to alpha rays hydrogen peroxide is formed even in the absence of dissolved oxygen, presumably because of the high local concentrations of OH radicals which permit these to unite in appreciable numbers to form  $H_2O_2$  (NURNBERGER 1936; BONET-MAURY and LEFORT 1948). It might therefore be expected that the presence or absence of oxygen would make little difference to the sensitivity of the chromosomes to breakage by alpha rays. This has been shown to be the case by THODAY and READ (1949) in experiments with *Vicia* root tip chromosomes (see Fig. 31) which closely paralleled the earlier study with Roentgen rays.

In the absence of oxygen, water is broken by Roentgen rays into the free radicals H and OH; owing to their unsatisfied bonds such radicals are highly reactive. Where the separation of the ionizations is relatively uniform, reunion of OH with the adjacent H radical to form water is a much more likely event than union of two OH radicals to form peroxide. However, peroxide can be formed by Roentgen rays if dissolved oxygen is present since the H radicals then combine with the oxygen to produce hydroperoxyl,  $HO_2$ . Molecular oxygen thus acts as a scavenger of H radicals thereby prolonging the lifetime of OH radicals so that a larger proportion unite to form hydrogen peroxide (DAINTON 1959). Alpha rays, on the other hand, produce large numbers of OH and H radicals in close proximity and this clustering favours the union of OH with other OH radicals to produce  $H_2O_2$  even when oxygen is lacking. It is not unexpected therefore that the potentiating effect of oxygen is quantitatively similar in living systems and in dilute chemicals such as  $FeSO_4$  in acid solution.

Unfortunately it is difficult to produce convincing evidence that the above mechanism is responsible for the absence of an oxygen effect in living systems exposed to alpha rays. As pointed out by MULLER (1954a and b) each alpha track crossing a chromatin

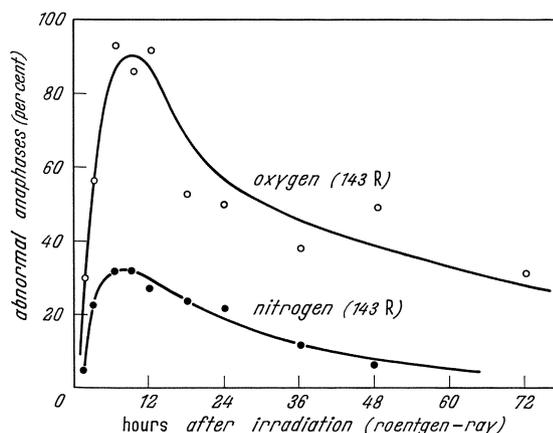


Fig. 30. Oxygen effect with Roentgen irradiation of *Vicia* root tips. (Redrawn from THODAY and READ 1947)

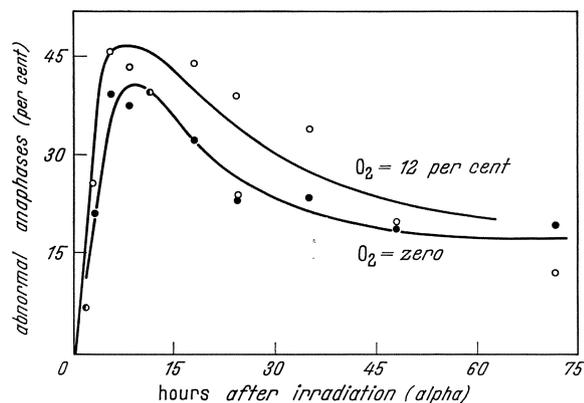


Fig. 31. Oxygen effect with alpha irradiation of *Vicia* root tips. (Redrawn from THODAY and READ 1949)

thread has such a high chance of causing an effective break in the thread anyway, simply because of the high ion density in the track; that even if oxygen did promote breakage its influence would be largely superfluous and would lead to few additional breaks. Thus, although the oxygen effect is a well established phenomenon in many biological systems, an explanation in terms of hydrogen peroxide production is still lacking experimental proof.

Following on these initial findings the effect of oxygen has been studied by a large number of workers. As might be expected, the action of neutrons is found to be influenced by the presence or absence of oxygen to an extent intermediate between that observed for Roentgen ray and for alpha ray effects (GILES and RILEY 1949; SWANSON 1955).

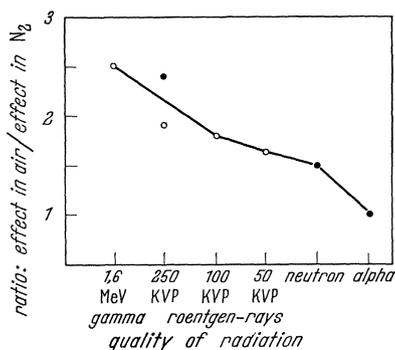


Fig. 32

Fig. 32. Extent of the oxygen effect with different qualities of radiation. From studies of chromosomal aberrations in *Tradescantia*. Black points are from data of GILES, BEATTY and RILEY 1952; white points are from data of SWANSON 1955

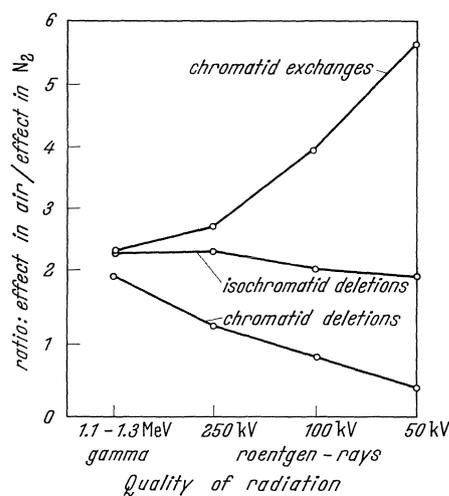


Fig. 33

Fig. 33. Extent of the oxygen effect on the kinds of chromatin aberration in *Tradescantia* resulting from different qualities of radiation. (From data of SWANSON 1955)

The effectiveness of oxygen in increasing the total yield of chromatid breaks in *Tradescantia* has been shown to be greatest with the less densely ionizing radiations and to decrease with increasing ion density. Thus the ratio of the effect in air over that in nitrogen, known as the "Air/N<sub>2</sub> ratio", declines from a value of approximately 2.5 for gamma rays, through successively lower values for increasingly soft Roentgen rays, to 1.5 for neutrons and unity for alpha particles (see Fig. 32).

However not all of the relationships associated with the oxygen effect are as readily explained as those discussed so far. An Air/N<sub>2</sub> ratio of approximately 2.5 has been observed for a considerable number of the radiation induced effects where hard Roentgen rays or gamma rays have been used. Unexpected exceptions have, however, been found when the different kinds of chromosomal aberrations are taken into consideration: (1) The Air/N<sub>2</sub> ratio for chromatid deletions is much lower than for isochromatid deletions and chromatid exchanges (see Fig. 33). (2) The Air/N<sub>2</sub> ratios for all three types of chromatin aberration are consistently lower when cells are irradiated during the earlier stages of division (see Table 13). (3) The Air/N<sub>2</sub> ratios for chromatid deletions and exchanges vary in opposite directions with changes in ion density, isochromatid deletions being intermediate and relatively unaffected; the extent of this variation is such that soft (50 kVp) Roentgen rays actually produce twice as many chromatid deletions in the absence of air as in its presence, i.e. the oxygen effect is reversed for this particular class of change

(see Fig. 33). Although some of these relationships may be due to influences which differentially modify the processes of breakage, restitution, and new union, yet it is difficult to devise any single interpretation which will account for all of these various effects and be susceptible to experimental proof.

While the known variations in hydrogen peroxide production associated with presence or absence of dissolved oxygen strongly suggest a physical explanation for the oxygen effect, such comparisons do not exclude the possibility of a physiological response of the organism to the presence of oxygen resulting indirectly in an increased responsiveness to radiation. However, experiments with *Tradescantia* in which the oxygen is introduced only *during* the irradiation show a marked increase in aberration frequency (GILES and RILEY 1950; GILES 1952). The times involved are certainly not great enough to permit any alteration in the numbers of mitoses sufficient to change the sensitivity of the cells. Introduction of oxygen immediately *after* an exposure in its absence does not increase the yield of aberrations in *Tradescantia*.

More precise tests have been carried out in which inactivation of bacteria is observed, and the potentiating effect of oxygen is measured when the gas is introduced only during an extremely brief exposure to radiation (HOWARD-FLANDERS and MOORE 1958). These experiments make use of a high density electron beam and of a fast moving carriage to bring bacteria into the beam for an exposure which starts less than 10 milliseconds after the first contact of the bacteria with oxygen. As a control experiment, bacteria are irradiated in pure nitrogen and then passed into oxygen within 10 milliseconds after the irradiation. The full oxygen sensitivity is shown in the first experiment and the full anaerobic resistance in the second.

This clear demonstration of the non-physiological nature of the oxygen effect does not rule out the possibility that other consequences of oxygen absence may be mediated through physiological mechanisms. Thus, *Streptomyces* spores become resistant to both the mutagenic and the lethal effects of irradiation when maintained without oxygen, by bubbling N<sub>2</sub> through the medium, for a 24 hour period (see Table 14). This effect is not due to differences in the amounts of dissolved oxygen at the time of irradiation since all suspensions (N<sub>2</sub> bubbled, and controls) are diluted in equal volumes of the same chilled saline before they are irradiated. It could not be due to the presence of nuclear divisions in a small proportion of the nitrogen treated spores; a few occur but these would increase rather than decrease the sensitivity.

There are still other unexplained effects associated with oxygen. Radiation induced loss of a ring-shaped X-chromosome in *Drosophila*, as indicated by disturbed sex ratios, shows no increase in the presence of oxygen. This would be expected if breakage of the ring were uninfluenced by the oxygen effect (BAKER and v. HALLE 1955). Likewise, a reduction in oxygen concentration to 5 per cent during irradiation fails to reduce the numbers of dominant lethal changes induced by Roentgen rays in mouse spermatozoa (RUSSELL, KILE and RUSSELL 1951).

Also, inactivation of extracellular genetic material obtained from *Pneumococci* in the form of the "transforming principle" (so named because of its normal capacity to genetically alter related strains of bacteria) has been reported to be independent of oxygen concentration by EPHRUSSI-TAYLOR and LATARJET (1954). Studies of phage inactivation have either shown no difference (HEWITT and READ 1950) or else greater inactivation in anoxic suspension (BACHOFER and POTTINGER 1954), while ALPER (1948, 1955) reports that more inactivation is induced when anoxia is obtained with H<sub>2</sub> instead of with N<sub>2</sub> and

Table 13. Influence of stage in the division cycle on the "Air/N<sub>2</sub> ratios" for Roentgen ray induced chromatid aberrations in *Tradescantia*

Time of irradiation (hours before metaphase)	Air/N <sub>2</sub> ratios		
	chromatid deletions	isochromatid deletions	exchanges
8	1.1	2.8	2.9
12	1.1	2.6	2.4
24	1.0	2.3	2.9

From data of SWANSON and SCHWARTZ 1953.

interprets this as due to the production of reducing radicals. Both carbon monoxide and carbon dioxide, when combined with air, lead to an increase in aberration frequency of 3 to 4 fold (KING, SCHNEIDERMAN and SAX 1951; KING and SCHNEIDERMAN 1952; SCHNEIDERMAN and KING 1953). The CO might act through the blocking of cytochrome oxidase to increase the formation of peroxides, but how CO<sub>2</sub> could act synergistically with oxygen is not known.

Observations on the potentiating effect of oxygen have been extended to include chromosome aberrations in a range of organisms: *Drosophila* (BAKER and EDINGTON 1952), maize (SCHWARTZ 1952), and barley seeds irradiated in oxygen under pressure as compared with irradiation in a vacuum (HAYDEN and SMITH). Recessive lethal changes

Table 14. *Physiological control of sensitivity to induced mutation and for killing of Streptomyces spores while in the uninucleate state*  
Effect of bubbling with nitrogen during 24 hours incubation in medium prior to irradiation.

Experiment (suspension)	Hour's incubation with medium and N <sub>2</sub>	Mutation				Survival per cent
		mutant colonies	total colonies	per cent	factor reduction	
Unirradiated						
A	0	2 /	245 =	0.8	{ no detectable killing with incubation	
A	24	5 /	355 =	1.4		
B	0	3 /	265 =	1.1		
B	24	38 /	1,200 =	3.1		
Ultraviolet						
A	0	249 /	966 =	25.8		4
A	24	175 /	1,152 =	15.2	0.59	35
B	0	249 /	1,109 =	22.5		4
B	24	55 /	473 =	11.1	0.52	39
Roentgen rays						
A	0	90 /	90 =	26.2		14
A	24	169 /	993 =	17.1	0.65	30
B	0	88 /	317 =	27.8		13
B	24	66 /	458 =	14.4	0.52	38

From NEWCOMBE 1954a.

The spores do not germinate in the absence of air and over 80 per cent are still uninucleate after 24 hours. Any which reach the binucleate state would be expected to be more, rather than less, sensitive.

in *Drosophila*, believed to be due to unjoined breaks, show a comparable effect (BAKER and SGOURAKIS 1950a and b; BAKER and von HALLE 1952). Similar observations have also been made for: recessive lethal mutations in *Drosophila* (BAKER and EDINGTON 1952), visible mutations in seeds of cereals soaked in dilute aqueous solutions of hydrogen peroxide prior to irradiation (D'AMATO and GUSTAFSSON 1948), visible mutations in *Aspergillus* spores (STAPLEDON and HOLLAENDER 1952), deleterious mutations in *Paramecium* (KIMBALL and GAITHER 1951), and mutations to streptomycin independence and growth factor independence in *Escherichia coli* (ANDERSON 1951).

Considerable discussion has centered on whether the presence of oxygen increases the number of primary chromosomal breaks induced by radiation, or interferes with restitution in a way which favours new unions of broken ends. The experiments by which it has been shown that oxygen must be present during the actual irradiation to be effective in increasing the number of breaks in *Tradescantia* chromosomes, the extremely precise and rigorous demonstrations of a similar nature relating to the inactivation of bacteria, together with the chemical analogy in the production of hydrogen peroxide, all point to a relatively simple intervention in events immediately following formation of the ion pairs.

If there is an effect on restitution or union of broken ends it might be supposed to be a result either of a difference in the nature of the break itself (there perhaps being more damage when oxygen is present) or in the amount of physiological damage to the cell as a whole (broken ends perhaps remaining open longer when the damage is greater). The possible lines of evidence to discriminate between these two alternatives unfortunately conflict with one another, and so will not be reviewed here; for full discussions the reader is referred to GILES (1954), MULLER (1954a and b), BAKER (1955), and SWANSON (1957). It must be recognized, despite seeming evidence to the contrary, that oxygen may sometimes act directly to influence cellular events subsequent to irradiation. In some systems there is no doubt this happens.

Seeds exist for long periods in a dormant state and so are suited to studies in which irradiations of living cells are followed by treatment with agents suspected of

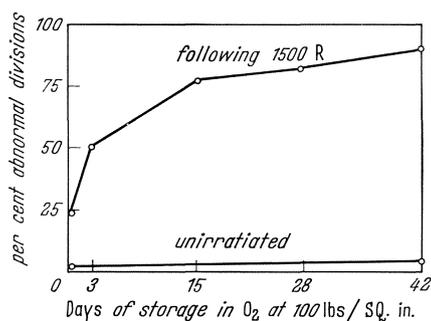


Fig. 34

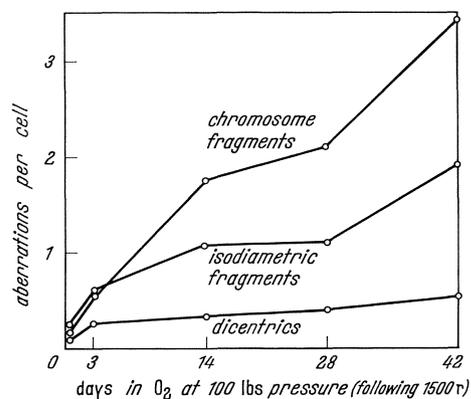


Fig. 35

Fig. 34. Effect of oxygen in *Crepis* seeds following Roentgen irradiation. (From data of SIRE and NILAN 1959)

Fig. 35. Effect of oxygen on the kinds of aberration in *Crepis* seeds following Roentgen irradiation. (From data of SIRE and NILAN 1959)

affecting subsequent metabolic events; the events, as it were, are made to wait for the postirradiation treatment. However, in view of the very small quantities of water present in the system it is chemically very different from most other living systems.

A number of studies with Roentgen irradiated barley seeds have shown that post-irradiation treatment with oxygen increase the amount of tissue damage (ADAMS, NILAN and GUNTARDT 1955; NILAN 1955; ADAMS and NILAN 1958; CALDECOTT *et al.* 1957; CURTIS, CALDECOTT and KONZAK 1957). One of the more striking effects of the presence of oxygen *after* irradiation is an increase in frequency of chromosomal aberrations (ADAMS, NILAN and GUNTARDT 1955; ADAMS and NILAN 1958). In barley, detailed studies of the frequencies and kinds of aberrations induced are difficult because of the large number of chromosomes. However, more refined studies have been carried out by SIRE and NILAN (1959) using seeds of *Crepis capillaris* (diploid chromosome number = 6), which are suitable both because of the small chromosome number and the fact that the arms are individually identifiable by virtue of the differences in their lengths.

When *Crepis* seeds which have received 1,500 R are later stored in oxygen under pressure (100 lbs per sq. in.), the numbers of chromosomal aberrations observed in the first root tip cell divisions are greatly increased (see Fig. 34). The increase continues with prolonged storage, reaching as much as 10 to 12 fold after 42 days. Oxygen alone, which no irradiation, has a slight mutagenic effect but this is very much less than that produced

by the irradiation, either alone or in combination with oxygen, and so does not confuse the picture.

Evidence indicating whether breakage or union is affected might be expected from the proportions of single-break and two-break aberrations. There are a number of possibilities. If breakage is delayed so that exposure to oxygen after the irradiation increases the number of breaks, both kinds of aberration would be expected to increase, but disproportionately in favour of the exchanges (i.e. two-break aberrations). Conversely if oxygen diminishes the likelihood of union of broken ends the increase of unjoined breaks would be more rapid than of breaks taking part in new unions; this effect is in fact observed (see Fig. 35, and Table 15). The third possibility is that the oxygen reduces

Tables 15. *Ratio of chromosome breaks that rejoin to simple breaks (that do not rejoin or reconstitute) in Roentgen irradiated (1,500 R) seeds of Crepis stored in oxygen at 100 lbs pressure from 0 to 42 days*

Duration of storage in O <sub>2</sub> after irradiation (days)	Breaks that rejoin	Simple breaks	Ratio rejoined/simple
0	136	41	3.3
3	200	60	3.3
9	204	104	2.0
15	408	348	1.2
28	360	311	1.1
42	580	589	1.0

From SIRE and NILAN 1959.

Table 16. *Frequency of Roentgen ray induced breaks leading to dicentric and fractures in or closely adjacent to heterochromatic regions of chromosomes of Crepis capillaris*

	Breaks in or near heterochromatic regions		Breaks in other regions	
	no.	%	no.	%
Breaks leading to dicentric	196	98	4	2
Simple breaks	38	38	62	62

From SIRE and NILAN 1959.

Chi<sup>2</sup> with one degree of freedom = 140, p. <0.001.

restitution but actively promotes new unions so that exchange aberrations increase more rapidly than unjoined breaks. This relationship is the opposite to that actually observed for *Crepis* seeds. It has been observed by SWANSON in *Tradescantia* microspores (see Fig. 33), under modified conditions, i.e. with oxygen present during radiation exposure — not with oxygen post-treatment.

At first sight, *Crepis* seeds might seem to fulfill the simplest of these possible expectations. However, other factors have also been shown to play a major part in determining the ratio of dicentric to simple breaks. The entire, short arm and the proximal and distal ends of the long arm, of each chromosome, are composed of *heterochromatin* (i.e. stain differentially during certain stages of division). A large majority of the breaks leading to dicentric occur in or near the heterochromatic regions, while the simple breaks are more uniformly distributed (see Table 16). As yet there has been no investigation of the effect oxygen on the distribution of the breaks that rejoin. It may be that instead of interfering with the union of broken ends oxygen differentially increases the number of breaks in the *euchromatin* (the non-heterochromatic regions) where, because of their position, they are less likely to take part in exchanges.

The evidence of a post-irradiation effect of oxygen in seeds is not entirely unexpected in view of the small quantities of water (6 per cent in the *Crepis* experiments) they contain. The short-lived breakdown products of water are of limited importance under these conditions and presumably other longer-lived products of irradiation of organic molecules are involved. However, in addition to the seed studies there are several experiments which demonstrate an appreciable after effect where the water content is much higher. Thus, in the experiments of LÜNING and co-workers with *Drosophila* sperm, mentioned earlier, the Roentgen ray dose is divided into two parts each of which may be given either in air or in nitrogen, and all four possible combinations of air and nitrogen are used. The full potentiating effect is observed when oxygen is present during just one of the exposures, either the first or the second, provided only that the total dose given in oxygen exceeds 1000 R. By spacing the two doses it is possible to show that the potential changes

“stand open” for 30 minutes. This is true not only for chromosomal rearrangement (LÜNING and HENZE 1957) but for recessive lethal changes as well (LÜNING and SÖDERSTRÖM 1957; LÜNING and HENRIKSSON 1959).

The delayed effect of oxygen is less surprising if the evidence for metabolic effects upon the union of chromosomal breaks is considered (WOLFF and LUIPPOLD 1956a and b; WOLFF 1959), together with the various lines of evidence presented earlier indicating that at least a proportion of the radiation induced mutations of genes are not completed at the time of exposure. There are also experiments indicating delayed effects of irradiation in other systems; the “part-inactivations” of bacteriophage which make it more sensitive to radiation produced  $H_2O_2$  (ALPER 1954), and the slow after-effects of oxygen on the decomposition of irradiated DNA (CONWAY 1954; see also DANIELS *et al.* 1955) are examples.

The diversity of the evidence demonstrates that oxygen can potentiate the effects of ionizing radiations in a number of quite different ways. However, the possible roles of the various chemical intermediates formed by the radiation, and the manner in which they react with oxygen to influence the final effect of irradiation upon the genetic materials, is far from clear.

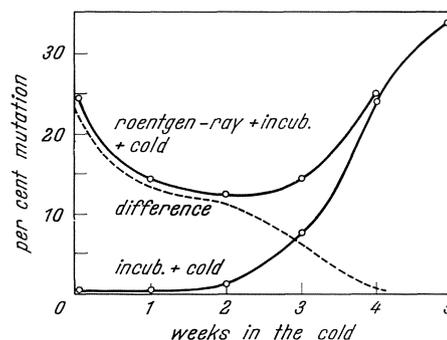


Fig. 36. Reversal of Roentgen ray induced mutagenic effects in *Streptomyces* spores during post-irradiation storage at 5°C. (Redrawn from NEWCOMBE 1956)

### b) Temperature, infra-red, and ultraviolet

There are two main ways to prevent production of hydrogen peroxide in water by Roentgen rays, by removing oxygen and by extremely low temperatures during the exposure. With the latter effect in mind, FABERGÉ (1948, 1950) has studied the influence of dry ice and liquid air temperatures, during irradiation, on the production of chromosomal aberrations in mature pollen grains of *Tradescantia*. The breaks observed during the subsequent division of the pollen tube nucleus are 1/25 as numerous when the grains are irradiated at liquid air temperature compared with those resulting from irradiations at room temperature. The curve relating chromosomal breakage to temperature at the time of irradiation resembles that for the production of hydrogen peroxide in water (BONET-MAURY and LEFORT 1948) down to  $-116^{\circ}C$ , the temperature at which  $H_2O_2$  production stops completely; however, some chromosomal breaks are produced at  $-192^{\circ}C$  (FABERGÉ 1950).

An entirely different phenomenon associated with cold has been studied in *Streptomyces* spores. The mutagenic effects of ionizing radiation have been reversed *after* completion of the exposure by germinating the irradiated spores and then storing them at 5°C for a number of weeks (L. K. WAINWRIGHT 1956; NEWCOMBE 1956). In these experiments the cold itself is found to have mutagenic effects, but there is first a reduction of the radiation effect over the initial two weeks of storage followed by an increase in the number of mutations as the effects of the cold build up (see Fig. 36). Apparently in this organism the mutagenic effects of Roentgen rays remain labile over a considerable number of hours of incubation during which the irradiated spores germinate and produce microcolonies; the fact that the cold is also mutagenic over longer periods of time rules out nuclear selection as a likely cause of the observed changes in frequency. The uni-nucleate spores might, of course, give rise to heterocaryotic mycelia, either through a brief delay in the mutation or by the presence of more than one gene complement in the spore nucleus. However, nuclear selection is unlikely to be a cause of both the decline in mutant frequency and the subsequent rise.

If radiation induced gene mutations were a direct consequence of ionization, without the formation of intermediates either within the gene or external to it, the yield per unit dose would be independent of temperature during the exposure. This reasoning prompted a number of the early experiments. In barley, no influence of temperature on the production of mutations was detected by STADLER (1928c), and likewise in *Drosophila* sperm TIMOFÉEFF-RESSOVSKY and ZIMMER (1939) found no effect on the production of recessive lethals over the range 3 to 35° C. However, more recently KING (1947) found a 6 per cent increase in recessive lethals in *Drosophila* when exposures at 0.5° C are compared with room temperature (25° C), and this supports an earlier observation of MEDVEDEV (1935, 1938). The effect may be due to an increased solubility of oxygen in body fluids of the insect at the lower temperature and to the reduced metabolic activity; both effects would raise the oxygen concentration in the flies. Thus, the temperature effect in *Drosophila* may in reality be an oxygen effect.

Low temperatures during Roentgen ray exposure have also been shown to increase breakage in *Tradescantia* chromosomes (SAX and ENZMANN 1939; CATCHESIDE, LEA and THODAY 1946a and b; and others), an effect which has been assumed to be due to a differential slowing down of restitution relative to movement of the broken ends. However, GILES (1954, 1955b), exposing *Tradescantia* pollen mother cells at 0 and 40°, has obtained higher yields at the lower temperature only when oxygen is present, the reverse relationship occurring in helium. This suggests that temperature may influence both radiation induced breakage and union of broken ends. The manner in which it does so is not yet clear since temperature differences before and after the exposure have little effect on yield.

Infra-red in the region of 10,000 Å also modifies the action of Roentgen rays on chromosomes. Administered either as a pre-treatment or a post-treatment in *Drosophila* sperm, it increases gross chromosomal rearrangements but not dominant or recessive point mutations; as a post-treatment however it is only effective when administered at the time of fertilization by the irradiated sperm (KAUFMANN, HOLLAENDER and GAY 1946; KAUFMANN and WILSON 1949; KAUFMANN 1954). Similar experiments in *Tradescantia* indicate that the chief action of infra-red, whether delivered before or after Roentgen irradiation, is to increase the number of exchanges by as much as five or six fold (SWANSON and HOLLAENDER 1946; SWANSON 1949). The infra-red effect itself is temperature sensitive, being virtually absent when the temperature is above 20° C during infra-red exposure and having a maximum at 12° C (SWANSON, RUPERT and YOST 1953). Further, if the temperature is elevated briefly (to 48° for 30 seconds) between the infra-red and Roentgen ray exposures, regardless of their sequence, the effect is lost (SWANSON and YOST 1951).

The increased sensitivity of *Tradescantia* chromosomes to Roentgen ray induced breakage after exposure to infra-red is apparent even when the Roentgen irradiation is delayed as much as 96 hours. In the reverse sequence infra-red may be given as late as 15 hours after the exposure to ionizing radiation and still be effective. Although both agents evidently produce lingering changes able to interact with one another there is little to indicate the nature of these changes.

An opposite effect has been reported when *Tradescantia* pollen grains are exposed to 2537 Å ultraviolet either before or after exposure to ionizing radiation. The ultraviolet, although itself mutagenic, reduces the yield of Roentgen induced chromosomal aberrations as scored in the subsequent pollen tube division (SWANSON 1944). The reduction is mainly in the numbers of exchanges and chromatid deletions as distinct from isochromatid deletions. A parallel observation made in *Drosophila* confirms that post-treatment with ultraviolet reduces the number of gross chromosomal rearrangements; but the dominant lethals (which are believed to be similar to the isochromatid deletions observed in *Tradescantia*) are unaffected (KAUFMANN and HOLLAENDER 1946).

The experiments with infra-red and ultraviolet both serve to emphasize the extent to which chromosomal rearrangements may be influenced by events after irradiation. They do not, however, throw light on the timing of the gene mutation process; in this respect, of all the studies on modifying agents carried out to date, the oxygen experiments have been the most rewarding.

### c) Other modifying agents

Mechanical stresses on the chromosomes during irradiation have been used as a method for studying the behaviour of primary breaks. As might be predicted, considerably more chromosomal aberrations are observed when pollen mother cells of *Tradescantia* are centrifuged during the actual exposure (SAX 1943; using 2080 r.p.m.; WOLFF and VON BORSTEL 1954a and b, using 2300 g), or are subjected to sonic vibrations at this time (CONGER 1948, using 9100 c.p.s.). Under such conditions many of the primary breaks are prevented from restituting and either become available for exchange or else remain as simple breaks. Centrifugation immediately following radiation exposure is less effective in increasing the number of aberrations and five minutes later no change results. If the cells are centrifuged prior to irradiation the aberration frequency is reduced several fold, presumably because compression of the chromosomes and restriction of their motion favours rapid restitution of the broken ends. This effect has been observed in both *Tradescantia* and *Vicia* by WOLFF and VON BORSTEL. Neither the centrifugation nor the sonic vibrations have been observed to break unirradiated chromosomes in these experiments.

The possible effects of colchicine upon yield of induced genetic changes have been curiously neglected. Pre-treatment with this drug might result in more cells being at the sensitive metaphase stage during irradiation, thus increasing the number of chromosomal aberrations. The opposite effect, however, has been observed by BRUMFIELD (1943) using *Allium* root tips treated with colchicine 45 minutes before exposure. An interpretation is that interference with spindle formation reduces chromosome movement and hence the yield of observable breaks. However, so far this has not been supported by detailed timing studies; spindle formation and movement onto the metaphase plate are confined to a relatively brief part of the mitotic cycle and would only affect the cells irradiated at this time, whereas movements associated with chromosome contraction are not inhibited by colchicine and take place over a much longer period. The latter movements might mask any differences during the period when the spindle would normally be forming.

The above experiment is not designed to detect breaks induced in metaphase chromosomes at the time of irradiation. A further cell division would be required to show such breaks; in the present study this is avoided by keeping both the experimental and the control roots in colchicine solution from irradiation until they are fixed for cytological study 48 hours later. There are many possibilities for further study using colchicine.

A protective agent, cysteine, reduces the yield of radiation induced chromosomal aberrations in *Allium* root tips (FORSSBERG and NYBOM 1953) and in *Tradescantia* root tips (MIKAELSEN 1954). Similar effects are obtained with sodium hyposulphate and sodium cyanide in *Allium* (RILEY 1952; MIKAELSEN 1954), and with British anti-lewisite (BAL, or 2,3-dimercaptopropanol) in *Vicia* (WOLFF 1954). These substances are thought to act as oxygen acceptors and to produce similar effects by reducing the amount of free oxygen in the cell during irradiation. Conversely, both peroxides and catalase inhibitors increase the mutagenic effects of radiation in *Drosophila* (SOBELS 1956).

When administered as a post-irradiation treatment, hydrogen, peroxide and, to a lesser extent, a number of other substances reduce the frequency of detectable mutations in *Paramecium* (KIMBALL 1955; KIMBALL *et al.* 1957). This evidence is of particular interest because so few examples have been reported of influences which alter gene mutation frequency after completion of the irradiation. Also, in *Paramecium* gross

chromosomal aberrations are rare and recessive lethal mutations much less common than the slightly deleterious changes. These considerations indicate that post-irradiation treatment affects a relatively homogeneous class of "point" mutations. The absence of an admixture of deletions and gross rearrangements seems to rule out any interpretation based on an assumed change in the likelihood of union of broken ends.

Other reports of post-irradiation modification of mutations, in *Escherichia coli* (HOLLANDER, BILLEN and DOUDNEY 1955), in *Streptomyces* spores and in *Drosophila* sperm, have been mentioned earlier.

### 5. Extent of the opportunity for post-irradiation repair of genetic damage

That the yield of induced gross chromosomal rearrangements may be modified by various post-irradiation treatments has long been recognized. Only recently, however, has the possibility of repair of Roentgen ray induced damage to individual genes received serious attention. Two questions, relating both to gross chromosomal and genic changes, are important: Over what period do the induced changes remain capable of repair? And, by what factor might the final effect be reduced?

In chromosomal aberrations of *Tradescantia* pollen mother cells the primary breaks are probably produced during the actual irradiation, and a large part of the restitutions and exchanges take place within too short a period for there to be much hope of extensive post-irradiation repair. The important events take place within a half an hour of irradiation and a considerable proportion of them within a few minutes. No very effective means have yet been found of favouring restitution of the primary breaks so the proportion entering into exchanges or remaining as simple fractures is reduced. It is difficult, therefore, to envisage any alternative interpretation of the evidence from this material allowing the possibility of major repair after irradiation.

In contrast to *Tradescantia*, a substantial part of both the chromosomal breakage and unions in irradiated *Drosophila* sperm seem to be delayed until fertilization and are thus theoretically capable of modification over a more prolonged interval, although as yet no effective means have been found of preventing the final damage. Even longer periods of indeterminacy have been observed for chromosomal aberrations occurring in irradiated seeds, but the post-irradiation treatment producing the most striking modification of the response in this material (namely exposure to oxygen) increases, rather than decreases, the damage.

Evidence for this indeterminacy in the mutations of genes exposed to ionizing radiations has been discussed elsewhere in this chapter. In gene mutations, as contrasted with gross chromosomal damage, most of the post-irradiation modifications so far studied are towards reduction of the eventual damage. Also, an apparent association in some organisms between the time when the induced mutations are completed and events in the mitotic cycle, suggests that a delay in the mitotic events might provide a longer period for repair of the pre-mutational damage.

The possibility that Roentgen ray induced mutational changes might be repairable was first suggested by photoreversal of mutagenic effects of ultraviolet in microorganisms (KELNER 1949a and b; NEWCOMBE 1950; NEWCOMBE and WHITEHEAD 1951). Also, demonstrations of other means of reversing the mutagenic effects of ultraviolet, using reduced temperatures, starvation, and synthesis-inhibiting drugs (WITKIN 1953, 1956, 1958), have encouraged the idea that similar reductions might be achieved for mutations induced by the ionizing radiations. Starvation and cold have been found to reduce the numbers of mutations in microorganisms following Roentgen irradiation (WAINWRIGHT and NEVILL 1955; NEWCOMBE 1955, 1956). Further, the evident association between the timing of ultraviolet induced mutations and the division cycle (NEWCOMBE 1954b; WITKIN 1956), and the indication of a similar delay for both Roentgen ray and ultraviolet induced mutations in bacteria (based on studies of sectoring in colonies from irradiated

cells grown under conditions which permit the selection of double mutations — WITKIN 1951; NEWCOMBE 1951) render such reversals of Roentgen ray induced mutagenic effects not unexpected.

Recently, a period of indeterminacy during the process of gene mutation following exposure to ionizing radiation has been demonstrated in mice (RUSSELL, RUSSELL and KELLY 1958), and *Drosophila* (LÜNING and HENRIKSSON 1959). Also, an association between the time of completion of Roentgen ray induced mutations (the damage being no longer repairable) and events in the mitotic cycle has been clearly demonstrated for recessive deleterious mutations of *Paramecium* (KIMBALL, GAITHER and WILSON 1959). The latter experiments have shown that Roentgen irradiated cells partially recover from the mutagenic effects of the exposure if mitosis is delayed by holding the cells for a period in an exhausted medium (i.e. by starvation).

Although the data from Roentgen ray induced mutations in *Drosophila* suggest a relatively brief period of indeterminacy (about 30 minutes), loss of the mutagenic effects in Roentgen irradiated interphase nuclei of *Paramecium* is capable of taking place over at least 40 hours following exposure. In no experiment, however, has there been more than a 50 per cent reduction in the frequency of mutations as a result of postirradiation treatment.

## V. Radiomimetic effects

For a long time after the discovery of their genetic effects the ionizing radiations and ultraviolet seemed unique in their ability to produce gene mutations and chromosome breaks in large numbers in almost all living materials. Gradually, however, various chemical substances have been found which are likewise strongly mutagenic. The apparent uniqueness of the radiations may lie in their ability to enter the nucleus and produce chemical changes there without simultaneously killing the cell through massive destruction of the functions of the cytoplasm. A very considerable literature on the effects of mutagens other than the ionizing radiations now exists, and the present account will merely list some of the more thoroughly studied mutagens, with brief mention of differences in their actions as compared with those of the ionizing radiations.

### 1. Ultraviolet and photoreversal

Special interest in the action of 2537 Å ultraviolet has centered around the capacity of both the lethal effects and the mutagenic effects to undergo reversal by visible light for a considerable time after the initial exposure (see KELNER 1949a and b, 1950; NEWCOMBE 1950; NEWCOMBE and WHITEHEAD 1951). *Photoreversal* of the lethal and mutagenic effects has now been studied in a wide range of organisms.

The phenomenon may be used to determine the timing of the ultraviolet induced mutation process, since this cannot be considered completed so long as it is still reversible. A substantial proportion of the ultraviolet induced mutations in *Streptomyces* spores can still be prevented 2 to 3 hours after an ultraviolet irradiation when the spores are incubated in nutrient medium (NEWCOMBE 1954b, 1955). The period over which reversal is possible may be extended indefinitely simply by keeping the spores in the cold (i.e. by slowing down the normal sequence of physiological events). The mutagenic effects of ultraviolet cease to be reversible just prior to the onset of nuclear division in *Streptomyces* spores and any influences which delay the division (such as especially high doses of ultraviolet) prolong the period of reversibility (see Fig. 37). The lethal effects of ultraviolet remain capable of reversal somewhat longer than the mutagenic effects.

As mentioned earlier, evidence for the delay in completion of ultraviolet induced mutations has been obtained in a variety of ways. Reversal of the mutagenic changes,

apart from photoreversal, has been reported in *Escherichia coli* (WITKIN 1956, 1958; RYAN 1958). Sectoring studies in *E. coli* colonies grown from irradiated cells by a "double selection" technique indicate that some of the mutations are probably delayed until gene replication, strictly comparable evidence having been obtained for both ultraviolet and Roentgen rays (see also NEWCOMBE 1953a).

The apparent delay in the completion of the mutagenic process in *E. coli* and the striking variations in mutagenic effectiveness at different stages of division in *Streptomyces* spores (see Fig. 24), demonstrate clearly the two main ways in which ultraviolet and Roentgen rays resemble each other. They differ in many other respects and these will now be considered. The two agents exhibit different degrees of effectiveness in the production of mutations at various gene loci of *E. coli* and in the direction of induced mutation

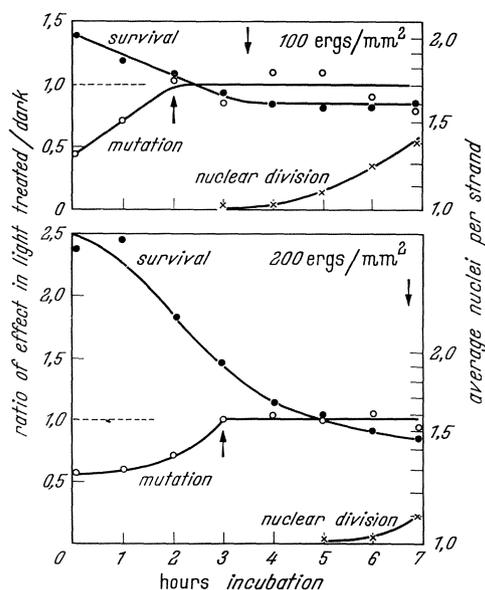


Fig. 37. The period over which the mutagenic and lethal effects of ultraviolet are reversible in germinating *Streptomyces* spores. (Redrawn from NEWCOMBE 1954b)

within a locus (NEWCOMBE 1952). In maize a higher proportion of gene mutations and fewer deficiencies are produced by ultraviolet than by ionizing radiations (STADLER 1941). However, of the visible deficiencies in maize endosperm observed following pollen irradiations, those induced by ultraviolet usually affect only half of the endosperm tissue while those induced by Roentgen rays affect the whole. This has been interpreted as indicating that the chromosomes are already split into two chromatids at the time of irradiation and that ultraviolet breaks only one of them while ionizing radiations break both at the same point (STADLER and UBER 1942). An alternative explanation, that the ultraviolet induced breaks do not develop until after replication, has not been ruled out. Most of the maize studies were prior to the discovery of photoreversal and the possible contribution of a difference in the timing of the ultraviolet and Roentgen ray induced breakage has not been given detailed consideration.

The proportion of chromosomal interchanges in relation to the number of deficiencies is lower for ultraviolet than for ionizing radiation. This has been observed in maize, *Drosophila* and *Tradescantia*, and the deficiencies induced in maize chromosomes tend to be terminal following ultraviolet and interstitial following Roentgen rays (SINGLETON 1939; SINGLETON and CLARK 1940).

In maize, deficiencies are much more frequent in endosperm than in  $F_1$  plants from ultraviolet irradiated pollen. This is true despite the fact that a seemingly identical pair of so called "sperm nuclei", derived by division of one irradiated pollen tube nucleus, enter into the fertilizations which give rise to embryo and endosperm tissue respectively. There is no reason to believe the two nuclei differ in the amount of damage present or that either of them is especially likely to be associated with production of one tissue or the other. To account for the different numbers of induced aberrations in the two tissues it is assumed that, although equal numbers of unjoined breaks may be present in the two nuclei, these reconstitute less readily in endosperm than in embryo tissue. The difference is less in embryo and endosperm from Roentgen irradiated pollen, presumably because of the more frequent exchanges following Roentgen rays, and because even in the absence of exchange the isochromatid breaks tend to enter into sister unions which preclude restitution.

## 2. Mustard gas and other organic chemicals

The first chemical used extensively to produce chromosomal breakage and rearrangement was urethane, and its action has been studied in detail by OELKERS (1943, 1953). Except for this compound, the search for chemical mutagens comparable in potency to ionizing radiation and ultraviolet had not been notably fruitful until the demonstration by AUERBACH and ROBSON (1947; see also AUERBACH 1951) of the special action of mustard gas and its derivatives on genes and chromosomes. This discovery followed a suggestion that exposures to mustard gas and Roentgen rays have pharmacologically similar consequences; both agents produce burns which heal slowly and retain a tendency to break open again. Since the peculiar nature of Roentgen ray burns is associated with chromosome breakage the implication was that mustard gas might also break chromosomes. The various mutagenic effects of mustard gas and a number of its more conveniently handled derivatives (including the nitrogen mustards) have now been studied in a large number of organisms.

A variety of other radiomimetic organic chemicals have since been discovered. No attempt will be made to catalogue these but the properties of a number of them will be discussed briefly with a view to indicating the similarities and differences compared with ionizing radiation.

Some of the chemical mutagens differ from radiation in that they produce breaks which are largely localized in particular regions of the chromosomes. Nitrogen mustard and one of the diepoxides, di(2:3-ethoxypropyl)ether, both break mainly the heterochromatic regions in the middle of the long arms of the short chromosomes in *Vicia* root tips (FORD 1949; LOVELESS and REVELL 1949; LOVELESS 1953; REVELL 1953, 1955). In the same organism, breaks produced by the anti-auxin maleic hydrazide also occur in heterochromatic regions, but specifically involve positions on either side of the centromere of a long chromosome which is distinguishable morphologically by the presence of satellites, i.e. small terminal appendages (DARLINGTON and MCLEISH 1951; MCLEISH 1953). Breaks induced by 8-ethoxycaffeine, however, occur predominantly in the nucleolar forming region of the same chromosome (KIHLMAN 1956). The degree of localization of the chemically induced breaks in *Vicia* is particularly striking at low concentrations, whereas radiation induced breaks tend to be fairly uniformly distributed along the chromosomes.

Another kind of specificity has been noted by plant breeders, who are interested in producing the maximum number of gene mutations with the minimum of lethality and of chromosome breakage leading to translocation sterility. In barley, it is claimed that the use of different agents makes it possible to vary the ratio of induced chromosomal aberrations to gene mutations practically from zero to infinity (EHRENBERG 1959). Nebularine (i.e. purine-9-riboside) is at the zero end, 8-ethoxycaffeine at the infinity end, and the ionizing radiation and alkylating agents at different points in between. Chemicals producing a high ratio of mutation to lethality include myleran (EHRENBERG 1959), ethylene oxide (EHRENBERG and GUSTAFSSON 1957), diethyl sulphate (HESLOT and FERRARY 1958) and ethylenimine (EHRENBERG, LUNDQVIST and STRÖM 1958).

A further kind of specificity is observed among the purine derivatives, some producing stickiness of the chromosomes with no breaks except those resulting from subsequent mechanical stresses, some producing breaks but no stickiness, and others producing both effects (D'AMATO 1950; LEVAN 1951; KIHLMAN 1951, 1952).

The timing of the chemically induced breaks varies with different agents. The breaks induced by maleic hydrazide, nitrogen mustard and the diepoxide di(2:3-ethoxypropyl)ether in *Vicia* root tips, all appear about 12 hours after exposure (REVELL 1953; MCLEISH 1953), while those induced by 8-ethoxycaffeine appear within two hours of treatment (KIHLMAN 1955). It is inferred that the first group of agents act at early interphase and the latter agent at late interphase or early prophase.

The conditions favouring mutagenic action vary with the agents. Oxygen is necessary for the full effectiveness of 8-ethoxycaffein and maleic hydrazide but not for the diepoxides. Increasing temperature in the range from 0 to 25° increases the effectiveness of maleic hydrazide, nitrogen mustard and the diepoxides, while for 8-ethoxycaffein there is an optimum at 12°. Maleic hydrazide is ineffective above pH 7.0 but strongly mutagenic at pH 4.5 (see KIHLMAN 1956).

It is, of course, hoped that studies of the chemical mutagens will lead to an increased understanding of both natural mutations and those induced by ionizing radiations. However, the probable mechanisms of chemically induced mutation differ with the agent used, as inferred from the known chemical activities of the substances themselves and from a structural resemblance to the purine or pyrimidine bases of DNA. It has been thought, for example, that nebularine probably interferes with the incorporation of

Table 17. *Relationship between cause of forward mutation in the rII locus of phage T4 and ability of the mutants to back-mutate in the presence of nucleic acid base analogues*

Origin of <i>rII</i> mutants (inducing agent)	Total mutants tested	Mutants which undergo reverse mutations with base analogues AP or DB or both	
		no.	%
Spontaneous	110	15	14
Proflavine	55	1	2
Bromodeoxyuridine (BD)	100	80	80
Bromouracil	64	61	95
Aminopurine (AP)	98	96	98

From FREESE 1959a.

Using *rII* mutants which have either occurred spontaneously or have been induced by growing the phages in proflavine, or in one of the base analogues, bromouracil 5-bromodeoxyuridine, or 2-aminopurine, FREESE (1959a) has tested the mutants for ability to undergo reverse mutation in the presence of aminopurine and bromodeoxyuridine. (It should be noted that only mutants capable of spontaneous reversions have been used, and that these agents have no effect at all on phage particles outside of the host cell.) While most of the spontaneous mutants and those induced by proflavine do not show any increase in reverse mutation rate with either aminopurine or bromodeoxyuridine, the majority of the mutants induced by base analogues can be reversed either by one or the other, or both, of the two analogues used in the test (see Table 17).

It appears that two kinds of event are involved. FREESE (1959b) has suggested that the base analogues aminopurine and bromodeoxyuridine usually cause "simple" mistakes in base pairing during replication (with the result that a purine is replaced by another purine, or a pyrimidine by another pyrimidine) whereas the spontaneous and proflavine induced mutations are often due to more complicated mistakes (such as a purine being replaced by a pyrimidine or *vice versa*). If this were true, mutations of the latter kind would be unlikely to revert as a result of exposure to the former kind of agent. Also, some base analogues (e.g. aminopurine) are thought to have properties common to both purines and pyrimidines so that they may sometimes lead to the second kind of change during replication. Whatever the validity of such speculations, the experimental approach possesses a considerable potential for refinement.

### 3. Inorganic agents

Pure oxygen at normal pressure has been shown by CONGER and FAIRCHILD (1952) to cause large numbers of breaks and rearrangements in chromosomes of *Tradescantia*

adenine during the synthesis of the new gene string, and that bromouracil (which is especially mutagenic for phages during their replication) affects thymine incorporation (DUNN *et al.* 1954; WEYGAND *et al.* 1952; BENZER and FREESE 1958).

The so called *rII* mutations of bacteriophage T4 offer a unique opportunity for more refined analysis; not only can the position of the mutational change along the chromosome thread be mapped with great precision by recombination analysis, but it is possible to study the ability of mutations involving different regions and induced by different agents to undergo reverse mutation under the influence of these various agents.

pollen grains and pollen mother cells; exposure over a period of an hour is equivalent to 1200 R of Roentgen rays. Lower concentrations are less effective, one hour in 65 per cent oxygen having as much effect as about 350 R, while almost no aberrations occur normally in air (20 per cent oxygen). The action is independent of light. More recently, similar studies have indicated that oxygen is mutagenic in *Escherichia coli* (FENN *et al.* 1957) and that it produces chromosome aberrations in seeds (EHRENBERG *et al.* 1957; KRONSTAD 1959; KRONSTAD *et al.* 1959). It is possible that oxygen is also mutagenic in other kinds of cells but that the effect is sometimes obscured by death; the relatively dry pollen and seeds are apparently able to withstand the cytoplasmic damage which in many tissues results from exposure to pure oxygen.

Manganous chloride ( $MnCl_2$ ) is effective in causing mutations in bacteria. It has been tested by DEMEREC and his co-workers (DEMEREC and HANSON 1951; DEMEREC *et al.* 1952) for its ability to induce reverse mutations in a series of 35 amino acid requiring mutant strains of *Escherichia coli*. It is more effective than ultraviolet for many of the reverse mutations and it causes very little killing. Detailed comparisons of manganous chloride with ultraviolet and beta-propiolactone (which is also mutagenic) show that different mutagens have different gene locus specificities, some loci being susceptible to the induction of reverse mutation by one agent and other loci responding to other agents.

Calcium and magnesium deficiencies have been reported to cause chromosome breakage in *Tradescantia* (STEFFENSEN 1953, 1955), and when the mineral deficiencies are combined with exposure to radiation they result in more aberrations than would be expected from a simple additive effect. The chelating agent *Versine* (ethylenediamine tetracetic acid) likewise causes chromosome breakage in *Drosophila* and *Melanoplus*, presumably because it makes the ions of such metallic elements as calcium and magnesium inaccessible to the organism (MAZIA 1954). It is inferred that these elements are involved in bondings which unite the chemical units composing the chromosomes. *Versine*, like calcium deficiency, when combined with radiation produces more chromosomal aberrations (in *Vicia* root tips) than would result from a simple additive effect (WOLFF and LUIPPOLD 1956a).

Storage of *Streptomyces* spores in the cold has been shown by L. K. WAINWRIGHT (1956) and by NEWCOMBE (1956) to induce colony morphology mutations, the effect of seven days storage at 5° being equivalent to an Roentgen ray exposure of 1000 R. The sensitivity of the spores to cold induced mutations varies with the stage of germination in much the same manner as sensitivity to Roentgen ray and ultraviolet induced mutation. However, the timing of the sensitivity changes — throughout the first nuclear division — differs for cold as compared with the other two agents, and the apparent loss of sensitivity on reaching a multinucleate state which is observed for Roentgen rays and ultraviolet does not occur (see Figs. 24 and 38).

The generalizations to be drawn from such varied observations on mutagenic agents are few indeed. It is perhaps noteworthy that specificities in mutagenic action become more apparent as more mutagens are studied. Differences in time of action have been noted but not exhaustively investigated. Those forms of the genetic material which are readily isolated from the metabolic activities of the cell, namely the viruses and transforming principle, seem immune to the mutagenic effects of almost all treatments while outside the cell. The more chemically active agents, ultraviolet and ionizing radiation, inactivate but apparently do not cause the more subtle genetic changes, perhaps indicating

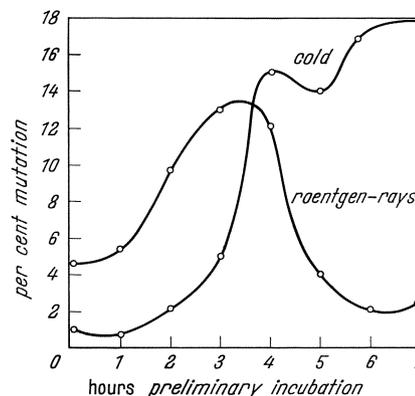


Fig. 38. Timing of sensitivity changes to the mutagenic effects of cold and Roentgen rays during germination in *Streptomyces* spores. (Redrawn from NEWCOMBE 1956)

that the extracellular phage particles are incapable of repairing the damage in the way that cells do when broken chromosomes recombine or exchange. If the mutations induced by ionizing radiations were due predominantly to breakage and rearrangement or deletion of minute regions of chromosome, conditions which prevent union of broken ends would result in an absence of gene mutation and the production of gross terminal deletions instead; these would presumably be inviable in a virus.

#### 4. Mutagenicity and carcinogenicity

The ionizing radiation and ultraviolet both act as carcinogens as well as mutagens. The idea that tumours might be a consequence of changes in the genetic materials of somatic cells has been current for a long time (see BOVERI 1929), and as a result numerous chemical carcinogens have been screened for mutagenic activity in *Drosophila*, *Neurospora*

Table 18. *Tests of carcinogens for mutagenic activity in Neurospora*

	Number of isolates tested	Number of mutants <sup>1</sup>	Per cent mutants
Control	12,431	33	0.27
20-methylcholanthrene	7,107	47	0.66 <sup>2</sup>
9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene	2,501	15	0.60 <sup>2</sup>
1:2, 5:6-dibenzanthracene	1,500	9	0.60 <sup>2</sup>
m-methyl-p-dimethylaminoazobenzene	2,615	11	0.42 <sup>2</sup>
4'-amino-1,2-azotoluene	3,713	16	0.43 <sup>2</sup>
4-dimethylaminostilbene	2,771	6	0.22
2-acetylaminofluorene	2,775	8	0.29

<sup>1</sup> These include colony morphology mutants and growth factor requiring mutants.

<sup>2</sup> Apparent increase in mutation frequency.  
From table of BARRATT and TATUM 1958.

and other appropriate test organisms (DEMEREK 1948; DEMEREK, BERTANI and FLINT 1951; BARRETT and TATUM 1958). In view of present knowledge regarding the specificity of the chemical mutagens with respect to their sites of action, the ratio of gross chromosomal rearrangements to gene mutations, and the organisms or tissues in which the activity may occur, it might be expected that some carcinogens would cause detectable mutations in test organisms and some would not. Thus, the discovery of chemical compounds possessing only one of the two kinds of activity does not weigh too heavily against the concept. This is particularly true of tests carried out in *Neurospora* and other microorganisms in which mutagenic activity is judged by ability to produce mutations at a limited number of specific loci. In fact, not all carcinogens have been shown by such tests to be mutagens. That ionizing radiations and ultraviolet possess both characteristics is perhaps to be expected since they are among the least specific in their various known effects on genes and chromosomes. A list of carcinogens tested for mutagenic activity in *Neurospora* is given in Table 18.

Much of the controversy surrounding the "mutation theory of carcinogenesis" has resulted from a lack of understanding of what the term mutation, used in its broadest sense, embraces; changes in chromosome number, gross chromosomal rearrangements and the more minute changes or "point" mutations are all included, as are various other less well known phenomena involving transfer of genetic material from one cell to another (e.g. "transformation").

The initial step in carcinogenesis has not yet been identified, but it is now well known that cells of most tumour strains differ in chromosome number from those of the parent organism. Some are hyperdiploid, others hypodiploid or hypertetraploid (LEVAN 1956a and b; LEVAN and BIESELLE 1959; ISING and LEVAN 1957; SCHULTZ 1959). The numbers differ, the proportions of the different chromosomes vary in lines having the same total number, and the materials within a chromosome complement may be redistributed by gross rearrangements such as translocations and inversions. Furthermore, changes in chromosome number and gene content occur continuously in lines of tumour cells through

imprecise division and through continued structural rearrangement; this tends to make all cell lines heterogeneous (MAKINO 1957a and b). Thus, however they originate, all cancers eventually represent both major reorganizations of the genetic materials and continuous testings of further variant cells within the mixed populations composing tumour tissues. These observations suggest that the starting point may be a chromosomal event involving regions vulnerable only to certain mutagens, of which ionizing radiation is usually one.

## VI. Effects in individuals, populations, mammals and man

Earlier parts of this chapter have discussed the nature and consequences of radiation induced gene and chromosome alterations in lower organisms, and have considered various factors which influence the number and kinds of changes produced. The present section will consider mainly the consequences of genetic changes induced in populations of organisms and in the reproductive and somatic cells of vertebrates. The emphasis will be on those aspects of the evidence which relate more directly to the importance of these changes in man. Much of the information discussed is derived from laboratory experiments on rodents. Observations have also been made on men irradiated for medical reasons or as a result of other causes. However, frequent reference to studies of lower organisms is unavoidable owing to the incompleteness of the vertebrate evidence. This is particularly true of the section dealing with effects of irradiation upon whole populations since most of the relevant studies have been carried out with *Drosophila*.

Expression of radiation induced damage to the genetic apparatus of cells may be observed: (1) in the individual organisms arising from gametes bearing the altered genetic materials; (2) in populations of organisms carrying in their collective "gene pools" an assortment of induced changes; and (3) in irradiated somatic cells and their descendant cell lines. These three levels of organization will be considered.

Studies relating especially to the practical consequences of damage to the genetic materials of human reproductive and somatic cells will be discussed, together with the attempts which have been made to arrive at quantitative assessments of the amounts of injury in large human populations exposed to low levels of radiation. In this connection it is sometimes unavoidable that the gaps in present knowledge receive almost as much emphasis as established facts, and that methods of filling them be considered. This is especially true of evidence relating to the consequences of germ line mutations in man, where appropriate methods exist but have not been fully exploited.

In discussing the consequences of gene and chromosome changes in irradiated somatic cells, it must be remembered that methods for carrying out the relevant studies have developed much more slowly than those for studying the effects of germ line mutations upon descendant organisms. As a result there is considerable uncertainty regarding the importance of particular kinds of change in the genetic apparatus when these occur in somatic cells. In particular, chromosomal alterations, although observed in almost all malignant cells, are not yet known to be instrumental in initiating tumor growth. However, malignancy is a heritable property of somatic cell lines and therefore by definition "genetic" (although probably not "genic" in the sense of being due to single gene changes). Considerable caution obviously needs to be exercised to avoid the purely semantic causes of controversy in an already controversial area.

Finally, an attempt will be made to relate the scientific findings to the largely empirical and subjective task of setting permissible exposure levels for individuals who work in proximity to sources of ionizing radiation, and for populations exposed to man made radiation from environmental contamination and medical uses of Roentgen and gamma rays.

## 1. Heritable effects in individuals

Radiation induced gross chromosomal rearrangements occurring in reproductive cells, when transmitted to new individuals through the gametes, have two chief consequences — the deaths of embryos and the production of an hereditary form of partial sterility in adult individuals. In addition, some kinds of complete sterility may perhaps arise from chromosomal changes, although this is not fully established.

A wide range of heritable abnormalities and diseases resulting from single gene differences, and a few which are due to chromosomal abnormalities, are known in man. The frequencies of gene mutations and chromosomal changes leading to the production of these diseases are presumably increased by radiation. The effect would be to add to a pool of mutant genes already present in the population as a result of natural causes. Lists of the conditions are given in a later section. They include dominant, recessive, and sex linked characters. *Achondroplasia* might be taken as typical of the more severe dominant conditions in man, *phenylketonuria* as a typical severe recessive, and *haemophilia* as a sex linked trait. There are also diseases which show intermediate degrees of expression in the heterozygotes.

The inheritance of such characters has been extensively studied in man, but the natural mutation rates can be estimated only with the aid of certain plausible assumptions and there is almost no information relating to the effects of irradiation on the rates of mutation of individual gene loci in man himself. Also, the lethal effects of gross chromosomal changes induced by radiation in the germ cells would be difficult to study in man.

As a result, most of our present understanding of the consequences of radiation induced heritable changes in man has had to be based on evidence from other organisms. However, certain basic principles have been established in a wide range of organisms; including some close to man in the evolutionary scale, and there is little reason to believe that man is an exception. The difficulties of extrapolating from lower organisms to man are therefore related mainly to quantitative matters, there being little doubt that the responses in man are qualitatively similar to those in other living things.

The present section will describe the effects on individual organisms of inheriting the various kinds of genetic change produced by irradiation.

### a) Dominant lethal changes

A proportion of eggs fertilized by irradiated sperm fail to develop. That chromosomal aberrations play a part in this is indicated by the presence of clumped and broken chromosomes in early cleavage divisions of *Drosophila* eggs fertilized by irradiated sperm (SONNENBLICK 1940); similar observations have been made in mice and rabbits (HERTWIG and BENNEKE 1937; AMBROSO and PARKES 1947). An indication of the kinds of aberration interfering with embryo development is obtained by observing salivary gland chromosomes of *Drosophila* larvae from irradiated fathers. Deficiencies greater than 50 salivary bands in length and dicentrics are both absent, although the latter are probably induced in sperm as frequently as translocations. These two classes of aberration (long deletions and dicentrics) are presumably lethal to embryos carrying them.

Low Roentgen ray doses induce a majority of single-hit chromosomal aberrations (simple fractures) resulting in terminal losses. These unjoined breaks increase linearly with dose in neuroblast cells of *Chortophaga* over the range from 8 to 125 R (CARLSON 1941). Dominant lethality in *Drosophila* embryos from irradiated sperm increases linearly at low doses (DEMEREK and FANO 1944; and others) and there is similar evidence for *Habrobracon* (A. R. WHITING 1945a and b). Breaks induced in chromosomes of *Habrobracon* eggs during meiotic prophase frequently give rise to lateral sister strand fusions forming bridges at the next anaphase. Probably the sister unions and bridge formation result in dominant lethal effects whereas some of the shorter terminal deletions (in the absence of sister union) might be only recessive lethals. At higher doses the 2-hit

rearrangements (dicentric and interstitial deletions) constitute an increasing proportion of the total dominant lethal changes.

The ability of irradiated spermatozoa to enter into fertilization is largely unimpaired even at very high doses (e.g. up to at least 4000 R in rats and mice and higher still in *Drosophila*). However, mouse embryos from sperm exposed to 800 R show a high proportion of abnormal cleavage divisions, over 20 per cent of those in the 2-cell stage and over 40 per cent of those in the 3 to 12 cell stage being abnormal (BENNKE 1937). Most of the embryos carrying dominant lethals die before implantation and of those that are implanted many die shortly after (RUSSELL 1954). The ratio of pre-implantation to post-implantation deaths increases with increasing dose in mouse embryos, perhaps because more spermatozoa carry multiple lethal changes and perhaps also because a larger proportion contain 2-hit aberrations which lead to anaphase bridge formation.

Detailed observations of the consequences of dominant lethal changes induced in gametes by irradiation have been carried out on embryos of the parasitic wasp *Habrobracon*. This organism is well suited to such studies for several reasons: (1) Females lacking access to the host organism in which they usually lay their eggs, continue to produce eggs and may accumulate as many as 20 in their egg sacs. (2) All of these remain at first meiotic metaphase and may thus be irradiated at a known stage in the division cycle. (3) Irradiated eggs form embryos after being laid, and these may be either haploid (if the females are not mated) or diploid (if mated following the irradiation).

With increasing doses to eggs at first meiotic metaphase a linear decline in hatchability is observed, and this is virtually the same for haploid and diploid embryos indicating that the induced lethal changes are almost all dominant (A. R. WHITING 1945b). Embryo death is not due to clumping or stickiness of the chromosomes, as this is absent even with doses as high as 45,000 R, but death is associated with the presence of chromosome bridges and fragments at first and second meiotic anaphases. Death occurs at various stages from early cleavage up to and following blastula formation but more than two thirds of the embryos die after many cell divisions have taken place.

The consequences of irradiating oocytes in meiotic prophase are different; the bulk (i.e. 60 to 80 per cent) of embryo deaths occur during the first cleavage divisions (ATWOOD, v. BORSTEL and WHITING 1956). These very early deaths are apparently due to a failure of the cells to synthesize deoxyribonucleic acid, this being indicated by an absence of the normal staining reaction with Feulgen (v. BORSTEL 1955), and it is thought that only the more delayed deaths result from chromosome breakage.

Support for this view has been obtained by comparing the delayed dominant lethal effects following irradiation of oocytes with those occurring in embryos derived, in the absence of irradiation, from parents which are either translocation heterozygotes or triploids. Half the gametes from translocation heterozygotes contain duplications and deficiencies of regions of chromosomes (see Fig. 39 and the next section), and those from triploids have varying numbers of chromosomes intermediate between the haploid and the diploid. Both give rise to *aneuploid* embryos (whether or not there is fertilization) these being so named because they lack the precise haploid, diploid or triploid set of chromosomes. Deaths from aneuploidy which are not a result of irradiation are expected to resemble those from radiation induced losses of chromosomes or parts of chromosomes.

Metaphase irradiations delay death by different degrees in haploid and diploid embryos; death occurs after blastula formation in both cases but before hatching in haploids and after hatching in diploids. This timing is mimicked by aneuploid deaths in the absence of irradiation among offspring of translocation heterozygotes. Prophase irradiations, on the other hand, result in delayed embryo deaths (in addition to the very early deaths previously mentioned) which occur after blastula formation but prior to hatching in both haploid and diploid embryos, although these are still somewhat earlier in haploids than in diploids. This type of dominant lethality is precisely mimicked by that observed in the absence of irradiation in aneuploid offspring of triploid parents (v. BORSTEL 1958).

The much earlier deaths (in the first few cleavage divisions) remain specifically inducible only with mutagenic agents, supporting the view that they are due to physiological damage rather than to chromosomal rearrangements.

### b) Hereditary partial sterility

Rearrangements of chromosome material such that two chromosomes or chromatids undergo reciprocal exchange of a terminal region are not in themselves lethal. However,

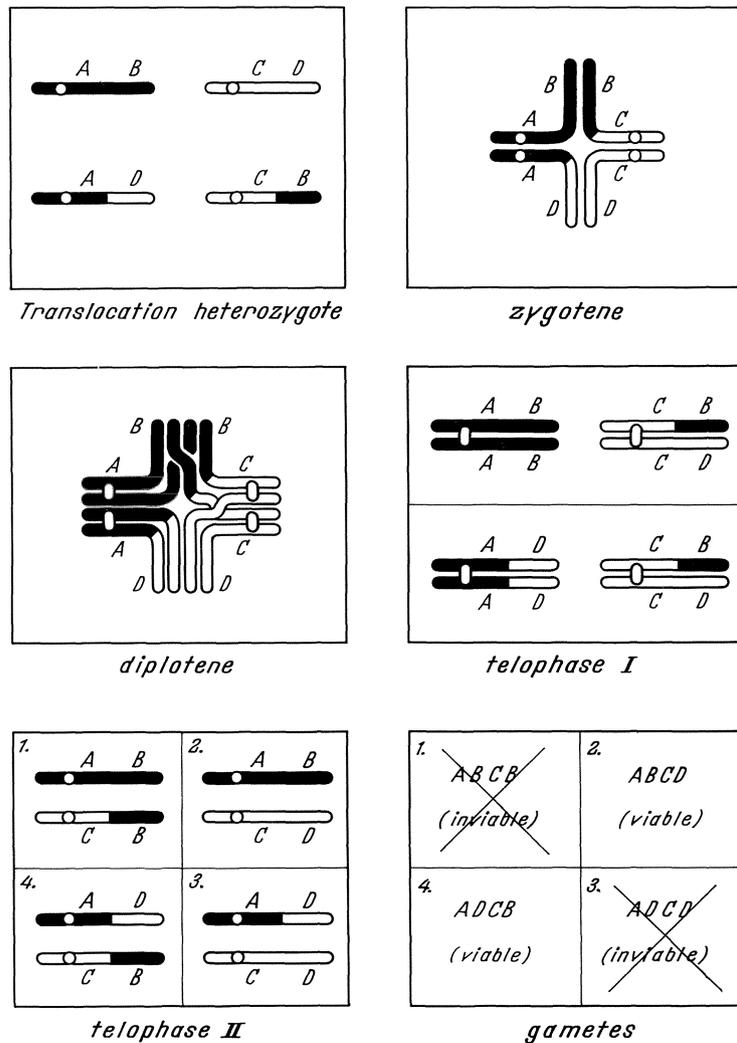


Fig. 39. Meiosis and gamete production in a translocation heterozygote. Meiosis can result in either: 4 viable gametes, 4 inviable gametes, or 2 viable and 2 inviable gametes. The proportions of these depend on the numbers of chiasmata between the centromere and the point of translocation, but the combined result is a 1:1 ratio of viable to inviable gametes in all cases

an individual heterozygous for such a translocation produces gametes half of which give rise to inviable zygotes. A comparatively simple mechanism is involved by which meiosis in the translocation heterozygote results, on the average, in two normal gametes and two in which one of the translocated regions is present twice and the other is absent (see Fig. 39). Embryos from these duplication-deficiency gametes fail to develop. Hereditary partial sterility (or semisterility) has been studied in a wide range of organisms.

In mammals, the proportion of semisterile offspring from irradiated males varies with the interval between the irradiation and the subsequent mating (i.e. with the developmental stage at which the male reproductive cells are irradiated). Thus when male mice are mated immediately after exposure to 800 R, 20 to 30 per cent of the offspring are semisterile, while in rats a figure of about 20 per cent (11 out of 51 tested) has been obtained by MCGREGOR (unpublished). Matings delayed a number of weeks

or months after irradiation (i.e. until recovery from the sterile period) result in almost no partially sterile offspring. AUERBACH and SLIZYNSKI (1956) have studied the production of translocations in sperm obtained at different times following irradiation and have come to the conclusion that there is a period of special sensitivity to the induction of chromosomal rearrangements five to six days before the spermatozoa are fully mature. It is not

altogether certain whether the absence of translocations in spermatozoa maturing some considerable time after the irradiation is due to a failure to produce such changes in spermatogonial cells, but this seems the most likely explanation since there is no special evidence indicating that they would consistently fail to pass through the intervening meiotic divisions.

#### c) Dominant sterility

Irradiated males sometimes have completely sterile offspring but study of the genetic basis of this defect is hampered by the sterility itself. Searches for chromosomal abnormalities visible during meiosis in the sterile animals have so far yielded little indication of the nature of the change. In male offspring from pre-sterile matings of irradiated males dominant sterility is nearly half as common as partial sterility (although the incidence is probably somewhat less than this in female offspring); however, it is virtually absent in all offspring from post-sterile matings. This suggests that chromosomal aberrations may be the cause (perhaps involving one or both of the sex chromosomes). Multiple translocations resulting in aneuploid gametes has also been suggested to account for a part of the induced dominant sterility, and in the testes histological abnormalities of unknown origin have been noted as an occasional cause.

#### d) Dominant gene mutations

Among the radiation induced gene mutations having visible effects in *Drosophila*, recessives are several times more frequent than dominants. A similar excess of recessives is observed among the spontaneous visible mutations in laboratory stocks of both *Drosophila* and mice. However, in human populations the number of individuals suffering from dominantly inherited defects greatly exceeds the number affected by recessive conditions. There are many descriptions, in the literature, of dominant mutations in both man and laboratory organisms. Reference should be made to the lists of human hereditary conditions which appears later in the chapter.

Dominant mutations induced in reproductive cells are much more likely to be expressed in the immediate offspring of the exposed individual than recessive mutations. Conversely, recessives tend to be handed on over many generations before being eliminated by death or failure to reproduce so that the opportunity for expression may eventually be similar to that for dominant mutations.

#### e) Recessive lethal and deleterious mutations

Over many generations each mutation to a recessive lethal or deleterious gene will, on the average (in a stable population of constant size) be balanced eventually by an elimination from death or failure to reproduce. A proportion of the deaths may occur during early development of the embryo and so escape detection, while others are known to occur later in life. Completely recessive mutant genes will tend to be eliminated only as homozygotes, but those having slight effects in the heterozygous state may be eliminated before this.

Recessive lethal mutations have been widely used to investigate the relationships between dose and mutation frequency in *Drosophila*, but the manner in which the embryos die and the times at which the effects occur, have not been extensively studied. Recessive lethals probably give rise to a greater diversity of effects than do dominant lethals. When recessive deleterious and recessive lethal mutations are considered together many degrees of effect on viability are observed representing an apparently unbroken spectrum of severities.

The numbers of recessive mutations having various degrees of severity are bimodally distributed, the bulk of the mutant genes having either severe (lethal or near lethal) effects or slight effects, with relatively few intermediate between the two extremes. This

has long been known of mutations affecting viability in *Drosophila* (see MULLER 1950a; NEEL and SCHULL 1956) and has recently been confirmed for recessive mutations affecting growth rate in yeast (JAMES 1958, 1960a).

Yeast has special advantages for studies of this kind. Recessive mutant genes induced by irradiation in diploid cells may be sampled by causing the cells (or their descendants) to sporulate and then dissecting the four haploid ascospores from the surrounding sac or *ascus*. (These spores are the immediate products of meiosis.) Early growth rates of the spores are measured with considerable accuracy by growing the four spores from an *ascus* on a thin layer of agar which may be observed continuously through a microscope while being maintained at constant temperature and humidity. Early growth of the spores is characterized by the formation of microcolonies consisting of single layers of cells. The diameters of the microcolonies increase linearly with time for a considerable

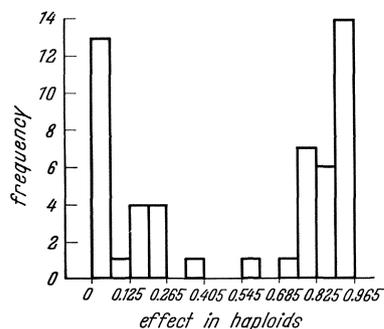


Fig. 40. Distribution of severities in independently derived recessive mutations of yeast induced by ultraviolet. Growth rate as a fraction of the normal rate. (From data of A. P. JAMES 1960a)

period. If the parent diploid cell contains a recessive lethal gene two of the haploid spores will fail to grow beyond a few divisions. Similarly, when a recessive deleterious gene is present in the diploid cell two of the haploid spores will grow more slowly than the others. Precise measurement of the severity of a deleterious effect is achieved by comparison of the growth rates of the four spores; repeated comparisons are possible using asci from clones of diploid cells descended from a single original mutant cell (see Fig. 40).

If mutations with slight effects greatly outnumbered all other mutations their collective importance might outweigh that of severe mutants. However, this does not appear to be the case for either *Drosophila* or yeast, when all mutations which fall within the more extreme hump of the distribution curve are counted as severe.

Slight expressions of a recessive lethal or deleterious gene, in the many heterozygous carriers over the generations prior to its appearance as a homozygote, may sometimes be more important than the homozygous effects (i.e. may result in a greater likelihood of gene elimination in the heterozygous state than in the homozygote). In *Drosophila*, a proportion of recessive lethals are known to have slight deleterious effects on viability in heterozygous carriers (MULLER 1950b; STERN *et al.* 1952). Such genes are said to be incompletely recessive or partially dominant.

A sensitive test for the presence of slight deleterious effects in the heterozygotes has employed a large random sample of recessive lethals induced in an irradiated suspension of diploid yeast cells. The proportion of cells carrying recessive lethals at any one time is determined by sampling and sporulating, the four spores from an *ascus* being dissected onto agar and permitted to grow. Samples taken immediately after the irradiation and at intervals during repeated growth and subculture show a gradual decline in the proportion of cells carrying lethals to about one half of that first observed (JAMES and CHAPLIN 1956). This indicates a reduction in the ability of many of the heterozygotes to propagate themselves under conditions of competitive growth.

The effects in yeast of individual recessive lethals and recessive deleterious genes have been studied in the heterozygous state by measuring the growth rates of microcolonies from appropriate diploid cells. The bulk of recessive lethal and near lethal mutant genes in yeast have slight detectable deleterious effects in the heterozygotes and the same is also true of many of the mutant genes showing less extreme recessive effects (see Fig. 41 and 42). There is no clear evidence of any beneficial effect from recessive lethal or deleterious mutant genes when present in the heterozygous state. Such beneficial effects may occur but in yeast they must be rare.

In a population the average number of generations before a recessive gene mutation results in a homozygous expression in any one individual will depend upon: (1) the size of the population; (2) the extent to which the matings between members of the population are random or non-random; (3) the frequency of the particular mutant allele within the population; and (4) the likelihood of selection against the heterozygotes. Small population size, assortative mating within groups, inbreeding, a high frequency of the allele, and an absence of deleterious effects in the heterozygote, all tend to result in an earlier appearance of homozygotes, and *vice versa*.

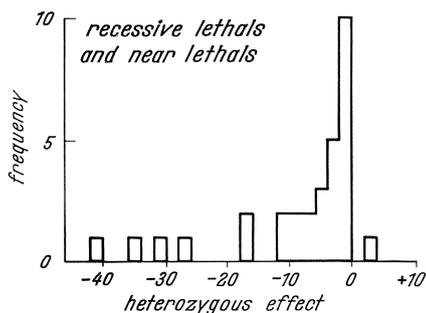


Fig. 41. Per cent reduction in growth rate of diploid yeast cells heterozygous for recessive lethal and near lethal mutations. (From data of A. P. JAMES 1960 b)

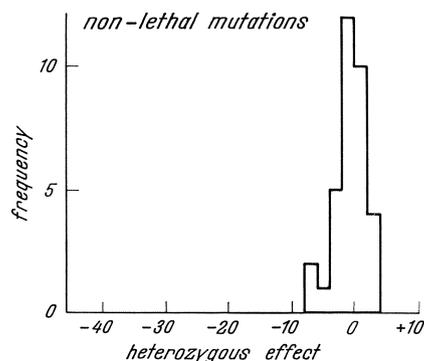


Fig. 42. Per cent reduction in growth rate of diploid yeast cells heterozygous for recessive non-lethal mutations. (From data of A. P. JAMES 1960 b)

#### f) Sex linked mutations

The inheritance of sex linked recessive mutations differs from that of other recessive mutations in that there is greater opportunity for early expression owing to the absence of a second X-chromosome in one of the sexes; in both mammals and fruit flies the male has the single X-chromosome. As a result, any induced recessive mutations in the X-chromosomes of females have an opportunity for expression in the sons (since a male inherits his X-chromosome from his mother); and similarly, mutations in the X-chromosomes of males are expressed in grandsons descended *via* the female line. Thus, the average delay in expression of recessive mutations arising from irradiation of a population is greatly reduced whenever these occur in the X-chromosome.

Recessive lethals induced in X-chromosomes of female reproductive cells would be expected to result in a deficiency of viable male offspring. In male germ cells the effect would not be the same since the X-chromosomes are passed solely to daughters and these receive a second X-chromosome from the mother; the daughters will therefore be heterozygous for (and relatively unaffected by) such recessive changes. However, dominant lethals induced in the X-chromosomes of irradiated male germ cells would act to reduce the proportion of viable daughters. Such effects upon the sex ratio have been considered as a possible means of studying the frequency of radiation induced mutations in humans.

#### g) Rate doubling dose

The observed natural rates of mutation at individual gene loci in experimental organisms range from approximately  $10^{-5}$  to  $10^{-11}$  per generation (see Table 19), while the radiation induced mutation rates range from approximately  $10^{-7}$  to  $10^{-10}$  per Roentgen per locus (see Table 20). It is sometimes convenient to express the relationship between the spontaneous and the induced rates in terms of the radiation dose required to double the number of mutations occurring in one generation (i.e. the "doubling dose"). This has been done for a number of different organisms and the values range from approximately 8 R to 390 R (see Table 21). The considerations governing the most likely value for man will be discussed later.

Table 19. *Natural mutation rates at single gene loci in organisms other than man*

Organism	Genes studied	Mutants per tested gamete	Reference
<i>Drosophila</i>	Av. of 9 sex linked recessives	$3 \times 10^{-5}$	1
	Av. of 12 sex linked recessives	$2.4 \times 10^{-6}$	2
	Av. of 4 recessive visibles	$2.5 \times 10^{-6}$	2
	Av. of 4 recessive visibles	$4.5 \times 10^{-5}$	2
	White eye	$0.7-3.7 \times 10^{-5}$	3
	Av. of 8 sex linked recessives	$3 \times 10^{-5}$	4
<i>Mice</i>	Av. of 7 coat colour loci	$7 \times 10^{-6}$	5, 6
<i>Bacteria</i>	Av. of about 30 biochemical back mutations	$4.5 \times 10^{-9}$	7
	Range of above	$10^{-11}$ to $4 \times 10^{-8}$	7

Based on Table II. of Annex H to the Report of the United Nations Scientific Committee 1958.

## References:

1. MULLER, VALENCIA and VALENCIA 1950.
2. GLASS and RITTERHOF 1956.
3. BONNIER and LÜNING 1949.
4. DEMEREC 1937.
5. RUSSELL 1951.
6. CARTER, LYON and PHILLIPS 1956.
7. GLOVER 1955.

Table 20. *Rates of radiation induced mutations at single gene loci in organisms other than man*

Organism	Genes studied	Stage irradiated	Mutation/locus/R	Reference
<i>Drosophila</i>	Av. of 9 recessive visibles	oöcytes and oögonia	$1.4 \times 10^{-8}$	1
		spermatogonia	$1.5 \times 10^{-8}$	2
		mature sperm	$6 \times 10^{-8}$	2
		mature sperm	$4.4 \times 10^{-8}$	3
	White eye Av. of 7 recessive visibles	mature sperm	$5.2 \times 10^{-8}$	4
		mature sperm	$1 \times 10^{-7}$	5
	mature sperm	$7.6 \times 10^{-8}$	6	
<i>Mice</i>	Av. of 7 coatcolour genes	spermatogonia	$2.5 \times 10^{-7}$	7
<i>Bacteria</i>	Av. of about 30 biochemical back-mutations		$2.7 \times 10^{-10}$	8

Based on Table IV of Annex H to Report of the United Nations Scientific Committee 1958.

## References:

1. MULLER, VALENCIA and VALENCIA 1950.
2. ALEXANDER 1954.
3. PATTERSON (quoted in ALEXANDER 1954 above).
4. DEMEREC 1934.
5. BONNIER and LÜNING 1949.
6. GIRVIN 1949.
7. RUSSELL 1951.
8. GLOVER 1956.

## h) Continuously variable characters

Certain characters such as stature, intelligence and longevity, are influenced by gene differences at a considerable number of individual loci. Since the effect of a particular allele at any one locus is usually small, a continuous range of expressions exists at all

times within a population. The genes controlling such characters have been termed *polygenes* and the characters themselves are spoken of as *continuously varying* characters or (somewhat imprecisely) as *quantitative* characters.

Since both environment and heredity play a part in influencing such expression, the extent of the genetic contribution to the overall variability must be assessed by special techniques. Particularly useful is the degree of similarity between identical twins as

Table 21. *Calculated doubling doses in organisms other than man*

Organism	Genes studied	Stage irradiated	Doubling dose (R)	Reference
<i>Zea mays</i>	4 recessive visibles	pollen	28	1
<i>Oenothera</i>	self-incompatibility	pollen	60	2, 3
<i>Prunus</i>	self-incompatibility	pollen	60	2, 3
<i>Drosophila</i>	sex linked lethals	sperm	50	4
		aged sperm	140	5, 6
	9 recessive visible	spermatogonia	8	7
		oöcytes and oögonia	390	8
White eye	sperm	60	9	
<i>Mouse</i> <sup>1</sup>	7 recessive visibles	spermatogonia	30	10, 11, 12
		dominant lethals	through spermiogenesis	< 50
	sex ratio	spermatogonia	50	14

Based on Table 1 H of the British Medical Research Council Report 1956, and Table VIII, of Annex H to the Report of the United Nations Scientific Committee 1958.

<sup>1</sup> Acute exposures.

References:

1. KONZAK and SINGLETON 1956.
2. LEWIS 1948.
3. LEWIS 1949.
4. SPENCER and STERN 1948.
5. CASPARI and STERN 1948.
6. UPHOFF and STERN 1949.
7. MULLER, HERSKOWITZ, ABRAHAMSON and OSTER 1954.
8. MULLER, VALENCIA and VALENCIA 1950.
9. BONNIER and LÜNING 1949.
10. RUSSELL 1951.
11. RUSSELL 1954.
12. CARTER, LYON and PHILLIPS 1956.
13. BATEMAN 1956.
14. CARTER 1958 (quoted in the Report of the United Nations Scientific Committee).

compared with fraternal twins, and between siblings as compared with unrelated foster children. From comparisons of these kinds it has been estimated that the genetic component of variation in birthweight is about 40 per cent of the total (ROBSON 1955), and that one half to three quarters of the variation in intelligence is genetic in origin (MATHER 1956b). Longevity has likewise been shown to be familial and to have a genetic component.

Information on the extent to which such characters are influenced by an increase in mutation rate is unfortunately meagre. It is not known how much of the genetic variability of natural origin is due to accumulated effects of mutations over past generations, and how much is due to selection. CLAYTON and ROBERTSON (1955) studying a relatively non-selective character in *Drosophila*, the number of bristles on the dorsal surface of the

thorax, have come to the conclusion that  $5 \times 10^5$  R would be needed to double the accumulated genetic variability already present in a natural *Drosophila* population.

This amount of variability could hardly be maintained by selection alone if it operated simply to favour an optimal intermediate number of bristles (ROBERTSON 1956; see also FISHER 1930). Of course, if there is *heterosis*, individuals heterozygous at one or more of the loci possessing some special advantage, this might account for the maintenance of genetic variability without assuming any major effect of repeated natural mutations. This point of view has been urged by LERNER (1954) but supporting evidence is scanty (see PAXMAN 1955; MATHER 1956a and c). At first sight mutation might seem to be only a minor source of quantitative variability, especially where there is a high rate of elimination at one end of the distribution (as, for example, in birthweight variations) since this would imply a higher mutation rate than is at all likely in order to balance the eliminations (i.e. thus arguing for selection as the more important cause). However, if a large fraction of the genetic variability were hidden by polygenes at different loci cancelling one another out, the eliminations in each generation might represent a very small part of the total variability and the chance of it being replenished by mutation would be correspondingly increased (see Report of the United Nations Scientific Committee 1958).

The effect of doubling the existing genetic component of intelligence variations in man has been calculated by MATHER (1956b); he concludes that the number of children with an I.Q. of less than 70 (who, under present conditions, are considered to need special schooling) would be about trebled. This estimate assumes that the mean remains constant while the variability is increased. If, on the other hand, the mean declines so as to keep a constant proportion with I.Q.'s of over 115, a somewhat greater increase in the number of children with I.Q.'s of less than 70 would be expected (perhaps by as much as 4.5 fold).

The extent to which spontaneous mutations occurring in one generation contribute to the total variance has been estimated in *Drosophila* for two different bristle characters (DURANT and MATHER 1954; CLAYTON and ROBERTSON 1955; PAXMAN 1955). The increment is studied by observing inbred lines in which, when inbreeding is stopped, the accumulation of genetic variability from spontaneous mutations is resumed. The estimated increment for both characters is not less than  $1 \times 10^{-3}$  of the amount of variability present in normal *Drosophila* populations (as indicated by the data of CLAYTON and ROBERTSON) and might be 2 to 3 times this figure.

MATHER feels that this suggests a probable linear relationship between mutation rate and the amount of heritable variability in a *Drosophila* population. The increment in variability following exposure of adults in each generation to a radiation dose of 1,800 R is about ten times the spontaneous increment over an equal number of generations, so that about 200 R per individual per generation would be required to double the effects of spontaneous mutation (CLAYTON and ROBERTSON 1955). However, this figure is based on selection experiments which measure phenotypic change under conditions of continued selection. A somewhat different answer is obtained from direct observation of the increase in variability, this being about six times as great as the variability accessible to selection. Thus 200 R appears to produce about six times the spontaneous increment and the doubling dose is therefore close to 30 R. This is similar to the figure for the doubling dose derived from mutations at single loci, despite the possibility that a proportion of the mutations among polygenes may be obscured by mutations having opposite effects so that the two kinds cancel one another out.

Such estimates must be treated with caution because the effects of lethal mutations and structural changes may be obscured, or be confused with, the changes in the polygenic systems. Studies based on inbred lines may overestimate the effect which mutations of polygenes would have on a natural population already possessing its full quota of variability or having allelic forms at most of the polygene loci. Over against this, there is the possibility that new mutation might act both to increase the numbers of allelic forms at a locus and the numbers of loci contributing to the variation. A balance between

these two opposing effects would probably result in slightly less of an effect than would be expected from a 30 R doubling dose. The effect would also be less if there were heterozygous advantage since in normal populations an equilibrium, independent of mutation rate, would be established. This possibility is not entirely ruled out by the failure of a special search (by PAXMAN) to detect such heterozygous advantage. Thus, a permanent doubling of the mutation rate might double the genetic variability but this would be the maximum effect and the increase might be less.

The need for a better understanding than we now have of the effects of irradiation on the quantitative characters becomes particularly apparent when attempts are made to assess the consequences of irradiating human reproductive tissues. Fortunately some additional information should eventually be available from mammalian experiments but none of the studies reported as in progress is, as yet, in an advanced state. The designs of these experiments will be discussed later.

#### **i) Detriment versus benefit**

The bulk of mutations appearing in laboratory stocks of experimental organisms are detrimental to the individuals carrying them and mutations with obvious beneficial effects are rare. This is certainly true of the morphological abnormalities observed in *Drosophila* (such as the wing shape variants) and in many other organisms. Strong reasons exist for believing that most mutations will be deleterious; the direction in which the genes mutate is not, so far as can be determined, influenced by the environment to improve the organism and mutations must therefore be thought of as essentially random changes in systems which have already been selected over the course of their evolution for a high level of integration and adaptation to the environment. Evidence from radiation induced mutations used in agricultural plant breeding supports this view; a ratio of one beneficial mutation (for the purposes of the plant breeder) to about 500 deleterious mutations is observed (GUSTAFSSON 1952). There is little reason to doubt that the mutations which have noticeable effects are almost all harmful.

It does not necessarily follow that the same is true of mutations having slight effects, and only by refined quantitative studies will the point be settled. However, very sensitive studies of growth rate mutations in yeast (JAMES 1960a) have so far failed to detect any apparent beneficial effect in heterozygotes of about 50 induced mutants tested. Beneficial effects, if present at all, must be either rare or slight. Corresponding evidence relating to possible heterozygous advantage in mutants having even smaller homozygous deleterious effects is still incomplete.

Such experiments deal only with mutations having individually distinguishable consequence, and although the methods of detection have been refined there undoubtedly remains a class of mutant having still lesser effects which are incapable of being studied individually. Evidence regarding these can only be obtained from population experiments in which the ability of irradiated and unirradiated gene complements to compete, or survive, is measured.

#### **k) Induced as compared with natural mutations**

Although there are detectable differences between the kinds of mutations induced by different mutagens, and between the mutagen induced and the natural changes, these differences are generally small. The evidence for this was reviewed in an earlier section. However, it remains to consider whether, in man, mutations induced by artificial sources of ionizing radiation are likely to differ significantly from those occurring naturally.

A proportion of natural mutations are presumably due to background radiation so that increased exposure will not produce any essentially new kinds of change. In man, an assumed doubling dose of 30 R per generation, as compared with 3 R from the natural background, implies that ten per cent of the natural mutations are due to natural

radiation; whereas if the doubling dose is 100 R, 3 per cent must be due to natural radiation. Although the precise proportion is doubtful it is certain that increased exposure to radiation will produce only known kinds of mutations, and in all probability the induced mutations will be collectively indistinguishable from those which occur normally.

## 2. Effects in populations

Collectively, recessive lethal mutations induced by radiation result in an average decrease in viability in heterozygous carriers. This is true of *Drosophila* (STERN *et al.*

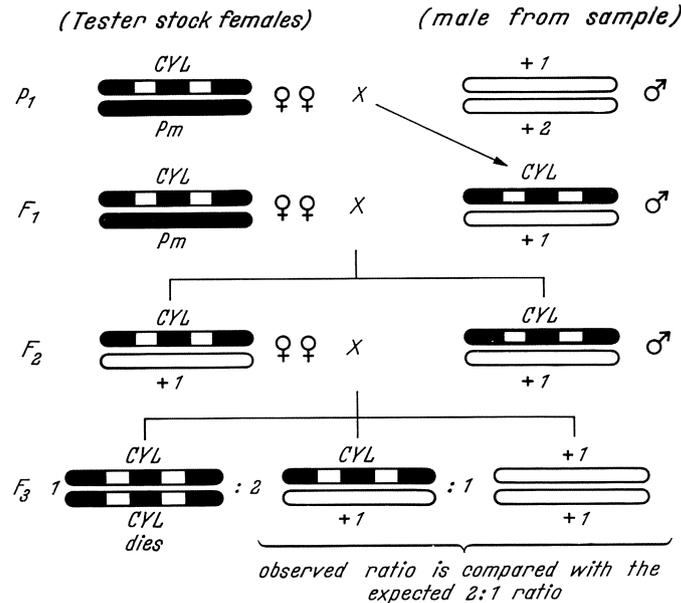


Fig. 43. System of mating for testing "second" chromosomes from irradiated *Drosophila* populations. *Cy L* technique: *Cy* (Curly), *L* (Lobe), and *Pm* (Plum) are marker genes which are lethal when homozygous but which cause visible morphological differences in the heterozygotes. The *Cy L* chromosome carries two inversions which suppress crossing over. If the irradiated chromosome (+1) carries recessive lethal or deleterious genes the ratio of Curly Lobe flies to normal flies in the  $F_3$  generation will be greater than 2:1. (Redrawn from WALLACE 1956)

arise through mutations at many loci, each having an individually slight effect in the heterozygote (as well as in the homozygote). Experiments which indicate the advantage or disadvantage associated with the presence of whole chromosomes derived from irradiated populations of experimental organisms are therefore useful.

Tests of this kind have been devised by WALLACE (1956) for *Drosophila*. In essence they measure the differential ability of individuals inheriting an irradiated or a non-irradiated chromosome (the "second" chromosome of the *Drosophila* complement) to survive from egg to adult. The breeding procedures permit two kinds of comparison: (1) individuals homozygous for a "second" chromosome drawn at random from an irradiated population may be compared with individuals heterozygous for this chromosome and its homologue from a "tester" stock of flies (see Fig. 43); (2) by a slight modification of the procedure individuals heterozygous for two irradiated second chromosomes (both derived from and irradiated population by sampling) may be compared with individuals having only one irradiated second chromosome and its homologue from the tester stock. A ratio of the two phenotypically distinct types of offspring from the same

1952; see also MORTON, CROW and MULLER 1936) and of yeast (JAMES 1960b). However, were even a small proportion of them beneficial in the heterozygous state (STERN and co-workers reported 2 out of 75 tested which appeared to be heterotic), an irradiated population might conceivably benefit through the accumulation of recessive changes—the eliminations of unconditionally deleterious changes and of the occasional homozygotes being the price paid for the benefit.

Tests carried out on individual mutant genes to detect possible heterozygous advantage or disadvantage are not sufficiently sensitive for detailed study of very slight effects. The approach suffers from the further limitation that only genes having individually recognizable effects in homozygotes can be tested at all. It is conceivable that important consequences of irradiating whole populations may

pairs of parents is measured in these tests (see Fig. 43) and very slight differences in viability associated with the presence of an irradiated chromosome may be detected as deviations from the expected ratio. Tests of these kinds are normally carried out on both irradiated and unirradiated (control) populations.

The approach has been used to study *Drosophila* populations exposed to radiation over many generations (up to 140 generations in some experiments). Exposures to 1,000 and 7,000 R per generation (acute), and to 0.9 and 5.1 R per hour (chronic), have been employed. Chromosomes to be tested are derived from males sampled at intervals from the populations (60 to 80 chromosomes per sample being tested in the later generations and more than 400 per sample in the first generations).

Lethality in individuals homozygous for second chromosomes from irradiated populations increases progressively with the total accumulated exposure to the population, eventually reaching an equilibrium level beyond which no further increase occurs (presumably because the changes are eliminated as fast as they are produced). When irradiation is stopped, the recessive deleterious genes are lost rapidly in some populations and very slowly in others.

However, since most of the individuals in an irradiated population are presumably heterozygous for the induced gene changes it is necessary to test how pairs of homologous chromosomes affect survival when both are drawn independently from the same irradiated population. This is determined by a slight modification of the test shown in Fig. 43, so that in one individual two homologous irradiated chromosomes are brought together. These are derived from *different* males in a sample of the irradiated population, instead of both from the same male.

These tests indicate that whole irradiated chromosomes having no detectable deleterious effects in homozygotes (and which therefore would not normally be suspected of containing mutated genes at all) are nevertheless sometimes beneficial in the heterozygous state.

The findings relate solely to mutations which have been sifted by selection and therefore give little indication of the proportion of *new* mutations which have slight beneficial effects. Since *Drosophila* females lay nearly 50 times as many eggs as are necessary for population replacement the elimination of a large number of misfits in each generation is a small price to pay for even slight population improvement. There is no parallel situation in human populations.

The breeding test lends itself also to studies of new (unselected) mutations induced by radiation (WALLACE 1957). Such studies indicate, somewhat unexpectedly, that exposure of *Drosophila* chromosomes to 500 R results in changes which slightly increase the survival of individuals carrying one irradiated second chromosome and an unirradiated homologue (as compared with individuals homozygous for the unirradiated chromosome). These results go beyond the prediction of FISHER (1930) that small genetic changes should at best have equal probabilities of being advantageous or disadvantageous. They do not, however, indicate that in general a mutation will improve the viability of a typical individual, but merely that heterozygosity for the radiation induced changes represents an improvement over homozygosity for all the genes on an unirradiated chromosome. Since most of the induced mutations having severe deleterious effects in the homozygous state are slightly deleterious in the heterozygotes, it must be inferred that the *average* heterotic effect detected in this study resides largely with those mutant genes having small effects when homozygous. Whether mutations with slight homozygous effects are frequently heterotic, or merely contain a small proportion which are markedly heterotic, is not determinable from these experiments.

It is not permissible to draw the conclusion that radiation is likely to be beneficial to a human population from these findings. Heterozygosity in human populations is already high and the likelihood that any improvement would result from adding more is remote. The degree of selection which a *Drosophila* population is capable of tolerating

would be quite unacceptable in any human population, not only because of the importance attached to the individual but because of the much lower reproduction rate.

These findings emphasize a need for caution in drawing conclusions about effects of induced mutations on "quantitative" characters.

### 3. Effects in somatic cells

Knowledge of the consequences of radiation induced changes in genes and chromosomes of germ line cells has progressed largely by the combined use of cytological methods and breeding techniques. Consequences of the same kinds of change in somatic cells are more difficult to study due to limitations imposed by lack of appropriate techniques.

A proportion of cell deaths following irradiation of body tissues is known to be due to chromosome breakage and rearrangement. The fraction of total cell deaths arising

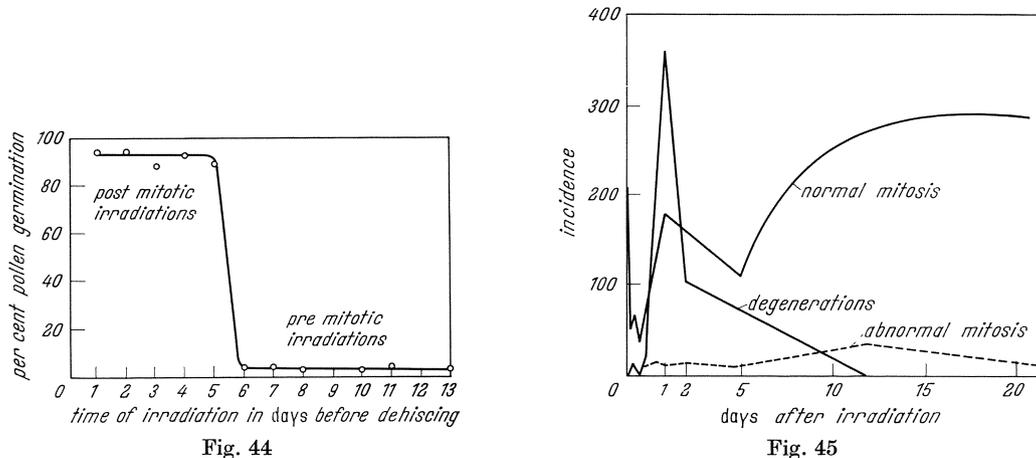


Fig. 44. Germination of *Tradescantia* pollen irradiated at different times before and after pollen grain mitosis. (Redrawn from NEWCOMBE 1942a)

Fig. 45. Incidence of early cell deaths and abnormal mitoses in frog tadpole eye after gamma irradiation (268 R at a rate of 3.8 R per minute). (Redrawn from GLUCKSMANN 1954)

in this manner probably varies both from tissue to tissue and with the conditions of irradiation, but only in a few instances are the relative proportions even to be guessed at. Similarly, gross changes in the chromosome complement are a noticeable feature of tumour cells and are known to be radiation induced, but whether they are instrumental in the induction of tumours by irradiation has not been determined. Even less is known about the extent to which chromosomal changes contribute to the physiological response of whole organisms to irradiation. The consequences may perhaps include various delayed effects such as the accelerated aging observed in irradiated laboratory animals.

#### a) Causes of cell destruction

Evidence of the chromosomal nature of induced dominant lethal changes in germ cells presumably may be applied also to somatic cells. Thus, in some irradiated somatic tissues chromosome bridges and major deletions may be frequent causes of cell death, while physiological damage is more important in others.

If cells are irradiated during interphase, deaths tend to be delayed until the time of the next nuclear division. This has been shown for *Tradescantia* pollen grains (see Fig. 44), epidermis of *Rhodnius*, and mammalian cells in artificial culture. Physiological causes of cell death do not appear to be important following interphase irradiations of *Tradescantia* pollen grains since pollen grain mitosis proceeds to the telophase stage, even after very high doses virtually shattering the chromosome complement. Also, KOLLER (1943)

has shown that with low doses the amount of cell death closely approximates to that expected from the frequency of chromosomal aberrations. A similar conclusion may be drawn for mammalian cells in artificial culture from the high proportion of those irradiated proceeding to telophase and the abundance of chromosome bridges following high doses.

Physiological causes of death in *Habrobracon* oocytes, as mentioned earlier, predominate following prophase irradiation. This is probably true also in cells of frog tadpole eyes; in these, prophase degenerations (which must be due to causes other than chromosomal breakage) greatly outnumber abnormal cell divisions for the first few days after irradiation but the relationship is later reversed (see Fig. 45). Initiation of cell division appears to be necessary for the expression of both the physiological and the genetic causes of cell death; where division is sufficiently delayed it seems probably that recovery from physiological damage may take place leaving chromosomal breakage and rearrangement as the chief remaining cause of death.

Studies of radiation damage to tissues in which cell division may be delayed until some time after exposure are therefore of special interest. RIXON and co-workers (1958) have exposed regions of rat skin to doses of 1,600 and 2,400 R, to determine whether mammalian skin harbours lingering chromosomal changes which would interfere with the healing of subsequently inflicted thermal burns. The higher dose retards healing of the thermal burns inflicted as long as two weeks after irradiation, but more prolonged lingering effects are not observed.

This result contrasts sharply with BALDWIN's observation of latent injury in irradiated insect epidermis, which persists indefinitely preventing development of normal epidermis and cuticle during the next molt even if this is delayed until months after the irradiation. However, mammalian cells in artificial culture form numerous bridges at anaphase very shortly after exposure of 400 to 1,000 R; most of these aberrations are presumably lethal and relatively few cells are seen to degenerate prior to metaphase. This indicates that physiological causes of death do not always predominate in cells attempting division soon after irradiation.

Such diverse observations emphasize the extent of variation in the mechanisms causing cell death under different conditions. Especially, there is a lack of mammalian data indicating the role of damage to the genetic apparatus as a factor contributing to destruction in irradiated somatic cells of different tissues under various conditions.

### b) Tumour induction

It is a truism that formation of tumour cells must involve hereditary change. Theories on the origin of cancer have assumed either: (1) changes in cytoplasmic factors, (2) virus incorporation or virus induced changes, (3) losses of antigens, or (4) aberrations of differentiation. SCHULTZ (1958) has emphasized that these mechanisms all relate to special cases of change in the genetic apparatus of cells. The important question, and one which is largely unanswered, concerns the precise nature of the initiating changes. In the present connection the relationship of these to radiation exposure is of special interest.

The idea that some kind of genetic change is involved emphasizes the possibility that the radiation dose-response curve, for some cancers at least, may be linear at low doses (as is observed for gene mutations and primary breaks of chromosomes). Known deviations from linearity at high doses do not exclude this possibility since there is a close analogy in the dose-effect curves for mixed 1-hit and 2-hit chromosomal aberration. Although not yet proven, its very plausibility has led to an increased emphasis on mammalian experiments and human surveys which might throw light on the shape of the dose-response curve at low doses.

Studies of leukaemia in mice have yielded different response curves depending on the kind of leukaemia and the strain of mice (see Fig. 46). None of the curves is a straight line. Doses below 100 R are relatively ineffective in producing thymic lymphomatosis

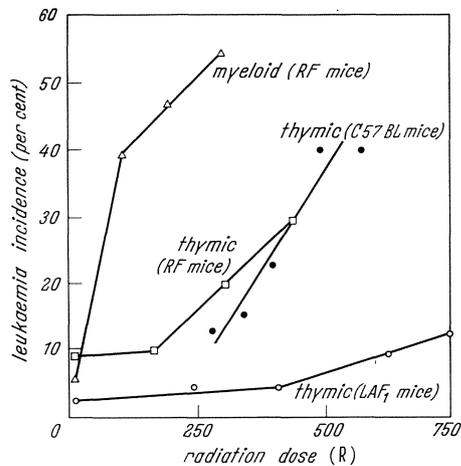


Fig. 46. Leukaemia incidence and radiation dose in mice. Myeloid leukaemia in R. F. mice (UPTON, WOLFF, FURTH and KIMBALL 1958). Thymic lymphomatosis in R. F. mice (*ibid.*). Thymic lymphomatosis in L. A. F. mice (FURTH, UPTON, CHRISTENBERRY, BENEDICT and MASHMAN 1954). Thymic lymphomatosis in C57 B. L. mice (KAPLAN and BROWN 1952, reported by UPTON 1958). (Redrawn from UPTON 1958)

in all strains of mice, but myeloid leukaemia differs considerably from this and the response curve suggests that still lower doses might be effective.

Human surveys likewise indicate that relatively low doses of radiation sometimes cause an increase in the frequency of leukaemia. Patients with ankylosing spondylitis treated by Roentgen irradiation of the spine and survivors of the atomic bomb at Hiroshima (see Table 22), also offspring of mothers having pelvimetries during pregnancy (see Table 23), have been studied. Evidence from adult irradiations is suggestive of a linear dose-effect relationship at low doses. Data from foetal irradiations are not divisible according to dose but the incidence of malignancy seems to vary with the number of films taken (see STEWART *et al.* 1958); Stewart's work indicates, however, that very low doses, in the vicinity of a few R, are capable of causing leukaemias and other malignancies in man if the exposure is received during a sensitive stage of development.

Although such evidence falls far short of proving a linear dose-effect relationship in the low dose

range (and has only limited bearing on the question of the possible role of radiation induced changes in the genetic materials of somatic cells). It does suggest the possibility of a linear response down to zero dose.

When considering the likely somatic effects of exposing very large numbers of individuals to very low doses of radiation two alternative possibilities must be kept in mind, that: (1) the exposure may perhaps cause no additional malignancies, or (2) it may cause malignancies in proportion to the dose and the number of people exposed. In the latter case, the risk to an average individual of developing radiation induced leukaemia is about  $1.5 \times 10^{-6}$  per year per R of absorbed dose (as compared to a natural incidence of  $50 \times 10^{-6}$  per year), with an uncertainty of about three fold in either direction. This is equivalent to saying that something like 10 to 20 per cent of the

Table 22. Incidence of leukaemia in patients treated with Roentgen rays for ankylosing spondylitis and in Japanese atomic bomb survivors at Hiroshima

Av. max. dose of radiation R <sup>1</sup>	Spondylitis patients <sup>2</sup>			Hiroshima survivors <sup>3</sup>		
	no. exposed	patients with leukaemia		no. of survivors	survivors with leukaemia	
		no.	%		no.	%
2,250	290	6	2.086			
1,750	805	4	0.497			
1,300				1,200	16	1.33
1,250	3,062	11	0.359			
750	4,180	10	0.239			
500				10,500	28	0.266
250	2,861	4	0.139			
50				18,700	6	0.032
5				67,700	10	0.015

<sup>1</sup> Crude approximation of radiation according to the method of LEWIS (1957). Because these estimates are subject to large errors they are considered to provide at best only a semiquantitative correlation between leukaemia incidence and radiation dose.

<sup>2</sup> COURT-BROWN and DOLL (1957).

<sup>3</sup> Report of the Committee on Pathological Effects of Atomic Radiation, NAS — NRC Publ. No. 452 (1956). Table from UPTON 1958.

natural incidence of leukaemia might be caused by natural background radiation (see LEWIS 1957; COURT-BROWN and DOLL 1957).

This reasoning has been used to calculate the possible effects of exposing large human populations to low levels of man made radiation, both from external exposures and from radioactive isotopes incorporated into the body (e.g. strontium-90 in bone). Thus, LEWIS

concludes that one tenth of a microcurie of strontium-90 (total body burden) per person might cause an increase of 5 to 10 per cent in the incidence of leukaemia. Similar calculations relating to the expected levels of fallout from nuclear weapon testing are given in the *Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation* (1958).

It may be assumed in making such calculations, either that the exposure received at any one time increases the risk of leukaemia over an indefinite period, or that the risk is increased for a limited period (e.g. 10 to 15 years); for chronic lifetime exposures the estimated overall risk will differ by a factor of 2 to 3 depending on which of the assumptions is chosen.

The chief source of uncertainty in these calculations (apart from the initial assumption of a non-threshold and approximately linear dose-response curve) relates to the possible existence of a dose-rate effect. Thus, the risk might be much less from chronic exposures than predicted on data drawn from single or multiple acute exposures. Unfortunately, no human data are available on which to base an appropriate correction and animal data (indicating a greatly reduced effectiveness when an exposure is fractionated — MOLE 1958) are of uncertain relevance. The results of such calculations, therefore, lean towards a maximum plausible risk.

The calculated risks from exposures of large populations to low levels of radiation often appear minute if expressed simply as an individual risk, yet at the same time seem large when expressed as absolute numbers of affected people in a world population of two and a half billion. Thus, the possible risk from indefinitely continued nuclear weapon testing at the 1954 to 1958 rate, which might result in a 70-year lifetime exposure to bone from incorporated radio-strontium of about 3 R in countries where milk is the chief source, or 17 R where rice is the chief source, of calcium (as compared with a natural background of 7 R) has been estimated in the *Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation* (1958). Assuming a linear response, the result might be 5,000 to 60,000 leukaemias per year in a future world population of  $5 \times 10^9$  people (or 150,000 to 1,800,000 leukaemias per 30-year generation period). This is equivalent to a maximum personal risk of less than one per thousand per thirty years in populations receiving their calcium largely from rice. However, since no allowance is made for a probable reduction in effect of exposures delivered at low dose rates, the estimates may grossly exaggerate the true risk.

Unfortunately, it is more difficult to estimate similarly the numbers of bone tumours resulting from exposures of large populations to low levels of radiation, either from external sources or from radioelements, such as strontium-90, incorporated into body tissues. The natural incidence is not known with any accuracy approaching that for leukaemia, and there is almost no evidence relating the production of bone tumours in humans to low doses of radiation. The lowest doses reported in the literature as causing bone tumours are in the region of 1,400 R. One of the few reliable figures for bone tumour incidence is derived from unpublished data of Watson collected in the Canadian Province

Table 23. *Proportions of direct foetal irradiations in children who developed leukaemias or other malignancies before the age of 10, and in an equal number who did not develop malignancy*

Birth order <sup>1</sup> of child	Children with malignancies		Children with no malignancy		Ratio
	no. irradiated/ total	% irrad.	no. irradiated/ total	% irrad.	
First	85 / 510	16.7	36 / 427	8.4	1.99
Second	47 / 393	12.0	28 / 448	6.3	1.90
Later	46 / 396	11.6	29 / 424	6.8	1.71
Combined	178 / 1,299	13.7	93 / 1,299	7.2	1.91

<sup>1</sup> The children are distributed according to birth order because of a higher natural incidence of leukaemia in first births.

The dose received by the foetus is not known with any degree of accuracy but may have been in excess of 2.5 R in a considerable proportion of cases (see OSBORNE and SMITH 1956).

Data from STEWART *et al.* 1958.

of Saskatchewan over the 13 year period 1932 to 1944; 47 cases were recorded in a population of approximately 900,000, representing an incidence of about 120 cases per million population per 30 year period (see NEWCOMBE 1957).

An artificially high "upper limit" may be calculated from the unduly pessimistic assumptions that all natural bone tumors are due to background radiation and that response is linear with dose (see NEWCOMBE 1957). However, it is scarcely credible that all bone tumors are due to radiation so it has been suggested that a plausible upper limit may be about 1/10 this value (i.e. assuming not more than 10 per cent of the normal incidence is attributable to natural radiation — see *Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation*, 1958). In either case the estimated maximum hazard is less than the corresponding upper limit for leukaemia from the same dose, mainly because bone tumor is a much rarer disease.

#### c) Cell population dynamics

In plants subjected to continuous low intensity irradiation (1.7 and 8 R per day) cells containing induced chromosomal aberrations do not continue to divide at the usual rate and are outgrown by normal cells (SAX 1950). It has been shown by SAX that if sufficient radiation is given in a limited period of time to induce aberrations in all cells, the plant dies. At low intensities, differential multiplication of uninjured cells prevents an accumulation of damaged cells beyond a certain point and results in recovery when the exposure is stopped.

Recovery in man and the higher animals from the accumulated damage due to chronic exposures is, unfortunately, thought not to occur so efficiently by this mechanism. Determinate growth of the organism as a whole and the high sensitivity of tissues that are in a state of continuous cell division would be expected to limit the extent to which the animal is capable of ridding itself of damaged cells. However, there is a lack of experimental evidence bearing directly on this point.

#### d) Aging of exposed individuals

Accumulation of genetic changes in somatic cells may play some part both in natural aging and in the accelerated aging sometimes observed in irradiated animals (see FAILLA 1958). To test this possibility experimentally in mammals presents many difficulties. However, OSTERTAG and MULLER (1959) have shown that most of the delayed mortality in fruit flies after exposures of 4,000 R to immature individuals is due to chromosome breakage followed by loss at the next division. A sigmoid dose-response curve for acute exposures becomes linear for chronic irradiation. It is thought that impaired rather than killed cells may be proportional to dose in the latter case.

### 4. Mammalian studies relating to hazards

#### a) Chromosomal effects

In mice, irradiation of cells in the early stages of sperm production (i.e. spermatocytes) produces relatively few dominant lethals; the subsequent (spermatid) stage is particularly sensitive and irradiation of spermatozoa yields intermediate numbers (RUSSELL and RUSSELL 1958; BATEMAN 1956). Sensitivity to the induction of translocations shows an essentially similar variation with stage (AUERBACH and SLIZYNSKI 1956). Parallel observations of female gametogenic stages are more difficult but the first meiotic metaphase (i.e. about eight hours before fertilization) is known to be much more sensitive to the induction of dominant lethals than the earlier, primary oocyte, stage (RUSSELL and RUSSELL 1956). Although dominant lethals are common following irradiation during later stages of egg production, translocations appear to be very much rarer than in irradiated spermatozoa (RUSSELL and WICKHAM 1957).

### b) Specific locus mutations

Recessive mutations at particular gene loci in mice are detected by mating irradiated wild-type (homozygous normal) males with females homozygous for recessive mutant alleles at loci having visible effects. The matings yield offspring of normal phenotype except where a mutation has occurred at one of the specific loci in a gamete of the irradiated male parent. Strains of mice carrying recessive mutant genes at seven coat colour loci have been used for this purpose by RUSSELL (1951) and by CARTER *et al.* (1958).

Variation in sensitivity to radiation induced mutation between the seven mouse loci (see Table 24) is greater than usually found for specific locus experiments in *Drosophila*. However, the two kinds of data are not strictly comparable since the mouse data are drawn from irradiated spermatogonia whereas the bulk of the *Drosophila* experiments use irradiated sperm. Recent studies on mice suggest that there is a greater uniformity of induced mutation rates at different loci following exposure of post-spermatogonial stages.

Radiation induced deficiencies of small regions of chromosome containing a locus might perhaps be confused with gene mutations. It is unlikely that any large deficiencies are transmitted from spermatogonial irradiations. However, two closely linked genes, the *d* and the *se* loci, might be expected to be lost simultaneously in a proportion of cases if deficiencies of even small regions were involved. Of 24 mutations at the *d* locus and 3 at the *se* locus following spermatogonial irradiations, no simultaneous mutations at both loci (indicative of deletion) have been observed. Simultaneous losses of both loci do occur, both spontaneously and following irradiation of post-spermatogonial stages, thus indicating that the two loci are in fact close together on the chromosome as their close linkage suggests.

Most of the induced mutations have been tested for viability in the homozygotes, 77 per cent (71 out of 92 tested) are recessive lethals and kill prior to maturity. The homozygous lethal mutations may possibly be small deficiencies of chromosome material but as yet this is uncertain. Death due to recessive lethals occurs either perinatally or at about weaning. None of the effects so far studied results in early embryonic death so as to pass unnoticed in human experience; instead, all deaths are at times which in human infants would be considered tragedies.

A small number of mutant genes having intermediate effects on viability in the homozygous state and some mutants having slight dominant effects on viability have been found. Since in natural populations heterozygous individuals greatly outnumber homozygotes for induced mutant genes, these slight dominant expressions would probably have a greater collective importance than the recessive lethal effects.

### c) Induced mutation rates

Acute exposures of 300 to 600 R to spermatogonia give an average mutation rate in the seven mouse coat colour loci of approximately  $21$  to  $28 \times 10^{-8}$  per R per locus per gamete (RUSSELL 1951, 1954; RUSSELL, RUSSELL and KELLY 1958) as compared with a natural rate of approximately  $7$  to  $8 \times 10^{-6}$  per locus per gamete (RUSSELL 1951; RUSSELL, RUSSELL and KELLY 1958; CARTER *et al.* 1956). An exposure of about 30 to 40 R

Table 24. *Distribution among specific loci of mutations induced by acute Roentgen irradiation of spermatogonia in mice*

Dose (R)	Number of mutations at locus							Total
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>p</i>	<i>s</i>	<i>se</i>	
300	—	8	3	5	3	20	1	40
600	1	23 <sup>a</sup>	9 <sup>b</sup>	18 <sup>b</sup>	15	44 <sup>a</sup>	1	111
1,000	1	3	6 <sup>c</sup>	2	4	7	—	23
Total	2	34	18	25	22	71	2	174

<sup>a</sup> Four of these mutations occurred as clusters of two each.

<sup>b</sup> Two of these mutations occurred as a cluster.

<sup>c</sup> Three of these mutations occurred as a cluster.

From RUSSELL and RUSSELL 1959.

(i.e. the doubling dose) would thus be required to produce as many mutations as occur from natural causes in a generation.

The yield of mutations per unit dose declines at doses near 1,000 R (delivered at rates of 80 to 90 R per minute) compared with lower doses delivered at the same rate (see Table 25), presumably due to selective killing of the cells more prone to radiation induced changes. However, within the range 0 to 600 R, there is no statistically significant deviation from a linear response although the yield per R is slightly higher at 300 than at 600 R.

Table 25. *Mutations of seven coat colour genes in mice induced by acute Roentgen irradiation of spermatogonia*

Dose (R)	Number of offspring	Mutations at 7 loci	Av. mutations per locus per gamete ( $\times 10^6$ )	Av. induced mutations per locus per R per gamete ( $\times 10^8$ )
0	42,833	1	0.33	—
300	40,408	25	8.85	28.4
0	106,408	6	0.81	—
600	119,326	111	13.29	21.0
0	33,972	2	0.84	—
1,000	31,815	23	10.33	9.5

From data of RUSSELL, RUSSELL and KELLY 1958.

Table 26. *Mutations of seven coat colour genes in mice induced by chronic gamma irradiation of spermatogonia*

Dose (R)	intensity (R/wk)	Number of offspring	Mutations at 7 loci	Av. mutations per locus per gamete ( $\times 10^6$ )	Av. <sup>1</sup> induced mutations per locus per R per gamete ( $\times 10^8$ )
0	—	105,403	8	1.08	—
86	10	48,500	6	1.77	10.8
516	90	20,752	4	2.75	3.7
861	90	20,993	9	6.12	6.1

<sup>1</sup> Calculated using a spontaneous rate derived from the sum of the controls in this and the preceding table, i.e. 17 mutants out of 288,616 offspring tested. This gives a total rate of  $59 \times 10^{-6}$  per gamete for the 7 loci and an average rate of  $0.84 \times 10^{-5}$  per locus per gamete.

From data of RUSSELL, RUSSELL and KELLY 1958.

acute Roentgen ray and gamma ray (cobalt-60) exposures. A similar dose rate effect has also been shown for specific locus mutations induced by irradiation of oocytes.

Differences in intensity do not affect the yield either of specific locus mutations or of dominant lethals from irradiated spermatozoa. The dose-rate effect appears to be peculiar to the early stages of gamete production.

Apparent, gene mutation is not always a single-hit phenomenon. The likelihood of mutation at a locus is influenced both by the number of ionizations and by the time between them. A proportion of genes in an intermediate state and predisposed to mutate due to single ionizations must therefore revert to the normal non-mutant state unless a second ionization occurs within a limited period.

#### e) Male and female sensitivity

The present limited information on induced mutation in mouse oocytes indicates a rate of about  $35 \times 10^{-8}$  per R per locus for acute exposures (RUSSELL and CUPP 1959).

The induced mutation rates in post-spermatogonial stages appear to be about twice those observed in spermatogonia, i.e. in the vicinity of  $50 \times 10^{-8}$  per R per locus (RUSSELL, BANGHAM and GOWER 1958). In the mouse, genes have a much higher induced mutation frequency per unit dose than in *Drosophila*; the ratio is about 15 to 1 (RUSSELL 1956; RUSSELL and RUSSELL 1958).

#### d) Dose-rate effects

Recently the yield of mutations per R in mouse spermatogonia has been found to be considerably reduced when the radiation is delivered as a chronic exposure, i.e. at dose rates of 10 to 90 R per week (see Table 26). The average yield for chronic irradiations is about  $7 \times 10^{-8}$  per R per locus as compared with 21 to  $28 \times 10^{-8}$  for acute exposures, representing an approximate 3- to 4-fold reduction. This implies a doubling dose in the vicinity of 100 R for chronic exposures. That the difference between the effect of acute and chronic irradiation is not due to the difference in the quality of radiation used (Roentgen rays for the acute and cesium-137 gammas for the chronic) has been demonstrated by comparing the effects of

and of  $5 \times 10^{-8}$  per R per locus for chronic exposures (RUSSELL, RUSSELL, GOWER and MADDUX 1958; CARTER *et al.* 1958). The sensitivities of mouse oocytes and spermatogonia, therefore, do not seem to vary greatly.

#### f) The possibility of recovery

Theoretically at least, it is possible that spermatogonia carrying induced mutations might divide more slowly than non-mutated spermatogonia. If so, irradiated male reproductive tissues would progressively eliminate induced mutations. This effect has not been found in *Drosophila*, and recent extensive data on male mice bred for approximately two years after irradiation show no marked alteration in mutation rate (RUSSELL, RUSSELL and OAKBERG 1958). The possibility that a decline in mutant frequency might be detected after a still greater lapse of time cannot be ignored, but the evidence suggests that any such recovery effect is unlikely to be large enough to be important in relation to the human hazard.

#### g) Heritable effects on longevity

A statistically significant reduction in lifespan has been observed in offspring of neutron irradiated male mice (RUSSELL 1957). Progeny were obtained from matings 19 and 23 days after exposures of 31 to 186 rad; i.e. the mice were irradiated during a period in gamete development which is especially sensitive to the induction of genetic changes. The average shortening of life based on 24 control and 128 exposed animals is 0.078 per cent per rad; it may also be expressed as 0.61 days per rad, with 95 per cent confidence limits at 0.14 and 1.07 days. The reduction in life span of the offspring is thus comparable to that of the exposed individuals themselves.

A proportional shortening of life in human offspring of irradiated fathers would, on a proportional basis, be represented by a loss of 20 days per rad out of a 70 year lifespan (with confidence limits of 5 and 35 days per rad to the father). Since the results are derived from exposures at a particularly sensitive stage of gamete development the observed effect in mice may be 2 to 4 times that which would result from irradiation at an earlier and less sensitive stage. Nevertheless, the finding emphasizes the importance of slight dominant deleterious effects of gene mutations compared with the more severe recessive effects. Since the greatest difficulties in estimating genetic hazards to humans are associated with the quantitative or continuously variable traits, these results are of special interest in that they relate to a quantitative character. The above calculations are based only on offspring surviving to three weeks of age thus excluding the known early lethal effects of exposure of the fathers. A similar but smaller reduction in lifespan has been observed in offspring of males exposed to Roentgen rays.

Early lethal effects in progeny of males mated immediately after irradiation have been studied by MCGREGOR, JAMES and NEWCOMBE (1959). Here, only a small part of the mortality is due to induced deleterious mutations transmitted to offspring via the sperm. Approximately 42 per cent of offspring from fathers exposed to 800 R, die in the first 28 post natal days compared with 26 per cent in the controls. However, in numerically small litters the frequency of early deaths is abnormally high even in the unirradiated controls (possibly due to excessive pre-natal growth and the resulting birth injuries) and irradiated males father litters characteristically below average size. The difference in frequency of early deaths largely disappears if litters of the same size from irradiated and unirradiated fathers are compared.

A significant lethal effect of irradiation, independent of litter size, is observed in offspring from matings 5 to 8 days after irradiation, but not from earlier or later matings (i.e. not when mating occurs 1 to 4 days or 9 to 24 days after irradiation). Except when the gametes are exposed during this sensitive stage, the sizable effect observed seems due mainly to causes other than the inheritance of induced deleterious mutant genes.

### **h) Other quantitative characters**

Apart from the studies mentioned there are few dealing with effects of induced genetic changes on quantitative characters in mammals. This is unfortunate because such observations may be related far more directly to the human hazard than measurements of induced mutation rates at specific gene loci. Two experiments dealing with radiation induced quantitative variation in mammals have been reported as in progress.

One of these is designed to study the effects of 0, 50, and 100 R per generation on lifespan, reproductive performance, and behavioral characters (e.g. spontaneous activity) in mouse populations (E. L. GREEN 1958). The other uses a maze test to study effects of 0, 400, 600 and 800 R per generation on learning ability in rat populations. A statistically significant increase in average number of errors made in the course of learning the maze has been observed in the 800 R population compared with its control (MCGREGOR and NEWCOMBE 1962).

### **i) Somatic mutations**

The mutation rates for specific genes of somatic cells have been determined by irradiating embryo mice heterozygous for four of the seven coat colour loci 10 days after conception and examining the adults for mosaic patches (RUSSELL and MAJOR 1957). Detectable changes are induced at an average rate of  $7.0 \times 10^{-7}$  per R per locus, i.e. at about three times the corresponding (germinal) rate of induced mutation at the same four loci in spermatogonia.

### **k) Applications to man**

The following observations in mice are of particular relevance to the problem of genetic hazards to man: (1) The majority of the induced mutations at specific loci are recessive lethals. (2) A proportion of them have dominant deleterious effects on viability. (3) Most of the recessive lethals kill at times which would be considered tragedies in human experience (e.g. all the lethals at one locus kill at about weaning time). (4) Induced mutations at unidentified loci throughout the gene complement reduce the lifespan of immediate offspring from irradiated fathers.

Rat experiments indicate that the so called "higher functions" of mammals (e.g. learning ability) may be adversely affected by mutations at unspecified loci in much the same manner as the more strictly physical and physiological characteristics.

The best estimates, so far, of the exposure required to double the mutation rate in man have been based on the specific locus experiments in mice: This doubling, if sustained over many generations, would presumably double the incidence of those hereditary diseases maintained in human populations by repeated mutations.

## **5. Human studies**

It is difficult to obtain direct evidence from man on the extent and importance of radiation induced genetic changes. A number of studies have been based on offspring from: (1) patients receiving clinical irradiations (e.g. for sterility in women), (2) radiologists, and (3) survivors of the nuclear bombings at Hiroshima and Nagasaki. When interpreting data from these various sources it must be remembered that, even with high doses to the reproductive tissues of the parents, the expected risk to any one offspring is small; very large numbers of offspring must therefore be studied to detect any effect. It would be exceedingly difficult to make observations on human populations of the kinds carried out on rodents, relating to reduction in overall life span and decreased learning ability. To obtain useful information on delayed expressions large numbers of offspring would have to be followed for long periods or even until their deaths.

Observations on man have been restricted largely to characteristics visible at birth or shortly after; these include congenital abnormalities, stillbirth and changes in the sex

ratio. Both congenital abnormalities and stillbirth are largely non-genetic and the effect of an alteration in the genetic component tends to be masked. Attention has therefore been focused on the sex ratio. Slight changes in the ratio of male to female offspring, as such, would appear superficially to have little importance but may indicate that lethal mutations are operating to eliminate one or the other sex. As mentioned earlier, irradiation of mothers would be expected to decrease the proportion of male offspring while irradiation of fathers might have the opposite effect.

### a) Congenital abnormalities

A list of surveys on human offspring from irradiated parents is given in Table 27. The first two studies relate to literature reviews, while the third (that of KAPLAN 1957) represents a follow-up of the reproductive histories of women treated for sterility by roentgen irradiation of ovaries and pituitary. Unfortunately, controls are lacking for all three sources of data and the main conclusion to be drawn is that no very striking effects are produced. A detailed summary of the numbers of abnormal births observed in all of these is given in Table 28.

Although among offspring of irradiated parents the increase in the number of abnormalities has been fairly consistent (i.e. in eight comparisons out of the nine listed)

it is small and the evidence is not entirely conclusive. The difference reported by MACHT and LAWRENCE is statistically significant at the 1 per cent level when malformations, abortions, stillbirths and twins are combined (giving 22.6 per cent "abnormalities" in offspring of radiologists as compared with 15.9 per cent in the controls). However, it is difficult to eliminate bias in studies conducted by questionnaire (studies 4, 5 and 6 in the Tables) to which a considerable proportion of the individuals canvassed failed to reply. The proportions of responses from irradiated and unirradiated parents were 74 and 50 per cent in the MACHT and LAWRENCE study, 71 and 61 per cent in that of Crow, 37 per cent (the same individuals prior to irradiation serving as controls) in the study of TURPIN *et al.* In the absence of a more nearly complete response only a slightly increased awareness of the importance of the survey on the part of irradiated individuals having abnormal children would introduce a statistically significant bias into the data.

This source of bias is absent from the studies at Hiroshima and Nagasaki (NEEL and SCHULL 1956), and these show no significant effect of either paternal or maternal exposure on malformations, neonatal deaths or birthweight variations (after suitable adjustment for differences in parity and maternal age in the irradiated and control families). There is some indication that paternal exposure influences stillbirth among first-born infants but no obvious explanation for such an effect.

Table 27. *A list of the surveys of human populations for studies of radiation genetics*

Authors	Numbers of offspring from irradiated parents	Numbers of control offspring	Nature of exposure
1. MURPHY and GOLDSTEIN (1929)	417	—	Mothers
2. MAURER (1938)	229	—	Mothers
3. KAPLAN (1957)	513	—	Mothers
4. CROW (1955)	1,653	1,348	Radiologists
5. MACHT and LAWRENCE (1955)	5,461	4,484	Radiologists
6. TURPIN, LEJEUNE and RETHORE (1956)	614	996	Therapy (fathers and mothers)
7. NEEL and SCHULL (1956)			Hiroshima and Nagasaki
births 1948—1953	33,527	31,904	
births 1954—1955	11,066	11,640	
8. SCHULL and NEEL (1958)	2,159	2,622	Hiroshima and Nagasaki
9. TANAKA and OHKURA (1958)	659	897	Radiological technicians
Total	55,639	53,994	

Studies of cousin marriages suggest that a considerable proportion of naturally occurring congenital malformations might perhaps be due to segregation within complex homeostatic genetic systems, homozygosity at a number of polygenic loci being a predisposing factor (see NEEL 1958). Alternatively, recessive genes of low penetrance or numbers of genes having individually slight but additive effects, may be important in increasing the predisposition in certain individual offspring. If either of these mechanisms were responsible for a major part of the naturally occurring congenital malformations, irradiation would not be expected to noticeably increase abnormalities in any one generation (i.e. the effect of the induced changes would tend to be spread over many generations).

Table 28. *Abnormalities observed in surveys of children born to irradiated parents*

Study <sup>1</sup>	Dose (R)	Effect observed <sup>2</sup>	Births from exposed parents abnormal/total	Control births abnormal/total	Per cent		Adjusted <sup>3</sup> per cent	
					irrad.	control	irrad.	control
1	—	M	7 / 417	—	1.68	—	—	—
2	—	M	7 / 229	—	3.05	—	—	—
3	ca. 60	A	91 / 513	—	17.7	—	—	—
		S	2 / 513	—	0.39	—	—	—
		M	3 / 513	—	0.59	—	—	—
4	unkn.	A, S	274 / 1,653	215 / 1,348	16.6	15.9	—	—
		T	140 / 5,461	94 / 4,484	2.56	2.10	2.51	2.15
5	unkn.	A, S	766 / 5,461	548 / 4,484	14.03	12.22	13.77	12.50
		M	328 / 5,461	216 / 4,484	6.01	4.82	5.99	4.84
		A	73 / 614	64 / 996	11.9	6.4	—	—
6	4—450	S	15 / 541	12 / 932	2.77	1.29	—	—
		M	14 / 541	9 / 932	2.58	0.96	—	—
		S	546 / 33,181	408 / 31,559	1.65	1.30	—	—
7	8—200	M	300 / 33,527	294 / 31,905	0.89	0.92	—	—
		S	49 / 659	34 / 897	7.43	3.79	—	—
9	10—100	T	3 / 659	3 / 897	0.46	0.33	—	—
		D	41 / 659	43 / 897	6.22	4.79	—	—

<sup>1</sup> Note: The numbers refer to the studies as listed in the preceding Table.

<sup>2</sup> Effects: A = abortion, D = death to 5 years of age, M = malformation, S = stillbirth, T = twins.

<sup>3</sup> Adjusted for parity.

Animal experiments seem to support this expectation. A slight increase in frequency of stillbirths, among offspring of irradiated male mice conceived during the post-sterile period, has been reported by HERTWIG (1938) following very high doses (400 to 1,600 R) but the effect is small and of borderline significance.

Human studies have been hampered by the practical necessity of limiting the characteristics studied to those observable at birth or shortly after. Although data gathered at Hiroshima and Nagasaki include some from observations up to 9 months of age these were restricted to a relatively small sample. Improved (i.e. less laborious) methods of follow-up would extend the kinds of observation which might be carried out on offspring of irradiated individuals. This will be considered later.

#### b) Effects on the sex ratio

In the absence of a clearcut effect from exposure of the parents on congenital abnormalities in the offspring, the sex ratio might act as an indicator of induced lethal mutations. This use of the sex ratio assumes the autosomal lethals and semi-lethals, as a group, to have similar net effects in the two sexes and that effects of any induced changes in the small Y-chromosome are negligible in comparison with the changes induced in the much larger X-chromosome. If the expected effects are observed after irradiations of fathers and mothers (i.e. opposite consequences in the two cases) it would help to confirm the above assumptions.

To predict the result of irradiating both parents is more difficult unless it is assumed, on the basis of *Drosophila* data, that sex-linked recessive mutations are several times more common than sex linked dominants, and that the likelihood of induced mutation is similar in both sexes. Neither assumption has been proved for humans and both may

Table 29. *Effects of exposure of parents on the sex ratio of offspring*

Study	Estimated exposure (R)		Total birth	Male births	Proportion of males
	to mother	to father			
KAPLAN	50—200	0	407	200	0.4914 <sup>1</sup>
MACHT and LAWRENCE	0	0	3,491	1,830	0.5242
TURPIN <i>et al.</i>	0	unknown	4,277	2,198	0.5139 <sup>2</sup>
	0	0	1,044	550	0.5368
	up to 1461	0	136	63	0.4632 <sup>1</sup>
	0	up to 1461	405	225	0.5556 <sup>1</sup>
NEEL and SCHULL	0—8	0—8	80,064	41,620	0.5198
	75—200	0—8	7,860	4,038	0.5137 <sup>1</sup>
	0—8	75—200	3,605	1,926	0.5343 <sup>1</sup>
TANAKA and OHKURA	0	0	897	472	0.5262
	0	10—100	659	366	0.5554 <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Differences in the direction expected on genetic theory.

<sup>2</sup> Difference in the opposite direction to that expected.

be grossly incorrect. However, if evidence were available demonstrating the extents of the shift in sex ratio after singly exposing parents of either sex, the expected net result of exposing both might be derived simply by difference. A summary of sex data from surveys of offspring of irradiated parents is given in Table 29 and a more detailed account of that from Hiroshima and Nagasaki in Table 30.

Although offspring from women treated for sterility (KAPLAN 1957) cannot be precisely related to a control group there is a deviation from the sex ratio for the population as a whole in the direction expected, that is a deficiency of male children. Conversely, the studies of MACHT and LAWRENCE show a somewhat lesser deviation in the opposite direction. Neither is statistically significant.

The survey of TURPIN, LEJEUNE and RETHORE is based on offspring of individuals treated by irradiation of the lumbar and pelvic regions for "sciatic neuralgia" and other reasons. Controls are children of the same individuals conceived prior to irradiation. The subjects were selected for study from radiotherapy files of 20 hospitals in the Paris area. Files relating to 4,428 young adults having non-cancerous ailments were chosen and questionnaires were sent to these individuals; 37.4 per cent (1334/3579) of the males and 33.5 per cent (284—849) of the females answered.

Use of reproductive performance of individuals prior to exposure as a reference base with which to compare the performance after exposure, introduces biases due to differences in parity and parental age. There is a higher proportion of males among first born than among subsequent children; the ratio also varies as a complex function of paternal age and birth order, independent of maternal age (CROCCO 1938; NOVITSKI and KIMBALL 1958).

Table 30. *Effects of exposures at Hiroshima and Nagasaki on the sex ratio of the offspring*

Estimated exposure (R)		Total births	Male births	Proportion of males
to mother	to father			
0	0	46,166	24,076	0.5215
8	0	20,573	10,659	0.5181
0	8	5,463	2,818	0.5158
8	8	7,862	4,067	0.5173
75—200	0	6,484	3,331	0.5137
75—200	8	1,376	707	0.5138 <sup>1</sup>
0	75—200	2,062	1,096	0.5315 <sup>1</sup>
8	75—200	1,543	830	0.5379 <sup>1</sup>
75—200	75—200	1,389	703	0.5061

Combined data | 92,918 | 48,287 | 0.5196

Data from Tables 3 and 4 of SCHULL and NEEL 1958.

<sup>1</sup> Difference in the direction expected on genetic theory.

Some estimates of the extent to which the sex ratio (male:total) is reduced as a result of the combined influence of increasing paternal age and increasing birth order are possible, but the most pertinent information for this purpose (see Fig. 47) was not available when the data of TURPIN *et al.* were analysed. Increasing maternal age has been thought to be associated with a decrease in the sex ratio (i.e. an increase in the percentage of females born); however, the recent analysis of NOVITSKI and KIMBALL provides no evidence to support this. To demonstrate any influence of irradiation in this kind of survey the change must be large enough to obviate any possibility that it is simply a result of increasing parental age and birth order in the case of the later children.

Although the statistical significance of the results of TURPIN and his co-workers is difficult to assess they are in the direction expected from genetic theory and the differences are considerably larger than would result from changes in birth order or parental age.

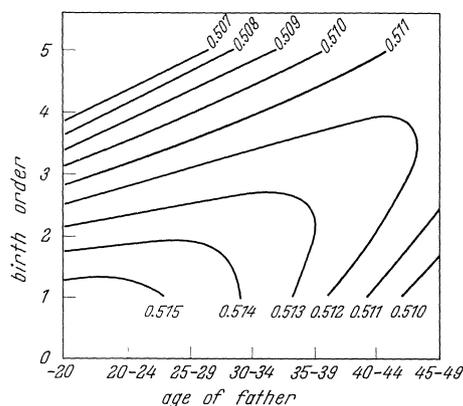


Fig. 47. Contours of equal sex ratio (male/total) plotted as a function of birth order and age of father. (Redrawn from NOVITSKI and KIMBALL 1958)

Recently SCHULL and NEEL (1958) have re-analysed the sex ratio data on children born in Hiroshima and Nagasaki after the atomic bombings and have added information on births additional to those reported earlier (NEEL and SCHULL 1956). The estimations of exposure are admittedly inaccurate but this does not prevent the observations from being used to detect a possible effect. The data are divided to separate the births in 1948—1953 and in 1954—1955 to unrelated parents, and the births in 1948—1955 to related (consanguineous) parents. Exposure group receiving average doses of 0, 8, 75—100 and 200 R, to the father and to the mother in all possible combinations, have been considered.

Similar groups are combined and the findings summarized in Table 30. Shifts in the sex ratio are in opposite directions when the father alone or the mother alone is exposed. (Indications of the effects of combined exposures of both parents to large doses are based on too few observations to be worth special consideration.) These results represent statistically significant shifts of the kinds expected from the induction of sex linked lethal gene and chromosomal changes. They are based on large numbers of births and are not subject to systematic biases arising from differences in birth order or parental age.

Accepted at their face value the Japanese data indicate, as a best estimate, a change in ratio of 0.0060 following 100 R to the mothers. Thus, assuming that there are between 250 and 2,500 gene loci on the X-chromosome, the probability of inducing a recessive lethal mutation would be between  $2.4 \times 10^{-8}$  and  $2.4 \times 10^{-7}$  per locus per R. This range is in good agreement with estimates of induced mutations rates at specific loci in mice.

Reservations about using the sex ratio as an indicator for induced lethal mutations arise because of the large number of other factors associated with sex ratio differences. These include, in addition to parity and paternal age, war, illegitimacy and even the season of the year when conception occurs (see SLATIS 1953). The Japanese data so far fail to indicate an effect on differentials of mortality in the two sexes during later stages of development, i.e. in the form of stillbirths and deaths to the age of nine months, which might be expected from the laboratory studies on mammals. Nevertheless, interest in the influence of irradiation on the sex ratio is likely to continue due to the lack of any other readily available indicator in man known to be affected. The apparent agreement between the observed and expected directions of shift indicates that the interpretation in terms of sex linked lethals is probably correct.

Use of this measure serves to emphasize the difficulties in ascertaining other characteristics such as infant mortality and specific hereditary diseases that become apparent later in life. To increase the resolving power of such studies, however, would require more prolonged follow-up of offspring from larger numbers of irradiated parents and would be virtually impossible at present by conventional methods.

### c) Somatic mutation

Further evidence of mutations induced by radiation in human genetic material might be derived from *in vitro* cultures of somatic cells and from visible mutations in the somatic tissues of early embryos where an appreciable sector in the adult human body would be affected. The observation of radiation induced somatic mutations in man would leave little doubt that germ line mutations also occur and would thus support the already strong contention that man is unlikely to be unique in the response of his genetic material to radiation.

Several characters could be studied. ATWOOD and SCHEINBERG (1958) have developed methods for detecting small proportions of antigenically variant erythrocytes in individual mammals and these may be used to study cell variation in individuals exposed to radiation. Humans exposed during early embryonic development have been examined for visible sectoring due to somatic mutation (LEJEUNE and co-workers unpublished); two cases of a heterochromatic sector in the iris of the eye and one case of hair colour mosaicism have been found. Mutational mosaicism provides a possible mean for studying the radio-sensitivity of human genetic materials.

## 6. Quantitative assessments of hazards

That radiation induces detrimental hereditary changes in humans is not in itself especially meaningful unless there is some indication whether the detriment is trivial or important. Many practical considerations hinge upon this. The dose to gonads from diagnostic Roentgen rays, for example, may be reduced by shielding and in other ways but the effort and expense required to achieve a given reduction must be assessed in relation to the importance attached to the consequent mutations. Similarly, expenditure on reducing radiation exposure to atomic energy and radiological personnel from external sources and from ingestion of radioactive materials will depend upon the estimated extent of the damage. Major economic considerations are involved in radioactive waste disposal from nuclear power reactors and cost is largely dependent on adjudged acceptable levels of exposure for whole populations.

A present, decisions of considerable practical and economic importance are being made. These are based on an assumed quantitative importance of hazards from relatively low levels of radiation. Thus, it is desirable to use all available evidence to the best advantage in deciding on the weight to be attached to hazards associated with a particular exposure.

In quantitatively assessing genetic hazards two main approaches have been used. In one, the observed incidence of hereditary defects and diseases believed to be maintained in the population by repeated mutations of natural origin is taken and the extent to which the prevalence of these would be influenced by a radiation induced increase in mutation rate is estimated. The other, starts with the observed rate of induced lethal and semi-lethal mutations at specific gene loci in mice (per locus per R) and the estimated number of gene loci (or better still, the ratio of all detrimental mutations throughout the genome to those at a single locus) and arrives at a total number of "genetic deaths". The genetic deaths include both the early foetal losses and failures to reproduce (which would not usually be regarded as tragedies in a human society), together with deaths and disabilities later in life. Variants of these approaches will be discussed. Since the methods are, to a considerable extent, based on independent kinds of observation, some assurance may be gained by comparing estimates derived in different ways.

Assessments of genetic damage are subject to considerable uncertainty and are best treated as a means of setting maximum and minimum limits to a range of possibilities. Some geneticists argue that such semiquantitative treatments are ill-advised since they may carry with them the appearance of an exactitude not really possessed (c.f. NEEL and SCHULL 1956). However, if quantitative assessments are entirely avoided the basis of many practical decisions would be judgments so subjective that they would amount to little more than personal prejudices (and would almost certainly have a wider spread than more objective estimates). In practice, of course, the judgments of individuals are influenced by semi-quantitative considerations to an extent not always outwardly apparent. Thus, there is a utility in stating the various lines of reasoning, and the assumptions involved, in a form that permits scrutiny and indicates specific needs for additional information.

#### a) Frequencies of hereditary diseases

Independently derived estimates of the prevalence of hereditary disease in human populations are in close agreement. At least 2 to 3 per cent of the population of Denmark, which has almost complete registration of most hereditary diseases, are seriously affected (KEMP 1951). A similar figure, based on studies in the American State of Michigan, appears in the report of the U.S. National Academy of Sciences on the *Biological Effects of Atomic Radiation* (1956).

These percentages apply to living populations and therefore give little weight to individuals dying at an early age. Since a proportion of hereditary diseases result in early death, a higher figure is obtained if the frequency is expressed as a percentage of all infants born who are affected at some time during their lives.

The choice of conditions included is to some extent arbitrary. The more severe traits determined by single gene differences, and for which penetrance or expressivity of the genes is high, are normally included; as are some conditions for which the patterns of inheritance are less clearly defined, either because of low penetrance or because two or more genes with additive effects are involved. Still others, although showing distinct family groupings, may be excluded because the genetic basis of the trait is not fully understood or the disease is too common in the population for mutation to seem a likely cause of the high frequencies of the genes concerned. Some consideration of the kinds of diseases included is therefore necessary.

The most detailed published survey of hereditary diseases and their prevalences, for any population, has been carried out in Northern Ireland by A. C. STEVENSON (1959; see also Reports of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, 1958 and 1962). Essentially complete ascertainment of a number of specific hereditary conditions has been made possible by the limited size of the country, and the fact that about a third of the population of one and a half million live in the principal city of Belfast or in the County Borough of which it is a part.

About 3.5 per cent of liveborn individuals in Northern Ireland show single gene traits, the alleles for which are believed to be more or less regular in their expressions (Table 31). No single trait of this kind has a frequency in excess of 0.1 per cent, and many are individually much rarer. In the vicinity of two thirds of the expressions are relatively mild so that the number of individuals seriously inconvenienced or handicapped corresponds to about 1 per cent of live births.

The mutant genes for these traits may be assumed to be maintained in the population by a balance between the so-called "pressure" of repeated new mutations and the opposing pressure of selection acting to reduce the transmission of mutant genes to the next generation. Included here are autosomal dominant, recessive and sex linked characters. These are the conditions most likely to increase with an increase in mutation rate.

Excluded from the lists in Table 31 are a small number of conditions, some of which are known to be determined by single gene differences, that are believed not to be main-

Table 31. *Single Gene Traits Identified in Northern Ireland*

Traits	Remarks	Phenotype frequency per million	
		Total births	Living
<i>1. Dominant mutant traits</i>			
Achondroplasia		28	28
Acrocephaly-syndactyly		5	3
Adenoma (cystic, multiple, benign)		50	50
Alopecia areata		700	700
Anaemia	Microcytic dominant	10	4
Anidrotic syndrome	Anidrotic "ectodermal" dysplasia	34	5
Aniridia	Several types — irregular manifestation	60	60
Arachnodactyly	Marfan's syndrome	60	26
Ataxia	Dominant hereditary type, a group of which Friedreich's is best defined	200	110
Brachydactyly	First, second, and fourth fingers	60	60
Brachydactyly	First finger	50	50
Brachydactyly	Major	6	6
Brachydactyly	Thumbs	50	50
Campodactyly-clinodactyly		60	60
Cataracts, congenital	Types detected at birth or early	160	150
Cataracts, senile or presenile		2,000	2,000
Cephalofacial hemangiomas	Naevoid amentia	30	7
Choroidal sclerosis	Several types — varying effects on sight	500	500
Colobomata	Very variable degrees	250	200
Corneal dystrophies	Several types, very variable severity	140	140
Craniofacial, craniocleidal, and mandibula facial dysostoses		30	30
Cystic disease of lung	included here, "congenital bronchiectasis"	500	400
Deaf-mutism	Estimated 3% of heredity complete deafness	46	46
Deafness	Absence or atresia of external auditory meatus	12	12
Deafness and cataract	Severe deafness of early onset, and cataract	6	6
Deafness perception	Incomplete early onset	12	12
Dermatomyomata, multiple		20	20
Diabetes insipidus		40	20
Diaphyseal achalasia		50	50
Dupuytren's contracture		8	8
Dystrophia myotonica		40	24
Ear anomalies	Accessory auricles	1,000	1,000
Ear anomalies	Anotia	15	15
Ear anomalies	Cat's ears	30	30
Ear anomalies	Microtia	60	60
Ear anomalies	Lobule pits	100	100
Ear anomalies	Prehelicine pits	100	100
Ectrodactyly	Including all types of "split hand"	30	20
Edema, hereditary	Milroy's disease	5	4
Enchondromata, multiple		5	4
Epiphysitis punctata		50	50
Epidermolysis bullosa		100	40
Epiloia	Tuberous sclerosis	30	7
Erythrodermia, ichthyosiform congenital		4	4
Exostosis multiple	Only a minority troublesome	400	400
Eyelid	Absence of tarsal plates	40	40
Eyelid	Spasm	40	40
Fundal dystrophies	Several types, varying severity	150	150
Glaucoma	Infantile and juvenile	100	100
Hair anomalies	Kinky hair	1,000	1,000
Hair anomalies	Pili torti	5	5
Hair anomalies	White patches	1,000	1,000
Hair anomalies	Woolly hair	1,000	1,000

Table 31. Continued

Traits	Remarks	Phenotype frequency per million	
		Total births	Living
Hallux valgus	Hereditary type — often metatarsal anomalies	1,000	1,000
Huntington's chorea		10	8
Hydrocephalus	Internal obstructive — including forking and stenosis of aqueducts	1,230	25
Hypermetropia	Arbitrarily accepted as a segregating trait at about 10+ diopters	100	100
Hypertelorism		20	8
Keratoconus		20	20
Keratosis follicularis spinulosa	Darier's disease	3	3
Lacrimal ducts	Absence of fistula	500	500
Lens — subluxation	Primary — not part of Marfan's syndrome	6	6
Lipodystrophy progressiva	Without gargoylism	3	2
Macular dystrophies	Several types	100	100
Mal de Meleda		1	1
Megalocolon	Hirschsprung's disease	100	10
Muscular dystrophy	Limb girdle face affected	25	14
Myositis ossificans		20	10
Nails	Anonychia and hypoplasia	20	20
Nails	Leukonychia totalis	10	10
Nails	Pachyonychia congenita	40	40
Neurofibromatosis	Von Recklinghausen's disease	200	200
Nystagmus	Several hereditary types	700	700
Optic atrophy	Rare dominant type	7	7
Osteitis deformans		30	25
Osteogenesis imperfecta	Fragilitas osseum — several types	60	25
Osteopetrosis	Albers-Schönberg disease	5	2
Oxycephaly		7	3
Paralysis	Periodic	4	2
Peroneal muscular atrophy	Charcot-Marie-Tooth type	40	24
Phocomelia		5	2
Pityriasis rubra pilaris		20	20
Polycythemia vera		45	20
Polydactyly	Radial	100	100
Polydactyly	Ulnar	1,000	1,000
Polyostotic fibrous dysplasia	Albright's disease	5	2
Polyposis of colon		100	55
Porphyria		200	130
Ptosis	Uncomplicated, isolated, and familial	1,000	1,000
Retina	Opaque nerve fibers	500	500
Retinitis pigmentosa	Mild irregular dominant types	150	150
Retinoblastoma		58	14
Spastic diplegia	Dominant type, usually mild	100	20
Spherocytosis	Acholuric jaundice	60	25
Syndactyly	Hands or feet or both	500	500
Synphalangism	Hands or feet or both	100	100
Teeth anomalies	Absence, additional, defective enamel, opalescent dentine	13,000	13,000
Telangiectasis hemorrhagic		100	12
Thrombocytopenia	Chronic recurrent	60	45
Toe anomalies	Garer's toe deformity	50	50
Toe anomalies	Hammer — hereditary type	1,000	1,000
Tylosis palmaris et plantaris		35	35
Tylosis pelindryris		4	4
Urticaria pigmentosa		90	90
Waardenburg's syndrome		3	3
Willebrand's disease	Hemophilia-like syndrome	25	8
Xanthoma tuberosum multiplex		40	25
Total		33,192	30,781

Table 31. Continued

Traits	Remarks	Phenotype frequency per million	
		Total births	Living
<i>2. Autosomal recessive traits</i>			
Albinism	Mostly common type with ocular signs	130	130
Alkaptonuria		5	3
Amaurotic idiocy	Warren-Tay-Sachs disease	50	5
Anophthalmos		100	50
Ataxia	Recessive familial forms	40	20
Chorea athetosis	Recessive familial forms	70	15
Corneal dystrophy	Severe recessive form	5	5
Epidermolysis bullosa	Dystrophic recessive form	20	6
Galactosuria		50	2
Gargoylism		20	4
Glaucoma	Several types, some with buthalmos	15	15
Hepatolenticular degeneration	Wilson's disease	10	3
Ichthyosis congenita	Lethal recessive form	10	0
Laurence-Moon-Biedl syndrome		40	6
Macular dystrophies	Recessive juvenile and adult types	10	10
Methemoglobinemia		5	3
Microcephaly	„True” microcephaly and mental defect	40	21
Microphthalmos	Sometimes with mental defect	100	100
Muscular dystrophy	Limb girdle face not affected	30	16
Myoclonic epilepsy		50	6
Myopia	High — overlapping with extreme distribution — many types	150	150
Optic atrophy	Early onset, recessive types	50	50
Phenylketonuria		100	30
Poikiloderma		10	3
Porphyria	Congenital light-sensitive type	50	5
Retinitis pigmentosa	Several types	60	60
Spastic diplegia	Recessive familial forms	50	18
Total		1,270	736
<i>3. Sex-linked traits</i>			
Christmas disease		10	4
Diabetes insipidus		50	5
Hemophilia		100	66
Ichthyosis vulgaris		6	6
Megalocornea	? only sex-linked	20	20
Muscular dystrophy	Duchenne type	176	24
Optic atrophy	Leber type — ? really sex-linked	15	10
Retinitis pigmentosa		20	20
Total		397	155

From STEVENSON 1959.

tained by recurrent mutation. These will be considered later. If the mutation rates in man were doubled by artificial means, it seems likely that the frequencies of the conditions listed would rise to a new equilibrium at twice their present level. Smaller increases in mutation rates would presumably have proportionate effects.

Another large class of genetic anomalies is determined by gross changes in the amount and kind of chromosome material present in the fertilized egg (Table 32). Mongolian idiocy, or Down's syndrome, has been the most intensively studied of these. In well over 90 per cent of cases this condition is associated with an extra whole chromosome, making a total of 47 chromosomes in the diploid individual as compared with the usual 46. A small, morphologically distinguishable chromosome with a near-terminal centromere, known by convention as number 21, is almost always involved, and is usually represented

three times ("trisomy") in the affected individuals. Trisomies of other chromosomes have been found in mental retardation, sometimes involving one of the 13—15 chromosome group and sometimes the 17—18 group.

Certain defects of sexual development arise because of unusual numbers of the X and Y chromosomes that determine maleness and femaleness. Normal males contain an X and a Y, inherited from the mother and father respectively, while normal females inherit two X's. Abnormal males showing Klinefelter's syndrome have been observed with sex chromosome constitutions of XXY, XXXY, XXXXY and XXYY, and total chromosome numbers of 47, 48 and 49. Turner's syndrome of females is determined by the presence of a single X in the absence of any Y chromosome, the so-called XO constitution. Defectives known as "superfemales" result from excessive numbers of X chromosomes, i.e. XXX and XXXX, in the absence of a Y; the name does not imply superiority of

any sort, but is simply that given to triplo-X females of the fruitfly when these were first discovered.

Rearrangements of chromosome material can sometimes result in long regions being present in triple dose, without any increase in the number of chromosome bodies; Down's syndrome, for example, being due occasionally to translocations involving chromosome 21.

Among all liveborn individuals, about 1 per cent are estimated to carry chromosomal anomalies that can be distinguished cytologically by present methods (Table 32). The great majority of the changes arise *de novo*, either

Table 32. *Traits Due to Gross Chromosomal Aberrations*

Traits	Remarks	Phenotype frequencies per million births
Klinefelter's syndrome	(XXY males)	2,700
Down's syndrome	(mongolism)	1,500
Abnormal nuclear sex in females	(including XXX and XXXX)	900
Turner's syndrome	(XO females)	rare
Other gross chromosomal mutations	(rough estimate)	4,900
Total		10,000

Data from the 1962 Report of the U.N. Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation.

shortly prior to fertilization or during the first few cleavage divisions, and only a small fraction are transmitted to the descendants. The risk of mongolism in a child is known to increase rapidly, by 20- to 30-fold, as the mother's age at the time of conception approaches 45, and a similar correlation might be expected for trisomies involving other autosomes. Thus, where parity effects can be eliminated, parental age studies may provide a clue to the possible mutational origins of other defects.

Although exposure of female fruitflies to ionizing radiations is known to increase the frequency of trisomics and other gross chromosomal anomalies in the offspring (DEMEREK and FARROW 1930) a similar effect has not as yet been established for humans.

Developmental malformations, excluding those due to single genes with regular expressions or to known gross chromosomal alterations, form another major class of defects in which heredity plays a part (see Table 33). Drugs, infections, radiation, and even socio-economic factors, are known in particular instances to influence the risk to the unborn child, and the role of heredity is for the most part ill-understood. In all probability the majority are caused by the action of an unfavourable pre-natal environment on an embryo that is genetically predisposed. Cleft palate serves as a well documented example illustrating such an interaction between heredity and environment. A number of possible kinds of hereditary contribution have been suggested: lack of sufficient heterozygosity at the so-called polygene loci, gross chromosomal anomalies, recessive genes of low penetrance, and the accumulation of unfavourable alleles of polygene loci in numbers exceeding some threshold value.

In the vicinity of 1.5 per cent of liveborn infants suffer from developmental defects, and the frequency is higher if stillbirths are included. A substantial number may be eliminated even earlier, prior to 20 weeks gestation. A proportion of affected individuals amounting to 1 per cent of liveborn infants survives beyond 5 years of age.

Six serious "constitutional" disorders, the hereditary basis of which is ill-understood, are listed separately (see Table 34). These include diabetes mellitus, manic depressive reaction, idiopathic epilepsy, exophthalmic goiter, schizophrenia and pernicious anaemia. About 1.5 per cent of liveborn infants will be affected at some time during their lives. Attempts have been made to account for these conditions in terms of single recessive or dominant genes, present in substantial proportions of the population but irregularly expressed. It seems more likely, however, that the conditions are multifactorial in origin, and represent extreme expressions of an underlying continuous spectrum of susceptibilities. The case for the importance of such "quasi-continuous" variations has been ably made by EDWARDS (1960) and a number of methods are available by which it may be possible to discriminate between the alternative interpretations in the case of these serious diseases.

Whether recurrent mutation plays a major role in determining the prevalence of the developmental malformation and the constitutional diseases listed in Tables 33 and 34 is a matter of controversy.

A number of conditions are believed to be maintained by a balance of selective forces, largely independent of mutation. A partial list is included in Table 35. Sickle cell anaemia is the best understood example. Eliminations of genes for the sickle cell trait due to anaemia in the homozygote are believed to be balanced by eliminations of homozygous normal individuals by malaria, heterozygotes having the good fortune to escape both conditions. The gene is prevalent in West Africa

and in individuals of African descent. A similar mechanism appears responsible for the continued prevalence of the gene for thalassaemia in malarial regions of Italy. In fibrocystic disease, a serious generalized disorder of the external secretory glands due to a recessive allele that is almost always lethal in the homozygous state, it is not known whether heterozygote advantage, or mutation, maintains the gene. However, the

Table 33. *Developmental Malformations — Heredity Ill-understood*

Traits	Remarks	Phenotype frequency per million births
Psoriasis	(skin disease with scaly patches)	3,000
Strabismus	(primary convergent and divergent)	2,000
Cardiac malformations		1,200
Ichthyosis vulgaris		1,100
Cleft palate and/or hare lip	(excl. syndromes)	970
Dislocated hip	(mostly in females)	900
Spina bifida	(lumbosacral)	800
Talipes equinovarus	(excl. syndromes)	800
Digestive tract malformations		630
Vertebrae, defects and fusions		400
Anencephalus		360
Hydrocephalus (Arnold-Chiari)		300
Urogenital tract malformations		260
Radio ulnar defects		205
Absence of limbs and parts of limbs		200
Deafness, otosclerotic		200
Osteonecrosis	(e.g. diseases of KLEINBOCH, KÖHLER, etc.)	200
Tibiofibular defects		190
Other central nervous system malformations		320
Total		14,115

From STEVENSON 1959.

Table 34. *Serious "Constitutional" Disorders — Heredity Ill-understood*

Traits	Phenotype frequency per million births
Diabetes mellitus	4,000
Manic depressive psychoses	4,000
Idiopathic epilepsy (excl. syndromes)	2,500
Exophthalmic goiter	1,700
Schizophrenia	1,300
Pernicious anaemia	1,300
Total	14,800

From STEVENSON 1959.

600 homozygote eliminations per million births, in order to be balanced by new mutations, would require a mutation rate of 6 per 10,000 gametes. This is considerably higher than has been observed for conditions that lend themselves to accurate measurements of mutation rates. Other conditions in the list are not known for certain to be caused

Table 35. *Traits Believed too Common to be Maintained by Mutation*

Traits	Remarks	Phenotype frequency per million births
Rhesus incompatibility	(some detectable effect on child)	4,900
Fibrocystic disease	(disorder of external secretory glands)	600
Hydrops fetalis	(non-rhesus "idiopathic" type)	420
Hemorrhagic disease of newborn	(several varieties)	310
Deaf-mutism	(recessive, 97% of total)	264
Sickle cell anaemia	(frequency varies widely)	—
Thalassaemia	(frequency varies widely)	—
Total	greater than	6,494

Adapted from STEVENSON 1959 and the 1962 Report of the U.N. Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation.

Table 36. *Summary of Frequencies of Hereditary Traits that Might be Maintained by Recurrent Mutation*

Kind of Trait	Phenotype frequencies per 100 births
1. Single gene traits — presumed to be maintained mainly by recurrent mutation. Frequencies, including trivial expressions:	
Dominant           3.32	
Recessive         0.13	
Sex linked        0.04	
Total             3.49	
Frequency of serious expressions only:	1.0
2. <i>Chromosomal anomalies</i>	1.0
3. <i>Developmental malformations</i> (heredity ill-understood)	1.5
4. <i>Serious "constitutional" disorders</i> (heredity ill-understood)	1.5
5. <i>Harmful traits determined by single loci</i> (believed too common to be maintained by mutation)	—
Not included in total	
Total	5.0

If only the severe expressions are considered, and only those conditions for which there is as yet no strong evidence of maintenance by balanced selection (i.e. the first four groups), about 5 infants per hundred born alive will be affected at some time in their lives (Table 36). Of these, one or two per hundred live births (the first plus the second group) are generally believed to be maintained by recurrent mutation and therefore likely to increase with any increase in mutation rate.

by single gene differences but are such as to suggest that maternal-foetal incompatibilities may play some role.

In all probability the list in Table 35 will be extended in the future, and some of the conditions that have been put in other groups may find their way here when more is known about them.

Excluded from all of the lists so far are a variety of conditions, including gastric and duodenal ulcer, that are known to be correlated with particular blood groups and are therefore influenced in their occurrence by genes which are probably maintained in the population by a balance of selective forces.

Other conditions known to show family groupings, such as hypertension, coronary insufficiency, and rheumatic fever, have been excluded from all of the lists. The cutoff is necessarily arbitrary since all disease may be regarded as forming a continuous spectrum in which the relative importance of genetic and environmental variables ranges from high to low, but in which neither is ever wholly unimportant.

The list as a whole does not include the "quantitative" characters. It is a mistake to assume that the most important measures of genetic damage necessarily relate to the segregating characters, when most of man's higher functions, his intelligence, dexterity, mental stability, and so on, are influenced by numerous genes having individually small effects. Little is known about the likely consequences of an irradiation-induced increase in mutation rate on these traits.

Another way of estimating the burden to society from hereditary conditions of clinical importance is in terms of the demands for medical services. STEVENSON has made such an estimate for Northern Ireland. About 8 per cent of the consulting time of specialists, and 6 per cent of that of general practitioners, is spent on patients with hereditary conditions. However, since many of these traits tend to be chronic, the demands for institutional facilities arising out of them represent a much higher proportion of the total. Of more than 12,000 hospital beds and residential places in special schools and institutions for the handicapped per million population, more than one quarter (26.5 per cent) are occupied by individuals suffering from conditions that are predominantly hereditary in origin. About 2 per thousand of the population, excluding relatives, are employed full time looking after them. The fraction of this "load" of hereditary defects that is attributable to naturally occurring mutations has not been estimated.

#### b) Mutation versus selection

The forgoing section indicates that 4 to 5 per cent of all infants born are affected at some time during their lives with one of the more serious hereditary diseases or handicaps. Approximately one quarter of the conditions (those representing expressions of highly penetrant single genes) are almost certainly maintained in the population by recurrent mutation. The remaining three quarters are perhaps maintained by natural selection favouring the propagation of the genes for the defects (instead of by mutation) but this is uncertain. Thus, a sustained doubling of the mutation rate might eventually cause a doubling of the frequencies of at least a quarter of these expressions and perhaps of them all. The uncertainty stems from our present ignorance of the extent to which mutation on the one hand, and natural selection on the other, operate to maintain the frequencies of those hereditary defects already with us. In the absence of adequate data this is a controversial matter.

The uncertainty is least for dominant mutant genes having severe effects and a high level of penetrance; of these, achondroplasia and retinoblastoma might be considered as typical. Both are highly penetrant dominant conditions so that relatively few carriers fail to show the effect. Those affected with achondroplasia are unlikely to marry and reproduce at the average rate, and in retinoblastoma death is averted only by removal of the eyes so that again it is almost certainly true that the chance of marriage and reproduction is greatly reduced. Since the seemingly unaffected carriers of the genes are few in number it is unlikely that they compensate by propagating their genes at a higher than average rate. Therefore, in each generation, new mutations of natural origin must be responsible for the continued presence of the disease in the population. Unfortunately, almost no data exist concerning the reproductive histories of unaffected carriers and there is only limited information on fertility among affected individuals.

Other highly penetrant dominant conditions in which fertility has been studied are Huntington's chorea (S. C. REED and PALM 1951; T. E. REED 1957) and multiple neurofibromatosis (CROWE, SCHULL and NEEL 1956). Evidence from these shows that neither trait is likely to be maintained in the population by any favourable effect on fertility. While there is little reason to doubt that the bulk of the simple mendelian characters are maintained by mutation, more evidence is needed. At present, however, it is reasonable to suppose that selection operates to eliminate the genes for such characters and that their incidence would increase proportionately with any rise in mutation rate.

The evidence leaves more room for doubt about the mechanism by which the remaining three quarters of the severe hereditary defects are maintained. Where a particular gene is present in more than a few per cent of the population it is argued that the frequency cannot be maintained simply by repeated mutation (since mutations are for the most part rare events). Consequently a selection mechanism is believed by some to be responsible for the prevalence of all of the more common variants in any animal or human population (ALLISON 1955). The term *balanced polymorphism* is used where two alternative forms each have a selective advantage in different environments and the term *heterosis* where the heterozygotes, for the mutant and the normal gene, are at a selective advantage. Similarly, a dominant gene for an hereditary defect might be retained in the population under several conditions: (1) where the "impenetrant" carrier state is associated with increased survival or a reproductive advantage, (2) where two alternative alleles are each at a selective advantage in different genetic backgrounds, and (3) where alternative environments each favouring a different allele occur during the history of a population so that a mixture of the two alleles is maintained, although the proportions may vary from time to time. A balance of selective forces, or in some cases a shifting balance, is implied in each of these hypothetical situations. Where such a balance is responsible for genetic diversity in a population, changes in mutation rate would be unlikely to have more than a small effect on the gene frequencies.

Evidence of the proportions of human defects maintained by such selective mechanisms is slight and largely indirect (i.e. not derived straight from appropriate measurements of fertility and mortality). The best documented examples in human populations, of deleterious genes maintained by selective advantage in the carrier state, are sickle cell anaemia and thalassaemia. The genes for both conditions cause anaemia in the homozygote but bestow resistance to malaria in the heterozygote (ALLISON 1954; RAPER 1955; CEPPELLINI 1955). Whether these traits are exceptional or typical of many of the more common hereditary diseases in man has not been determined. Blood characters are well suited to such studies owing to the variety of genotypes distinguishable and the known association of some with various diseases (ROBERTS 1956).

Despite the large volume of blood group data routinely recorded in many countries (especially relating to the ABO and Rh types) exceedingly little use has been made of this information in the kinds of prospective, or "forward looking", study on reproductive performance and mortality that are most likely to yield evidence of selective effects and some measure of the strength of selection. Present knowledge of the relationship between stillbirth and ABO incompatibility in husband and wife, for example, is based largely on a study of 161 families (REED and KELLY 1958). Evidence for a possible selective mechanisms operating to retain the Rh negative gene in the population is based largely on a single study of a few thousand white mothers (GLASS 1950). The meagreness of the data contrasts sharply with the large numbers of routine tests for Rh (e.g. on 80 per cent of expectant mothers in the Canadian Province of British Columbia) and ABO type. If any major part of the load of hereditary defects is to be attributed to some form of selective balance, rather than to mutation, it is important that the supporting evidence be derived from more than one or two well established examples.

Meanwhile it seems likely that of all infants born at least one per cent and perhaps as many as four per cent, are seriously affected some time during their lives by hereditary conditions maintained in the population by repeated mutations of natural origin. If the mutation rate were permanently doubled the frequencies of these conditions would presumably increase gradually, over a number of generations, to twice their present levels.

### c) Doubling dose for man

Man is exposed to approximately 3 R from natural sources in the 30 years between conception and the average age of parenthood; the additional exposure needed to double

the mutation rate cannot be less than this amount. The calculated doubling doses for organisms other than man fall, for the most part, in the range from 30 to 60 R.

Probably the best values to use in calculating the genetic risk to man from acute and chronic exposures are those from experiments on mouse spermatogonia. The extrapolation leaves room for uncertainty but is reasonable since mice are the closest to man of the organisms studied and there is a fair degree of agreement over a wide range of organisms. Some caution is necessary in choosing a favoured figure in view of the one very high value (ca. 400 R) for *Drosophila* oocytes and oogonia, but even complete insensitivity of the genes of one of the sexes to irradiation would make only a two fold difference in the doubling dose for the population as a whole.

Gene loci differ widely both in their spontaneous mutation rates and in their sensitivity to induction of mutations by irradiation. These two mutation rates show little, if any, correlation and so the doubling dose may vary for different genes. There is no mathematical difficulty in calculating a representative doubling dose for the gene complement as a whole based on data from a number of loci. A representative doubling dose may be derived for any number of gene loci (assuming, of course, a linear dose-response curve) using the expression:

$$\frac{\text{spontaneous mutations per generation per locus}}{\text{mutations induced per Roentgen per locus}}$$

provided only that the numerator and denominator relate to the same gene loci. It is not even necessary to know the actual number of loci contributing the mutations since the term "per locus" appears in both numerator and denominator and therefore cancels out.

It might perhaps be argued that the much longer generation period of man as compared with experimental animals would result in the occurrence of a greater number of spontaneous mutations in human genes during a generation, and (assuming the radiation sensitivity of human and animal genes to be equal) a correspondingly higher radiation exposure would be required to match the spontaneous rate of occurrence. This argument for a higher doubling dose in man is not supported by comparisons of spontaneous mutation rates for human genes with those for *Drosophila* or mice. Independently derived averages for the spontaneous mutation rates of *Drosophila* genes range from 2.4 to 45 per million gametes (see Table 19). With only one exception, the rates for dominant mutations of human genes fall within an almost identical range, i.e. from 4 to 45 per million gametes (see Table 37). The human mutation rates are, if anything, more likely to be over-estimated than those of *Drosophila* and mice, for reasons which will be apparent when the methods for deriving such rates from human data are considered.

In man, spontaneous mutation rates may be measured directly for almost any highly penetrant dominant condition that is readily identifiable. An affected individual normally has an affected parent and the exceptions (i.e. the sporadic cases) may be regarded as arising by mutation. All that is required is to determine how many affected children are born to normal parents compared to the total number of births. Since the mutation may have occurred in either the maternal or the paternal gene complement, the mutation rate is one half the frequency of sporadic cases. This direct method of measurement has been used by a number of investigators both for dominant and, in a modified form, for sex linked characters (see Table 37).

In most dominant conditions the chief sources of error effectively raise the estimated mutation rate. Some sporadic cases may be non-genetic in origin (i.e. phenocopies) or may be due to segregation of recessive genes for a different but superficially similar condition, while others may be offspring of occasional carriers of the dominant gene in an impenetrant state. The mutation rates may relate to changes at more than one locus having indistinguishable effects. These sources of bias all operate to increase the apparent rate of mutation per locus. A slight bias in the opposite direction might result from differential pre-natal death of mutant individuals but this is unlikely to balance the tendency to over-estimation.

Mutation rates to recessive alleles have also been included in Table 37 but are much less reliable than the corresponding rates for dominants (with the exception of those to sex linked recessive which are of intermediate reliability). In any of these calculations it has to be assumed that the mutant gene is not maintained in the population by a heterotic effect. Since recognizable expressions occur only in the homozygotes, estimates of mutation rate will be greatly influenced by the amount of inbreeding and mating

Table 37. *Measured or Calculated Values of Natural Mutation Rates in Man*

Trait studied	Mutants per tested gamete
<i>Autosomal dominants</i> (direct observation)	
Epiloia (England)	$8 \times 10^{-6}$
Achondroplasia (Denmark)	$45 \times 10^{-6}$
Aniridia (Denmark)	$5 \times 10^{-6}$
Retinoblastoma (England, U.S.A., Germany)	$4-23 \times 10^{-6}$
Partial albinism with deafness (Holland)	$4 \times 10^{-6}$
Microphthalmos (Sweden)	$5 \times 10^{-6}$
Neurofibromatosis (U.S.A.)	$13-25 \times 10^{-5}$
Average of 7 loci	$4 \times 10^{-5}$
<i>Rare dominant</i>	
Porcupine man	$10^{-9}$ *
<i>Sex-linked recessives</i> (direct observation)	
Haemophilia (England, Denmark, Switzerland)	$3 \times 10^{-5}$
Duchenne's type muscular dystrophy (U.S.A., N. Ireland, England)	$4-10 \times 10^{-5}$
<i>Autosomal recessives</i>	
Albinism (Japan)	$2.8 \times 10^{-5}$
Ichthyosis congenita (Japan)	$1.1 \times 10^{-5}$
Total colour blindness (Japan)	$2.8 \times 10^{-5}$
Infantile amaurotic idiocy (Japan)	$1.1 \times 10^{-5}$
Amyotonia congenita (Sweden)	$2.0 \times 10^{-5}$
True microcephaly (Japan)	$4.9 \times 10^{-5}$
Phenylketonuria (Japan)	$2.5 \times 10^{-5}$
Average of 7 loci	$2.4 \times 10^{-5}$

\* Very rough estimate (see L. S. PENROSE 1957).

Based on tables of PENROSE 1956, NEEL and SCHULL 1956, and Table I of Appendix H of the *Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation*, 1958.

derive a doubling dose on the assumption that the natural and the induced changes in sex ratio are both due to mutation in genes of the X-chromosome.

It might eventually be possible to derive a doubling dose from human data either through the use of somatic gene mutations, or from gene mutations in artificial cultures of appropriate tissues. (Chromosomal aberrations in cultured cells are of doubtful use because of their abnormally high frequency even in the absence of irradiation.) Meanwhile some slight support for a value in the region of 30 to 100 R is derived from the slope of the dose-effect curve for induction of leukaemias in man (suggesting a possible 30 R doubling dose for acute exposures — see COURT-BROWN and DOLL 1957). The observations on offspring of atomic bomb survivors at Hiroshima and Nagasaki have served to set a rough lower limit to the doubling dose; if this were as low as the natural background of 3 R, or even as low as 10 R, a detectable effect apart from that on the sex ratio would be expected in these data.

Thus, the degree of uncertainty for acute exposures is about three fold in a downward direction (i.e. from a favoured value of 30 R to a lower limit of 10 R) and perhaps also

within restricted geographic or social groups. Thus, these values are not very reliable and only because they are of the same order of magnitude as the rates based on dominant mutations are they currently of any interest.

Although these spontaneous rates provide some assurance that differences in generation time cause no special bias when a doubling dose for mice is applied to men, yet in the absence of the corresponding induced rates they cannot be used to derive a doubling dose from human data alone. The sex ratio data (suggesting an induced rate between  $2.4 \times 10^{-8}$  and  $2.4 \times 10^{-7}$  per locus per R) unfortunately are neither accurate enough nor are the assumed "loci" sufficiently comparable to be used profitably for this purpose. The complex relationship between father's age and sex ratio in the absence of irradiation seems to preclude an attempt to

in an upward direction (i.e. to an upper limit of about 100 R). For chronic exposures it seems reasonable to assume a similar degree of uncertainty, giving a favoured value of 100 R with a possible uncertainty of about three fold in either direction.

#### d) Calculations based on the prevalence of hereditary disease

The expected increase in serious hereditary defects due to a permanent increase in radiation exposure may be calculated from the number of such defects believed to be maintained in the population by recurrent mutation (taken as 2 per cent of all births, times or divided by 2) and the doubling dose for chronic exposures (taken as 100 R, times or divided by 3). The numbers of affected individuals would be represented by the expression:

$$M_1 \times N = \frac{D_1}{D_2} \times M_2 \times N$$

where  $D_1/D_2$  is the exposure in R per 30 year generation time divided by the doubling dose,  $N$  is the number of births per generation,  $M_1$  is the increase in frequency of seriously affected individuals and  $M_2$  is the present frequency.

For example, a chronic exposure of 5 R per 30 years to a hypothetical population in which there are 100 million births per generation, if continued indefinitely, eventually would result in a probable 100,000 additional seriously defective individuals per generation, with lower and upper limits of something like 16,667 and 600,000 per generation. (The same dose and population will be used later to illustrate other methods of calculating genetic damage.)

Despite the inherent limitations of this approach, it has the advantage of starting with the observed frequency of hereditary defects already present in human populations. This is essentially the approach adopted in the national reports of Britain and the United States of America, and that of the United Nations, dealing with the effects of atomic radiations. The method is open to criticism in that it neglects the genetic damage associated with mutations affecting quantitative or polygenic characters and may thus give an erroneously low estimate of the total genetic damage.

An indefinitely continued exposure is thought to cause a gradual shift in the frequency of hereditary defects resulting eventually, after a considerable number of generations, in the establishment of a new equilibrium. Where a single generation of a population is exposed, only a small proportion of the induced changes will be expressed in any one generation. For purposes of calculation, the effect of exposing a single generation (i.e. the number of affected individuals summed over many generations) may be taken as equal to that which would be expressed within a single generation under equilibrium conditions (i.e. with an indefinitely continued exposure to the same dose in each generation). Thus, exposure of the hypothetical population to a dose of 5 R over a single generation would result in a probable 100,000 seriously defective individuals (times or divided by 6) but these would be distributed over many generation. Probably less than 10 per cent of the total would occur in the first generation.

This calculation assumes that the present number of hereditary defects, of the kinds presumed to be maintained by recurrent natural mutations, represents an equilibrium between mutation and selection. It is equally possible, however, that modern populations are moving towards a new equilibrium as a result of medical and social changes. If so, continuous exposure to the doubling dose, for example, would double not the present but the future equilibrium level. It is frequently assumed that selection against some undesirable genes has declined but the importance of the changes in selection is at present a controversial matter.

When the calculation is applied to a world population it must be remembered that this is increasing. The present rate of increase corresponds approximately to a doubling every two generations and the probable size of the population five or ten generations

from now is almost impossible to predict. The expected number of seriously affected individuals resulting from a given exposure will vary in direct proportion to the future population and will be essentially independent of present population size. Both of these considerations operate to increase the effect anticipated.

#### e) Calculations based on total "genetic deaths"

Another way of deriving the amount of genetic damage from a given exposure is based on the probability of induced mutation in an average gene locus and the total number of loci in a reproductive cell. There are estimates of the numbers of genes for *Drosophila*, mice and men but use of these introduces an uncertainty of about an order of magnitude into the calculation. It is more satisfactory, therefore, to substitute a known ratio, i.e. the frequency of all detectable harmful mutations in the total gene complement of a gamete to that in single specific genes. This ratio has been determined with considerable accuracy for *Drosophila* and is about 10,000 to 1. Using this figure and the induced mutation rate per locus derived from mouse studies ( $7 \times 10^{-8}$  per R for chronic exposures), 5 R of chronic irradiation to a human population would be expected to result in  $5 \times 7 \times 10^{-8} \times 10,000 \times 2 = 0.7$  per cent induced mutations per person in the next generation (the factor 2 being present in the expression because each individual is derived from two gametes).

In the hypothetical population having 100 million births per generation there would be 700,000 people in the first generation carrying induced deleterious mutant genes in addition to the mutant genes already present.

To understand the relationship between the number of induced mutations and their probable effect it is necessary to remember that each deleterious gene tends to remain in the population until eliminated by a premature death or a failure to reproduce. If the effect is severe enough the first expression may result in elimination, but if it is slight the gene may be handed on through a succession of affected individuals before eventually being eliminated. Therefore, the number of affected individuals before eventually being eliminated. Therefore, the number of affected individuals is large when the detriment to any one of them is small and *vice versa*. However, on the average each deleterious mutation, regardless of the degree of detriment, leads to one genetic death, that is to the extinction of a gene lineage through premature death or reduced fertility of some individual carrying the gene. This has become known as the Haldane-Muller principle.

Expressed in a more formal manner, if  $s_1, s_2, s_3$  etc. represent the fraction of mutants eliminated in successive generations then the eliminations will be in the proportions:  $s_1$  in the first generation,  $(1-s_1)s_2$  in the second,  $(1-s_1)(1-s_2)s_3$  in the third, and so on. Substituting  $w_1 = 1-s_1$ , the total fraction of eliminations is  $(1-w_1) + w_1(1-w_2) + w_1w_2 - w_1w_2w_3 \dots = 1$ . Thus each mutant results, on the average, in one elimination independent of the value of  $s$ . Of course, chance variations will occur in the numbers of eliminations in any one generation and in the choice of the mutant genes eliminated, but these will tend to cancel one another out and do not affect the conclusion. (For more detailed discussions of this topic, see HALDANE 1937; MULLER 1950b, 1955.)

The most frequent class of mutants in *Drosophila* are the recessive lethals. Most of these have slight dominant effects on viability such that the average mutant causes about 4 to 5 per cent pre-adult deaths in heterozygotes. The bulk of the eliminations (whether of dominant or nominally recessive mutant genes) would be expected to occur in the heterozygous state, since few mutant alleles become numerous enough to give rise to homozygotes. Thus, reasoning again from *Drosophila*, the 700,000 induced mutant genes in our hypothetical population might cause in the vicinity of 30,000 pre-adult deaths in the first generation, without counting adult deaths. With a sustained increase in mutation rate of this magnitude in each generation there would be 700,000 genetic deaths per generation, but a part of these would be losses of early embryos and reductions in fertility.

The proportion of gene eliminations occurring as deaths between birth and the end of reproductive activity, and therefore important in human society, is not known. Since most eliminations are expected in the heterozygotes it is impossible to reason from observed homozygous effects of specific locus mutations in mice (a major part of which kill between birth and weaning). The heterozygous expressions are perhaps best thought of as an increased susceptibility to death throughout life. The genes presumably differ among themselves, however, presenting a wide spectrum with regard to the extent of their effects.

This kind of calculation has the advantage that it involves no assumptions concerning heterosis, although it is more difficult to relate to such common events as illness, handicap and death. The approach serves one useful purpose; estimates based on specific hereditary diseases and defects fail to take into account many of the possible categories of effect. It is desirable therefore to have a figure for all genetic deaths even if this embraces categories (such as early foetal eliminations) not considered serious. The two kinds of estimate differ by about 7 fold.

#### f) Calculations based on consanguineous marriage data

The higher than average death rate between birth and early maturity among offspring of cousin marriages provides a measure of the hidden causes of hereditary defects already present in the human germ plasm as recessive and partially recessive lethal and deleterious genes. Assuming the degree of heterozygous expression to be the same as observed for lethal factors in *Drosophila*, it is possible to derive an estimate of the amount of death in non-inbred families due to deleterious genes (see MORTON, CROW and MULLER 1956). Any sustained increase in the mutation rate is assumed to cause, eventually, a proportionate increase in the number of deaths in the population as a whole attributable to such genes. (The possible influence of heterosis on the estimates of radiation damage derived in this way will be discussed later.)

Studies of offspring from consanguineous matings on which this approach is based indicate that the average person carries the "equivalent" of between 2 and 8 fully penetrant lethal genes. These studies differ among themselves in the period of life during which deaths are observed (the maximum being up to 30 years of age); abnormalities have been scored in some studies but only the mortality data are used to derive the present estimates of genetic damage from radiation.

The harmful genes are not estimated in absolute numbers but in terms of an equivalent number of fully penetrant recessive lethals. Two lethal genes with 50 per cent penetrance or 4 with 25 per cent penetrance and so on, would be termed a *lethal equivalent*. Offspring from first cousin matings carry, on the average, 1/32 of their gene complement in a homozygous state as a result of the inbreeding. The number of lethal equivalents in an average individual will therefore be found by multiplying the frequency of deaths due to consanguinity by a factor of 32. The approach depends upon the use of closely comparable consanguineous and control groups to minimise biases due to differences other than consanguinity. Abnormalities may be similarly treated, both lethal and abnormal equivalents being obtainable. Data from first cousin marriages are summarized in Table 38. SLATIS *et al.* (1958) conclude from one of the most recent studies that the average person may carry the equivalent of 4.49 fully penetrant detrimental recessive genes.

A mathematical argument has been presented by MORTON, CROW and MULLER (1956) indicating that heterozygous advantage (i.e. heterosis or over-dominance) cannot be responsible for the accumulation of these deleterious recessives unless it is assumed that many alternative alleles occur at each locus. If it is accepted that a balance between mutation and selection (and not heterosis) is the important factor determining their frequency, it is possible to use the consanguinity data to derive a measure of the genetic damage due to natural mutations and also that expected from any radiation induced

Table 38. *Lethal and Abnormal Equivalents Derived from Studies of Offspring from First Cousin Marriages*

Condition <sup>1</sup>	Consanguineous (1st cousin only)			Control			Difference		Reference <sup>2</sup>
	affected	total	freq.	affected	total	freq.		× 32 (= equiv.)	
<i>Chicago*</i>									
M	36	248	0.1452	25	194	0.1289	0.0163	0.52	1
SN	7	212	0.0333	5	196	0.0298	0.0035	0.11	
IJ	14	205	0.0634	1	164	0.0061	0.0573	1.83	
A	31	192	0.0615	16	163	0.0982	0.0633	2.03	
<i>Japan</i>									
SN	125	2798	0.0447	2091	63,145	0.0331	0.0116	0.37	2, 3
I	54	822	0.0657	808	17,331	0.0466	0.0191	0.61	
J	41	352	0.1165	31	567	0.0547	0.0618	1.98	
A**	69	4845	0.0142	651	63,796	0.0102	0.0040	0.14	
<i>Morbihan</i>									
S	25	461	0.0542	34	1,639	0.0207	0.0207	1.07	4, 5
I	43	418	0.1029	86	1,605	0.0536	0.0492	1.57	
D <sub>30</sub>	47	375	0.1253	90	1,515	0.0594	0.0659	2.11	
A**	78	461	0.1692	62	1,639	0.0378	0.1314	4.20	
<i>Finistère</i>									
S	10	300	0.0333	28	1,310	0.0214	0.0119	0.38	4, 5
I	25	290	0.0862	50	1,282	0.0390	0.0472	1.51	
D <sub>30</sub>	34	256	0.1328	92	1,230	0.0748	0.0580	1.86	
A**	41	300	0.1367	78	1,310	0.0596	0.0771	2.47	
<i>Loir-et-cher</i>									
S	8	282	0.0284	22	1,145	0.0192	0.0092	0.29	4, 5
I	19	274	0.0693	46	1,123	0.0409	0.0284	0.91	
D <sub>30</sub>	23	255	0.0902	45	1,077	0.0418	0.0404	1.55	
A**	50	282	0.1773	36	1,145	0.0315	0.1458	4.67	
U.S.A. (Arner)									
D <sub>20</sub>	113	672	0.168	370	3,184	0.166	0.052	1.66	6
U.S.A. (Bemiss)									
IJ	637	2,778	0.229	134	837	0.160	0.069	2.21	7

\* Controls drawn from offspring of sibs of the consanguineous pair.

\*\* Indicates some overlap with the preceding classes.

<sup>1</sup> Condition: M = miscarriage.

S = stillbirth,

N = neonatal death,

I = infant death,

J = juvenile death,

D<sub>20</sub> = death under 20 years,

D<sub>30</sub> = death from 1 to 30 years,

A = abnormality.

<sup>2</sup> References: 1. SLATIS, REIS and HOENE 1958.

2. NEEL 1958.

3. SCHULL 1958.

4. SUTTER and TABAH 1952.

5. SUTTER 1958.

6. ARNER 1908.

7. BEMISS 1858.

See also BÖÖK 1957, who found no significant difference in the mortality in small samples of offspring of first cousin and control marriages, but a considerably greater proportion of the cousin offspring having hereditary diseases (16 *versus* 4 per cent), and having lower than average intelligence (26 *versus* 15 per cent). Since the individual offspring were observed for varying periods of time the mortality data are not readily presented in the above form. An average of three recessive deleterious genes per person is estimated from these data.

increase in mutation rate. Thus, if four lethal and abnormal gene equivalents per person are present due to spontaneous mutation the number would be expected to double eventually with indefinitely continued exposure to 100 R per generation (i.e. the presumed

doubling dose for chronic exposure to man). Fractions of this dose would be expected to result in correspondingly smaller effects.

The relationship between this hidden damage and that expressed in a random breeding population has been calculated by MORTON, CROW and MULLER. Since homozygotes are rare in such a population, and since there is an average deleterious effect in heterozygotes, most eliminations must occur in heterozygous individuals. The calculation is therefore based on the average effect of deleterious recessives in heterozygotes (measured in *Drosophila* experiments) and the number of recessive lethal equivalents derived from human consanguinity studies. A spontaneous mutation rate for humans of 0.02 to 0.05 detrimental mutations per gamete has been estimated in this manner and presumably these are balanced by an equal number of eliminations. The approach neglects embryonic deaths occurring too early to be detected and thus estimates only the socially important effects of mutation. Any radiation induced increase in mutation rate will presumably increase the eliminations proportionately.

In our hypothetical population (having 100 million births representing two gametes each, and exposed to 5/100 of the doubling dose, per generation) this would be equivalent to between 200,000 and 500,000 detectable deaths per generation (i.e. stillbirths and deaths during infancy and childhood).

The calculated values might conceivably represent overestimates if any large part of the recessive deleterious genes are present because of heterozygous advantage. Although the possibility cannot be excluded entirely it seems unlikely for several reasons: (1) It is incompatible with the idea that there are relatively few alleles per locus. (2) An average slight deleterious effect of recessive lethals in the heterozygous state has been demonstrated in *Drosophila*, yeast and mice. (3) The lethal genes present in natural populations of *Drosophila*, even though they have been screened by natural selection, are no less deleterious in the heterozygous state than newly induced lethals (DA CUNA *et al.* 1958).

This approach has the merit of being based primarily upon human mortality studies and the assumptions are reasonably well supported by animal experiments. The degree of agreement with estimates arrived at in other ways is noteworthy, the present one being intermediate between the two previously quoted.

#### g) Quantitative characters

Attempts to estimate the consequences of an increase in mutation rate for such continuously variable characters as intelligence, lifespan and birthweight have been based largely on studies of unrelated but readily measured characteristics in an organism remote from man (e.g. radiation induced variability in sternoplural bristle number in *Drosophila*). Inherent in any application to humans is the assumption that variability in the quantitative characteristics of man would be increased equally.

About 2.3 per cent of human children have intelligence quotients below 70 and are considered to require special instruction and management. According to MATHER's calculations a doubling of the hereditary component of variance, assuming no shift in the mean, would increase this number between 2.2 and 2.9 fold. The probable numbers of affected individuals may be calculated for our hypothetical population (having 100 million births, and exposed to 5 R per generation) as approximately 250,000 per generation or an increase of 2.5 per thousand births. Since it is altogether likely that the mean shifts in a downward direction the actual increase might be greater. This calculation is probably subject to greater uncertainties than any other so far discussed. However, it is impossible to say whether it is more likely to overestimate or underestimate the actual hazard. No attempt will be made to arrive at similar estimates of the effects on lifespan or birthweight.

#### h) Incompleteness of present information and methods of study

The prevalence of hereditary defects in human populations is known fairly accurately from studies in Denmark, Sweden, Northern Ireland and Michigan State in the U.S.A.

Conversely, knowledge of the factors determining frequencies of specific diseases is very scanty. Until the role of selection in maintaining certain kinds of hereditary disease in human populations is better understood doubt will exist about the effect of an increase in mutation rate.

Selection, as fertility and mortality differentials, has been studied using conventional methods in Huntington's chorea (REED and PALM 1951; REED 1957), multiple neurofibromatosis (CROWE *et al.* 1956) and mental deficiency (REED, REED and PALM 1954). The studies suggest that mutation rather than selection is responsible for the prevalence of the conditions. However, a much greater volume of accurate fertility and mortality data is needed before the distinction can be made with certainty. This is especially true for mental deficiency, and where conditions are not due to highly penetrant dominant genes the difficulty increases. Thus, even complete information for whole populations would not represent an unnecessarily large volume of data and conventional surveys are obviously inadequate for appropriate studies of many hereditary conditions.

In many countries, essentially complete and accurate genealogical information for most of the population exists on paper as routine registrations of births, marriages and deaths; and the processing of vital statistics is already highly mechanized. Techniques for bringing together successive records of individual events within families to yield reproductive histories have been studied in some detail (NEWCOMBE, KENNEDY, AXFORD and JAMES 1959). Ten years of marriage and the relevant birth records for one Canadian province are being used in the initial studies. These records are assembled into family groups, by electronic computing equipment, at a rate of 2300 per minute and with an accuracy of better than 98 per cent. Accuracies and speeds much greater than these appear feasible with existing machines, and faster machines will undoubtedly be available in the future.

Thus, there seem to be no major technical obstacles to the future use of vital records as a source of many kinds of family and follow-up information. To these files might be added any other routinely recorded information. In certain countries, for example, hospital admissions and diagnoses are already available in a form accessible to data processing machines. Handled in an appropriate manner the vital and health records, together with information from any special studies, might yield differentials of fertility and mortality for families with hereditary abnormalities. In addition, such a system could be used for somatic studies such as following large numbers of irradiated individuals to determine the subsequent risks of leukaemia and bone tumour.

Other uses are also envisaged. Some foetal and early infant deaths are attributable to Rh and ABO blood incompatibilities. At present it is believed that the frequencies of the blood group genes are determined largely by selection and the numbers of such deaths would only be slightly affected by a radiation induced increase in mutation rate. However, little is known of the selective forces and so far only limited use has been made of the very large quantity of routinely recorded blood group data. The linking of blood groups to the pedigree information for large populations would permit relevant genetic studies to be carried out on an adequate scale. In addition, a measure of the extent of assortative mating and inbreeding, both of which influence the expression of recessive deleterious genes and their frequencies in the population, might be derived from the genealogical information inherent in existing routine records.

## 7. Problems of permissible exposures

In calculating the genetically significant dose to a population from the various medical and occupational exposures it is necessary to consider the likelihood that the exposed individuals will subsequently reproduce. In general it is sufficient to think of the genetically significant dose to an individual as that accumulated prior to the average age of parenthood, but more sophisticated weighting procedures have been devised for

handling exposure data (see formula 8 in Annex C to the *Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation*, 1958).

Medical procedures contribute an estimated 3 to 5 R per person by age 30 in countries such as the United States of America, Australia, and possibly also in some European countries for which only minimum estimates are available at present. To derive a total genetically significant exposure it is necessary to add to this: (1) the 3 R received in the same period from natural sources, (2) an exposure of about 0.1 R which may result from the environmental contamination due to nuclear weapon testing, and (3) for some countries rather less than 0.06 R from occupational exposures averaged over the whole population.

Currently, occupational exposures represent a relatively small contribution to the genetically significant exposures of whole populations. However, with a rapid expansion in the uses of nuclear power and a corresponding rise in the numbers of occupationally exposed individuals it may become a major component of the total. Also, exposures of whole populations to environmental contamination from radioactive wastes might eventually contribute substantially. To set reasonable limits on this increase the International Commission on Radiological Protection has laid down recommendations and suggestions for the guidance of national bodies responsible for controlling the hazards from utilization of nuclear energy.

A maximum of 5 R to reproductive tissues in 30 years, averaged over whole populations, has been suggested (see *Recommendations of the International Commission on Radiological Protection*, 1959, paragraphs 64 and 65). This figure does not include medical exposures or natural background so that the overall total (assuming 3 to 5 R from medical exposures and 3 R from natural background) might be between 11 and 13 R per person per generation. In making this kind of suggestion it is recognized that neither the benefits nor the hazards of the peaceful uses of nuclear power can be precisely estimated. Nevertheless, a concrete figure is essential if control is to be exercised at all.

Since the hazards may be estimated in numeric form, albeit with a considerable margin of uncertainty, the benefits to society should be considered in relation to the estimated risks and the expenditure required to keep them below a level considered to be acceptable. Among the benefits, weight must be given to necessities arising from declining reserves of conventional energy sources, and the close association between the standard of living and the extent to which mortality and serious illness may be controlled. The biologist may assess the hazards of a particular exposure but has no special qualifications to judge quantitatively the harm or risk which it is reasonable for society to accept in view of the benefits to be reaped and the cost of reducing the risk. However, at present few other disciplines have given the matter as much thought. In future it seems both likely and desirable that social scientists and politicians will contribute in a similar manner to the detailed reasoning on which arbitrary decisions affecting safety *versus* expenditure must be based. Many would hesitate to attempt a balance, and yet to set any exposure limit at all implies the acceptance of a subjectively derived estimate of both benefit and risk. It is therefore important that the rationale be developed in an increasingly objective form.

Nuclear power is the first major social development in which, at the outset, such detailed thought has been given to the reduction of hazards. As a result it is to be hoped that the bargain to society will be better in terms of benefit *versus* detriment than for previous undertakings of comparable magnitude.

#### *Acknowledgments*

I would like to thank Miss ELIZABETH RAWLENCE for substantial editorial assistance throughout the preparation of the final manuscript and Drs. A. P. JAMES and E. O. HUGHES for their many helpful criticisms.

Bibliography<sup>1</sup>*Bibliography for Sections I to V*

- ADAMS, J. D., and R. A. NILAN: After-effects of ionizing radiation in barley. II. Modification by storage of X-rayed seeds in different concentrations of oxygen. *Radiat. Res.* **8**, 111—122 (1958).
- — and H. M. GUNDHARDT: After-effects of ionizing radiation in barley. I. Modification by storage of X-rayed seeds in oxygen and nitrogen. A preliminary report. *Northw. Sci.* **29**, 101—108 (1955).
- ALPER, T.: Hydrogen peroxide and the indirect effect of ionizing radiations. *Nature (Lond.)* **162**, 615—616 (1948).
- The inactivation of free bacteriophage by irradiation and by chemical agents. *J. gen. Microbiol.* **11**, 313—324 (1954).
- Bacteriophage inactivation under varying conditions of irradiation. In: *Radiobiology Symposium 1954*, p. 39—48. London: Butterworths Sci. Publ. 1955.
- ANDERSON, E. H.: The effects of oxygen on mutation induction by X-rays. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **37**, 340—349 (1951).
- ARNASON, T. J., and M. MORRISON: A comparison of effectiveness of radiations of different energies in producing chromosome breaks. *Radiat. Res.* **2**, 91—95 (1955).
- ATWOOD, K. C., and T. PITTINGER: X-ray induced mutations in growing mycelium of *Neurospora*. *Radiat. Res.* **3**, 212 (1955).
- AUERBACH, C.: Problems in chemical mutagenesis. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **16**, 199—214 (1951).
- , and J. M. ROBSON: Tests of chemical substances for mutagenic action. *Proc. roy. Soc. Edinb. B.* **62**, 284—291 (1947).
- AVERY, O. T., C. M. MCLEOD, and M. MCCARTY: Studies on the chemical nature of the substances inducing transformation of pneumococcal types. *J. exp. Med.* **79**, 137—158 (1944).
- BACHOFER, C. S., and M. A. POTTINGER: Oxygen protection against ionizing radiations. *Science* **119**, 378—379 (1954).
- BACK, A., and L. HALBERSTAEDTER: Influence of biological factors on the form of Roentgen-ray survival curves. Experiments on *Paramecium caudatum*. *Amer. J. Roentgenol.* **54**, 290—295 (1945).
- BAGG, H. J.: Effect of Roentgen rays on tumors in animals treated by prolonged continuous exposure of the entire body. *Amer. J. Roentgenol.* **40**, 418—426 (1938).
- BAKER, W. K.: The production of chromosome interchanges in *Drosophila virilis*. *Genetics* **34**, 167—193 (1949).
- The oxygen effect and the mutation process. *Brookhaven Symp. Biol.* **8**, 191—200 (1955).
- , and C. W. EDINGTON: The induction of translocations and recessive lethals in *Drosophila* under various oxygen concentrations. *Genetics* **37**, 665—677 (1952).
- BAKER, W. K., and E. S. V. HALLE: The effect of oxygen concentration on the induction of dominant lethals. *Genetics* **37**, 565 (1952).
- — The production of dominant lethals in *Drosophila* by fast neutrons from cyclotron irradiation and nuclear detonations. *Science* **119**, 46—49 (1954).
- — Evidence on the mechanism of the oxygen effect by the use of a ring chromosome. *J. cell. comp. Physiol.* **45** (2), 299—307 (1955).
- , and E. SGOURAKIS: Alteration of the X-ray sensitivity of *Drosophila* by means of respiratory inhibitors. *Genetics* **35**, 96 (1950a).
- — The effect of oxygen concentration on rate of X-ray induced mutations in *Drosophila*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **36**, 176—184 (1950b).
- BALDWIN, W. F.: Similarities of killing by heat and by X-radiation in the insect *Dahlbominus fuscipennis*. *Radiat. Res.* **5**, 46—51 (1956).
- Recovery from X-ray induced sensitivity to heat in an insect. *Radiat. Res.* **8**, 17—21 (1958).
- , and C. A. NARRAWAY: Interaction of heat and X-rays in killing a Chalcid. *Nature (Lond.)* **179**, 971—972 (1957).
- , and T. N. SALTHOUSE: Latent radiation damage and synchronous cell division in the epidermis of an insect. I. Non-reversible effects leading to local radiation burns. *Radiat. Res.* **10**, 387—396 (1959a).
- — Latent radiation damage and synchronous cell division in the epidermis of an insect. II. Reversible effects in burn repair. *Radiat. Res.* **10**, 397—399 (1959b).
- — Effect of oxygen deficiency on radiation induced mitotic damage in synchronously dividing cells. *Canad. J. Zool.* **37**, 1061—1066 (1959c).
- — Oxygen deficiency and radiation damage in the insect *Rhodnius*. *Nature (Lond.)* **183**, 974 (1959d).
- BARRETT, R. W., and E. L. TATUM: Carcinogenic mutagens. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **71**, 1072—1084 (1958).
- BAUER, H.: Die Chromosomenmutationen. *Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-L.* **76**, 309—322 (1939).
- M. DEMEREC, and B. P. KAUFMANN: X-ray induced chromosomal alterations in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **23**, 610—630 (1938).
- BENZER, S.: Fine structure of a genetic region in bacteriophage. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **41**, 344—354 (1955).
- The elementary units of heredity. In: *The Chemical Basis of Heredity*, p. 70—93. Baltimore: The Johns Hopkins Press 1957.
- , and E. FREESE: Induction of specific mutations with 5-bromouracil. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **44**, 112—119 (1958).

<sup>1</sup> Because of differences in subject matter references for Sections I to V and for Section VI have been listed separately.

- BISHOP, C. J.: Differential X-ray sensitivity of *Tradescantia* chromosomes during the mitotic cycle. *Genetics* **35**, 175—187 (1950a).  
 — The influence of polyploidy on X-ray sensitivity of cells. *Genetics* **35**, 654 (1950b).  
 — The influence of polyploidy on the X-ray sensitivity of cells. *Canad. J. Bot.* **30**, 139—146 (1952).  
 — V. D. McLAUGHLIN, and D. F. TAPLEY: X-ray tolerance of living cells as measured by cytoplasmic streaming. *Canad. J. Res. C* **27**, 262—268 (1949).
- BLOOM, W., and M. A. BLOOM: Histological changes after irradiation. In: *Radiation Biology*, vol. 1, part 2, p. 1091—1143. New York: McGraw-Hill Book Co. 1954.
- BONET-MAURY, P., and M. LEFORT: Formation of hydrogen peroxide in water irradiated with X- and alpha rays. *Nature (Lond.)* **162**, 381—382 (1948).
- BORA, K. C.: Delayed effects in chromosome breakage by X-rays. In: *Tradescantia bracteata*. *J. Genet.* **52**, 140—151 (1954).  
 — Comparison of cytological effects produced by 220 kVp Roentgen rays, radioindium gamma rays and 30 MeV Roentgen rays in microspores of *Tradescantia bracteata*. *Acta radiol. (Stockh.)* **44**, 129—144 (1955).  
 — Factors affecting the relative biological efficiencies of ionizing radiation. *Proc. 2nd Internat. Conf. on the Peaceful Uses of Atomic Energy* **22**, 88—100 (1958).
- BOVERI, T.: *Verh. phys.-med. Ges. Würzb., Form 3, H. 35, n.F.*, The origin of malignant tumors, translated by M. BOVERI. Baltimore: Williams & Wilkins Co. 1929.
- BOZEMAN, M. L.: Effects of irradiation on oocytes of *Sciara*. *Genetics* **28**, 71 (1943).
- BRESLAVETS, L. P.: Poliploidiya rzhi, indutsirovannaya rentgenovskimi luchami (Polyploidy in rye induced by X-rays). *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **22**, 356—359 (1939).
- BRIDGES, C. B.: A revised map of the salivary X-chromosome of *Drosophila melanogaster*. *J. Hered.* **29**, 11—13 (1938).
- BRIDGMAN, J., and R. F. KIMBALL: The effect of X-rays on division rate and survival of *Tillina magna* and *Colpoda sp.* with an account of delayed death. *J. cell. comp. Physiol.* **44**, 431—445 (1954).
- BRUMFIELD, R. T.: Effect of colchicine pretreatment on the frequency of chromosomal aberrations induced by X-irradiation. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **29**, 190—193 (1943).
- CALDECOTT, R. S., E. B. JOHNSON, D. T. NORTH, and C. F. KONZAK: Modification of radiation-induced injury by posttreatment with oxygen. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **43**, 975—983 (1957).
- CARLSON, J. G.: The effect of X-radiation on grasshopper chromosomes. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **9**, 104—111 (1941).  
 — Effects of radiation on mitosis. *J. cell. comp. Physiol.* **35** (Suppl. 1), 89—102 (1950).
- CARLSON, J. G.: Immediate effects on division, morphology and viability of the cell. In *Radiation Biology*, vol. 1 (2), p. 763—824. New York: McGraw-Hill Book Co. 1954.
- CASPARI, E.: Cytoplasmic inheritance. *Advances in Genetics* **2**, 1—66 (1948).  
 —, and C. STERN: The influence of chronic irradiation with gamma-rays at low dosages on the mutation rate in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **33**, 75—95 (1948).
- CASPARI, S. B.: An X-ray sperm-dose-action curve for mutation at a single locus in *Moroniella*. *Radiat. Res.* **8**, 273—283 (1958).
- CASTRO, D., A. CÂMARA, and N. MALHEIROS: X-rays in the centromere problem of *Luzula purpurea* link. *Proc. 8th Internat. Congr. Genet., Stockholm 1948. Hereditas (Suppl.)* **548—550** (1949a).  
 — — X-rays in the centromere problem of *Luzula purpurea* link. *Genet. iberica* **1**, 48—54 (1949b).  
 —, y M. NORONHA-WAGNER: Nota sobre a perpetuação de fragmentos cromosomicos em *Luzula purpurea* (Note on the perpetuation of chromosome fragments in *Luzula purpurea*) *Agron. lusitana* **14**, 195—199 (1952).  
 — — and A. CÂMARA: Two X-ray induced translocations in *Luzula purpurea*. *Genet. iberica* **6**, 3—18 (1954).
- CATCHESIDE, D. G.: Frequency of induced structural changes in the chromosomes of *Drosophila*. *J. Genet.* **36**, 307—320 (1938).  
 — Genetic effects of radiation. *Advanc. Genet.* **2**, 271—358 (1948).  
 — Cytoplasmic inheritance. *Nature (Lond.)* **184**, 1012—1015 (1959).  
 —, and D. E. LEA: The effect of ionization distribution on chromosome breakage by X-rays. *J. Genet.* **45**, 186—196 (1943).  
 — — and J. M. THODAY: Types of chromosome structural change induced by the irradiation of *Tradescantia* microspores. *J. Genet.* **47**, 113—136 (1946a).  
 — — — The production of chromosome structural changes in *Tradescantia* microspores in relation to dosage, intensity, and temperature. *J. Genet.* **47**, 137—149 (1946b).
- CLARK, A. M.: The relation between genome number and radiosensitivity in *Habrobracon*. *Amer. Nat.* **91**, 111—119 (1957).  
 —, and F. M. KELLY: Differential radiosensitivity of haploid and diploid prepupae and pupae of *Habrobracon*. *Cancer Res.* **10**, 348—352 (1950).  
 —, and C. J. MITCHELL: Radiosensitivity of haploid and diploid *Habrobracon* during pupae development. *J. exp. Zool.* **17**, 489—498 (1951).  
 — — Effects of X-rays upon haploid and diploid embryos of *Habrobracon*. *Biol. Bull.* **103**, 170—177 (1952).
- CONGER, A. D.: X-ray sensitivity of the stages of mitosis. *Amer. J. Bot.* **34**, 582 (1947).  
 — The cytogenetic effect of sonic energy applied simultaneously with X-rays. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **34**, 470—474 (1948).

- CONGER, A. D., and L. M. FAIRCHILD: Breakage of chromosomes by oxygen. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **38**, 289—299 (1952).
- , and H. J. LUIPPOLD: Studies on the mechanism of acquired radioresistance in cancer. *Cancer Res.* **17**, 897—903 (1957).
- M. L. RANDOLPH, and A. H. JOHNSTON: Chromosomal aberration production by X-rays and by monochromatic 2.5 MeV and 14 MeV neutrons. *Genetics* **40**, 639 (1956).
- CONWAY, B. E.: After effects of X-irradiation of deoxyribonucleic acid. *Nature (Lond.)* **173**, 579—581 (1954).
- COOPER, K. W.: The nuclear cytology of the grass mite, *Pediculopsis graminium* (Reut.) with special reference to karyomerokinesis. *Chromosoma (Berl.)* **1**, 51—103 (1939).
- COURT-BROWN, W. M., and R. DOLL: Leukaemia and aplastic anaemia in patients irradiated for ankylosing spondylitis. London: H. M. Stationery Office 1957.
- CRABTREE, H. G., and W. CRAMER: The action of radium on cancer cells. II. Some factors determining the susceptibility of cancer cells to radium. *Proc. roy. Soc. B* **113**, 238—250 (1933).
- CRICK, F. H. C.: The structure of DNA. In: *The Chemical Basis of Heredity*, p. 532—539. Baltimore: The Johns Hopkins Press 1957.
- CRONKITE, E. P., C. R. SIPE, D. C. ELTZHOLTZ, W. H. CHAPMAN, and F. E. CHAMBERS: Increased tolerance of mice to lethal X-irradiation as a result of previous sub-lethal exposures. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **73**, 184—186 (1950).
- CURTIS, H. J., R. S. CALDECOTT, and C. F. KONZAK: Modification of X-ray damage in dormant seeds by storage. *Radiat. Res.* **7**, 311 (1957).
- DACQUISTO, M. P.: Acquired radioresistance. *Radiat. Res.* **12**, 118—129 (1959).
- DAINTON, F. S.: Chemical effects of radiation. *Radiat. Res. (Suppl. 1)*, 1—25 (1959).
- D'AMATO, F.: The quantitative study of mitotic poisons by the *Allium cepa* test: data and problems. *Protoplasma (Wien)* **39**, 423—433 (1950).
- , and Å. GUSTAFSSON: Studies on the experimental control of the mutation process. *Hereditas (Lund)* **34**, 181—192 (1948).
- DANIELS, M. L., G. SCHOLES, and J. WEISS: Studies on the action of X-rays on aqueous solutions of nucleic acids and some nucleotides. *Experientia (Basel)* **11**, 219—221 (1955).
- DARLINGTON, C. D., and L. LACOUR: The handling of chromosomes. London: G. Allen 1942.
- , and J. MCLEISH: Action of maleic hydrazide on the cell. *Nature (Lond.)* **167**, 407—408 (1951).
- , and J. MCLEISH: Action of maleic hydrazide on the cell. *Nature (Lond.)* **167**, 407 (1951).
- DEMEREK, M.: Effect of temperature on the rate of change of the unstable miniature 3-gamma gene of *Drosophila virilis*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **18**, 430—434 (1932).
- Induction of mutations in *Drosophila* by dibenzanthracene. *Genetics* **33**, 337—348 (1948).
- DEMEREK, M.: Genetic basis of acquired drug resistance. *Publ. Hlth Rep. (Wash.)* **70**, 817—821 (1955).
- G. BERTANI, and J. FLINT: A survey of chemicals for mutagenic action on *Escherichia coli*. *Amer. Nat.* **85**, 119—136 (1951).
- , and J. HANSON: Mutagenic action of manganese chloride. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **16**, 215—228 (1951).
- B. P. KAUFMANN, and E. SUTTON: Genetic effects produced by neutrons in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **27**, 140 (1942).
- E. M. WITKIN, E. L. LABRUM, I. GALINSKY, J. FLINT HANSON, H. MONSEES, and T. H. FETHERSTON: Bacterial genetics. *Carnegie Inst. Wash. Year Book No 51*, 193—205 (1952).
- DEMPSTER, E. R.: Dominant vs recessive lethal mutations. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **27**, 249—250 (1941).
- DEUFEL, J.: Untersuchungen über den Einfluß von Chemikalien und Röntgenstrahlen auf die Mitose von *Vicia faba*. *Chromosoma (Berl.)* **4**, 239—272 (1951).
- DITTRICH, W., G. HÖHNE, and G. SCHUBERT: Development of a radioresistant strain of Ehrlich carcinoma in mice. In: *Progress in Radiobiology*, p. 381—385. London: Oliver & Boyd 1956.
- DUBININ, N. P., and B. N. SIDOROV: The position of the hairy gene. *Biol. Zh.* **4**, 555—569 (1935).
- DUNN, D. B., J. D. SMIGHT, S. ZAMENHOF, and G. GRIBOFF: Incorporation of halogenated pyrimidines into the deoxyribonucleic acids of *Bacterium coli* and its bacteriophages. *Nature (Lond.)* **174**, 305—307 (1954).
- EBERHARDT, K.: Vergleich der chromosomenbruchauslösenden Wirkung von Röntgen- und Neutronstrahlen bei *Drosophila melanogaster*. *Naturwissenschaften* **31**, 23 (1943).
- EDINGTON, C. W.: The induction of recessive lethals in *Drosophila melanogaster* by radiations of different ion density. *Genetics* **41**, 814—821 (1956).
- EHRENBERG, L.: Radiobiological mechanisms of genetic effects. *Radiat. Res. (Suppl. 1)*, 102—123 (1959).
- , and Å. GUSTAFSSON: On the mutagenic action of ethylene oxide and diepoxybutane in barley. *Hereditas (Lund)* **43**, 595—602 (1957).
- U. LUNDQVIST, and G. STRÖM: The mutagenic action of ethylene imine in barley. *Hereditas (Lund)* **44**, 330—336 (1958).
- J. MOUTSCHEN-DAHMER et M. MOUTSCHEN-DAHMER: Abberations chromosomiques produites dans des graines par de hautes pressions d'oxygene. *Acta chem. scand.* **11**, 1428—1430 (1957).
- ELLIOTT, A. M., and G. M. CLARK: Post X-irradiation effects of temperature on vegetative cells of *Tetrahymens pyriformis*. *Biol. Bull.* **113**, 345 (1957).
- EPHRUSSI-TAYLOR, H., and R. LATARJET: Inactivation, par les rayons X, d'un agent transformant du Pneumocoque. In: *Radiobiology Symposium (Liege 1954)*, p. 79—80. London: Butterworths Sci. Publ. 1955.

- FABERGÉ, A. C.: An experiment on chromosome fragmentation in *Tradescantia* by X-rays. *J. Genet.* **39**, 229—248 (1940).
- Homologous chromosome pairing: the physical problem. *J. Genet.* **43**, 121—144 (1942).
- Chromosome aberrations in *Tradescantia* produced by X-ray treatment at liquid air temperature. *Genetics* **33**, 609 (1948).
- Chromosome breakage by X-rays at low temperature and the radiodecomposition of water. *Genetics* **35**, 104—105 (1950).
- , and G. H. BEALE: An unstable gene in *Portulaca*: mutation rate at different temperatures. *J. Genet.* **43**, 173—187 (1942).
- FANO, U.: Experiments on mutations induced by neutrons in *Drosophila melanogaster* sperm. *Genetics* **29**, 361—369 (1944).
- FENN, W. O., R. GERSHMAN, D. L. GILBERT, D. E. TERWILLIGER, and F. V. COEHRAN: Mutagenic effects of high oxygen tensions on *Escherichia coli*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **43**, 1027—1032 (1957).
- FORBES, E. C.: Recombination in the *pro* region in *Aspergillus nidulans*. *Microbial Genetics Bull.* **13**, 9—10 (1956).
- FORD, C. E.: Chromosome breakage in nitrogen mustard treated *Vicia faba* root tip cells. *Proc. 8th Internat. Congr. Genetics (Hereditas, Suppl.)* 570—571 (1949).
- , and J. L. HAMERTON: The chromosomes of man. *Nature (Lond.)* **178**, 1020—1023 (1956).
- P. S. JACOBS, and L. G. LAJTHA: Human somatic chromosomes. *Nature (Lond.)* **181**, 1565—1568 (1958).
- FORSBERG, A., and N. NYBOM: Combined effects of cysteine and irradiation on growth and cytology of *Allium cepa* roots. *Physiol. Plant.* **6**, 78—95 (1953).
- FRAENKEL-CONRAT, H., B. A. SINGER, and R. C. WILLIAMS: The nature of progeny of virus reconstituted from protein and nucleic acid of different strains of tobacco mosaic virus. In: *The Chemical Basis of Heredity*, p. 501—517. Baltimore: The Johns Hopkins Press 1957.
- FRESE, F.: The difference between spontaneous and base-analogue induced mutations of phage T4. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **45**, 622—633 (1959a).
- On the molecular explanation of spontaneous and induced mutations. *Brookhaven Symposia in Biol.* **12**, 63—73 (1959b).
- FRICKE, H.: Reduction of O<sub>2</sub> to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by the irradiation of its aqueous solutions with X-rays. *J. chem. Phys.* **2**, 556—557 (1934).
- FRÖIER, K., O. GELIN, and Å. GUSTAFSSON: The cytological response of polyploidy to X-ray dosage. *Bot. Notiser* **2**, 199—216 (1941).
- GETTLER, L.: Über die Kernteilung von *Spirogyra*. *Arch. Protistenk.* **71**, 79—100 (1930).
- GIERER, A., and G. SCHRAMM: Infectivity of ribonucleic acid from tobacco mosaic virus. *Nature (Lond.)* **177**, 702 (1956).
- GILES, N. H.: The effect of fast neutrons on the chromosomes of *Tradescantia*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **26**, 567—575 (1940).
- GILES, N. H.: Comparative studies of the cytogenetical effects of neutrons and X-rays. *Genetics* **28**, 398—418 (1943).
- Recent evidence on the mechanism of chromosome aberration production by ionizing radiations. In: *Symposium on Radiobiology (Oberlin, 1950)*, p. 267—284. New York: John Wiley & Sons 1952.
- Radiation-induced chromosome aberrations in *Tradescantia*. In: *Radiation Biology, vol. 1 (2)*, p. 713—762. New York: McGraw-Hill Book Co. 1954.
- Forward and back mutation at specific loci in *Neurospora*. *Brookhaven Symposia in Biol.* **8**, 103—125 (1955a).
- The oxygen effect on radiation-induced chromosome aberrations: breakage-versus-recombination hypothesis. *J. cell. comp. Physiol.* **45** (2), 271—284 (1955b).
- , and A. U. BEATTY: The effect of X-irradiation in oxygen and in hydrogen at normal and positive pressures on chromosome aberration frequency in *Tradescantia* microspores. *Science* **112**, 643—645 (1950a).
- The effect of X-irradiation in oxygen under pressure on chromosome aberration frequency in *Tradescantia* microspores. *Genetics* **35**, 666—667 (1950b).
- and H. P. RILEY: The effect of oxygen on the production by fast neutrons of chromosomal aberrations in *Tradescantia* microspores. *Genetics* **37**, 641—649 (1952).
- , and A. D. CONGER: Chromosomal interchanges induced in *Tradescantia* microspores by fast neutrons from uranium fission. *J. cellular comp. Physiol.* **35** (Suppl. 1), 83—88 (1950).
- , and E. Z. LEDERBERG: Induced reversions of biochemical mutants in *Neurospora crassa*. *Amer. J. Bot.* **35**, 150—157 (1948).
- , and H. P. RILEY: The effect of oxygen on the frequency of X-ray induced chromosomal rearrangements in *Tradescantia* microspores. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **35**, 640—646 (1949).
- Studies on the mechanism of the oxygen effect on the radiosensitivity of *Tradescantia* microspores. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **36**, 337—344 (1950).
- GLASS, H. B.: Differential susceptibility of the sexes in *Drosophila* to the effects of X-rays in producing chromosome aberrations. *Genetics* **25**, 117 (1940).
- Differences in mutability during different stages of gametogenesis in *Drosophila*. *Brookhaven Symposia in Biol.* **8**, 148—170 (1955).
- GOODWARD, M. B. E.: Irradiation of *Spirogyra* chromosomes. *Heredity* **8**, 293 (1954).
- GREEN, M. M., and K. C. GREEN: Crossing over between alleles at the lozenge locus in *Drosophila melanogaster*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **35**, 586—591 (1949).
- A cytogenetic analysis of the lozenge pseudoalleles in *Drosophila*. *Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-L.* **87**, 708—721 (1956).

- GRUNEBERG, H.: The genetics of the mouse. The Hague: Nyhoff 1952.
- HÄMMERLING, J.: Nucleo-cytoplasmic relationships in the development of *Acetabularia*. Int. Rev. Cytol. **2**, 475—498 (1953).
- HAYDEN, B., and L. SMITH: The relation of atmosphere to biological effects of X-rays. Genetics **34**, 26—43 (1949).
- HENSHAW, P. S.: Action of X-rays on nucleated and non-nucleated egg fragments. Amer. J. Cancer **33**, 258—264 (1938).
- The induction of multipolar cell division with X-rays and its possible significance. Radiology **36**, 717—724 (1941).
- HERSHEY, A. D.: The organization of genetic material in bacteriophage T2. Brookhaven Symposia in Biol. **8**, 6—16 (1955).
- Some minor components of bacteriophage particles. Virology **4**, 237—264 (1957).
- HESLOT, H., and R. FERRARY: Ann. Inst. nat. agron. **44**, 1 (1958). (Quoted in Ehrenberg 1959.)
- HEWITT, H. B., and J. READ: Search for an effect of oxygen on the direct X-ray inactivation of bacteriophage. Brit. J. Radiol. **23**, 416—423 (1950).
- HOLLAENDER, A. (ed.): Radiation Biology, vol. 1 (parts 1 and 2). New York: McGraw-Hill 1954.
- (ed.): Radiation Biology, vol. 2. New York: McGraw-Hill Book Co. 1955.
- , D. BILLEN, and C. O. DOUDNEY: The modification of X-ray-induced mutations in *Escherichia coli* by pre- and post-treatment. Radiat. Res. **3**, 235 (1955).
- HOLTHUSEN, H.: Beiträge zur Biologie der Strahlenwirkung. Untersuchungen an Askariden-eiern. Pflügers Arch. ges. Physiol. **187**, 1—24 (1921).
- HORNE, A. S.: Nuclear division in the Plasmodiophorales. Ann. Bot. **44**, 199—231 (1930).
- HOWARD-FLANDERS, P., and D. MOORE: The time interval after pulsed irradiation within which injury to bacteria can be modified by dissolved oxygen. I. A search for an effect of oxygen 0.02 second after pulsed irradiation. Radiat. Res. **9**, 422—437 (1958).
- HUGHES-SCHRADER, S., and H. RIS: The diffuse spindle attachment of coccids, verified by the mitotic behavior of induced chromosome fragments. J. exp. Zool. **89**, 429—456 (1941).
- ICHIJIMA, K.: On the artificially induced mutations and polyploid plants of rice occurring in subsequent generations. Proc. Imp. Acad. (Tokyo) **10**, 388—391 (1934).
- ISING, V., and A. LEVAN: The chromosomes of two highly malignant human tumours. Acta path. microbiol. scand. **40**, 13—24 (1957).
- JACOB, G., and E. L. WOLLMAN: Genetic and physical determinations of chromosomal segments in *Escherichia coli*. Symp. Soc. exp. Biol. **12**, 75—92 (1958).
- JAMES, A. P., and B. LEE-WHITING: Radiation induced sectoring in vegetative cells of diploid yeast. Genetics **40**, 826—831 (1955).
- KAUFMANN, B. P.: Spontaneous mutation rate in *Drosophila*. Amer. Nat. **81**, 77—80 (1947).
- Chromosomal aberrations induced in animal cells by ionizing radiations. In: Radiation Biology, vol. 1 (2), p. 627—711. New York: McGraw-Hill Book Co. 1954.
- , and A. HOLLAENDER: Modification of the frequency of chromosomal rearrangements induced by X-rays in *Drosophila*. II. Use of ultraviolet radiation. Genetics **31**, 368—375 (1946).
- — and H. GAY: Modification of the frequency of chromosomal rearrangements induced by X-rays in *Drosophila*. I. Use of near infra-red radiation. Genetics **31**, 349—367 (1946).
- , and K. WILSON: Modification of the frequency of chromosomal rearrangements induced by X-rays in *Drosophila*. IV. Post-treatment with near infra-red radiation. Genetics **34**, 425—436 (1949).
- KAYHART, A.: A comparative study of dose action curves for visible eye color mutations induced by X-rays, thermal neutrons and fast neutrons in *Mormoniella vitripennis*. Radiat. Res. **4**, 65—76 (1956).
- KELNER, A.: Effects of visible light on the recovery of *Streptomyces griseus* conidia from ultraviolet irradiation injury. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **35**, 73—79 (1949a).
- Photoreactivation of ultraviolet-irradiated *Escherichia coli*, with special reference to the dose-reduction principle and to ultraviolet-induced mutation. J. Bact. **58**, 511—522 (1949b).
- Light-induced recovery of microorganisms from ultraviolet radiation injury, with special reference to *Escherichia coli*. Bull. N. Y. Acad. Med. **26**, 189—199 (1950).
- KHVOSTOVA, W. W., and A. A. GAVRILOVA: Relation between the number of translocations in *Drosophila melanogaster* and the X-ray dosage. Biol. Zh. **7**, 381—390 (1938) [Russian with English summary].
- KIHLMAN, B. L.: The permeability of the nuclear envelope and the mode of action of purine derivatives on chromosomes. Symb. bot. Upsal. **11** (2), 1—39 (1951).
- KIHLMAN, B.: Induction of chromosome changes with purine derivatives. Symb. bot. Upsal. **11** (4), 1—99 (1952).
- Chromosome breakage in *Allium* by 8-ethoxycafein and X-rays. Exp. Cell Res. **8**, 345—368 (1955).
- Factors affecting the production of chromosome aberrations by chemicals. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 543—555 (1956).
- KIMBALL, R. F.: The induction of mutations in *Paramecium aurelia* by beta radiation. Genetics **34**, 210—222 (1949a).
- The inheritance of mutational changes induced by radiation in *Paramecium aurelia*. Genetics **34**, 412—424 (1949b).
- The role of oxygen and peroxide in the production of radiation damage in *Paramecium*. Ann. N. Y. Acad. Sci. **59**, 638—647 (1955).

- KIMBALL, R. F., and N. T. GAITHER: Modification of the action of X-rays upon *Paramecium aurelia*. *Genetics* **36**, 558 (1951).
- — and S. M. WILSON: Post irradiation modification of mutation. *Radiat. Res.* **7**, 32—50 (1957).
- — — Recovery in stationary-phase *Paramecia* from radiation effects leading to mutation. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **45**, 833—839 (1959).
- KING, E. D.: The effect of low temperature upon the frequency of X-ray induced mutations. *Genetics* **32**, 161—164 (1947).
- , and H. A. SCHNEIDERMAN: The effects of carbon dioxide on the frequency of X-ray-induced chromosome aberrations in *Tradescantia*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **38**, 809—812 (1952).
- — and K. SAX: The effects of carbon monoxide and oxygen on the frequency of X-ray-induced chromosome aberrations in *Tradescantia*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **38**, 34—43 (1951).
- KIRBY-SMITH, J. S., and C. P. SWANSON: The effect of fast neutrons from a nuclear detonation on chromosome breakage in *Tradescantia*. *Science* **119**, 42 (1954).
- KNUDSON, L.: Giant plastids in ferns produced from X-rayed spores. *Amer. J. Bot.* **21**, 712—713 (1934).
- Permanent changes of chloroplasts induced by X-rays in the gametophytes of *Polypodium aureum*. *Bot. Gaz.* **101**, 721—758 (1940).
- KODANI, M.: The supernumary chromosome of man. *Amer. J. hum. Genet.* **10**, 125—140 (1958a).
- Three chromosome numbers in whites and Japanese. *Science* **127**, 1339—1340 (1958b).
- KOLLER, P. C.: The effects of radiation on pollen grain development, differentiation, and germination. *Proc. roy. Soc. Edinb. B* **61**, 398—429 (1943).
- The response of *Tradescantia* pollen grains to radiation at different dosage rates. *Brit. J. Radiol.* **19**, 393—404 (1946).
- , and I. A. R. S. AHMED: X-ray induced structural changes in chromosomes of *Drosophila pseudoobscura*. *J. Genet.* **44**, 53—72 (1942).
- KOTVAL, J. P., and L. H. GRAY: Structural changes produced in microspores of *Tradescantia* by alpha-radiation. *J. Genet.* **48**, 135—154 (1947).
- KRONSTAD, W. E.: Correlations between chromosome aberrations and genetic mutations in stored X-irradiated barley seeds. (Thesis, State College of Washington, 1959).
- R. A. NILAN, and C. F. KONZAK: Mutagenic effect of oxygen on barley seeds. *Science* **129**, 1618 (1959).
- KURNICK, N. B., and I. H. HERSKOWITZ: The estimation of polyteny in *Drosophila* salivary gland nuclei based on determination of DNA content. *J. cell. comp. Physiol.* **39**, 281—299 (1952).
- LAMY, R., and H. J. MULLER: Evidence of the non-genetic nature of the lethal effect of radiation on *Drosophila* embryos. *Proc. 7th Internat. Congr. Genetics (Suppl.)*, 180—181 (1939).
- LATARJET, R., and B. EPHRUSSI: Courbe de survie de levures haploides et diploides soumises aux rayons X. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **229**, 306—308 (1949).
- LAW, L. W.: Mechanisms of resistance and dependence in growth of leukemic cells. *Tex. Rep. Biol. Med.* **10**, 571—597 (1952).
- LEA, D. E.: Actions of radiation on living cells. Cambridge: Cambridge University Press 1946. (Also, New York: The Macmillan Company 1947; and second edit. Cambridge: Cambridge University Press 1956.)
- The induction of chromosome structural changes by radiation: detailed quantitative interpretation. *Brit. J. Radiol. (Suppl.)* **1**, 75—83 (1947).
- , and D. G. CATCHESIDE: Induction by radiation of chromosome aberrations in *Tradescantia*. *J. Genet.* **44**, 216—245 (1942).
- — The relation between recessive lethals, dominant lethals, and chromosome aberration in *Drosophila*. *J. Genet.* **47**, 10—24 (1945).
- LEFEVER, G.: X-ray induced genetic effects in germinal and somatic tissue of *Drosophila melanogaster*. *Amer. Nat.* **84**, 341—365 (1950).
- and M. M. GREEN: Reverse mutation studies on the forked locus in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **44**, 769—776 (1959).
- , and F. J. RATTY: A constructive genetic effect of X-rays in *Drosophila melanogaster*. *Anat. Rec.* **117**, 647 (1953).
- LEUPOLD, U.: Physiologisch-genetische Studien an adenin-abhängigen Mutanten von *Schizosaccharomyces pombe*. Ein Beitrag zum Problem der Pseudoallelie. *Schweiz. Z. allg. Path.* **20**, 535—544 (1957).
- LEVAN, A.: Chemically induced chromosome reactions in *Allium cepa* and *Vicia faba*. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **16**, 233—244 (1951).
- Chromosomes in cancer tissue. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **63**, 774—789 (1956a).
- The significance of polyploidy for the evolution of mouse tumors. *Exp. Cell Res.* **11**, 613—629 (1956b).
- , and J. J. BIESELLE: Role of chromosomes in carcinogenesis as studied in serial tissue culture of mammalian cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **71**, 1022—1053 (1959).
- LEWIS, E. B.: The phenomenon of position effect. *Advanc. Genet.* **3**, 73—116 (1950).
- Pseudoallelism and the gene concept. *Caryologia* **6** (Suppl.), 100—105 (1954).
- Some aspects of position pseudoallelism. *Amer. Nat.* **89**, 73—89 (1955).
- LOVELESS, A.: Chemical and biochemical problems arising from the study of chromosome breakage by alkylating agents and heterocyclic compounds. *Heredity* **6** (Suppl.), 293—298 (1953).

- LOVELESS, A., and S. REVELL: New evidence on the mode of action of "mitotic poisons". *Nature* (Lond.) **164**, 938—944 (1949).
- LUCKE, W. H., and A. SARACHEK: X-ray inactivation of polyploid *Saccharomyces*. *Nature* (Lond.) **171**, 1014—1015 (1953).
- LÜNING, K. G., and H. O. HENRIKSSON: Recoverable lethal mutations in *Drosophila* sperm. *Nature* (Lond.) **183**, 1211—1212 (1959).
- , and A. HENZE: The recovery phenomenon after irradiation in *Drosophila melanogaster*. III. The inactivation dose of the recovery process. *Hereditas* (Lund) **43**, 571—577 (1957).
- , and J. SÖDERSTRÖM: The recovery phenomenon after irradiation in *Drosophila melanogaster*. II. Recovery of recessive lethals. *Hereditas* (Lund) **43**, 563—570 (1957).
- LURIA, S. E., and M. DELBRÜCK: Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. *Genetics* **28**, 491—511 (1943).
- MACKENDRICK, M. E.: Further examples of crossing over between alleles of the *w* series. *Drosophila Information Service* **27**, 10 (1953).
- MAKINO, S.: The chromosome cytology of the ascites tumors of rats, with special reference to the concept of the stemline cell. *Int. Rev. Cytol.* **6**, 25—84 (1957a).
- The concept of stemline-cells as progenitors of a neoplastic population. *Proc. Internat. Genet. Symp.* 1956. *Cytologia* (Suppl.) 177—181 (1957b).
- MALY, R.: Cytomorphologische Studien an strahleninduzierten, konstant abweichenden Plastidenformen bei Farnprothallien. *Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-L.* **83**, 447—478 (1951).
- MARKOVICH, H.: Etudes radiobiologique du systeme lysogène d' *E. coli* K12. II. Induction par les rayons X. *Etudes des faibles doses*. *Ann. Inst. Pasteur* **90**, 458—481 (1956a).
- The problem of the biological action of low doses of ionizing radiation. *Proc. Internat. Conf. on the Peaceful Uses of Atomic Energy* **11**, 244—247 (1956b).
- MARSHAK, A.: Effects of fast neutrons on chromosomes in mitosis. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **41**, 176—180 (1939).
- Relative effects of X-rays and neutrons on chromosomes in different parts of the resting stage. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **28**, 29—35 (1942a).
- Effects of X-rays and neutrons on mouse lymphoma chromosomes in different stages of the nuclear cycle. *Radiology* **39**, 621—626 (1942b).
- , and M. BRADLEY: Relative sensitivity of chromosomes to neutrons and X-rays. III. Comparison of carcinoma and lymphosarcoma in the rat. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **31**, 84—90 (1945).
- MARINELLI, L. D., B. R. NEBEL, N. H. GILES, and D. R. CHARLES: Chromosomal effects of low X-ray doses on five day *Tradescantia* microspores. *Amer. J. Bot.* **29**, 866—874 (1942).
- MARQUARDT, H.: Die Röntgenpathologie der Mitose. I. Der Primäreffekt weicher Röntgenstrahlen auf die Mitose von *Scilla campanulata*. *Z. Bot.* **32**, 401—429 (1938).
- MAZIA, D.: The particulate organization of the chromosome. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **40**, 521—527 (1954).
- MCLEISH, J.: The action of maleic hydrazide in *Vicia*. *Heredity* **6** (Suppl.), 125—148 (1953).
- Radiation sensitivity and the mitotic cycle in *Vicia faba*. *Nature* (Lond.) **175**, 890—891 (1955).
- MEDVEDEV, N. N.: The contributory effect of cold with irradiation in the production of mutations. *C. R. Acad. Sci. URSS* **4** (9), 283—285 (1935).
- Contributory effect of heat with irradiation in the production of mutations. *C. R. Acad. Sci. URSS* **19**, 301—302 (1938).
- MIKAEISEN, K.: Protective properties of cysteine, sodium hyposulphite, and sodium cyanide against radiation induced chromosome aberrations. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **40**, 171—178 (1954).
- MICKEY, G. H.: Visible and lethal mutations in *Drosophila*. *Amer. Nat.* **88**, 241—255 (1954).
- MONTGOMERY, P. O'B., and S. WARREN: Mechanisms in acquired radioresistance of cancer. *Radiology* **60**, 421—424 (1953).
- MORTIMER, R. K.: The relative radiation resistance of haploid, diploid, triploid, and tetraploid yeast cells. *Univ. Calif. Radiation Lab. Report UCRL-1922*, 66—78 (1952).
- Studies on the effects of X-rays on yeast cells of different ploidy. *Radiat. Res.* **1**, 225 (1954).
- Evidence for two types of X-ray-induced lethal damage in *Saccharomyces cerevisiae*. *Radiat. Res.* **2**, 361—368 (1955).
- X-ray-induced homozygosis in diploid yeast. *Radiat. Res.* **7**, 439—440 (1957).
- , and C. A. TOBIAS: Evidence for X-ray-induced recessive lethal mutations in yeast. *Science* **118**, 517—518 (1953).
- MOTTRAM, J. C.: On the action of beta and gamma rays of radium on the cell in different stages of nuclear division. *Arch. Middlesex Hosp.* **30**, 98—119 (1913).
- On the alteration in sensitivity of cells towards radiation, produced by cold and anaerobiosis. *Brit. J. Radiol.* **8**, 32—39 (1935).
- MÜNTZING, A.: Differential response to X-ray treatment of diploid and tetraploid barley. *Kgl. Fysiograf. Sällskap. (Lund) Förhandl.* **11**, 63—72 (1941a).
- Differential response to X-rays of diploid and tetraploid barley. *Nature* (Lond.) **148**, 319 (1941b).
- MULLER, H. J.: Artificial transmutation of the gene. *Science* **66**, 84—87 (1927).
- The production of mutations by X-rays. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **14**, 714—726 (1928a).
- The measurement of gene mutation rate in *Drosophila*, its high variability and its dependence on temperature. *Genetics* **13**, 280—357 (1928b).

- MULLER, H. J.: An analysis of the process of structural change in chromosomes of *Drosophila*. *J. Genet.* **40**, 1—66 (1940).
- Induced mutations in *Drosophila*. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **9**, 151—169 (1941).
- The nature of the genetic effects produced by radiation. In: *Radiation Biology*, vol. 1 (1), p. 351—474. New York: McGraw-Hill Book Co. 1954a.
- The manner of production of mutations by X-rays. In: *Radiation Biology*, vol. 1 (1), p. 475—626. New York: McGraw-Hill Book Co. 1954b.
- On the relation between chromosome changes and gene mutations. *Brookhaven Symposia in Biol.* **8**, 126—147 (1955).
- NEWCOMBE, H. B.: The action of X-rays on the cell. I. The chromosome variable. *J. Genet.* **43**, 145—171 (1942a).
- The action of X-rays on the cell. II. The external variable. *J. Genet.* **43**, 237—248 (1942b).
- Photoreversal of the mutagenic effect of ultraviolet light in *Escherichia coli*. *Genetics* **35**, 682 (1950).
- Sectoring in colonies from irradiated cells of *Escherichia coli*. *Genetics* **36**, 570 (1951).
- A comparison of spontaneous and induced mutations of *Escherichia coli* to streptomycin resistance and dependence. *J. cell. comp. Physiol.* **39** (Suppl. 1), 13—26 (1952).
- The delayed appearance of radiation-induced genetic changes in bacteria. *Genetics* **38**, 134—151 (1953a).
- Radiation-induced instabilities in *Streptomyces*. *J. gen. Microbiol.* **9**, 30—36 (1953b).
- Mechanism of mutation production in microorganisms. In: *Radiobiology Symposium*, p. 326—339. London: Butterworths Sci. Publ. 1954a.
- Ultraviolet mutagenesis and the nuclear division cycle in *Streptomyces*. *Proc. Ist Internat. Photobiol. Congr., Amsterdam 1954b*, S. 141—142.
- The timing of induced mutations in *Streptomyces*. *Brookhaven Symposia in Biol.* **8**, 88—102 (1955).
- Mutagenic actions of cold and X-rays in *Streptomyces*. *Radiat. Res.* **5**, 382—389 (1956).
- , and R. HAWIRKO: Spontaneous mutation to streptomycin resistance and dependence in *Escherichia coli*. *J. Bact.* **57**, 565—572 (1949).
- , and J. F. MCGREGOR: Dose-response relationships in radiation induced mutation. Saturation effects in *Streptomyces*. *Genetics* **39**, 619—627 (1954).
- , and M. H. NYHOLM: The inheritance of streptomycin resistance and dependence in crosses of *Escherichia coli*. *Genetics* **35**, 603—611 (1950).
- , and H. A. WHITEHEAD: Photoreversal of ultraviolet-induced mutagenic and lethal effects in *Escherichia coli*. *J. Bact.* **61**, 243—251 (1951).
- NICE, C. M.: Development and transplantation of locally radioresistant mouse lymphoma. *Amer. J. Roentgenol.* **78**, 831—836 (1957).
- NILAN, R. A.: Post-radiation storage effect on chromosomes in barley seeds X-rayed at normally ineffective dosages. *Genetics* **40**, 588 (1955).
- NURNBERGER, C. E.: Production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in water by alpha-rays. *J. chem. Phys.* **4**, 697—702 (1936).
- OAKBERG, E. F., and R. L. DIMINNO: Gamma ray sensitivity of different developmental stages of spermatogonia of the mouse. *Genetics* **40**, 588—589 (1955).
- OEHLKERS, F.: Die Auslösung von Chromosomenmutationen in der Meiosis durch Einwirkung von Chemikalien. *Z. induct. Abstamm.- u. Vererb.-L.* **81**, 313—341 (1943).
- Chromosome breaks induced by chemicals. *Heredity* **6** (Suppl.), 95—105 (1953).
- OGUR, M., and G. U. ROSEN: The nucleic acids of plant tissues. *Arch. Biochem.* **25**, 262—276 (1950).
- OKURA, F.: Comparative studies between two tetraploid rice plants induced by X-rays and colchicine treatment. II. On the hybrids involved with their original diploid variety. *Idengaku Zasshi* **28**, 182 (1953) (In Japanese).
- OLIVER, C. P.: An analysis of the effect of varying the duration of X-ray treatment upon the frequency of mutations. *Z. induct. Abstamm.- u. Vererb.-L.* **61**, 447—488 (1932).
- OSTEGREN, G.: *Luzula* and the mechanism of chromosome movements. *Hereditas (Lund)* **35**, 445—468 (1949).
- PACKARD, C.: The effect of radium radiations on the rate of cell division. *J. exp. Zool.* **21**, 199—212 (1916).
- PATAU, K.: Cytologische Untersuchungen auf der haploid-parthenogenetischen Milbe *Pediculoides ventricoccus*. *Newb. Ber. zool. Jb.* **56**, 277—322 (1936).
- PIZA, S. de T.: Polyploidia natural em *Tityus bahiensis* (Scorpiones) associada a aberracoes cromossomicas espontaneas. *Rev. Biol. Hig.* **10**, 143—155 (1940).
- PONTECORVO, G.: Genetical analysis of cell organization. *Symp. Soc. Exp. Biol.* **6**, 218—229 (1952).
- Gene structure and action in relation to heterosis. *Proc. roy. Soc. B* **144**, 171—177 (1955).
- Trends in genetic analysis. New York: Columbia University Press 1958.
- , and J. A. ROPER: The resolving power of genetic analysis. *Nature (Lond.)* **178**, 83—84 (1956).
- PREER, J. R.: The killer cytoplasmic factor kappa: its rate of reproduction, the number of particles per cell and its size. *Amer. Nat.* **82**, 35—42 (1948).
- Microscopically visible bodies in the cytoplasm of the "killer" strains of *Paramecium aurelia*. *Genetics* **35**, 344—362 (1950).

- PRITCHARD, R. H.: The linear arrangement of a series of alleles in *Aspergillus nidulans*. *Heredity* **9**, 343—371 (1955).
- RAUT, C., and W. L. SIMPSON: The effect of X-rays and of ultraviolet light of different wavelengths on the production of cytochrome deficient yeasts. *Arch. Biochem.* **57**, 218—228 (1955).
- RAYCHAUDHURI, S. P.: The validity of the Bunsen-Roscoe law in the production of mutations by radiation of extremely low intensities. *Proc. roy. Soc. Edinb.* **62**, 66—72 (1944).
- REVELL, S. H.: Chromosome breakage by X-rays and radiomimetic substances in *Vicia*. *Heredity* **6** (Suppl.), 107—124 (1953).
- A new hypothesis for "chromatid" changes. In: *Radiobiology Symposium* (Liege 1954), p. 243—253. London: Butterworths Sci. Publ. 1955.
- REYNOLDS, J. P.: X-ray-induced chromosome rearrangements in the females of *Sciara*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **27**, 204—208 (1941).
- RHOADES, M. M.: Meiosis in maize. *J. Hered.* **41**, 59—67 (1950).
- Chromosomes, mutations, and cytoplasm in maize. *Science* **120**, 115—120 (1954).
- RHYNAS, P. O. W., and H. B. NEWCOMBE: A heritable change in radiation resistance of strain L mouse cells. *Exp. Cell Res.* (1960 in press).
- RICK, C. M.: On the nature of X-ray-induced deletions in *Tradescantia* chromosomes. *Genetics* **25**, 467—482 (1940).
- RILEY, H. P.: Preliminary report on the effect of certain chemicals on radiation damage to chromosomes. *Genetics* **37**, 618—619 (1952).
- RIS, H.: A cytological and experimental analysis of the meiotic behavior of the univalent X-chromosome in the bearberry aphid *Tamalia* (= *Phylaphis*) *coweni* (Ckll.). *J. exp. Zool.* **90**, 267—330 (1942).
- ROPER, J. A.: Search for linkage between genes determining a vitamin requirement. *Nature (Lond.)* **166**, 956—957 (1950).
- RUSSELL, W. L.: Lack of linearity between mutation rate and dose for X-ray-induced mutations in mice. *Genetics* **41**, 658—659 (1956).
- J. C. KILE, and L. B. RUSSELL: Failure of hypoxia to protect against radiation induction of dominant lethals in mice. *Genetics* **36**, 574 (1951).
- , and L. B. RUSSELL: Radiation-induced genetic damage in mice. *Proc. 2nd Internat. Conf. on the Peaceful Uses of Atomic Energy* **22**, 360—365 (1958).
- — and E. M. KELLY: Radiation dose rate and mutation frequency. *Science* **128**, 1546—1550 (1958).
- RYAN, F. J.: Mutation as an error in gene duplication. *Proc. 10th Internat. Congr. Genetics* **2**, 246 (1958).
- SAX, K.: Induction by X-rays of chromosome aberrations in *Tradescantia*. *Genetics* **23**, 494—516 (1938).
- SAX, K.: The time factor in X-ray production of chromosome aberrations. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **25**, 225—233 (1939).
- An analysis of X-ray-induced chromosomal aberrations in *Tradescantia*. *Genetics* **25**, 41—68 (1940).
- Behavior of X-ray-induced chromosomal aberrations in onion root-tips. *Genetics* **26**, 418—425 (1941a).
- Types and frequencies of chromosomal aberrations induced by X-rays. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **9**, 93—101 (1941b).
- The effect of centrifuging upon the production of X-ray-induced chromosomal aberrations. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **29**, 18—21 (1943).
- The effects of ionizing radiation on chromosomes. *Quart. Rev. Biol.* **32**, 15—26 (1957).
- , and E. V. ENZMANN: Effect of temperature on X-ray-induced chromosome aberrations. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **25**, 397—405 (1939).
- , and C. P. SWANSON: Differential sensitivity of cells to X-rays. *Amer. J. Bot.* **28**, 52—59 (1941).
- SCHNEIDERMAN, H. A., and E. D. KING: Further studies on the effects of carbon dioxide and oxygen on the frequency of X-ray-induced chromosome aberrations in *Tradescantia*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **39**, 834—838 (1953).
- SCHULTZ, J.: Malignancy and the genetics of the somatic cell. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **71**, 994—1008 (1959).
- SCHWARTZ, D.: The effect of oxygen concentration on X-ray-induced chromosome breakage in maize. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **38**, 490—494 (1952).
- SINGLETON, W. R.: Cytological observations on deficiencies produced by treating maize pollen with ultraviolet light. *Genetics* **24**, 109 (1939).
- and F. J. CLARK: Cytological effects of treating maize pollen with ultraviolet light. *Genetics* **25**, 136 (1940).
- SIRE, M. W., and R. A. NILAN: The relation of oxygen post-treatment and heterochromatin to X-ray-induced chromosome aberration frequencies in *Crepis capillaris*. *Genetics* **44**, 124—136 (1959).
- SMITH, L.: Relation of polyploidy to heat and X-ray effects in cereals. *J. Hered.* **34**, 131—134 (1943).
- A comparison of the effects of heat and X-rays on dormant seeds of cereals, with special reference to polyploidy. *J. agr. Res.* **73**, 137—158 (1946).
- SOBELS, F. H.: Organic peroxides and mutagenic effects in *Drosophila*. *Nature (Lond.)* **177**, 979—980 (1956).
- SPARROW, A. H.: Radiation sensitivity of cells during mitotic and meiotic cycles with emphasis on possible cytochemical changes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **51**, 1508—1540 (1951).
- (in discussion of paper by G. E. MAGNI): *Radiat. Res. (Suppl. 1)*, 402 (1959).
- , and E. CHRISTENSEN: Tolerance of certain higher plants to chronic exposure to gamma

- radiation from cobalt-60. *Science* **118**, 697—698 (1953).
- SPARROW, A. H., and L. A. SCHAIRER: The radioresistance of high polyploids. *Radiat. Res.* **9**, 187 (1958).
- , and R. C. SPARROW: The formation of polyploid microspores in *Trillium erectum* following X-ray treatment at first meiotic metaphase. *Radiat. Res.* **1**, 229 (1954).
- SPENCER, J. L., and A. F. BLAKESLEE: Induced pollen lethals from seeds of *Datura stramonium* exposed to radiation from a nuclear detonation. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **40**, 441—446 (1954).
- SPENCER, W. P., and C. STERN: Experiments to test the validity of the linear R-dose/mutation frequency relation in *Drosophila* at low doses. *Genetics* **33**, 43—74 (1948).
- STADLER, L. J.: Genetic effects of X-rays in maize. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **14**, 69—75 (1928a).
- Mutation in barley induced by X-rays and radium. *Science* **68**, 186—187 (1928b).
- The rate of induced mutation in relation to dormancy, temperature, and dosage. *Anat. Rec.* **41**, 97 (1928c).
- Chromosome number and the mutation rate in *Avena* and *Triticum*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **15**, 876—881 (1929).
- The comparison of ultraviolet and X-ray effects on mutation. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **9**, 168—178 (1941).
- The gene. *Science* **120**, 811—819 (1954).
- , and F. UBER: Comparison of genetic effects of different wavelengths of ultraviolet light on maize. *Genetics* **27**, 84—118 (1942).
- STAPLEDON, G. E., and A. HOLLAENDER: Mechanism of lethal and mutagenic action of ionizing radiations on *Aspergillus terreus*. II. Use of modifying agents and conditions. *J. cell. comp. Physiol.* **39** (Suppl. 1), 101—133 (1952).
- — and F. L. MARTIN: Mechanism of lethal and mutagenic action of radiations on *Aspergillus terreus*. I. Relationship of relative biological efficiency to ion density. *J. cell. comp. Physiol.* **39** (Suppl. 1), 87—100 (1952).
- STEFFENSEN, D.: Induction of chromosome breakage at meiosis by a magnesium deficiency in *Tradescantia*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **39**, 613—620 (1953).
- Chromosome breakage with calcium deficiency in *Tradescantia*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **41**, 613—620 (1955).
- STENT, G. S.: Mating in the reproduction of the bacterial viruses. *Advanc. Virus Res.* **5**, 95—149 (1958).
- STREISINGER, G., and N. C. FRANKLIN: Mutation and recombination at the host range genetic region of phage T2. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **21**, 103—109 (1956).
- STURTEVANT, A. H.: The effects of unequal crossing over at the Bar locus in *Drosophila*. *Genetics* **10**, 117—147 (1925).
- SUTTON, E.: Cytological analysis of Bar eye in *Drosophila*. *Genetics* **28**, 97—107 (1943).
- SWANSON, C. P.: X-ray and ultraviolet studies on pollen tube chromosomes. I. The effect of ultraviolet (2537 Å) on X-ray induced chromosomal aberrations. *Genetics* **29**, 61—68 (1944).
- Further studies on the effect of infra-red radiation on X-ray induced chromatid aberrations in *Tradescantia*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **35**, 237—244 (1949).
- Relative effects of qualitatively different radiations on the production of chromatid aberrations in air and in nitrogen. *Genetics* **40**, 193—203 (1955).
- Cytology and Cytogenetics. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, Inc. 1957.
- , and A. HOLLAENDER: The frequency of X-ray induced chromatid breaks in *Tradescantia* as modified by near infra-red radiation. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **32**, 295—302 (1946).
- , and H. H. JOHNSON: Radiation-induced pycnosis of chromosomes and its relation to oxygen tension. *Amer. Nat.* **88**, 425—430 (1955).
- C. S. RUPERT, and H. T. YOST: Infra-red absorption and temperature studies on buds and chromosomes of *Tradescantia palludosa*. *Amer. J. Bot.* **40**, 557—565 (1953).
- , and D. SCHWARTZ: Effect of X-rays on chromatid aberrations in air and in nitrogen. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **39**, 1241—1250 (1953).
- , and H. T. YOST: The induction of activated, stable states in the chromosomes of *Tradescantia* by infra-red and X-rays. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **37**, 796—802 (1951).
- THODAY, J. M.: The effects of ionizing radiations on the chromosomes of *Tradescantia bacteata*. A comparison between neutrons and X-rays. *J. Genet.* **43**, 189—210 (1942).
- , and J. READ: Effect of oxygen on the frequency of chromosome aberrations produced by X-rays. *Nature (Lond.)* **160**, 608 (1947).
- Effect of oxygen on the frequency of chromosome aberrations produced by alpha rays. *Nature (Lond.)* **163**, 133—134 (1949).
- TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N. W.: Experimentelle Mutationsforschung in der Vererbungslehre. Beeinflussung der Erbanlagen durch Strahlung und andere Faktoren. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopf 1937.
- Zur Frage der Beziehungen zwischen strahlenausgelösten Punkt- und Chromosomenmutationen bei *Drosophila*. *Chromosoma* **1**, 310—316 (1939).
- , u. M. DELBRÜCK: Strahlengenetische Versuche über sichtbare Mutationen und die Mutabilität einzelner Gene bei *Drosophila melanogaster*. *Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-L.* **71**, 322—334 (1936).
- , u. K. G. ZIMMER: Neutronenbestrahlungsversuche zur Mutationsauslösung an *Drosophila melanogaster*. *Naturwissenschaften* **26**, 362—365 (1938).

- TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N. W., u. K. G. ZIMMER: Mutationsauslösung durch Röntgenbestrahlung unter verschiedenen Temperaturen bei *Drosophila melanogaster*. Biol. Zbl. **59**, 358—362 (1939).
- and M. DELBRÜCK: Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur. Nachr. Ges. Wiss. Göttingen (VI) **1**, 189—245 (1935).
- TOBIAS, C. A.: The dependence of some biochemical effects of radiation on the rate of energy loss. In: Symposium on Radiobiology (Oberlin 1950), p. 357—384. New York: John Wiley & Sons 1952.
- TROWELL, O. A.: The sensitivity of lymphocytes to ionizing radiation. J. Path. Bact. **64**, 687 (1952).
- The lymphocyte. Int. Rev. Cytol. **7**, 235—293 (1958).
- UPHOFF, D. E., and C. STERN: The genetic effects of low intensity radiation. Science **109**, 609—610 (1949).
- UPTON, A. C.: The radiobiology of the cancer cell. Fed. Proc. **17**, 698—713 (1958).
- VENDRELI, R.: The deoxyribonucleic acid content of the nucleus. In: The Nucleic Acids. New York: Academic Press 1955.
- VINTEMBERGER, P.: Sur l'amplitude des variations de la radiosensibilité dans l'oeuf *Rana fusca* au cours des premières mitoses de segmentation. C. R. Soc. Biol. (Paris) **98**, 536—537 (1928).
- WAINWRIGHT, L. K.: Spontaneous mutation in stored spores of *Streptomyces*. J. gen. Microbiol. **14**, 533—544 (1956).
- WAINWRIGHT, S. D., and A. NEVILL: Some effects of post-irradiation treatment with metabolic inhibitors and nutrients upon X-irradiated spores of *Streptomyces*. J. Bact. **70**, 547—551 (1955).
- WANNER, H.: Über die Wirkung der Röntgenstrahlen auf das Plasma vegetativer Pflanzenzellen. Schweiz. Z. Path. **8** (Suppl.), 1—64 (1945).
- WATSON, J. D., and F. H. C. CRICK: The structure of D.N.A. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **18**, 123—131 (1953).
- WEIGLE, J. J.: Induction of mutations in a bacterial virus. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **39**, 628—636 (1953).
- WEYGAND, F., A. WACKER u. H. DELLWEG: Stoffwechseluntersuchungen bei Mikroorganismen mit Hilfe radioaktiver Isotope II. Z. Naturforsch. **7b**, 19—25 (1952).
- WHITE, M. J. D.: The chromosome cycle of *Ascaris megalocephala*. Nature (Lond.) **137**, 783—784 (1936).
- WHITFIELD, J. F., and R. H. RIXON: Radiation resistance derivatives of L strain mouse cells. Exp. Cell Res. **19**, 531—538 (1960).
- WHITING, A. R.: Sensitivity to X-rays of different meiotic stages in unlaidd eggs of *Habrobracon*. J. exp. Zool. **83**, 249—269 (1940).
- Dominant lethality and correlated chromosome effects in *Habrobracon* eggs X-rayed in diplotene and in late metaphase I. Biol. Bull. **89**, 61—71 (1945).
- WHITING, A. R.: Incidence and origin of androgenetic males in X-rayed *Habrobracon* eggs. Biol. Bull. **95**, 354—360 (1948).
- Absence of mutagenic action of X-rayed cytoplasm in *Habrobracon*. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **36**, 368—372 (1950).
- , and C. H. BOSTIAN: The effects of X-radiation of larvae in *Habrobracon*. Genetics **16**, 659—680 (1931).
- WHITTINGHILL, M.: Consequences of crossing over in oogonial cells. Genetics **35**, 38—43 (1950).
- Some effects of gamma rays of recombination and crossing over in *Drosophila melanogaster*. Genetics **36**, 332—355 (1951).
- Crossover variability and induced crossing over. J. cell. comp. Physiol. **45** (Suppl. 2), 189—220 (1955).
- WILKINS, M. H. F.: Physical studies on the molecular structure of desoxyribose nucleic acid and nucleoprotein. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **21**, 75—90 (1956).
- WILLELMY, E., N. W. TIMOFÉEFF-RESSOVSKY u. K. G. ZIMMER: Einige strahlengenetische Versuche mit sehr weichen Röntgenstrahlen an *Drosophila melanogaster*. Strahlentherapie **57**, 521—531 (1936).
- WINDHOLZ, F.: Problems of acquired radioresistance of cancer: adaptation of tumor cells. Radiology **48**, 398—404 (1947).
- WITKIN, E. M.: Inherited differences in sensitivity to radiation in *Escherichia coli*. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **32**, 59—68 (1946).
- Genetics of resistance to radiation in *Escherichia coli*. Genetics **32**, 221—248 (1947).
- Nuclear segregation and delayed expression of induced mutants. Genetics **36**, 583 (1951).
- Effects of temperature on spontaneous and induced mutations in *Escherichia coli*. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **39**, 427—433 (1953).
- (in discussion to paper on timing of induced mutations in *Streptomyces*). Brookhaven Symposia in Biol. **8**, 102 (1955).
- Time, temperature, and protein synthesis: A study of ultraviolet-induced mutation in bacteria. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **21**, 123—140 (1956).
- Post-irradiation metabolism and the timing of ultraviolet-induced mutations in bacteria. Proc. 10th Internat. Cong. Genet. **1**, 280—299 (1958).
- WOLFF, S.: Some aspects of chemical protection against radiation damage to *Vicia faba* chromosomes. Genetics **39**, 356—364 (1954).
- Interpretation of induced chromosome breakage and rejoining. Radiat. Res. (Suppl. 1), 453—462 (1959).
- , and VON BORSTEL: Delay of chromosome rejoining in *Vicia faba* induced by irradiation. Nature (Lond.) **173**, 501 (1954a).
- The effect of pre- and postirradiation centrifugation on the chromosomes of *Trade-*

- scantia* and *Vicia*. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **40**, 1138—1141 (1954b).
- WOLFF, S., and H. E. LUIPPOLD: The production of two chemically different types of chromosomal breaks by ionizing radiation. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **42**, 509—514 (1956a).
- — The biochemical aspects of chromosome rejoining. In: Progress in Radiobiology, p. 217—222. Edinburgh: Oliver & Boyd 1956b.
- ZIRKLE, R. E.: The radiobiological importance of linear energy transfer. In: Radiation Biology, p. 1 (2), p. 315—350. New York: McGraw-Hill Book Co. 1954.
- W. BLOOM, and R. B. URETZ: Use of partial cell irradiation in studies of cell division. Proc. 2nd Internat. Congr. on the Peaceful Uses of Atomic Energy **11**, 273—282 (1956).
- ZIMMER, K. G., H. D. GRIFFITH u. N. W. TIMOFÉEFF-RESSOVSKY: Mutationsauslösung durch Betastrahlung des Radiums bei *Drosophila melanogaster*. Strahlentherapie **59**, 130—138 (1937).
- , u. N. W. TIMOFÉEFF-RESSOVSKY: Dosimetrische und Strahlenbiologische Versuche mit schnellen Neutronen. II. Strahlentherapie **63**, 528—536 (1938).
- — Über einige physikalische Vorgänge bei der Auslösung von Genmutationen durch Strahlung. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-L. **80**, 353—372 (1942).
- Bibliography for Section VI*
- International Commission on Radiological Protection (ICRP) and International Commission on Radiological Units and measurements (ICRU): Joint Study Group Report on: Exposure of man to ionizing radiation arising from medical procedures. Phys. in Med. Biol. **2**, 107—154 (1957).
- Manual of the International Statistical Classification of Diseases, Injuries and Causes of Death, vol. I and II. Geneva: World Health Organization 1957.
- National Academy of Sciences — National Research Council: The biological effects of atomic radiation. A Report to the Public. Washington 1956.
- — — National Research Council: Report of the Committee on Pathological Effects of Atomic Radiation. NAS-NRC Publication No. 452. Washington: 1956.
- Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. London: Pergamon Press 1959.
- Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. General Assembly Official Records: Thirteenth Session, Suppl. No 17 (A/3838). New York: United Nations 1958.
- Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. General Assembly Official Records: Seventeenth Session, Suppl. No 16 (A/5216). New York: United Nations 1962.
- ALEXANDER, M. L.: Mutation rates at specific autosomal loci in the mature and immature germ cells of *Drosophila melanogaster*. Genetics **39**, 409—428 (1954).
- ALLISON, A. C.: Protection afforded by sickle cell trait against subtertian malaria. Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. **48**, 312—318 (1954).
- Aspects of polymorphism in man. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **20**, 239—251 (1955).
- AMOBROSO, E. C., and A. S. PARKES: Effects on embryonic development of X-irradiation of rabbit spermatozoa *in vitro*. Proc. roy. Soc. B **134**, 57—79 (1947).
- ARNER, G. B. L.: Consanguineous marriages in the American population. New York, Columbia University Studies in History, Economics and Public Law **31**, No 3, 1—99 (1908).
- ATWOOD, K. C., R. C. v. BORSTEL, and A. R. WHITING: An influence of ploidy on the time of expression of dominant lethal mutations in *Habrobracon*. Genetics **41**, 804—813 (1956).
- , and S. L. SCHEINBERG: Somatic variation in human erythrocyte antigens. J. cell. comp. Physiol. **52** Suppl. 1, 97—123 (1958).
- AUERBACH, C., and S. L. SLIZYNSKI: Sensitivity of the mouse testis to the mutagenic action of X-rays. Nature (Lond.) **177**, 376—377 (1956).
- BATEMAN, A. J.: Sensitivity of immature mouse sperm to the mutagenic effects of X-rays. Nature (Lond.) **178**, 1278—1280 (1956).
- BEMISS, S. M.: Report on influence of marriages of consanguinity upon offspring. Trans. Amer. med. Ass. **11**, 319—425 (1858).
- BENKE, H.: Strahlenschädigung von Mäuse- und Rattensperma. Beobachtet an der Frühentwicklung der Eier. Strahlentherapie **60**, 214—238 (1937).
- BONNIER, G., and K. G. LÜNING: Studies on X-ray mutations in the white and forked loci of *Drosophila melanogaster*. I. A statistical analysis of mutation frequencies. Hereditas (Lund) **35**, 163—189 (1949).
- BÖÖK, J. A.: Genetical investigations in a North Swedish population. The offspring of first cousin marriages. Ann. hum. Genet. **21**, 191—221 (1957).
- BORSTEL, R. C. v.: Feulgen-negative nuclear division in *Habrobracon* eggs after lethal exposure to X-rays or nitrogen mustard. Nature (Lond.) **175**, 342—343 (1955).
- Dominant lethal mutations in *Habrobracon* and *Drosophila*. Proc. 10th Internat. Congr. Genetics **2**, 303 (1958).
- CARLSON, J. G.: An analysis of X-ray induced single breaks in neuroblast chromosomes of the grasshopper (*Chortophaga viridifasciata*). Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **27**, 42—47 (1941).
- CARTER, T. C.: Radiation-induced gene mutation in adult female and foetal male mice. Brit. J. Radiol. **31**, 407—411 (1958).
- M. F. LYON and R. J. S. PHILLIPS: Induction of mutations in mice by chronic gamma irradiation. Brit. J. Radiol. **29**, 106—108 (1956).
- — — Genetic hazards of ionizing radiations. Nature (Lond.) **182**, 409 (1958).

- CASPARI, E., and C. STERN: The influence of chronic irradiation with gamma-rays at low dosages on the mutation rate in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **33**, 75—95 (1948).
- CEPELLINI, R.: In: Discussion to A. C. ALLISON, Aspects of polymorphism in man. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **20**, 252—255 (1955).
- CIOCCO, A.: Variations in the sex ratio at birth in the United States. *Human Biol.* **10**, 36—64 (1938).
- CLAYTON, G., and A. ROBERTSON: Mutation and quantitative variation. *American Nat.* **89**, 151—158 (1955).
- COURT-BROWN, W. M., and R. DOLL: Leukaemia and aplastic anaemia in patients irradiated for ankylosing spondylitis. *Med. Res. Council Spec. Rep. Ser. No 295*. London: H. M. Stationery Office 1957.
- CROW, J. F.: A comparison of fetal and infant death rates in the progeny of radiologists and pathologists. *Amer. J. Roentgenol.* **73**, 467—471 (1955).
- CROWE, F. W., W. J. SCHULL, and J. V. NEEL: Multiple Neurofibromatosis. Springfield: Ch. C. Thomas 1956.
- CUNA, A. B. DA, J. S. DE TOLEDO, C. PAVAN, H. L. DE SOUZA, H. E. MELARA, N. GABRUSEWYCZ, M. R. GAMA, M. L. PIRES DE CAMARGO, and L. C. DE MELLO: Analysis of effects of natural and radiation-induced lethals and their frequencies in *Drosophila willistoni*. Proc. 2nd Internat. Conf. on the Peaceful Uses of Atomic Energy **22**, 330—332 (1958).
- DEMEREZ, M.: The gene and its role in ontogeny. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **2**, 110—117 (1934).
- Frequency of spontaneous mutations in certain stocks *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **22**, 469—478 (1937).
- , and U. FANO: Frequency of dominant lethals induced by radiation in sperms of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **29**, 348—360 (1944).
- , and J. G. FARROW: Non-disjunction of the X-chromosome in *Drosophila virilis*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **16**, 707—710 (1930).
- DURANT, A., and K. MATHER: Heritable variation in a long inbred line of *Drosophila*. *Genetica* **27**, 97—119 (1954).
- EDWARDS, J. H.: The simulation of mendelism. *Acta genet. (Basel)* **10**, 63—70 (1960).
- FAILLA, G.: The aging process and carcinogenesis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **71**, 1124—1140 (1958).
- FISHER, R. A.: *Genetical theory of natural selection*. Oxford: Clarendon Press 1930.
- FURTH, J., A. C. UPTON, K. W. CHRISTENBERRY, W. H. BENEDICT, and J. MASHMAN: Some late effects in mice of ionizing radiation from an experimental nuclear detonation. *Radiology* **63**, 562—570 (1954).
- GIRVIN, A.: University of Texas Publ. 4920, 42 (1949).
- GLASS, B.: The action of selection on the principal Rh alleles. *Amer. J. hum. Genet.* **2**, 269—278 (1950).
- , and R. K. RITTERHOF: Spontaneous-mutation rates at specific loci in *Drosophila* males and females. *Science* **124**, 314—315 (1956).
- GLOVER, S. W.: A comparative study of induced reversions in *Escherichia coli*. In: *Genetic Studies with Bacteria*, p. 121—136. Carnegie Inst. of Washington Publ. 612, 1956.
- GLÜCKSMANN, A.: Biological levels of radiosensitivity of somatic cells. *Brit. J. Radiol.* **27**, 660—669 (1954).
- GREEN, E. L.: Radiation genetics. In: *The Twenty-ninth Annual Report of the Roscoe B. Jackson Memorial Laboratory*, p. 36. Bar Harbor 1958.
- GUSTAFSSON, Å.: Mutations, environment and evolution. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **16**, 263—281 (1952).
- HALDANE, J. B. S.: The effect of variation on fitness. *Amer. Nat.* **71**, 337—349 (1937).
- HERTWIG, P.: Unterschiede in der Entwicklungsfähigkeit von F<sub>1</sub> Mäusen nach Röntgenbestrahlung von Spermatogonien, fertigen und unfertigen Spermatozoen. *Biol. Zbl.* **58**, 273—301 (1938).
- , u. H. BRENNKE: Die Ursachen der herabgesetzten Wurfgröße bei Mäusen nach Röntgenbestrahlung des Spermas. *Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-L.* **72**, 483—487 (1937).
- JAMES, A. P.: The frequency distribution of radiation induced mutants affecting a quantitative character in yeast. Proc. 10th Internat. Congr. Genetics **2**, 133—134 (1958).
- The spectrum of severity of mutant effects. I. Haploid effects in yeast. *Genetics* **44**, 1309—1324 (1959).
- The spectrum of severity of mutant effects. II. Heterozygous effects in yeast. *Genetics* **45**, 1627—1648 (1960).
- , and C. E. CHAPLIN: The fate of radiation-induced lethals in a yeast population. *Radiat. Res.* **5**, 162—166 (1956).
- KAPLAN, H. S., and M. B. BROWN: Quantitative dose-response study of lymphoid tumor development in irradiated C 57 black mice. *J. nat. Cancer Inst.* **13**, 185 (1952).
- KAPLAN, I. I.: The treatment of female sterility with X-rays to the ovaries and pituitary. *Canad. med. Ass. J.* **76**, 43—46 (1957).
- KEMP, T.: *Genetics and disease*. London: Oliver & Boyd 1951.
- KONZAK, C. F., and W. R. SINGLETON: The effects of thermal-neutron radiation on mutation of endosperm loci in maize. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **42**, 78—84 (1956).
- KOLLER, P. C.: The effects of radiation on pollen grain development, differentiation and germination. *Proc. roy. Soc. Edinb. B* **6**, 398—429 (1943).
- LEJEUNE, J., R. TURPIN, and M. O. RETHORE: Sur les variations de la masculinité dans les descendance de parents irradiés. Proc. 10th Internat. Congr. Genet. **2**, 163 (1958).
- LENER, I. M.: *Genetic Homeostasis*. New York: John Wiley & Sons 1954.
- LEWIS, D.: Structure of the incompatibility gene: I. Spontaneous mutation rate. *Heredity* **2**, 219—236 (1948).
- Structure of the incompatibility gene. II. Induced mutation rate. *Heredity* **3**, 330—335 (1949).

- LEWIS, D.: Leukemia and ionizing radiation. *Science* **125**, 965—972 (1957).
- MACHT, S. H., and P. S. LAWRENCE: National survey of congenital malformations resulting from exposure to Roentgen radiation. *Amer. J. Roentgenol.* **73**, 442—466 (1955).
- MATHER, K.: The effect of changing the mutation rate on characters showing continuous variation about the normal. Appendix F in: *Hazards to Man of Nuclear and Allied Radiation*, p. 98—99. London: H. M. Stationery Office 1956a.
- The effect on the distribution of intelligence of increasing the heritable variation. Appendix G in: *Hazards to Man of Nuclear and Allied Radiations*, p. 100—102. London: H. M. Stationery Office 1956b.
- Polygenic mutation and variation in populations. *Proc. roy. Soc. B* **145**, 293—297 (1956c).
- MAURER, H.: Untersuchungen an Kindern strahlenbehandelter Mütter. *Zbl. Gynäk.* **57**, 819—820 (1933).
- MCGREGOR, J. F., A. P. JAMES, and H. B. NEWCOMBE: Mutation as a cause of death in offspring of irradiated rats. *Radiat. Res.* **12**, 61—66 (1960).
- and H. B. NEWCOMBE: Maze-learning ability in rat populations after a number of generations of gonadal irradiation. *Radiat. Res.* **17**, 465—478 (1962).
- MOLE, R. H.: Dose response relation for leukemia induction. *Proc. of the Second United Nations Internat. Conf. on the Peaceful Uses of Atomic Energy* **22**, 145—148 (1958).
- MORTON, N. E., J. F. CROW, and H. J. MULLER: An estimate of the mutational damage in man from data on consanguineous marriages. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **42**, 855—863 (1956).
- MULLER, H. J.: Some recent problems in the genetic effects of radiation. *J. cell. comp. Physiol.* **35** (Suppl. 1), 9—70 (1950a).
- Our load of mutations. *Amer. J. hum. Genet.* **2**, 111—176 (1950b).
- How radiation changes the genetic constitution. *Bull. atom. Scient.* **11**, 329—338 (1955).
- J. H. HERSKOWITZ, S. ABRAHAMSON, and I. I. OSTER: A nonlinear relation between X-ray dose and recovered lethal mutations in *Drosophila*. *Genetics* **39**, 741—749 (1954).
- J. I. VALENCIA, and R. M. VALENCIA: The frequency of spontaneous mutations at individual loci in *Drosophila*. *Genetics* **35**, 125—126 (1950).
- MURPHY, D. P., and L. GOLDSTEIN: Etiology of the ill-health of children born after maternal pelvic irradiation. *Amer. J. Roentgenol.* **22**, 207—219 (1929).
- NEEL, J. V.: A study of the major congenital defects in Japanese infants. *Amer. J. hum. Genet.* **10**, 398—445 (1958).
- , and W. J. SCHULL: The effect of exposure to the atomic bombs on pregnancy terminations in Hiroshima and Nagasaki. Washington: U. S. National Academy of Sciences Publication NAS-NRC 461, 1956.
- NEWCOMBE, H. B.: The action of X-rays on the cell. I. The chromosome variable. *J. Genet.* **43**, 145—171 (1942a).
- The action of X-rays on the cell. II. The external variable. *J. Genet.* **43**, 237—248 (1942b).
- Magnitude of the biological hazard from strontium-90. *Science* **126**, 549—551 (1957).
- J. M. KENNEDY, S. J. AXFORD, and A. P. JAMES: Automatic linkage of vital records. *Science* **130**, 954—959 (1959).
- , and J. F. MCGREGOR: Hereditary changes in irradiated rats. *Quarterly Report of the Division of Biology and Radiation Hazards Control, Atomic Energy of Canada, Limited, PR-B-43*, para. 2.3 (1959).
- Learning ability and physical wellbeing in offspring from rat populations irradiated over many generations. *Genetics* **50**, 1065—1081 (1964).
- NOVITSKI, E., and A. W. KIMBALL: Birth order, parental ages and sex of offspring. *Amer. J. hum. Genet.* **10**, 268—275 (1958).
- OSBORNE, S. B., and E. E. SMITH: The genetically significant radiation dose from the diagnostic use of X-rays in England and Wales. *Lancet* **1956 I**, 949—953.
- W. OSTERTAG, and H. J. MULLER: Genetic basis of somatic damage produced by radiation. *Science* **130**, 1422—1423 (1959).
- OSTERTAG, W., and H. J. MULLER: Genetic basis of somatic damage produced by radiation. *Science* **130**, 1422—1423 (1958).
- PATTERSON, J. T.: Quoted in M. L. ALEXANDER 1954; see above.
- PAXMAN, G. J.: Mutation and balances in polygenic systems. Thesis, University of Birmingham 1955 (Quoted in MATHER 1956a).
- PENROSE, L. S.: Estimate of the incidence of cases of schizophrenia and manic depressive reaction due to spontaneous mutation. Appendix E, in: *The Hazards to Man of Nuclear and Allied Radiations*, p. 96—97. London: H. M. Stationery Office 1956a.
- The spontaneous mutation rate in man. Appendix C, in: *The Hazards to Man of Nuclear and Allied Radiations*, p. 90—92. London: H. M. Stationery Office 1956b.
- PENROSE, L. S.: Parental age in achondroplasia and mongolism. *Amer. J. hum. Genet.* **9**, 167—169 (1957).
- RAPER, A. B.: Malaria and the sickling trait. *Brit. med. J.* **1955 I**, 1186—1189 (1955).
- REED, S. C., and J. D. PALM: Social fitness and reproductive fitness. *Science* **113**, 294—296 (1951).
- E. W. REED, and J. D. PALM: Fertility and intelligence among families of the mentally deficient. *Eugen. Quart.* **1**, 44—52 (1954).
- REED, T. E.: A genetic study of Huntington's chorea in the State of Michigan. *Jap. J. hum. Genet.* **2** (Suppl.), 48—52 (1958).
- REED, T. E., and E. L. KELLY: The complete reproductive performance of 161 couples selected before marriage and classified by AB 0 blood group. *Ann. hum. Genet.* **22**, 165—180 (1958).

- RIXON, R. H., J. M. A. TISHLER, and H. B. NEWCOMBE: Lingering effects of local X-irradiation on healing of burns. *Nature (Lond.)* **181**, 1138—1139 (1958).
- ROBERTS, F. J. A.: Association between blood groups and disease. *Acta genet. (Basel)* **6**, 549—560 (1956).
- ROBERTSON, A.: The effect of selection against extreme deviants based on deviation or on homozygosis. *J. Genet.* **54**, 236—248 (1956).
- ROBSON, E. B.: Birth weight in cousins. *Ann. hum. Genet.* **19**, 262—268 (1955).
- RUSSELL, L. B., and M. H. MAJOR: Radiation-induced presumed somatic mutations in the house mouse. *Genetics* **42**, 161—175 (1957).
- RUSSELL, W. L.: X-ray induced mutations in mice. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **16**, 327—335 (1951).
- Genetic effects of radiation in mammals. In: *Radiation Biology*, vol. 1, p. 825—860. New York: McGraw Hill Book Co. 1954.
- Comparison of X-ray induced mutation rates in *Drosophila* and mice. *Amer. Nat.* **90** (Suppl.), 69—80 (1956).
- Shortening of life in the offspring of male mice exposed to neutron radiation from an atomic bomb. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **43**, 324—329 (1957).
- J. W. BANGHAM, and J. S. GOWER: Comparison between mutations induced in spermatogonial and postpermatogonial stages in the mouse. *Proc. 10th Internat. Congr. Genetics* **2**, 245—246 (1958).
- , and L. B. RUSSELL: The sensitivity of different stages in oogenesis to the radiation induction of dominant lethals and other changes in the mouse. In: *Progress in Radiobiology*, p. 187—192. Edinburgh: Oliver & Boyd 1956.
- Radiation induced genetic damage in mice. *Proc. 2nd Internat. Conf. on the Peaceful Uses of Atomic Energy* **22**, 360—365 (1958).
- The genetic and phenotypic characteristics of radiation induced mutations in mice. *Radiat. Res., Suppl.* **1**, 396—405 (1959).
- and M. B. CUPP: Dependence of mutation frequency on radiation dose rate in female mice. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **45**, 18—23 (1959).
- J. S. GOWER, and S. C. MADDUX: Radiation induced mutation rates in female mice. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **44**, 901—905 (1958).
- and E. M. KELLY: Radiation dose rate and mutation frequency. *Science* **128**, 1546—1550 (1958).
- and E. F. OAKBERG: Radiation genetics of mammals. In: *Radiation Biology and Medicine*, p. 189—205. Reading: Addison-Wesley Publ. Co. Inc. 1958.
- , and L. WICKHAM: The incidence of disturbed fertility among male mice conceived at various intervals after irradiation of the mother. *Genetics* **42**, 392—393 (1957).
- SAX, K.: The cytological effects of low-intensity radiation. *Science* **112**, 332—333 (1950).
- SCHULL, W. J.: Empirical risks in consanguineous marriages: sex ratio, malformation, and viability. *Amer. J. hum. Genet.* **10**, 294—343 (1958).
- SCHULL, W. J., and J. V. NEEL: Radiation and the sex ratio in man. *Science* **128**, 343—348 (1958).
- SCHULTZ, J.: Malignancy and the genetics of the somatic cell. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **71**, 994—1008 (1958).
- SLATIS, H. M.: Seasonal variation in American live birth sex ratio. *Amer. J. hum. Genet.* **5**, 21—33 (1953).
- R. H. REIS, and R. E. HOENE: Consanguineous marriages in the Chicago region. *Amer. J. hum. Genet.* **10**, 446—464 (1958).
- SONNENBLICK, B. P.: Cytology and development of embryos of X-rayed *Drosophila*. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **26**, 373—381 (1940).
- SPENCER, W. P., and C. STERN: Experiments to test the validity of the linear R-dose/mutation frequency relation in *Drosophila* at low dosage. *Genetics* **33**, 43—74 (1948).
- STERN, C., G. CARSON, M. KINST, E. NOVITSKI, and D. UPHOFF: The viability of heterozygotes for lethals. *Genetics* **37**, 413—449 (1952).
- STEVENSON, A. C.: The load of hereditary defects in human populations. *Radiat. Res., Suppl.* **1**, 306—325 (1959).
- STEWART, A., J. WEBB, and D. HEWITT: A survey of childhood malignancies. *Brit. med. J.* **1958 I**, 1495—1508 (1958).
- SUTTER, J.: Recherches sur les effets de la consanguinité chez l'homme. Lyons-le-Saunier: M. Declume 1958 [*Biol. méd.* **47**, 563—660 (1958)].
- , et L. TABAH: Effets de la consanguinité et de l'endogamie. Une enquête en Morbihan et Loir-et-Cher. *Population* **7**, 246—266 (1952).
- TANAKA, K., and K. OHKURA: Evidence for genetic effects of radiation in offspring of radiological technicians. *Jap. J. hum. Genet.* **3**, 135—145 (1958).
- TURPIN, R., J. LEJEUNE et M.-O. RETHORE: Études de la descendance de sujets traités par radiothérapie pelvienne. *Proc. 1st Internat. Congr. Human Genetics* **1**, 204—216 (1956).
- UPHOFF, D. E., and C. STERN: The genetic effects of low intensity irradiation. *Science* **109**, 609—610 (1949).
- UPTON, A. C.: The radiobiology of the cancer cell. *Fed. Proc.* **17**, 698—713 (1958).
- F. F. WOLFF, J. FURTH, and A. W. KIMBALL: A comparison of the induction of myeloid and lymphoid leukemias in X-irradiated R F mice. *Cancer Res.* **18**, 842—848 (1958).
- WALLACE, B.: Studies on irradiated populations of *Drosophila melanogaster*. *J. Genet.* **54**, 280—293 (1956).
- The effect of heterozygosity for new mutations on viability in *Drosophila*: A preliminary report. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **43**, 404—407 (1957).
- WHITING, A. R.: Effects of X-rays on hatchability and on chromosomes of *Habrobracon* eggs treated in first meiotic prophase and metaphase. *Amer. Nat.* **79**, 193—227 (1945a).
- Dominant lethality and correlated chromosome effects in *Habrobracon* eggs X-rayed in diplotene and late metaphase. *Biol. Bull.* **88**, 61—71 (1945b).

## Namenverzeichnis — Author Index

Die *kursiv* gesetzten Seitenzahlen beziehen sich auf die Literatur

Page numbers in *italics* refer to the bibliography

- |  |  |  |
|--|--|--|
| <p>Abbatt, J. D. s. Hevesy,<br/>G. C. de <i>450</i></p> <p>Abele, A. <i>292, 342</i></p> <p>Abels, J. C., J. M. Kenney,<br/>L. F. Craver, D. Marinelli<br/>u. C. P. Rhoads <i>358, 368,</i><br/><i>439, 451</i></p> <p>Abrahamson, S. s. Muller, H. J.<br/><i>581, 631</i></p> <p>Abrams, R. <i>415, 433, 450, 451</i><br/>— L. Libenson u. M. Edmonds<br/><i>430, 451</i></p> <p>Acs, G. s. Reich, E. <i>478</i></p> <p>Adamczewski, I. <i>107, 172</i></p> <p>Adams, G. D. s. Sams, C. F.<br/><i>404, 479</i></p> <p>Adams, J. D., u. R. A. Nilan<br/><i>561, 618</i><br/>— u. H. M. Gundhardt<br/><i>561, 618</i></p> <p>Adams, K. s. Lamerton, L. F.<br/><i>297, 306, 348</i></p> <p>Adelstein, S. J. <i>431, 451</i><br/>— u. S. L. Biggs <i>431, 451</i></p> <p>Adler, H.-H. s. Maass, H. <i>440,</i><br/><i>472</i></p> <p>Adler, H. I. s. Clayton, R. K.<br/><i>433, 457</i></p> <p>Aebersold, P. C., u. G. A.<br/><i>Anslow 420, 451</i><br/>— s. Axelrod, D. <i>420, 452</i><br/>— s. Snell, G. D. <i>254, 269</i><br/>— s. Zirkle, R. E. <i>252, 270</i></p> <p>Aebi, H. <i>40, 451</i><br/>— J. P. Heiniger u. H. Suter<br/><i>390, 451</i><br/>— F. Jeunet, R. Richterich,<br/>H. Suter, R. Bütler, J. Frei<br/>u. H. R. Morti <i>390, 451</i><br/>— K. Lauber, B. Schmidli<br/>u. A. Zuppinger <i>390, 397,</i><br/><i>451</i><br/>— s. Heiniger, J. P. <i>465</i><br/>— s. Ryser, H. <i>369</i></p> <p>Aebi, H. E. <i>451</i></p> <p>Aerne, O. s. Münzel, H. <i>51, 80</i></p> <p>Ahlström, L., H. v. Euler,<br/>G. v. Hevesy u. K. Zerahn<br/><i>419, 451</i></p> <p>Ahmed, J. A. R. S. s. Koller,<br/>P. C. <i>519, 623</i></p> | <p>Alberti, W., u. G. Politzer<br/><i>271, 290, 291, 341, 342</i></p> <p>Albertini, L. <i>363, 451</i></p> <p>Albright, F. L. s. Liebenenthal,<br/>J. L. <i>178</i></p> <p>Alescio, T. s. Elkind, M. M. <i>365</i></p> <p>Alexander, M. s. Hurwitz, J.<br/><i>435, 467, 468</i></p> <p>Alexander, M. L. <i>580, 629</i></p> <p>Alexander, P. <i>183, 186, 198,</i><br/><i>202, 204, 211</i><br/>— Z. M. Bacq, S. F. Cousens,<br/>M. Fox, A. Herve u.<br/>J. Lazar <i>211</i><br/>— J. Beer, C. Dean, J. T. Lett<br/>u. G. F. Parkins <i>434, 451</i><br/>— R. M. Black u. A. Charlesby<br/><i>28, 34, 186, 187, 211</i><br/>— u. A. Charlesby <i>10, 20, 28,</i><br/><i>29, 34, 187, 189, 192, 194,</i><br/><i>211</i><br/>— u. M. Ross <i>195</i><br/>— u. M. Fox <i>205, 211</i><br/>— D. Rosen u. K. A.<br/>Stacey <i>202, 212</i><br/>— u. M. Ross <i>212</i><br/>— u. L. D. G. Hamilton <i>198,</i><br/><i>200, 202, 212</i><br/>— u. K. A. Stacey <i>212</i><br/>— u. J. T. Lett <i>207, 212</i><br/>— P. Kopp u. R. Itzhaki<br/><i>212</i><br/>— u. Z. B. Mikulski <i>374, 451</i><br/>— u. M. G. Ormerod <i>210, 212</i><br/>— u. D. Rosen <i>183, 198, 212</i><br/>— u. K. A. Stacey <i>208, 212</i><br/>— u. D. J. Toms <i>188, 189, 190,</i><br/><i>192, 193, 212</i><br/>— s. Allen, E. <i>202, 212</i><br/>— s. Bacq, Z. M. <i>171, 187, 198,</i><br/><i>204, 206, 212, 264, 387,</i><br/><i>389, 395, 450, 453</i><br/>— s. Beer, J. Z. <i>320, 343</i><br/>— s. Haddow, A. <i>356, 463</i><br/>— s. Hamilton, L. D. G. <i>390,</i><br/><i>464</i><br/>— s. Lett, J. T. <i>207, 208, 213,</i><br/><i>471</i><br/>— s. Libby, D. <i>203, 213</i><br/>— s. Moroson, H. <i>202, 204,</i><br/><i>213</i></p> | <p>Alexander, P. s. Rosen, D. <i>213</i><br/>— s. Scaife, J. F. <i>359, 370, 382,</i><br/><i>443, 446, 480</i></p> <p>Alfert, M. s. Das, N. K. <i>419,</i><br/><i>458</i></p> <p>Alius, H. J. s. Schall, L. <i>330,</i><br/><i>352</i></p> <p>Alivisatos, S. G. A., u. H. G.<br/>Williams-Ashman <i>401, 452</i></p> <p>Allen, A. J. s. Moses, C. <i>313,</i><br/><i>350</i></p> <p>Allen, A. O. <i>13, 72, 76, 100, 101,</i><br/><i>104, 107, 108, 171, 172, 264</i><br/>— C. J. Hochanadel, J. A.<br/>Ghormley u. T. W. Davis<br/><i>244, 264</i><br/>— V. D. Hogan u. W. G. Roth-<br/>schild <i>172</i><br/>— u. W. G. Rothschild <i>172</i><br/>— u. H. A. Schwarz <i>172</i><br/>— s. Rothschild, W. G. <i>88,</i><br/><i>180</i><br/>— s. Saldick, J. <i>89</i><br/>— s. Schuler, R. H. <i>84, 180</i></p> <p>Allen, E., u. P. Alexander <i>202,</i><br/><i>212</i></p> <p>Allen, E. H. s. Schweet, R. S.<br/><i>394, 480</i></p> <p>Allen, J. G., M. Sanderson,<br/>M. Milham, A. Kirschon u.<br/>L. O. Jacobson <i>357, 452</i></p> <p>Allen, N., u. J. G. Nicholls<br/><i>405, 452</i></p> <p>Allfrey, V. G. <i>435, 452</i><br/>— u. A. E. Mirsky <i>377, 452</i><br/>— u. S. Osawa <i>372, 452</i><br/>— s. McEwen, B. S. <i>372, 473</i><br/>— s. Osawa, S. <i>371, 372, 383,</i><br/><i>476</i><br/>— s. Sibatani, A. <i>377, 435, 481</i></p> <p>Allison, A. C. <i>608, 629</i></p> <p>Allsopp, C. B. <i>40, 172</i><br/>— u. J. Wilson <i>168, 172</i></p> <p>Alpen, E. L. s. Baum, S. J.<br/><i>298, 343</i><br/>— s. Cooper, E. H. <i>373, 374,</i><br/><i>418, 457</i><br/>— s. Griffin, E. G. <i>393, 463</i></p> <p>Alper, T. <i>8, 27, 28, 34, 226, 232,</i><br/><i>251, 449, 452, 559, 563,</i><br/><i>618</i></p> |
|--|--|--|

- Alper, T., J. F. Fowler, R. L. Morgan, D. D. Vonberg, F. Ellis u. R. Oliver 452  
 — N. E. Gillies u. M. M. Elkind 452  
 — u. P. Howard-Flanders 24, 28, 34, 245, 253, 260, 264  
 — s. Howard-Flanders, P. 27, 33, 36, 259  
 Alt, H. L. s. Rambach, W. A. 255, 268  
 Altenburger, K. s. Blau, M. 3, 34, 279, 343  
 Altman, K. I. 400, 452  
 — J. E. Richmond u. K. Salomon 387, 452  
 — s. Gerber, G. B. 462  
 — s. Kowlessar, O. D. 470  
 Altman, K. J. s. Richmond, J. E. 387, 479  
 Amano, M., u. C. P. Leblond 452  
 Ambrose, J. s. Barron, E. S. G. 163, 164, 173, 217, 232  
 Ambroso, E. C., u. A. S. Parkes 574, 629  
 Amphlett, C. B. 79, 108, 109, 172  
 Amsterdam, E. s. Gitlin, D. 375, 462  
 An, C. X. s. Herovici, C. 438, 439, 465  
 Anbar, M., u. J. K. Thomas 94, 173  
 Anderegg, J. W. s. Bollum, F. J. 424, 455  
 Anderson, A. R., u. E. J. Hart 84, 91, 172  
 Anderson, D. R., u. B. J. Joseph 50, 164, 173  
 Anderson, E. H. 22, 34, 560, 618  
 Anderson, N. G. 384, 445, 452  
 — u. W. D. Fisher 384, 385, 445, 452  
 — s. Fisher, W. D. 384, 445, 461  
 Anderson, R. R. s. Wang, R. I. H. 395, 484  
 Anderson, R. S. 229, 232  
 — u. B. Harrison 168, 173  
 — u. H. Turkowitz 21, 34  
 Andrews, G. A., B. W. Sitterson, A. L. Kretchmar u. M. Brucer 398, 399, 452  
 Andrews, I. R., u. J. M. Moody 326, 332, 334, 335, 336, 337, 342  
 Andrews, J. R., u. R. J. Berry 421, 452  
 — u. T. O. Coppedge 342  
 — s. Berry, R. J. 320, 343, 366, 454  
 Anger, H. O. s. Sallmann, L. v. 254, 269  
 Annetts, M. 407, 452  
 Anslow, G. A. s. Aebersold, P. C. 420, 451  
 Anta, M. C., u. M. Lefort 70, 72, 97, 173  
 — M. L. Roda Santos u. M. A. Paia 167, 173  
 Antonijevic, M., u. D. Lebez 387, 452  
 Aoyama, T. s. Ueno, Y. 363, 484  
 Appelman, A. W. M. s. Klouwen, H. M. 371, 372, 469  
 Applegate, R. s. Beltz, R. E. 424, 453  
 Appleyard, J. 436, 452  
 Araki s. Myers, D. K. 369  
 Ard, W. B. s. Gordy, W. 10, 29, 35, 55, 176, 212, 407, 462  
 Arient, M. s. Pařizek, J. 399, 477  
 Armentrout, S. A., u. W. A. Mills 355, 446, 452  
 Armiers, R. M. des s. Sheek, M. R. 409, 481  
 Armstrong, D., E. Collinson, F. S. Dainton, D. M. Donaldson, E. Hayon, N. Miller u. J. Weiss 173  
 — s. Hayon, E. 246, 267  
 Armstrong, W. A., u. G. A. Grant 167, 173  
 Arnason, T. J., u. M. Morrison 542, 618  
 — s. Regehr, H. 249, 268  
 Arner, G. B. L. 614, 629  
 Arneson, A. N. s. Duffy, T. T. 330, 344  
 Arnold, J. S. s. Cole, L. C. 312, 314, 344  
 Aronson, D., L. Mee u. C. L. Smith 228, 232  
 Ashler, P. M. s. Petrakis, N. L. 438, 477  
 Ashwell, G., u. J. Hickman 452  
 — s. Hickman, S. 369, 466  
 — s. Maxwell, E. 369, 473  
 Ashwood-Smith, M. F. 452  
 Atkin, N. B. s. Richards, B. M. 364, 479  
 Atkins, H. L. 341, 342  
 Atwood, K. C., R. C. v. Borstel u. A. R. Whiting 411, 452, 575, 629  
 — u. T. Pittinger 538, 618  
 — u. S. L. Scheinberg 599, 629  
 Auerbach, C. 569, 618  
 — u. J. M. Robson 569, 618  
 — u. S. L. Slizynski 576, 590, 629  
 Auerbach, R. 309, 342  
 Auerbach, V. H. s. Potter, V. R. 426, 478  
 Augenstein, L., R. Mason u. B. Rosenberg 449, 450  
 Augenstine, L. 27, 221, 228, 232  
 Aurand, K. 305, 342  
 — s. Rajewsky, B. 304, 351  
 Ausloos, P., u. J. F. Paulson 147, 173  
 Austin, G.-M. s. Sato, M. 403, 479  
 Austin, M. K., J. S. Langhlin u. H. Quastler 252, 258, 264  
 Avery, O. T., C. M. McLead u. M. McCarty 513, 618  
 Awapara, J. 398, 399, 452  
 Axelrod, D., P. C. Aebersold u. J. H. Lawrence 420, 452  
 Axford, S. J. s. Newcombe, H. B. 616, 631  
 Bach, N. 148, 173  
 Bachofer, C. S., u. M. E. Gaute-reaux 289, 342  
 — u. M. A. Pottinger 559, 618  
 — u. S. E. Wittry 405, 452  
 Back, A., u. L. Halberstaedter 526, 618  
 Back, R. A., E. A. Cherniak, E. Collinson, W. Cooper, F. S. Dainton, G. M. Meaburn, N. Miller, W. H. Stafford, G. A. Swan, P. S. Timmons, D. C. Walker u. D. Wright 173  
 Backmann, R. s. Harbers, E. 412, 418, 442, 464  
 Baclesse, F. 323, 333, 339, 340, 342  
 Baclesse, H., u. R. W. Gunder-son 342  
 Bacq, Z. M. 385, 395, 396, 404, 452, 453  
 — u. P. Alexander 171, 187, 198, 204, 206, 212, 264, 387, 389, 395, 450, 453  
 — P. Ciccarone u. J. Renson 385, 453  
 — u. H. Herve 395, 453  
 — s. Alexander, P. 211  
 — s. Nizet, A. 387, 475  
 Badgett, S. K. s. Russel, L. B. 310, 317, 352  
 Bagg, H. J. 553, 618  
 Bahr, G. F., u. G. Moberger 363, 453  
 Bailey, O. T. s. McLaurin, R. L. 303, 349, 350  
 Baker, R. D. s. Williams, M. W. 391, 485  
 Baker, W. K. 537, 561, 618  
 — u. C. W. Edington 560, 618  
 — u. E. S. v. Halle 540, 559, 560, 618

- Baker, W. K. u. E. Sgourakis 21, 34, 560, 618  
 Bakh, N. A., V. J. Medwedowsky u. V. V. Saraeva 173  
 Balazs, E. A. s. Bothner-By, C. T. 173  
 Baldwin, T. H. s. Rozendaal, H. M. 206, 213  
 Baldwin, W. F. 316, 317, 342, 526, 527, 528, 545, 550, 618  
 — u. C. A. Narraway 527, 618  
 — u. T. N. Salthouse 618  
 Ballin, J. C., u. R. N. Feinstein 387, 453  
 — s. Feinstein, R. N. 460  
 Bane, H. N. s. Tyree, E. B. 256, 259, 269  
 Bangham, J. W. s. Russel, W. L. 592, 632  
 Barch-y-Rita, G. s. Garcia, J. 404, 461  
 Barendsen, G. W. 295, 342, 365, 453  
 — J. L. J. Bensker, A. J. Vergoesen u. L. Budke 453  
 — u. T. L. J. Beusker 281, 342  
 — — A. J. Vergoesen u. L. Budke 281, 342  
 Barer, R., u. S. Joseph 381, 453  
 Barker, R., W. H. Hamille u. R. R. Williams 128, 173  
 — s. Pottie, R. F. 180  
 Barker, S. A., P. M. Grant u. M. Stacey 210, 212  
 Barksy, I. J. s. Meissel, M. N. 380, 473  
 Barner, J. G. s. Cohen, S. S. 425, 457  
 Barnett, T. B. s. Ely, J. 300, 345  
 — s. Metcalf, R. G. 300, 350  
 Barnum, C. P., R. A. Huseby u. H. Vermund 453  
 — s. Jardetzky, Ch. D. 422, 468  
 — s. Vermund, H. 376, 484  
 Barrett, R. W., u. E. L. Tatum 572, 618  
 Barth, G., D. Böhmer u. F. Wachsmann 319, 342  
 — H. Graebner u. F. Wachsmann 319, 342  
 Barr, N. s. Milvey, O. 80, 81  
 Barr, N. F., u. M. B. Stark 167, 173  
 Barron, E. S. G. 49, 216, 217, 218, 224, 225, 232, 431, 453  
 — J. Ambrose u. P. Johnson 163, 164, 173, 217, 232  
 — u. S. R. Dickman 216, 227, 232, 246, 264  
 — — J. A. Muntz u. T. P. Singer 216, 232  
 — — T. P. Singer u. J. A. Muntz 217, 232  
 — u. V. Flood 164, 173  
 Barron, E. S. G. u. P. Johnson 217, 232  
 — — A. Cobure 225, 232, 431, 453  
 — L. Seki u. P. H. Johnson 225, 233  
 Baserga, R. 410, 453  
 — u. R. Gold 410, 453  
 — s. Kisielski, W. E. 412, 469  
 Bassham, J. A. 370  
 Bastian, R., R. Weberling u. F. Palilla 79  
 Batchelor, A. L., R. J. S. Phillips u. A. G. Searle 367, 453  
 Bateman, A. J. 581, 590, 629  
 Bateman, J. L., V. P. Bond u. J. S. Robertson 307, 308, 314, 342  
 Bates, T. H., C. I. Smith u. H. Smith 399, 453  
 — s. Smith, H. 399, 401, 481, 482  
 Bauer, H. 536, 618  
 — M. Demerec u. B. P. Kaufmann 536, 618  
 Bauer, R. 273, 296, 297, 298, 342, 343  
 Bauer, R. D., K. Dreher u. N. B. Kurnick 444, 453  
 Baum, S. J. 343  
 — u. E. L. Alpen 343  
 — A. K. Davis u. E. L. Alpen 298, 343  
 Baumeister, L., u. R. Glocker 144, 173  
 Baxendale, J. H., u. D. H. Smithies 154, 158, 173  
 Baxter, E. F. s. Black, J. F. 170, 173  
 Beach, G. s. Kelly, L. S. 408, 409, 413, 422, 469  
 Beale, G. H. s. Fabergé, A. C. 509, 621  
 Beam, C. A. s. Elkind, M. M. 251, 266  
 Beatty, A. U. s. Giles, N. H. 558, 621  
 Bečarević, A., S. Petrović, V. Janković, D. T. Kanazir u. G. Jovicki 453  
 — s. Petrović, S. 378, 441, 477  
 Becker, F. F., R. B. Williams u. J. L. Voogd 389, 453  
 — — — J. Dowling u. J. Istock 453  
 Becker, J. 264  
 — u. K. E. Scheer 253, 263, 264  
 — u. G. Schubert 263, 264  
 Becker, J. P. 163, 173  
 Becker, Y. s. Penman, S. 435  
 Bednar, J. s. Teply, J. 155, 181  
 Beer, J. s. Alexander, P. 434, 451  
 Beer, J. Z., J. T. Lett u. P. Alexander 320, 343  
 Bekkum, D. W. van 369, 372, 453  
 — H. J. Jongpier, H. T. Nieuwerk u. J. A. Cohen 369, 453  
 — u. O. Vos 453  
 Belcher, E. H., I. G. F. Gilbert u. L. F. Lamerton 393, 453  
 — E. B. Harris u. L. F. Lamerton 453  
 — s. Itzhaki, R. F. 393, 468  
 Bell, B. M. s. Lipkin, M. 472  
 Bell, D. s. Gray, E. D. 424, 463  
 Bell, P. R. 420, 453  
 Bell, R. P. 59, 173  
 Bellamy, W. D., u. E. J. Lawton 219, 233  
 — s. Rozendaal, H. M. 206, 213  
 Belli, M. L. s. Cervigni, T. 389, 456  
 Bellucci, B. 328, 343  
 Beltz, R. E. 424, 425, 453  
 — u. R. Applegate 424, 453  
 — J. van Lancker u. R. Potter 413, 415, 422, 424, 454  
 Bemiss, S. M. 614, 629  
 Bender, M. A., u. P. C. Gooch 318, 343, 365, 454  
 — s. Prescott, D. M. 411  
 Bendich, A., H. B. Pahl, G. C. Korngold, H. S. Rosenkranz u. J. R. Fresco 442, 454  
 — P. J. Russell u. G. B. Brown 418  
 Benedict, W. H. s. Furth, J. 588, 630  
 Beněš, L., u. J. Soška 380, 438, 454  
 Benjamin, E., u. E. Sluka 356, 358, 454  
 Bennett, E. L., L. Kelly u. B. Kruekel 416, 454  
 Bennett, L. s. Clemente, C. D. 404, 457  
 Bennett, L. R. s. Dowdy, A. H. 21, 35  
 — s. Lamson, B. G. 314, 348  
 Bennett, W. s. Garrison, W. M. 158, 175, 176, 219, 234  
 Bennke, H. 575, 629  
 Bensker, J. L. J. s. Barendsen, G. W. 453  
 Bensted, J. P. M., N. M. Blakett u. L. F. Lamerton 313, 343  
 — s. Quastler, H. 299, 351  
 Benzer, S. 491, 502, 503, 505, 506, 618  
 — u. E. Freese 502, 570, 618  
 Berg, N. O., u. M. Lindgren 303, 343  
 Bergeder, H.-D. 405, 454  
 — u. O. Hockwin 405, 454  
 Bergonié, J., u. E. Speder 405, 454  
 Bergstrand, H. s. Révész, L. 363, 479

- Berman, H. L. 263  
 Berndt, H. s. Hilz, H. 430, 466  
 Bernhardt, H. A., W. Dawis u. C. H. Shifflett 173  
 Bernstein, M. H., u. D. Mazia 445, 454  
 — s. Kaufmann, B. P. 445, 468  
 Bernstein, S. E. 362, 434, 454  
 Berry, H. K., E. L. Saenger, H. Perry, B. I. Friedman, C. Scheel u. J. G. Kereiakes 454  
 Berry, R. J. 365, 454  
 — u. J. R. Andrews 320, 343, 366, 454  
 — E. Hell, L. G. Lajtha u. M. Ebert 374, 375, 418, 454  
 — s. Andrews, J. R. 421, 452  
 — s. Hell, E. 416  
 — s. Lajtha, L. G. 374, 394, 413, 417, 418, 421, 470  
 Bersin, T. 216, 233  
 — u. W. Logemann 216, 233  
 Berson, S. A. s. Yalow, R. S. 51, 164, 182  
 Bertani, G. s. Demerec, M. 572, 620  
 Bertinchamps, A. J. s. Dorlet, C. 407, 459  
 Bertram, C., u. G. Höhne 249, 264  
 Bessis, M. 454  
 Betel, I. s. Klouwen, H. M. 371, 372, 469  
 Bethe, A. H. 91  
 Bethell, F. H. s. Potter, R. L. 368, 369, 477  
 Bettendorf, G., H. A. Künkel u. H. Maass 454  
 — u. H. Maass 454  
 — A. P. Moje u. H.-J. Schmermund 454  
 — s. Schubert, G. 480  
 Bétoullieres, P. s. Lamerque, P. 292, 348  
 Beusker, T. L. J. s. Barendsen, G. W. 281, 342  
 Bhaskaran, s. Ehrenberg 245  
 Bhatia, D. S. s. Proctor, B. E. 163, 180  
 Bianchi, P. A., J. A. V. Butler, A. R. Crathorn u. K. V. Shooter 424, 427, 454  
 Biavati, M. H. s. Rossi, H. H. 275, 352  
 Biedl, A. 357  
 — u. J. Borak 397, 454  
 Bierich, R. 406  
 Biesel, J. J. s. Levan, A. 572, 623  
 Biggs, S. L. s. Adelstein, S. J. 431, 451  
 Bigwood, E. J., u. S. Soupart 389, 398, 399, 454  
 Billen, D. 433, 454  
 Billen, D. s. Hnilica, L. S. 435, 466  
 — s. Hollaender, A. 509, 566, 622  
 Billings, M. S. s. Lamson, B. G. 314, 348  
 Binkley, W. W. s. Wolfrom, M. L. 168, 182  
 Binnie, B. s. Keir, H. M. 423, 468  
 Bird, R. s. Hirschfelder, J. O. 172  
 Birnstiel, M. L., M. J. H. Chipchase u. B. B. Hyde 435, 454  
 Bishop, C. J. 546, 547, 619  
 — V. D. McLaughlin u. D. F. Tapley 526, 619  
 Bishop, C. W. u. J. N. Davidson, 380, 438, 439, 454  
 Biskis, B. O. s. Finkel, M. P. 313, 345  
 Black, J. F., u. E. F. Baxter 170, 173  
 Black, R. M., u. B. J. Lyons 192, 212  
 — s. Alexander, P. 28, 34, 186, 187, 211  
 Blackburn, E. W. s. Dacquisto, M. P. 306, 307, 344  
 Blackett, N. M. 313, 343  
 — s. Bensted, J. P. 313, 343  
 — s. Lamerton, L. F. 297, 306, 348  
 Blackwell, L. H., W. K. Sinclair u. R. M. Humphrey 393, 455  
 — s. Sinclair, W. K. 393, 481  
 Blair, A. E. s. Sharpless, N. E. 162, 181  
 Blair, H. A. 312, 314, 315, 343  
 Blakeslee, A. F. s. Spencer, J. L. 542, 627  
 Blau, M., u. K. Altenburger 3, 34, 279, 343  
 Bloch, F. 46  
 Bloch, L. s. Hochman, A. 394, 395, 466  
 Bloom, E. G. 129  
 Bloom, M. A. 299, 343  
 — s. Bloom, W. 361, 405, 455, 525, 619  
 Bloom, W., u. M. A. Bloom 361, 405, 455, 525, 619  
 — R. E. Zirkle u. R. B. Uretz 455  
 — s. Zirkle, R. E. 270, 509, 543, 629  
 Bloomfield, J. R. s. Spargo, B. 406, 482  
 Blüthgen, U. s. Stutz, E. 313, 353  
 Blumenfeld, L. A., u. A. E. Kalmanson 407, 455  
 Blumenthal, G. s. Mazia, D. 221, 222, 234  
 Blumfield, R. T. s. Sax, K. 362, 479  
 Boag, J. W. 237, 239, 248, 264  
 — u. A. Müller 173, 264, 407, 455  
 — s. Ebert, M. 75, 175  
 — s. Hart, E. J. 14, 36, 183, 212  
 — s. Heyningen, R. van 360, 466  
 — s. Hunt, J. W. 177  
 — s. Pirie, A. 217, 235, 360, 477  
 — s. Tansley, K. 253, 254, 269  
 Boag, W. s. Gray, L. H. 76  
 Bode, H. G., W. Paul u. H. Theismann 258, 262, 263, 264  
 Boden, I. 303, 333, 343  
 Boer, J. E. de s. Veninga, T. S. 484  
 Böhmer, D. s. Barth, G. 319, 324  
 Böök, J. A. 614, 629  
 Böwing, G. s. Hartweg, H. 465  
 Bohn, G. 360, 455  
 Bojarski, T. B. s. Hiatt, H. H. 424, 466  
 Boland, I. 263  
 Boland, J. 309, 343  
 Bollum, F. J. 411, 423, 425, 455  
 — J. W. Anderegg, A. B. McElya u. R. van Potter 424, 455  
 — u. R. van Potter 415, 424, 455  
 Bologna, I. s. Goutier, R. 428, 462  
 Bolt, R. O., u. J. G. Carroll 171  
 Bond, V. P., R. E. Carter, J. S. Robertson, P. H. Seymour u. H. H. Hechter 241, 255, 264  
 — D. Easterday, E. E. Stickley u. J. S. Robertson 241, 255, 264  
 — s. Bateman, J. L. 307, 308, 314, 342  
 — s. Carter, R. E. 241, 255, 265  
 — s. Feinendegen, L. E. 379, 460  
 — s. Hughes, W. L. 467  
 — s. Killman, S. A. 399, 469  
 — s. Main, R. K. 473  
 — s. Rubini, J. R. 399, 479  
 Bonet-Maury, P. 173, 264  
 — u. M. Lefort 70, 557, 563, 619  
 — u. F. Patti 224, 233  
 Bonner, J. s. Rho, J. M. 377, 479  
 — s. Tso, P. O. P. 484  
 Bonner, T. W. s. Shalek, R. J. 71, 181  
 Bonnicksen, R., u. G. Hevesy 455

- Bonnichsen, R. s. Hevesy, G. 394, 465  
 Bonnier, G., u. K. G. Lünig 580, 581, 629  
 Boone, I. U., u. L. R. Rivera 314, 315, 343  
 Boone, J. U. s. Storer, J. B. 269  
 Boşa, K. C. 259, 260, 264, 406, 455, 538, 542, 619  
 — s. Singh, B. B. 408, 481  
 Borak, J. s. Biedl, A. 397, 454  
 Born, M. 116  
 Bornier, B. M. de 220, 228, 233  
 Bornschein, H., R. Pape u. J. Zakovsky 286, 343  
 Borstel, von s. Wolff, S. 565, 628, 629  
 Borstel, R. C. v. 411, 455, 575, 629  
 — u. R. W. Rogers 455  
 — s. Atwood, K. C. 411, 452, 575, 629  
 — s. Rogers, R. W. 479  
 Bosch, L., E. Harbers u. C. Heidelberger 425, 455  
 Bostian, C. H. s. Whiting, A. R. 545, 628  
 Bothner-By, C. T., u. E. A. Balazs 173  
 Botstein, Ch. 340, 343  
 Boudnitskaya, E. V., M. Brunfaut u. M. Errera 376, 455  
 Bourne, G. H. s. Pasqualino, A. 388, 477  
 Boveri, T. 572, 619  
 Bowden, D. H. s. Goyer, R. A. 398, 642, 463  
 Boyce, R. P. s. Howard-Flanders, P. 434, 467  
 Boyle, J. W. s. Mahlman, H. A. 102, 178  
 Box, H. C., u. H. G. Freund 52, 53, 54, 55, 173  
 Bozeman, M. L. 517, 547, 619  
 Braams, R. 11, 34  
 — u. F. Hutchinson 203  
 — — u. D. Ray 11, 34, 212  
 Brachet, J. 357, 379, 437, 455  
 Bradley, M. s. Marshak, A. 251, 268, 542, 624  
 Bradwell, D. C. s. Lind, S. C. 134, 138, 178  
 Brady, A. P. s. Littman, F. E. 178  
 Brancovici, M. 405, 455  
 Brandes, G. 286, 343  
 Brandt, H. v., u. W. Dittrich 250, 264  
 Brasch, A., W. Huber u. A. Waly 275, 282, 343  
 Brauer, R. W., J. S. Krebs u. R. Pessotti 305, 343  
 Brauer, R. W., s. Krebs, J. S. 305, 348  
 Braun, H. 402, 455  
 — u. J. Müller 455  
 — s. Hagen, U. 359, 382, 464  
 Braun, R. s. Holthusen, H. 272, 346  
 Brawerman, G., L. Gold u. J. Eisenstadt 435, 455  
 Brecher, G. s. Hughes, W. L. 467  
 Breger, I. A. 48, 173  
 Breit, A. 303, 343  
 — s. Scholz, W. 303, 353  
 Bremer, J. s. Pihl, A. 235  
 Brenk, H. A. S. van den 455  
 — u. K. Elliott 395, 455  
 Brenneke, H. s. Hertwig, P. 574, 630  
 Brenner, D., F. Jacob u. M. Meselson 377, 435, 455  
 Brenner, S. s. Stent, G. 482  
 Breslavets, L. P. 523, 619  
 Bretscher, E. s. Lea, D. E. 251, 252, 267  
 Breuer, H., u. H. K. Parehwitz 455  
 Brewen, J. G. 318, 343  
 Bridges, C. B. 491, 619  
 Bridgman, J., u. R. F. Kimball 544, 619  
 Briegleb, G., Th. Förster, H. Friedrich, P. Jordan, G. Kortüm, A. Münster, G. Scheibe u. K. Wirtz 171  
 Brinkley, D. s. Mitchell, J. S. 370, 474  
 Brinkman, R. 385, 396, 400, 455, 456  
 — u. H. B. Lamberts 210, 212, 385, 386, 395, 396, 456  
 — — J. Wadel u. J. Zuideveld 385, 386  
 — — J. Zuidereld 212  
 — u. T. S. Veninga 456  
 — — J. Wadel u. J. Zuideveld 456  
 — — u. J. Zuideveld 456  
 — s. Veninga, T. S. 396, 484  
 Brohult, S. s. Rosen, D. 213  
 — s. Svedberg, T. 200, 213  
 Broida, H. P. 173  
 Brooks, P. M. 304, 343  
 Brown, D. G. s. Kuhn, U. S. G. 304, 348  
 Brown, G. B. s. Bendich, A. 418  
 Brown, J. A. H., M. J. Corp u. D. R. Westgarth 306, 307, 314, 343  
 Brown, M. B. s. Kaplan, H. S. 312, 347, 588  
 Brown, W. L. s. Overall, J. E. 302, 351  
 Brownell, G. L. s. Hine, G. J. 172  
 Brownscombe, E. R. s. Fricke, H. 100  
 Brucer, M. s. Andrews, G. A. 398, 399, 452  
 Brückner, J. s. Gerbaulet, K. 376, 430, 462  
 Brues, A. M., M. P. Finkel, H. Lisco u. G. A. Sacher 312, 343  
 — u. G. A. Sacher 314, 343  
 — s. Hall, B. V. 31, 36  
 — s. Prosser, C. L. 478  
 — s. Stroud, A. N. 419, 483  
 Brumberg, E. M. s. Meissel, M. N. 380, 473  
 Brumfield, R. T. 565, 619  
 Brunfaut, M. s. Boudnitskaya, E. V. 376, 455  
 Bucci, T. J. s. Spertzel, R. O. 482  
 Buchwald, N. A. s. Garcia, J. 302, 334, 345, 404, 461  
 Buckaloo, G. W. s. Lavik, P. S. 376, 415, 471  
 Budke, L. s. Barendsen, A. J. 453  
 — s. Barendsen, G. W. 281, 342  
 Bühner, G. s. Fritz-Niggli, H. 461  
 — s. Nitz-Litzow, D. 475  
 Bürki, H. s. Nowacki, W. 119, 179  
 Buess, E. s. Gordon, S. A. 388, 462  
 Bütler, R. s. Aebi, H. 390, 451  
 Bukovsky, J. s. Roth, J. S. 479  
 Burch, P. R. J. 173, 241, 244, 246, 265  
 Burgi, E. s. Hershey, A. D. 383  
 Burhop, E. H. S. s. Massey, H. S. W. 172  
 Burma, D. P. s. Ochoa, S. 435, 476  
 Burn, J. H., P. Kordik u. R. H. Mole 391, 392, 456  
 Burns, J. E. 321, 343  
 Burns, W. G., W. Wild u. T. F. Williams 140, 173  
 Burns, W. M. s. DuSault, L. 344  
 Burr, J. G. 148, 173  
 Burton, M. 43, 139, 173, 174  
 — J. Chang, S. Lipsky u. M. P. Reddy 174  
 — W. H. Hamill u. J. L. Magee 242, 243, 265  
 — J. S. Kirby-Smith u. J. L. Magee 245  
 — u. J. L. Magee 73, 174  
 — — u. A. H. Samuel 242, 265  
 — u. W. N. Patrick 174  
 — s. Dewhurst, H. A. 174  
 — s. Gordon, S. 139, 140, 176  
 — s. Hamashima, M. 176

- Burton, M. s. Hentz, R. R. 140, 177  
 — s. Kurien, K. C. 178  
 — s. Lazo, R. M. 80, 81  
 — s. Magee, I. L. 243  
 — s. Manion, J. P. 141, 178  
 — s. Mellows, F. W. 151, 178  
 — s. Meshitsuka, G. 141, 146, 179  
 — s. Patrick, W. N. 179  
 — s. Phung, P. V. 154, 180  
 — s. Rollefson, G. K. 172  
 — s. Sworski, T. J. 140, 181  
 — s. Theard, M. 146, 181  
 Burton, V. L. s. Sheppard, C. W. 148, 149, 181  
 Burt, B. P., u. J. F. Kircher 174  
 Busch, H. 382, 383, 456  
 — s. Muramatsu, M. 379, 475  
 Busch, S. s. Chambon, P. 433, 456, 457  
 Buser, W. 40  
 Butler, J. A. V. 10, 34, 442, 456  
 — u. P. Cohn 456  
 — u. D. J. R. Lawrence 456  
 — R. H. Pain, A. B. Robins u. J. Rotblat 456  
 — K. V. Shooter, A. R. Cra-thorn u. P. McNamara 426, 427, 456  
 — s. Bianchi, P. A. 424, 427, 454  
 — s. Shooter, K. V. 382, 481  
 Buttenberg, H. s. Morczek, A. 298, 350  
 Buzzati-Traverso, A. A. 450  
 Bychkovskaya, I. G. 360, 456
- Cairns, J. 412, 456  
 Calaja, M. s. Timofeevskij, A. D. 319, 354  
 Caldecott, R. S. 25, 34  
 — E. B. Johnson, D. T. North u. C. F. Konzak 561, 619  
 — s. Curtis, H. J. 561, 620  
 Calderon, A. T. s. Ramsey, A. W. 65, 180  
 Câmara, A. s. Castro, D. 548, 549, 550, 619  
 Camerino, B. s. Gallico, E. 50, 166, 175  
 Campbell, C. s. Loney, W. B. 413  
 Can, A. s. Schirren, C. G. 331, 353  
 Caneghem, P. van, u. C. G. Schirren 310, 343  
 Canellakis, E. L. s. Mantsarinos, R. 424, 473  
 Cannellakis, E. S. 424  
 — s. Reichard, P. 478  
 Cannellakis, Z. N. s. Reichard, P. 478
- Cannon, M. s. Gilbert, W. 435, 462  
 Canti, R. G. 343  
 — u. F. G. Spear 271, 290, 343  
 Carlson, J. G. 291, 343, 361, 432, 456, 523, 524, 574, 619, 629  
 — N. G. Harrington u. M. E. Gauden 291, 343  
 — M. L. Snyder u. A. Hol-laender 291, 344  
 Carpenter, H. M. s. Williams, R. B. 360, 361, 485  
 Carr, E. M. s. Littman, F. E. 178  
 Carroll, J. G. s. Bolt, R. O. 171  
 Carson, G. s. Stern, C. 578, 584, 632  
 Carter, R. E., V. P. Bond u. P. H. Seymour 241, 255, 265  
 — s. Bond, V. P. 241, 255, 264  
 Carter, T. C. 581, 629  
 — M. F. Lyon u. H. J. S. Phillips 300, 344  
 — u. R. J. S. Phillips 580, 581, 591, 593, 629  
 Carttar, M. s. Thomson, J. F. 415, 484  
 Casarett, A. P., u. G. W. Casa-rett 300, 344  
 Casarett, G. W. s. Casarett, A. P. 300, 344  
 — s. Ely, J. 300, 345  
 — s. Hursh, J. B. 305, 347  
 — s. Metcalf, R. G. 300, 350  
 Caspari, E. 492, 536, 619  
 — u. C. Stern 315, 344, 531, 581, 619, 630  
 Caspari, S. B. 619  
 Caspersson, O., u. L. Révész 363, 456  
 Caspersson, T. 357, 456  
 — E. Klein u. N. R. Ringertz 359, 409, 436, 456  
 — u. L. Santesson 379, 438, 456  
 Caspersson, T. O. 379, 456  
 Caspersson, T. T. 456  
 Caster, W. O. 456  
 Castro, D., A. Câmara u. N. Malheiros 548, 549, 619  
 — u. M. Noronha-Wagner 549, 619  
 — u. A. Câmara 550, 619  
 Catcheside, D. G. 492, 493, 517, 518, 519, 619  
 — u. D. E. Lea 362, 456, 518, 519, 619  
 — u. J. M. Thoday 517, 518, 519, 520, 534, 564, 619  
 — u. J. N. Thoday 5, 34  
 — s. Lea, D. E. 253, 521, 537, 623
- Cater, D. B., B. E. Holmes u. L. K. Mee 374, 413, 422, 456  
 — s. Hudson, J. A. 434, 467  
 Catsch, A., u. Gh. Radu 249, 265  
 Cattaneo, S. M., H. Quastler u. F. G. Sherman 410, 413, 456  
 Cavalieri, R. R., M. T. van Metre u. W. I. Sivertsen 401, 456  
 Cepicka, I. s. Hagen, U. 390, 391, 464  
 Cepellini, R. 608, 630  
 Cervigni, T., u. M. L. Belli 389, 456  
 Chambers, F. E. s. Cronkite, E. P. 556, 620  
 Chambon, P., P. Mandel, J. D. Weill u. S. Busch 433, 456, 457  
 — s. Mandel, P. 473  
 Chang, J. s. Burton, M. 174  
 Chantrenne, H. 435, 457  
 Chanutin, A., u. S. Ludewig 394, 457  
 Chaoul, H., F. Wachsmann u. H. Rosenberger 273, 326, 327, 332, 344  
 Chapiro, A. 174  
 — s. Prévost-Bernas, A. 180  
 Chaplin, C. E. s. James, A. P. 578, 630  
 Chapman, W. H. s. Cronkite, E. P. 556, 620  
 Chargaff, E. s. Crampton, C. F. 382  
 Charles, D. R. s. Marinelli, L. D. 536, 624  
 Charlesby, A. 47, 134, 139, 171, 174, 189, 191, 193, 210, 212  
 — s. Alexander, P. 10, 20, 28, 29, 34, 186, 187, 189, 192, 194, 195, 211  
 — s. Libby, D. 203, 213  
 Chase, H. B., u. H. Rauch 258, 265  
 — s. Gray, L. H. 259, 266  
 Chastain, S. M. s. Dowdy, A. H. 21, 35  
 Chayen, J. 420, 457  
 Chernavskaya s. Zubkova 392  
 Cherniak, E. A. s. Back, R. A. 173  
 Chernyak, N. Y. s. Polak, L. S. 180  
 Cherry, C. P., u. A. Glücks-mann 305, 457  
 Chess s. Dougherty 389  
 Chévremont s. Firket, J. 409  
 Chévremont-Comhaire, S. s. Kuyper, C. M. A. 470  
 — s. Firket, J. 409  
 Chick, H., u. C. J. Martin 215, 233

- Chipchase, M. J. H. s. Birnstiel, M. L. 435, 454  
 Chipperfield, B. s. Mitchell, J. S. 379, 474  
 Chizmadzcew, J. A. s. Filinowsky, V. J. 171, 172  
 Christenberry, K. W., u. J. Furth 265  
 — s. Furth, J. 588, 630  
 — s. Upton, A. C. 259, 269  
 Christensen, E. s. Sparrow, A. H. 544, 626, 627  
 Christian, R. T. s. Ludovici, P. P. 472  
 Churchill-Davidson, J., C. Sanger u. R. H. Thomlinson 31, 32, 34  
 Ciccarone, P. s. Bacq, Z. M. 385, 453  
 Ciecziura, S. s. Puck, Th. 293, 351  
 Ciecziura, S. J. s. Puck, T. T. 364, 478  
 Ciocco, A. 597, 630  
 Clark, A. J. 11, 12, 34  
 Clark, A. M. 546, 619  
 — u. F. M. Kelly 545, 619  
 — u. C. J. Mitchell 545, 546, 550, 619  
 Clark, F. J. s. Singleton, W. R. 568, 626  
 Clark, G. L. 171  
 — u. W. S. Coe 97, 100, 174  
 — u. K. R. Fitsch 50, 165, 174  
 — u. L. W. Pickett 174  
 Clark, G. M. s. Elliott, A. M. 544, 620  
 Clark, J. H. 215, 233  
 Clark, J. W., D. J. Jordan u. H. H. Vogel jr. 241, 256, 257, 265  
 — s. Rambach, W. A. 255, 268  
 — s. Vogel, H. H. 241, 256, 257, 270, 307, 315, 354  
 Clark, W. M. s. Hellerman, R. 225, 234  
 Claus, W. C. 306, 344  
 Claus, W. D. 171  
 Clay, P. G., G. R. A. Johnson u. J. Weiss 174  
 Clayton, G., u. A. Robertson 581, 582, 630  
 Clayton, R. K., u. H. I. Adler 433, 457  
 — u. A. Nelson 297, 344  
 Clemedson, C. J. s. Lundin, J. 472  
 Clemens, H., D. Hofmann u. R. K. Kepp 333, 344  
 Clemente, C. D., J. Yamazaki, L. Bennett, R. McFall u. E. H. Maynard 404, 457  
 Clermont, Y., u. C. P. Leblond 361, 457  
 Cleve, A. B. van s. Freeman, G. R. 156, 175  
 Cline, R. M. s. Fink, K. 398, 460  
 Clugston, H. s. Rugh, R. 25, 37, 298, 304, 352  
 Cobure, A. s. Barron, E. S. G. 225, 232, 431, 453  
 Cocchi, U. 265  
 Coe, W. S. s. Clark, G. L. 97, 100, 174  
 Coehran, F. V. s. Fenn, W. O. 571, 621  
 Cohen, A., u. L. Cohen 356, 457  
 Cohen, J. A. s. Bekkum, D. W. van 369, 453  
 — s. Rörsch, A. 434, 479  
 — s. Welling, W. 378, 485  
 Cohen, L. 334, 344, 367, 457  
 — u. T. G. Kerrich 344  
 — s. Cohen, A. 356, 457  
 Cohen, S. S., J. G. Flaks, J. G. Barner, M. R. Loeb u. J. R. Lichtenstein 425, 457  
 Cohn, P. s. Butler, J. A. V. 456  
 Cole, A. s. Hsu 383  
 — s. Somers, C. E. 482  
 Cole, L. C., P. C. Nowell u. J. S. Arnold 312, 314, 344  
 Cole, L. J. 457  
 — u. M. E. Ellis 380, 382, 438, 444, 445, 457  
 — u. V. J. Rosen 360, 457  
 — s. Davis, W. E. 360, 420, 421, 458  
 — s. Main, R. K. 360, 427, 444, 473  
 — s. Nowell, P. C. 259, 268, 318, 350, 351  
 Cole, S. s. Garrison, W. M. 158, 175, 176  
 Collins, V. P. s. Loeffler, R. K. 393, 472  
 — s. Rappoport, D. A. 478  
 Collinson, E., F. S. Dainton u. B. Holmes 223, 233  
 — u. A. J. Swallow 431, 457  
 — s. Armstrong, D. 173  
 — s. Back, R. A. 173  
 — s. Hayon, E. 246, 267  
 Colwell, H. A. 407, 457  
 Commerford, S. L. s. Gitlin, D. 375, 462  
 Compton, A., u. C. A. Pannett 441, 457  
 Conard, R. A. 396, 403, 405, 457  
 Conger, A. D. 21, 34, 407, 547, 556, 565, 619  
 — u. L. M. Fairchild 620  
 — u. N. H. Giles jr. 265  
 — u. H. J. Luippold 254, 265, 553, 620  
 — u. M. L. Randolph 407  
 Conger, A. D., M. L. Randolph u. A. H. Johnston 253, 265, 542, 620  
 — C. W. Sheppard u. H. J. Luippold 254, 265  
 — s. Giles, N. H. 542, 621  
 — s. Giles jr., N. H. 241, 266  
 — s. Gray, L. H. 21, 31, 35, 247, 266, 463  
 Congdon, C. C., u. P. Morichavez 450  
 Conklin, J. W. s. Upton, A. C. 312, 314, 354  
 Conkratjeva, T. M. s. Meissel, M. N. 380, 473  
 Conte, F. P., G. S. Melville u. A. C. Upton 406, 457  
 — s. Melville jr., G. S. 241, 256, 268  
 — s. Upton, A. C. 269  
 Conway, B. E. 563, 620  
 Conzelmann, G. M., H. G. Mandel u. P. K. Smith 376, 415, 457  
 Cook, R. F., u. L. G. Stoodley 408, 457  
 Cooke, J. P. 404, 457  
 Cooper, E. H. 457  
 — u. E. L. Alpen 373, 374, 418, 457  
 Cooper, J. A. D. s. Rambach, W. A. 255, 268  
 Cooper, K. W. 548, 620  
 Cooper, W. s. Back, R. A. 173  
 Coppedge, T. O. s. Andrews, J. R. 342  
 Cork, A. s. Humphrey, R. M. 467  
 Cornfield, J. s. Smith, W. W. 298, 353  
 Corp, M. J., u. F. E. Neal 299, 306, 344  
 — s. Brown, J. A. H. 306, 307, 314, 343  
 — s. Trowell, O. A. 359, 361, 382, 484  
 Cosgrove, G. E. s. Odell jr., T. T. 312, 351  
 Costolow, W. E. s. Nolan, T. F. 334, 350  
 Cotter, G. J. s. Feinstein, R. N. 33, 35  
 Cottier, H. s. Zuppinger, A. 263, 270  
 Cottin, M., u. M. Haissinsky 93, 94  
 — — u. C. Vermell 174  
 Counelis, M. s. Moos, W. S. 304, 350  
 Court-Brown, W. M., u. R. Doll 535, 588, 610, 620, 630  
 Cousins, S. F. s. Alexander, P. 211  
 Cousin, C. s. Prévost-Bernas, A. 180

- Coutard, H. 322, 323, 324, 344  
 Covill, R. W. s. Williams, M. W. 391, 485  
 Crabtree, H. G. 358, 457  
 — u. W. Cramer 31, 34, 356, 457, 556, 620  
 — u. L. H. Gray 358, 457  
 — s. Cramer, W. 31  
 Craddock, C. G., u. J. S. Lawrence 356, 457  
 Cramer, W. 457  
 — u. H. G. Crabtree 31  
 — s. Crabtree, H. G. 31, 34, 356, 457, 556, 620  
 Crampton, C. F., R. Lipshitz u. E. Chargaff 382  
 Crathorn, A. R., u. K. V. Shooter 416, 458  
 — s. Bianchi, P. A. 424, 427, 454  
 — s. Butler, J. A. V. 426, 427, 456  
 — s. Shooter, K. V. 481  
 Craver, L. F. s. Abels, J. C. 358, 368, 439, 451  
 Creasey, W. A. 371, 372, 390, 391, 458  
 — u. L. A. Stocken 371, 458  
 Crick, F. H. C. 513, 620  
 — s. Watson, J. D. 513, 628  
 Crocker 416  
 Crone, M., u. S. Itzhaki 424, 458  
 — s. Itzhaki, S. 424, 468  
 — s. Peters, H. 477  
 Cronheim, G., u. P. Günther 174  
 — s. Günther, P. 50, 143, 176  
 Cronkite, E. P., C. R. Sipe, D. C. Eltzholtz, W. H. Chapman u. F. E. Chambers 556, 620  
 — s. Hughes, W. L. 467  
 — s. Killman, S. A. 399, 469  
 — s. Rubini, J. R. 399, 479  
 Crook, R. s. Gilbert, W. 435, 462  
 Crow, J. F. 595, 630  
 — s. Morton, N. E. 584, 613, 615, 631  
 Crowe, F. W., W. J. Schull u. J. V. Neel 607, 630  
 Crowley, C. s. Curtis, H. J. 315, 344  
 Crowther, J. A. 11, 34, 271, 344  
 — u. H. Liebmann 406, 458  
 — — u. R. Jones 406, 458  
 Crumpler, M. R., C. E. Dent, H. Harris u. R. C. Westall 399, 458  
 Cuany, R. L. s. Sparrow, A. H. 482, 532  
 Cuna, A. B. da, J. S. de Toledo, C. Pavan, H. L. de Souza, H. E. Melara, N. Gabru-sewycz, M. R. Gama, M. L. Pires de Camargo u. L. C. de Mello 615, 630  
 Cunter, S. E. s. Kohn, H. I. 33, 36  
 Cupp, M. B. s. Russell, W. L. 592, 632  
 Curtis, H. J., R. S. Caldecott u. C. F. Konzak 561, 620  
 — u. C. Crowley 315, 344  
 — u. K. Gebhard 241, 256, 265, 315, 344  
 — s. Delihás, N. 241, 265  
 Curtiss, C. F. s. Hirschfelder, J. O. 172  
 Cusmano, L. 364  
 Czerwenka, C., J. Gregg, W. Parr, W. Luther u. A. Krebs 299, 344  
 Dacquisto, M. P. 556, 620  
 — u. E. W. Blackburn 306, 307, 344  
 Dänzer, H. s. Rajewsky, B. 278, 351  
 Dahl, B. 310, 331, 344  
 Dainton, F. S. 13, 29, 34, 174, 242, 265, 282, 344, 577, 620  
 — u. J. Rowbottom 75, 100, 101  
 — u. H. C. Sutton 83, 174  
 — s. Armstrong, D. 173  
 — s. Back, R. A. 173  
 — s. Collinson, E. 223, 233  
 — s. Hayon, E. 246, 267  
 Dale, W. M. 15, 16, 18, 33, 34, 35, 43, 174, 220, 227, 229, 230, 233, 243, 246, 265  
 — u. J. V. Davies 18, 35, 164, 174  
 — — u. G. W. Gilbert 54, 82, 89, 163, 174  
 — — — J. P. Keene u. L. H. Gray 227, 233  
 — — u. J. P. Keene 82, 89, 174  
 — — u. W. J. Meredith 18, 19, 35, 82, 89, 174  
 — — u. C. Russell 24, 35  
 — L. H. Gray u. W. J. Meredith 82, 89, 174, 219, 220, 223, 226, 233, 246, 265  
 — W. J. Meredith u. M. C. K. Tweedie 15, 35, 82, 89, 174  
 — u. C. Russell 224, 233  
 Dallam, R. D. s. Wang, T. Y. 382, 485  
 Dallenbach, F. s. Moos, W. S. 257, 268  
 Damashek, W. 356, 450  
 D'Amato, C. J. s. Hicks, S. P. 304, 346  
 D'Amato, F. 569, 620  
 — u. A. Gustafsson 25, 35, 560, 620  
 Dancewicz, A. M., u. B. Lipinski 388, 458  
 D'Angio, G. J., S. Farber u. C. L. Maddock 435, 458  
 Danielli, J. F. s. Ord, M. J. 476  
 Daniels, M. L., G. Scholes u. J. Weiss 563, 620  
 Darlington, C. D., u. J. McLeish 569, 620  
 — u. L. LaCour 517, 620  
 Darmois, E. 171  
 Darnell, J. E. s. Penman, S. 435  
 Das, N. K., u. M. Alfert 419, 458  
 Davey, K. G. 395, 458  
 Davidson, J. N. 423, 458  
 — s. Bishop, C. W. 380, 438, 439, 454  
 — s. Dickson, M. 413, 459  
 — s. Gray, E. D. 424, 463  
 Davies, A. K. s. Baum, S. J. 298, 343  
 Davies, H. G., u. P. M. B. Walker 458  
 — s. Richards, B. M. 379  
 Davies, J. V. 100  
 — s. Dale, W. M. 18, 19, 24, 35, 54, 82, 89, 163, 164, 174, 227, 233  
 Davies, K. S., u. J. A. Day 171  
 Davis, J. M. G. 437, 438, 458  
 Davis, T. W. s. Allen, A. O. 244, 264  
 Davis, W. E., u. L. J. Cole 360, 420, 421, 458  
 Davison, H. W. T. 136, 174  
 Davison, P. F. 383, 442, 458  
 — s. Freifelder, D. 447, 461  
 Dawis, A. W. s. Bernhardt, H. A. 173  
 Day, J. A. s. Davies, K. S. 171  
 Day, M. J., u. G. Stein 50, 154, 165, 174  
 — s. Stein, G. 223, 224, 235  
 Dean, C. s. Alexander, P. 434, 451  
 Debieerne, A. 13, 35, 65, 69, 84, 174  
 DeBruyn, P. P. H., u. M. M. Tornova-Svehlik 298, 344  
 — — u. J. H. Venter 361, 458  
 Deering, R. A. 450  
 DeFilippes, F. M. s. Guild, W. R. 10, 35  
 Delbrück, M. s. Luria, S. E. 551, 552, 624  
 — s. Timoféeff-Ressovsky, N. W. 499, 530, 627, 628  
 Delihás, N., u. H. J. Curtis 241, 265  
 — M. A. Rich u. M. L. Eidinoff 366  
 Dellweg, H. s. Wacker, A. 484  
 — s. Weygand, F. 570, 628  
 Demerec, M. 509, 553, 571, 572, 580, 620, 630  
 — G. Bertani u. J. Flint 572, 620

- Demerec, M. u. U. Fano 251, 265, 574, 630  
 — u. J. G. Farrow 604  
 — u. J. Hanson 571, 620  
 — B. P. Kaufmann u. E. Sutton 540, 620  
 — E. M. Witkin, E. L. Labrum, I. Galinsky, J. Flint Hanson, H. Monsees u. T. H. Fetherston 571, 620  
 — s. Bauer, H. 536, 618  
 Demin, N. N., u. N. V. Korneeva 392, 458  
 Demirchoglyan, G. G. s. Grigoryev, U. G. 404  
 — s. Lebedinsky, A. V. 403, 471  
 Dempster, E. R. 250, 265, 540, 620  
 — s. Zirkle, R. E. 252  
 Dendy, P. 428, 458  
 — s. Wildy, P. 485  
 Dendy, P. P., u. C. L. Smith 422, 458  
 — s. Newton, A. 416, 417, 475  
 — s. Smith, C. L. 481  
 Denier, A. 328, 344  
 Dent, C. E. s. Crumpler, M. R. 399, 458  
 Deringer, M. s. Lorenz, E. 300, 315, 349  
 Deschner, E. E., u. L. H. Gray 31, 35  
 — s. Gray, L. H. 259, 266  
 Deschner, J. W., u. L. H. Gray 259  
 Desdive, P. 361, 458  
 Desjardin, A. U. 405, 458  
 Dessauer, F. 3, 35, 171, 240, 450  
 Deufel, J. 523, 620  
 Devi, A. s. Sarkar, N. K. 433, 479  
 Devik, F. 412, 458  
 Dewey, D. L. s. Howard, A. 410  
 Dewey, W. C., u. R. M. Humphrey 361, 411, 412, 414, 458, 459  
 — s. Hsu, T. C. 467  
 — s. Humphrey, R. M. 467  
 Dewhurst, H. A. 79, 136, 174  
 — u. M. Burton 174  
 — A. H. Samuel u. J. L. Magee 79, 174  
 — s. Krenz, F. H. 82, 83, 178  
 — s. Laza, R. M. 80, 81  
 Diamond, A. E. 248  
 — s. Pollard, E. C. 268  
 Dickens, E. A. s. Shapiro, B. 51, 164, 181  
 Dickman, S. R. s. Barron, E. S. G. 216, 217, 227, 232, 246, 264  
 Dickson, M., J. Paul u. J. N. Davidson 413, 459  
 Dickson, M. S. H., u. J. Paul 415, 418, 459  
 Dieckmann, D., W. Dittrich, R. Reich u. G. Schubert 252, 265  
 Dienstbier, Z. s. Koloušek, J. 397, 470  
 — s. Pařízek, J. 399, 477  
 Dijken, D. G. s. Lamberts, H. B. 471  
 DiMinno, R. L. s. Oakberg, E. F. 476, 532, 625  
 DiPaollo, J. A., G. E. Moore u. T. F. Niedbala 435, 459  
 Dismukes, E. B., u. W. S. Wilcox 174  
 Dittmeyer, R. s. Maurer, H. J. 169, 178  
 Dittrich, W. 247, 253, 261, 262, 265, 278, 280, 344  
 — G. Höhne, W. Paul u. G. Schubert 249, 252, 265  
 — u. G. Schubert 417, 459, 553, 556, 620  
 — W. Paul, G. Salz u. G. Schubert 258, 265  
 — u. G. Schubert 258, 265  
 — u. H. Stuhlmann 31, 35  
 — s. Brandt, H. v. 250, 264  
 — s. Dieckmann, D. 252, 265  
 Dixon, M., u. E. C. Webb 231  
 Djordjevic, B., u. W. Szybalski 365, 459  
 Djukic, Z. s. Jammet, H. 398, 468  
 Dobben, G. D. s. DuSault, L. 320, 344  
 Dobson, R. L. 252, 265  
 Dodds, E. C. 397, 459  
 — u. J. H. D. Webster 397, 459  
 Dognon, A. 271, 292, 344  
 Dohan, F. C. s. Mendelsohn, M. L. 411, 412, 473, 474  
 Doll, R. s. Court-Brown, W. M. 535, 588, 610, 620, 630  
 Domagk, G. 437, 459  
 Domiger, J. s. Lorenz, E. 315, 349  
 Donaldson, D. M., u. N. Miller 89, 104, 174  
 — s. Armstrong, D. 173  
 — s. Hayon, E. 246, 267  
 Donalson, J. T. s. Edwards, J. L. 410, 459  
 Dondes, S. 48, 175  
 — s. Harteck, P. 95  
 Dorfman, L. M. 137, 175  
 — u. A. C. Wahl 175  
 Dorlet, C., A. van de Vorst u. A. J. Bertinchamps 407, 459  
 Dose, K. s. Rajewsky, B. 201, 213  
 Doudney, C. O. s. Hollaender, A. 509, 566, 622  
 Dougherty, White u. Chess 389  
 Douglas, C. H. s. Tapplin, G. V. 155, 181  
 Douglas, G. s. Howard, A. 419, 467  
 Doull, J. s. Tricou, B. J. 395, 484  
 Dounce, A. L., u. K. J. Monty 385, 445, 459  
 — s. Kay, E. R. M. 446, 468  
 — s. Monty, K. J. 382, 385, 474  
 Dowdy, A. H., L. R. Bennett u. S. M. Chastain 21, 35  
 Dowling, J. s. Becker, F. F. 453  
 Doyle, B. s. Setlow, R. 28, 37  
 Draganic, I. 160, 161, 175  
 Dragut, A. s. Drimus, I. 175  
 Drake, M. P., J. W. Giffee, D. A. Johnson u. V. L. Koenig 217, 233  
 Drakulić, M., u. E. Kos 427, 459  
 Dreher, K. s. Bauer, R. D. 444, 453  
 Drew, R. M., u. R. B. Painter 459  
 — s. Painter, R. B. 410  
 Dreyfus, G. s. Hevesy, G. 465  
 Drimus, I., G. Ioanid, A. Dragut, P. Vasileco u. V. Dumitresco 175  
 Drungis, A. s. Sallmann, L. v. 254, 269  
 Duane, W., u. O. Scheur 65, 70, 175  
 Dubinin, N. P., u. B. N. Sidorov 500, 620  
 Dubois, K. P., u. D. F. Petersen 369, 459  
 Duchesne, J. 459  
 Ducho, E.-G. s. Scholz, W. 303, 353  
 Dürwald, H. s. Perry, R. P. 477  
 Duffy, T. T., A. N. Arneson u. E. L. Voke 330, 344  
 Duflo, M. s. Haissinsky, M. 176  
 Dukor, P. 385  
 Dumitresco, V. s. Drimus, I. 175  
 Dunjic, A. s. Maisin, J. 298, 349  
 Dunn, D. B., J. D. Smight, S. Zamenhof u. G. Griboff 570, 620  
 Duran, L., u. A. L. Tappel 165, 175  
 Durant, A., u. K. Mather 582, 630  
 Durup, J. s. Durup, M. 175  
 Durup, M., J. Durup, F. Kuffer u. M. Magat 175  
 DuSault, L. 273, 320, 326, 333, 338, 344  
 — W. R. Eyler u. W. M. Burns 344  
 — u. G. D. Dobben 320, 344  
 — s. Nolan, T. F. 334, 350  
 Duschritz 406

- Dymond, B. s. Smith, H. 398, 482
- Earle, W. R. 414, 459
- Early, J. O. s. Kay, R. E. 397, 468
- Easterday, O. D. s. Bond, V. P. 241, 255, 264
- Eberhardt, K. 620
- Ebert, M. 227
- u. J. W. Boag 75, 175
- Shirley Hornsey u. Alma Howard 22, 35
- u. A. Howard 171, 246, 265, 450
- P. Howard-Flanders u. D. Moore 86, 175
- s. Berry, R. J. 374, 375, 418, 454
- s. Gray, L. H. 21, 31, 35, 247, 266, 463
- Edelman, A. s. Rörsch, A. 434, 479
- Edington, C. W. 259, 265, 540, 620
- s. Baker, W. K. 560, 618
- Edmonds, M. s. Abrams, R. 430, 451
- Edwards, J. H. 605, 630
- Edwards, J. L., A. L. Koch, P. Yongis, H. L. Freese, M. B. Leit u. J. T. Donalson 410, 459
- Ehrenberg u. Bhaskaran 245
- Ehrenberg, A., u. L. Ehrenberg 30, 35, 265, 459
- — u. K. G. Zimmer 175, 407, 459
- s. Sparrman, B. 30, 37
- s. Zimmer, K. G. 29, 38, 52, 182, 407, 486
- Ehrenberg, L. 25, 35, 569, 620
- u. Å. Gustafsson 569, 571, 620
- u. Kirby-Smith 247
- U. Lundqvist u. G. Ström 569, 620
- J. Moutschen-Dahmer u. M. Moutschen-Dahmer 571, 620
- u. E. Sealand 79, 97, 175
- u. K. G. Zimmer 266, 407, 459
- s. Ehrenberg, A. 30, 35, 175, 265, 407, 459
- s. Sparrman, B. 30, 37
- s. Zimmer, K. G. 29, 38, 52, 182
- Ehret, C. F. s. Powers, E. L. 24, 37
- Ehrlich, P. 31, 373
- Eibeler, H. s. Grassmann, W. 216, 234
- Eichel, H. E., u. M. A. Spirtes 429, 459
- Eichel, H. J. s. Roth, J. S. 479
- Eidinoff, M. L. s. Delihias, N. 366
- s. Hems, G. 169, 177
- s. Kim, J. H. 365, 469
- Eisenstadt, J. s. Brawerman, G. 435, 455
- Eisenstadt, J. M. s. Novelli, G. D. 432, 475
- Eldjarn, L. 233
- u. A. Pihl 189, 212, 218, 21 233
- — u. B. Shapiro 233
- s. Pihl, A. 217, 235
- s. Lange, R. 217, 219, 234
- s. Shapiro, B. 164, 181, 217, 235
- Eliezer, I., H. G. J. Hayman u. G. Stein 175
- Elkind, M. 320, 344
- u. H. Sutton 293, 294, 295, 298, 321, 331, 344, 345
- Elkind, M. M. 251, 459
- u. C. A. Beam 251, 266
- u. A. Han 367, 459
- — u. K. W. Volz 459
- u. A. Sutton 365, 459
- G. F. Whitmore u. T. Alescio 365
- s. Alper, T. 452
- s. Mohler, W. C. 366, 474
- Elliott, A. M., u. G. M. Clark 544, 620
- Elliott, K. s. Brenk, H. A. S. van den 395, 455
- Ellis u. Cole 445
- Ellis, F. 320, 333, 345
- L. G. Lajtha, R. Oliver u. E. J. Hall 366, 460
- s. Alper, T. 452
- s. Gray, L. H. 273, 322, 326, 341, 345
- s. Lajtha, L. G. 374, 410, 413, 418, 470, 471
- s. Suit, H. D. 394, 483
- Ellis, M. E. s. Cole, L. J. 380, 382, 438, 444, 445, 457
- s. Main, R. K. 444, 473
- s. Nowell, P. C. 259, 268
- Eltenton, G. C. 175
- Eltgen, D., R. Koch u. H. Langendorff 393, 460
- Eltzholtz, D. C. s. Cronkite, E. P. 556, 620
- Ely, J., M. H. Ross, R. G. Metcalf, F. A. Inda, T. B. Barnett u. G. W. Casarett 300, 345
- Emerson, P. s. Weiss, J. 205, 213
- Emmerson, P., G. Scholes, D. H. Thomson, J. F. Ward u. J. Weiss 384, 441, 445, 460
- Emery, E. W., B. G. B. Lucas u. K. G. Williams 32, 35
- Engelring u. Laskowski 382
- English, J. A. 405, 460
- Entenman, C. s. Jackson, K. L. 397, 468
- s. Kay, R. E. 397, 433, 468
- s. Payne, O. H. 376, 477
- Enzmann, E. V. s. Sax, K. 519, 564, 626
- Ephrati, E. s. Latarjet, R. 22, 36
- Ephrussi, B. s. Latarjet, R. 535, 545, 623
- Ephrussi-Taylor, H. S., u. R. Latarjet 22, 35, 559, 620, 621
- Erickson, J. O. s. Neurath, H. 215, 235
- Erikson, R. L., u. W. Szybalski 366, 460
- Ernst, H. 303, 345, 382, 386, 444, 460
- u. U. Hagen 460
- s. Hagen, U. 390, 391, 464
- s. Langendorff, H. 418, 422, 471
- s. Melching, H.-J. 396, 400, 473
- Errera, M. 204, 206, 212, 359, 376, 450
- A. Ficq, R. Logan, Y. Skrebu u. F. Vanderhaeghe 376, 436
- u. A. Forssberg 171
- s. Boudnitskaya, E. V. 376, 455
- s. Ficq, A. 376
- s. Kanazir, D. 439, 468
- s. Logan, R. 376, 436, 472
- s. Perry, R. P. 428, 437, 477
- Esch, H., H. Miltenburger u. O. Hug 289, 345
- s. Hug, O. 289, 303, 247
- Eschenbrenner, A. B., E. Miller u. E. Lorenz 300, 345
- s. Lorenz, E. 300, 315, 349
- Esnouf, M. P., M. G. Ord u. L. A. Stocken 360, 460
- Euler, H. v., u. G. v. Hevesy 357, 358, 416, 419
- u. B. Skarzynski 390, 460
- Euler, H. v., u. B. Skarzynski 390, 460
- s. Ahlström, L. 419, 451
- Evans, H. J. 361, 362, 460
- u. G. J. Neary 21, 35
- — u. F. S. Williamson 254, 266
- u. A. H. Sparrow 362, 460
- s. Neary, G. J. 250, 257, 260, 268, 362, 475
- s. Sparrow, A. H. 482
- Evans, J. H., D. J. Hoolbrook u. J. L. Irvin 460
- Evans, T. C. 241, 254, 255, 256, 266
- u. P. J. Leinfelder 241, 266
- R. D. Richards u. E. F. Riley 313, 314, 345
- s. Leinfelder, P. J. 254, 267

- Evans, T. C. s. Riley, E. F. 241, 269  
 Evensen, A., u. O. H. Iversen 412  
 Evington, C. W. s. Stapleton, G. E. 27, 37  
 Eyler, W. R. s. DuSault, L. 320, 344  
 Eyring, H. 63  
 — J. O. Hirschfelder u. H. S. Taylor 175  
 Faber, B. 331, 345  
 Fabergé, A. C. 493, 537, 563, 621  
 — u. G. H. Beale 509, 621  
 Failla, G. 237, 266, 590, 630  
 Fairchild, G. C. s. Gray, L. H. 273, 322, 326, 341, 345  
 Fairchild, L. M. s. Conger, A. D. 620  
 Fano, U. 250, 540, 621  
 — s. Demerec, M. 251, 265, 574, 630  
 Farber, S. s. D'Angio, G. J. 435, 458  
 Farrow, J. G. s. Demerec, M. 604  
 Fass, H., G. Höhne, W. Paul u. G. Schubert 266  
 Fassbender, R. W., u. R. H. Schuler 175  
 Fausto, N., T. Uchiyama u. J. L. van Lancker 425, 460  
 Favre, M., u. A. Zuppinger 313, 345  
 — s. Zuppinger, A. 254, 263, 270  
 Feder, B. H. s. Garcia, J. 302, 334, 345, 461  
 Fedorov, B. A. 395, 460  
 Feinendegen, L. E., u. V. P. Bond 379, 460  
 — — u. W. L. Hughes 460  
 — — W. W. Shreeve u. R. B. Painter 460  
 Feinstein, R. N. 460  
 — u. J. C. Ballin 460  
 — G. J. Cotter u. M. M. Hampton 33, 35  
 — s. Ballin, J. C. 387, 453  
 Feldes, J. G. s. Zinn, W. H. 73, 182  
 Feldman, A. s. Morkovin, D. 364, 474  
 Feller, R., W. Minder u. A. Liechti 155, 175  
 Fellows, C. H. s. Schoepfle, C. S. 136, 180  
 Feng, P. Y. 150, 175  
 Fenn, W. O., R. Gershman, D. L. Gilbert, D. E. Terwilliger u. F. V. Coehran 571, 621  
 Ferkel, R. L. s. Petrakis, N. L. 438, 477  
 Fernandez-Moran, H. J. 403, 460  
 Ferradini, C. s. Pucheault, J. 180  
 Ferrary, R. s. Heslot, H. 569, 622  
 Ferree, J. s. Hager, E. B. 299, 346  
 — s. Thomas, E. D. 298, 354  
 Ferroux, R., C. Regaud u. N. Samssonow 300, 345  
 — s. Regaud, C. 271, 300, 351, 352  
 Fetherston, T. H. s. Demerec, M. 571, 620  
 Fieq, A., u. M. Errera 376, 436  
 — s. Errera, M. 376  
 — s. Logen, R. 376, 436, 472  
 Field, F. H., u. J. L. Franklin 107, 171  
 — s. Lampe, R. W. 243, 267  
 Field, J. A. s. Norman, A. 441, 446, 475  
 Filinowsky, V. J., u. J. A. Chizmadzcew 171, 172  
 Fink, K., R. M. Cline, R. B. Henderson u. R. M. Fink 398, 460  
 — R. B. Henderson u. R. M. Fink 399, 460  
 Fink, R. M. s. Fink, K. 398, 399, 460  
 Finkel, M. P., u. B. O. Biskis 313, 345  
 — s. Brues, A. M. 312, 343  
 Firket, J. Chèvremont-Comhaire u. Chèvremont 409  
 Fisher, R. A. 582, 585, 630  
 Fisher, W. D. 384, 445, 460  
 — N. G. Anderson u. K. M. Wilbur 384, 445, 461  
 — s. Anderson, N. G. 384, 385, 445, 452  
 Fitsch, K. R. s. Clark, G. L. 50, 165, 174  
 Flaks, J. G. s. Cohen, S. S. 425, 457  
 Flaskamp s. Miescher 263  
 Fleischer, E. 49, 175  
 Fletcher, G. H. 335, 336, 345  
 — s. Okada, S. 229, 230, 235  
 Fliedner, T. M. 298, 345  
 — u. R. Stodtmeister 298, 345  
 — s. Rubini, J. R. 399, 479  
 Flint, J. s. Demerec, M. 572, 620  
 Flood, V. s. Barron, E. S. G. 164, 173  
 Flückiger, H. 397, 461  
 Focht, E. F. s. Merriman jr., G. R. 312, 313, 350  
 Förster, Th. s. Briegleb, G. 171  
 Foner, S. N. 175  
 Forbes, E. C. 503, 621  
 Ford, C. E. 518, 569, 621  
 — u. J. L. Hamerton 489, 621  
 — P. S. Jacobs u. L. G. Lajtha 621  
 Forssberg, A. 220, 223, 224, 233, 289, 345, 368, 419, 439, 440, 461  
 — u. G. Klein 409, 433, 439, 461  
 — u. R. Novak 368, 395, 461  
 — u. N. Nybom 565, 621  
 — V. Stankovic u. A. Pehap 368, 461  
 — s. Errera, M. 171  
 — s. Klein, G. 409, 436, 469  
 — s. Sherman, F. G. 481  
 — s. Sievert, R. 292, 353  
 Forssberg, A. G. s. Hevesy, G. C. de 377, 435, 450, 465  
 Forsyth, P. F. s. Weber, E. N. 142, 181  
 Foster, R., u. M. G. Ord 442, 461  
 Fowler, J. F., u. J. M. Lawrey 306, 345  
 — u. B. E. Stern 273, 320, 326, 332, 345  
 — s. Alper, T. 452  
 Fox, M. s. Alexander, P. 202, 205, 211, 212  
 Fraenkel-Conrat, H., B. A. Singer u. R. C. Williams 513, 621  
 Fränz, J. s. Koch, R. 407, 469  
 Francis, D. S. s. Henshaw, P. S. 290, 346  
 Franck, J., u. R. Platzman 2, 35  
 — s. Platzman, R. 196, 200, 213  
 Frankenthal s. Hochman, A. 394, 395, 466  
 Franklin, J. L. s. Field, F. H. 171  
 — s. Lampe, R. W. 243, 267  
 Franklin, N. C. s. Streisinger, G. 503, 627  
 Franklin, R. M. s. Reich, E. R. 435, 478  
 Franklin, T. J. 360, 461  
 Franzen F., H. Gross u. G. Thieliicke 396, 461  
 Freed, J. H. s. Kenneth, D. A. 348  
 Freeman, G. R., A. B. van Cleve u. J. W. T. Spinks 156, 175  
 Freese, E. s. Benzer, S. 502, 570, 618  
 Freese, F. 570, 621  
 Freese, H. L. s. Edwards, J. L. 410, 459  
 Frei, J. s. Aebi, H. 390, 451  
 Freifelder, D., u. P. F. Davison 447, 461  
 French, A. B., u. P. E. Wall 391, 461

- Frenkel, E. P. s. Sugino, Y. 483  
 Frenkel, J. 449, 461  
 Fresco, J. R. s. Bendich, A. 442, 454  
 Freund, H. G. s. Box, H. C. 52, 53, 54, 55, 173  
 Freund, W. 144, 175  
 Frey, J. G. s. Trautmann, J. 301, 354  
 Frick, G. 383, 461  
 Fricke, H. 13, 35, 76, 82, 175, 197, 212, 215, 234, 266, 557, 621  
 — u. E. R. Brownscombe 100  
 — u. E. J. Hart 93, 102, 158, 175  
 — — u. H. P. Smith 13, 18, 35, 96, 157, 158, 160, 161, 175  
 — W. Landmann, C. Leone u. J. Vincent 216, 234  
 — u. C. A. Leone 215, 234  
 — — u. W. Landmann 215, 234  
 — u. S. Morse 13, 15, 35, 49, 78, 79, 82, 83, 175, 245, 246  
 — s. Leone, C. A. 200, 213  
 Friedenwald, J. S., u. S. Sigelman 291, 345  
 Friedman, B. I. s. Berry, H. K. 454  
 Friedman, M., u. B. W. Pearlman 345  
 Friedmann, N. B. 299, 345  
 Friedrich, H. s. Briegleb, G. 171  
 Friedrich, W. s. Krönig, B. 271, 272, 327, 348  
 Frilley, M. 75, 76, 175  
 Fritz-Niggli, H. 249, 250, 252, 258, 266, 370, 461  
 — u. G. Bühler 461  
 Fröier, K., O. Gelin u. Å. Gustafsson 545, 621  
 Fukuda, H., u. T. Hashimoto 395, 461  
 Fuller, J. B. s. Moos, W. S. 257, 268  
 Funabashi, K. s. Magee, J. L. 178  
 Furchner, J. E. s. Storer, J. B. 241, 254, 255, 269  
 Furchtgott, E. 302, 345  
 Furlan, M. s. Hamilton, L. D. G. 390, 464  
 Furth, J., A. C. Upton, K. W. Christenberry, W. H. Benedict u. J. Mashman 588, 630  
 — s. Christenberry, K. W. 265  
 — s. Upton, A. C. 259, 269, 588, 632  
 Furth, J. J. s. Hurwitz, J. 435, 467, 468  
 Gabrusewycz, N. s. Cuna, A. B. da 615, 630  
 Gaddum, J. H. 396, 461  
 — u. M. W. Smith 397, 461  
 Gärtner, H. 253, 264, 266, 293, 345  
 Gäumann, T. 137, 140, 143, 175  
 — u. R. H. Schuler 140, 175  
 Gaither, N. T. s. Kimball, R. F. 560, 565, 567, 623  
 Gajdusek 382  
 Galinsky, I. s. Demerec, M. 571, 620  
 Gall, J. G., u. W. W. Johnson 420, 461  
 Gallico, E., u. B. Camerino 50, 166, 175  
 Gama, M. R. s. Cuna, A. B. da 615, 630  
 Gamble, J. L. 372  
 Garcia, C. 335  
 Garcia, J., N. A. Buchwald u. G. Barch-y-Rita 404, 461  
 — — B. H. Feder u. R. A. Koelling 302, 334, 345, 461  
 — — — u. C. Wakefield 461  
 — u. D. J. Kimeldorf 403, 461  
 — — u. E. L. Hunt 302, 345, 403  
 Garcia, M. 345  
 Gardella, J. W., u. E. J. Lichtler 409, 461  
 Garrison, H. M., H. R. Haymond u. B. M. Weeks 160  
 — — D. C. Morrison u. B. M. Weeks 160  
 Garrison, W. M., W. Bennett u. S. Cole 158, 175  
 — — — H. R. Haymond u. B. M. Weeks 158, 175  
 — — u. B. M. Weeks 158, 176  
 — H. R. Haymond, W. Bennet u. S. Cole 158, 176  
 — M. E. Jayko u. W. Bennett 219, 234  
 — D. C. Morrison, B. M. Weeks u. J. Gile-Melchert 158, 176  
 — — H. R. Haymond u. J. G. Hamilton 158, 159, 176  
 — u. G. K. Rollefson 158, 176  
 — s. Jayko, M. E. 177, 198, 202, 212, 217, 219, 234  
 — s. Weeks, B. M. 163, 182  
 Gartler, S. M. 398, 399  
 Gasanova, S. M. s. Rapoport, S. Y. 380  
 Gates, E. s. Miller, L. L. 389  
 Gaulden, M. E. 361, 432, 461  
 — u. R. P. Perry 461  
 — s. Carlson, J. G. 291, 343  
 Gautereaux, M. E. s. Bachofer, C. S. 289, 342  
 Gauwerky, F. 310, 311, 345  
 Gavrilova, A. A. s. Khvostova, W. W. 536, 622  
 Gay, H. s. Kaufmann, B. P. 564, 622  
 Gebhard, K. s. Curtis, H. J. 241, 256, 265, 315, 344  
 Gehrman, G. s. Okada, S. 217, 235  
 Geiduschek, E. P., T. Nakamoto u. S. B. Weiss 461  
 Geitler, L. 548, 621  
 Gelin, O. s. Fröier, K. 545, 621  
 Genna, S. s. Milvey, O. 80, 81  
 Georgiev, G. P., u. V. L. Mantieva 435, 461, 462  
 — s. Zbarskii, J. B. 377, 486  
 Gerbaulet, K., J. Brückner u. W. Maurer 376, 430, 462  
 Gerber, G. 450  
 — s. Gerber, G. B. 462  
 Gerber, G. B., G. Gerber u. K. I. Altman 462  
 — — — u. L. H. Hempelmann 462  
 Gernzell, C. A. s. Notter, G. 389, 401, 475  
 Gershman, R. s. Fenn, W. O. 571, 621  
 Geszti, O. 392, 462  
 — s. Sztanyik, L. 393, 483  
 Ghormley, J. A. 100, 176, 282, 345  
 — u. A. G. Stewart 77, 176  
 — s. Allen, A. O. 244, 264  
 — s. Hochanadel, C. J. 80, 81, 84, 97  
 — s. Lind, S. C. 172  
 Gierer, A., u. G. Scramm 513  
 Giesel, F. 65, 176  
 Giffey, J. W. s. Drake, M. P. 217, 233  
 Gilat, Y., u. G. Stein 176  
 Gilbert, C. W., S. Muldal, L. G. Lajtha u. J. Rowley 412, 462  
 Gilbert, D. L. s. Fenn, W. O. 571, 621  
 Gilbert, G. W. s. Dale, W. M. 54, 82, 89, 163, 174, 227, 233  
 Gilbert, J. G. F. s. Belcher, E. H. 393, 453  
 Gilbert, W., M. Cannon u. R. Crook 435, 462  
 — s. Gros, F. 377, 463  
 Gile-Melchert, J. s. Garrison, W. M. 158, 176  
 Giles, N. H. 253, 266, 505, 507, 508, 534, 535, 536, 539, 540, 542, 559, 561, 564, 621  
 — u. A. U. Beatty 621  
 — — u. H. P. Riley 558, 621  
 — u. A. D. Conger 542, 621  
 — u. E. Z. Lederberg 504, 621  
 — u. H. P. Riley 558, 559, 621  
 — s. Marinelli, L. D. 536, 624

- Giles jr., N. H. 21, 35  
 — u. A. D. Conger 241, 266  
 — u. H. P. Riley 21, 35  
 — s. Conger, A. D. 265  
 Gillespie, T. L. s. Shalek, R. J. 202, 213  
 Gillies, N. E. s. Alper, T. 452  
 Ginoza, W., u. A. Norman 11, 28, 35  
 — s. Norman, A. 11, 37, 475  
 Girvin, A. 580, 630  
 Girvin, E. C., u. J. K. Hampton 393, 462  
 Gitlin, D., S. L. Commerford, E. Amsterdam u. W. L. Hughes 375, 462  
 Gjessing, E., u. S. Warren 399, 462  
 Glas, U., u. L. Révész 363, 462  
 — s. Révész, L. 479  
 Glass, A. L. 168, 176  
 Glass, B. 608, 630  
 — u. R. K. Ritterhof 580, 630  
 Glass, H. B. 517, 621  
 Glauner, R. s. Rohrschneider, W. 313, 352  
 Glauser, O. s. Zuppinger, A. 263, 270  
 Glegg, R. E. 212  
 Glock, G. E., u. P. McLean 370, 462  
 Glocker, R., H. Langendorff u. A. Reuss 271, 345  
 — u. O. Riese 176  
 — u. O. Risse 13, 35  
 — O. Rothacker u. W. Schönléber 290, 345  
 — s. Baumeister, L. 144, 173  
 Glockler, G. 176  
 — u. S. C. Lind 172  
 — u. F. W. Martin 176  
 Glogner, P. s. Holzer, H. 467  
 Glotzer, D. s. Spargo, B. 406, 482  
 Glover, S. W. 580, 630  
 Glücksmann, A. 586, 630  
 — s. Cherry, C. P. 305, 457  
 — s. Spear, F. G. 292, 341, 353  
 Gold, L. s. Brawerman, G. 435, 455  
 Gold, M., C. W. Helleiner u. M. Percy 428, 462  
 Gold, R. s. Baserga, R. 410, 453  
 Goldblith, S. A., B. E. Proctor, J. R. Hogness u. W. H. Langham 431, 462  
 Goldblith, S. E. s. Proctor, B. E. 169, 180  
 Goldfeder, A. 31, 35, 462  
 Goldstein, L. s. Murphy, D. P. 595, 631  
 Gooch, P. C. s. Bender, M. A. 318, 343, 365, 454  
 Goodward, M. B. E. 549, 621  
 Gordon, S., u. M. Burton 139, 140, 176  
 — u. E. J. Hart 73, 76, 108, 176  
 — s. Hart, E. J. 48, 79, 176  
 Gordon, S. A. 388, 462  
 — u. E. Buess 388, 462  
 — u. P. P. Weber 389, 462  
 Gordy, W. 462  
 — W. B. Ard u. H. Shields 10, 29, 35, 55, 176, 212, 407, 462  
 — u. I. Miyagawa 165, 176, 203, 212  
 — u. H. Shields 201, 203  
 — W. V. Smith u. R. F. Trambarulo 29, 35  
 — s. Luck, C. F. 55, 178  
 — s. Patten, F. 149, 179  
 — s. Shields, H. 149, 165, 181, 208, 213, 407, 481  
 Gorizontov, P. 462  
 Gorodeckij, A. A. s. Timofeevskij, A. D. 319, 354  
 Gossler, M. v. s. Hilz, H. 429, 430, 434, 466  
 Goutier, R. 450, 462  
 — u. I. Bologna 428, 462  
 Goutier-Pirotte, M. 462  
 Gowans, J. L. 361, 462  
 Gowen, J. W., u. J. Stadler 314, 345  
 Gower, J. S. s. Russell, W. L. 592, 593, 632  
 Goyer, R. A., M. W. Yin u. D. H. Bowden 398, 462, 463  
 Graebner, H. s. Barth, G. 319, 342  
 Graefe, C. J. s. Pugh, R. P. 356, 478  
 Graham, A. F. s. Whitmore, G. F. 485  
 Grahn, D., u. G. A. Sacher 241, 266  
 — s. Leshner, S. 312, 349  
 — s. Quevedo jr., W. C. 332, 351  
 Grant, G. A. s. Armstrong, W. A. 167, 173  
 Grant, P. M. s. Barker, S. A. 210, 212  
 Grassmann, W., O. v. Schoenebeck u. H. Eibeler 216, 234  
 Grav, H. J., u. R. M. S. Smellie 424, 463  
 Gray, E. D., S. M. Weissman, J. D. Richards, D. Bell, H. M. Keir, R. M. S. Smellie u. J. N. Davidson 424, 463  
 Gray, J. L., J. T. Tew u. H. Jensen 395, 463  
 Gray, L. H. 6, 21, 22, 23, 27, 31, 35, 217, 226, 234, 237, 242, 243, 244, 247, 253, 255, 266, 341, 345, 364, 406, 463  
 — u. W. Boag 76  
 — H. B. Chase, E. E. Deschner, J. W. Hunt u. O. C. A. Scott 259, 266  
 — A. D. Conger, M. Ebert, S. Hornsey u. O. C. A. Scott 21, 31, 35, 247, 266, 463  
 — F. Ellis, G. C. Fairchild u. E. Paterson 273, 322, 326, 341, 345  
 — u. J. Read 252, 257, 266, 295, 345, 346, 463  
 — — u. H. Liebmann 406, 463  
 — — u. M. Poynter 266  
 — u. M. E. Scholes 257, 266, 362  
 — s. Crabtree, H. G. 358, 457  
 — s. Dale, W. M. 82, 89, 174, 219, 220, 223, 226, 227, 233, 246, 265  
 — s. Deschner, E. E. 31, 35, 259  
 — s. Hunt, J. W. 177  
 — s. Kotval, J. P. 519, 535, 623  
 — s. Latarjet, R. 229, 234  
 — s. Spear, F. G. 5, 37  
 — s. Tansley, K. 253, 254, 269  
 — s. Thomlinson, R. H. 31, 37  
 Green, E. L. 594, 630  
 Green, H. S. 172  
 Green, K. C. s. Green, M. M. 503, 621  
 Green, M. M., u. K. C. Green 503, 621  
 — s. Lefever, G. 504, 623  
 Greenfieldt, M. A. s. Pearse, M. L. 298, 351  
 Greenstein, I. P. s. Neurath, H. 215, 235  
 Greenstein, J. P. 390, 463  
 — s. Taylor, B. 203, 213  
 Greer, S., u. S. Zamenhof 366, 434, 463  
 Gregg, J. s. Czerwenka, C. 299, 344  
 Greinacher, H. 74, 176  
 Griboff, G. s. Dunn, D. B. 570, 620  
 Gricoureff, G. s. Lacassagne, A. 361, 405, 470  
 Griffin, E. G., u. E. L. Alpen 393, 463  
 Griffith, H. D. s. Zimmer, K. G. 509, 629  
 Griffiths, D. E. 431, 463  
 Griforyev, Y. G. 463  
 Grigoryev, U. G. 304  
 — u. G. G. Demirchoglyan 304

- Grigoryev, U. G. s. Lebedinsky, A. V. 403, 471
- Grimmett, L. G. s. Spear, F. G. 290, 291, 353
- Grisham, J. W. 423, 463
- s. Leong, G. Y. 305, 349
- Gronow, M. 363, 463
- Gros, F. 432, 463
- H. Hiatt, W. Gilbert, C. G. Kurland, R. W. Risebrough u. J. D. Watson 377, 463
- Gross, H. s. Franzen, F. 396, 461
- Gross, W. s. Rossi, H. H. 275, 352
- Grossmann, V. 392, 463
- Grossweiner, I. I., u. M. S. Matheson 77, 176
- Grundmann, E. 361, 412, 463
- u. H. Sieburg 379, 463
- s. Hobik, H. P. 379, 466
- s. Marquardt, H. 473
- Gruneberg, H. 502, 622
- Günther, P., u. L. Holzapfel 73, 176
- H. D. von der Horst u. G. Cronheim 50, 143, 176
- s. Cronheim, G. 174
- Guild, W. R. 9, 10
- u. F. M. de Filippes 10, 35
- s. Pollard, E. C. 9, 37, 240, 268
- Gulyas, S. s. Whitmore, G. F. 359, 374, 409, 410, 485
- Gunderson, R. W. s. Baclesse, H. 342
- Gundhard, H. M. s. Adams, J. D. 561, 618
- Gunter, S. s. Kohn, H. I. 241, 254, 258, 267
- Gunz, F. W. 440, 463
- Gurer, A., u. G. Schramm 622
- Gurtner, P. s. Minder, W. 50, 51, 79, 80, 81, 82, 155, 179
- Gusberg, S. B., H. M. M. Tovell, M. Long u. J. C. Hill 438, 463
- Gustafsson, Å. 25, 36, 583, 630
- s. Ehrenberg, L. 569, 571, 620
- s. Fröier, K. 545, 621
- s. D'Amato, F. 25, 35, 560, 620
- Guttes, S. s. Nygaard, O. F. 427, 475, 476
- Guttman, P. H., u. H. I. Kohn 360, 463
- Guzman, J. 63
- Gwatkin, R. B. L. s. Whitmore, G. F. 485
- Haas, L. L., J. S. Laughlin u. R. A. Harvey 263, 266
- Haddow, A., u. P. Alexander 356, 463
- Hämmerling, J. 491, 622
- Hagen jr., C. W., u. E. L. Simmons 305, 315, 346
- Hagen, U. 359, 381, 382, 383, 387, 390, 402, 411, 422, 434, 443, 447, 449, 450, 463, 464
- u. H. Braun 359, 382, 464
- H. Ernst u. I. Cepicka 390, 391, 464
- u. R. Koch 33, 36
- — u. H. Langendorff 464
- u. Langendorff 248, 266, 464
- s. Ernst, H. 460
- s. Langendorff, H. 418, 422, 471
- Hager, E. B., J. Ferree u. E. D. Thomas 299, 346
- Haines, R. B. s. Lea, D. E. 251, 252, 267
- Haissinsky, M. 93, 99, 172, 176, 450
- u. M. Duflo 176
- u. M. Lefort 93, 94, 95, 100, 176
- u. M. Magat 108, 176
- s. Cottin, M. 93, 94, 174
- s. Lefort, M. 97, 98
- s. Pagés, M. 179
- Hajducovic, S. 464
- Halberstaedter, L. s. Back, A. 526, 618
- Haldane, J. B. S. 612, 630
- Hale, C. H., u. G. W. Holmes 334, 335, 346
- Hale, W. M., u. R. D. Stoner 464
- s. Stoner, R. D. 482
- Haley, T. J. 302, 346, 403, 464
- u. R. S. Snider 289, 302, 346
- Hall, B. V., K. Hamilton u. A. M. Brues 31, 36
- Hall, E. J., s. Ellis, F. 366, 460
- Hall, V. C. s. Zinn, W. H. 73, 182
- Halle, E. S. v. s. Baker, W. K. 540, 559, 560, 618
- Hamann, H. s. Holthausen, H. 321, 323, 327, 328, 346
- Hamashima, M., M. P. Reddy u. M. Burton 176
- Hamerton, J. L. s. Ford, C. E. 489, 621
- Hamil, W. H. s. Meisels, G. G. 134, 178
- s. Zubler, E. 182
- Hamill, W. H. s. Burton, M. 242, 243, 265
- s. Magee, I. L. 243
- s. Pottie, R. F. 180
- Hamille, W. H. s. Barker, R. 128, 173
- Hamilton, J. G. s. Garrison, W. M. 158, 159, 176
- Hamilton, K. s. Hall, B. V. 31, 36
- Hamilton, L. D. 438, 440, 450, 464
- Hamilton, L. D. G., M. Furlan u. P. Alexander 390, 464
- s. Alexander, P. 198, 200, 202, 212
- Hampton, J. K. s. Girvin, E. C. 393, 462
- Hampton, M. M. s. Feinstein, R. N. 33, 35
- Han, A. s. Elkind, M. M. 367, 459
- Hanak, M. s. Karczag, L. 169, 177
- Hann, J. s. Holzer, H. 391
- Hannan, R. S. 172
- Hanson, J. s. Demerec, M. 571, 620
- Hanson, J. Flint s. Demerec, M. 571, 620
- Harbers, E. 373, 377, 416, 450, 464
- u. R. Backmann 412, 418, 442, 464
- u. C. Heidelberger 376, 464
- s. Bosch, L. 425, 455
- Harder, D., u. O. Hug 283, 284, 346
- Hardwick, T. J. 50, 89, 97, 99, 160, 176
- Hardy, W. B., u. E. G. Willcock 176
- Harker, G. 176
- Haroldson, R. O. s. Zinn, W. H. 73, 182
- Harrell, J. R. s. Wiley, R. H. 143, 182
- Harrington, H. 355, 374, 447, 464
- u. P. E. Lavik 415, 464
- u. M. Ricanati 448, 464
- Harrington, N. G. s. Carlson, J. G. 291, 343
- Harrington, N. J., u. R. W. Koza 386, 464
- Harrington, W. J. s. Pugh, R. P. 356, 478
- Harris, D. C. s. Kay, R. E. 468
- Harris, E. B. s. Belcher, E. H. 453
- Harris, H. 379, 399, 437, 450, 464
- u. J. W. Watts 437, 464
- s. Crumpler, M. R. 399, 458
- Harris, M. D. s. Logie, L. C. 307, 349
- Harris, P. F. 298, 346
- Harris, P. S. s. Storer, J. B. 241, 254, 255, 269
- Harris, R. J. C. 359, 450
- Harrison, B. s. Anderson, R. S. 168, 173
- Harsh, G. R. s. McLaurin, R. L. 303, 349, 350
- Hart, E. J. 75, 76, 101, 102, 103, 104, 108, 158, 176, 245, 266
- u. J. W. Boag 14, 36, 183, 212

- Hart, E. J. u. S. Gordon 48, 79, 176  
 — W. H. Koch, B. Petree, J. H. Schulman, S. J. Taimuto u. H. O. Wyckoff 80, 81  
 — u. M. S. Matheson 76, 79, 100, 177  
 — u. R. L. Platzman 43, 120, 153, 159, 172  
 — W. J. Ramler u. S. R. Rocklin 79, 86, 177  
 — u. R. Walsh 101, 102  
 — s. Anderson, A. R. 84, 91, 172  
 — s. Fricke, H. 13, 18, 35, 93, 96, 102, 157, 158, 160, 161 175  
 — s. Gordon, S. 73, 76, 108, 176  
 — s. McDonell, W. R. 89, 178  
 — s. Senvar, C. B. 72, 180  
 — s. Thomas, J. K. 108, 181  
 Harteck, P., u. S. Dondes 95  
 Hartmann, K.-U., u. C. Heidelberg 425, 464  
 Hartweg, H., u. G. Böwing 465  
 Harvey, R. A. s. Haas, L. L. 263, 266  
 — s. Moos, W. S. 257, 268  
 Hashimoto, T. s. Fukuda, H. 395, 461  
 Hasterlik, R. J., u. L. D. Marinelli 397, 465  
 — s. Katz, E. J. 468  
 Hauschka, T. S. 363, 434, 465  
 Haut, W. F. s. Taylor, J. H. 425, 483  
 Hawirko, R. s. Newcombe, H. B. 553, 625  
 Haybittle, J. L., R. D. Saunders u. A. J. Swallow 89, 177  
 — s. Mitchell, J. S. 370, 474  
 Hayden, B., u. L. Smith 560, 622  
 Hayman, H. G. J. s. Eliezer, I. 175  
 Haymond, H. R. s. Garrison, H. M. 160  
 — s. Garrison, W. M. 158, 159, 175, 176  
 Haynes, R. H. 366  
 — W. R. Inch u. R. B. Uretz 465  
 Hayon, E., G. Scholes u. J. Weiss 165, 177  
 — J. Weiss, D. Armstrong, E. Collinson, F. S. Dainton, D. M. Donaldson u. N. Miller 246, 267  
 — s. Armstrong, D. 173  
 Hechter, H. H. s. Bond, V. P. 241, 255, 264  
 Heeren, I. G. 297, 346  
 — u. E. Müller 329, 346  
 Hegllein, A. 170, 177  
 Hegyeli, A. s. Szent-Györgyi, A. 483  
 Heidelberger, C. 425, 465  
 — s. Bosch, L. 425, 455  
 — s. Harbers, E. 376, 464  
 — s. Hartmann, K.-U. 425, 464  
 Heineke, H. 359, 361, 465  
 Heiniger, J. P., u. H. Aebi 465  
 — s. Aebi, H. 390, 451  
 Heinrich, H. L. s. Schmermund, H. J. 252, 253, 269  
 Heisenberg, W. 115  
 Heitler, W. 113  
 Hektoen, L. 356, 358, 465  
 Helde, M. 289, 346, 405, 465  
 Hell, A. s. Perry, R. P. 428, 437, 477  
 Hell, E., R. J. Berry, u. L. G. Lajtha 416  
 — s. Berry, R. J. 374, 375, 418, 454  
 — s. Lajtha, L. G. 394, 470  
 Helleiner, C. W. s. Gold, M. 428, 462  
 Hellerman, R., M. E. Perkins u. W. M. Clark 225, 234  
 Helmert, E. s. Maschmann, E. 216, 234  
 Helmlin, W. 177  
 Hemingway, J. T. 362, 465  
 Hempelmann, L. H., H. Lisco u. J. G. Hoffman 397, 401, 465  
 — s. Gerber, G. B. 462  
 — s. Knowlton, N. P. 360, 469  
 — s. Okada, S. 424, 476  
 — s. Sarkar, N. K. 433, 479  
 Hemphill, C. A. s. Myers, D. K. 424  
 Hems, G. 205, 212, 446, 465  
 — u. M. L. Eidinoff 169, 177  
 Henderson, R. B. s. Fink, K. 398, 399, 460  
 Henderson, W. J. s. Moos, W. S. 257, 268  
 Henglein, A., u. Ch. Schneider 29, 36, 177  
 Hengstenberg, J., u. E. Schuch 432, 465  
 Henke, H., H. Mass u. G. Schubert 465  
 Hennessy, T. G., u. R. L. Huff 392, 465  
 Henri, V. 11, 36  
 — u. A. Mayer 407, 465  
 Henriksen, T., u. A. Pihl 177, 407  
 — T. Sanner u. A. Pihl 203, 212  
 — s. Prydz, S. 407, 478  
 Henriksson, H. O. s. Lüning, K. G. 509, 539, 563, 567, 624  
 Henshaw, P. S. 290, 346, 523, 524, 543, 622  
 — u. D. S. Francis 290, 346  
 — E. F. Riley u. G. E. Stapleton 241, 256, 259, 267, 307, 312, 315, 346  
 Henshaw, P. S., R. S. Snider u. E. F. Riley 312, 315, 346  
 — s. Roesler, H. 292, 352  
 Hentz, R. R., u. M. Burton 140, 177  
 Henze, A. s. Lüning, K. G. 563, 624  
 Herovici, C., u. C. X. An 438, 439, 465  
 — s. Ritter, H. 438, 470  
 Herriott, R. N. 215, 234  
 Hershey, A. D. 513, 622  
 — u. E. Burgi 383  
 Herskowitz, I. H. s. Kurnick, N. B. 502, 623  
 Herskowitz, J. H. s. Muller, H. J. 581, 631  
 Hertwig, P. 596, 630  
 — u. H. Brenneke 574, 630  
 Herve, A. s. Alexander, P. 211  
 — s. Nizet, A. 475  
 Herve, H. s. Bacq, Z. M. 395, 453  
 Heslot, H., u. R. Ferrary 569, 622  
 Hess, E. L., u. S. E. Lagg 465  
 Heston, W. E. s. Lorenz, E. 300, 315, 349  
 Heuse, O. s. Rajewsky, B. 304, 351  
 Hevesy, G., u. R. Bonnichsen 394, 465  
 — u. G. Dreyfus 465  
 — s. Bonnichsen, R. 455  
 Hevesy, G. C. de 358, 415, 416, 433, 449, 465  
 — u. A. G. Forsberg 377, 435, 450, 465  
 — — u. J. D. Abbatt 450  
 Hevesy, G. v. s. Ahlström, L. 419, 451  
 — s. Euler, H. v. 357  
 Hewitt, D. s. Stewart, A. 588, 589, 632  
 Hewitt, H. B. 465  
 — u. J. Read 559, 622  
 — u. C. W. Wilson 364, 465  
 Heydrich, E. s. Minder, W. 50, 51, 79, 80, 81, 82, 155, 158, 179  
 Heyningen, R. van, A. Pirie u. J. W. Boag 360, 466  
 — s. Pirie, A. 360, 477  
 Heyringen, R. van s. Pirie, A. 217, 235  
 Heys, H. L. 172  
 Hexan u. Mohler 74  
 Hiatt, H. s. Gros, F. 377, 463  
 Hiatt, H. H. 435, 466  
 — s. T. B. Bojarski 424, 466  
 Hickman, J., u. G. Ashwell 452  
 Hickman, S., u. G. Ashwell 369, 466  
 Hicks, S. P. 361, 466  
 — u. K. A. Wright 304, 346  
 — — u. C. J. D'Amato 304, 346

- Higa, A. s. Levingthal, C. 471  
Hilding, G. s. Révész, L. 479  
Hill, B. s. Scaife, J. F. 368, 369, 480  
Hill, J. C. s. Gusberg, S. B. 438, 463  
Hilz, H., u. H. Berndt 430, 466  
— M. v. Gossler, M. Oldekop u. M. Scholz 429, 466  
— B. Hubmann, M. Oldekop u. M. v. Gossler 429, 434  
— — — M. Scholz u. M. v. Gossler 430, 466  
Hindley, J. 435, 466  
Hine, G. J., u. G. L. Brownell 172  
Hine, J. 172  
Hipple, J. A. 177  
Hirota, K. s. Meshitsuka, G. 179  
Hirsch, J. D. s. Kelly, L. S. 408, 409, 413, 422, 469  
Hirschfelder, J. O. 113, 177  
— C. F. Curtiss u. R. Bird 172  
— s. Eyring, H. 175  
Hjort, G. 359, 466  
Hnilica, L. S., u. D. Billen 435, 466  
Hoagland, M. B. 432, 466  
Hobik, H. P., u. E. Grundmann 379, 466  
Hochanadel, C. J. 76, 100, 245  
— u. Ghormley, J. A. 80, 81, 84, 97  
— u. S. C. Lind 177  
— s. Allen, A. O. 244, 264  
— s. Lind, S. C. 172  
Hochman, A. 394, 466  
— u. L. Bloch-Frankenthal 394, 395, 466  
Hockwin, O. s. Bergeder, H.-D. 405, 454  
Hodnett, J. L. s. Muramatsu, M. 379, 475  
Höfert, M. 282, 346  
Höhne, G., H. A. Künkel, H. Maass, G. H. Rathgen u. G. Uhlmann 466  
— u. G. Schubert 249, 258, 267  
— s. Bertram, C. 249, 264  
— s. Dittrich, W. 249, 252, 265, 417, 459, 553, 556, 620  
— s. Fass, H. 266  
— s. Maass, H. 429, 430, 472  
Hölzel, F., H. Maass u. W. Schmack 466  
Hoene, R. E. s. Slatiss, H. M. 613, 614, 632  
Hoffman, J. G. s. Hempelmann, L. H. 397, 401, 465  
— s. Knowlton, N. P. 360, 469  
Hofmann, D. 293, 346  
— u. R. K. Kepp 293, 346  
— u. K. Müller 292, 346  
— s. Clemens, H. 333, 344  
Hogan, V. D. s. Allen, A. O. 172  
Hogness, J. R. s. Goldblith, S. A. 431, 462  
Hoigné, J. 177  
Hokin, L. E. s. Hokin, M. R. 433, 466  
Hokin, M. R., u. L. E. Hokin 433, 466  
Holbrook, D. J. s. Evans, J. H. 460  
Holfelder, H. 324, 328, 346  
Hollaender, A. 172, 246, 267, 361, 384, 386, 405, 432, 445, 450, 466, 517, 622  
— D. Billen u. C. O. Doudney 509, 566, 622  
— C. E. Stapleton, u. F. L. Martin 21, 22, 36  
— s. Carlson, J. G. 291, 344  
— s. Kaufmann, B. P. 564, 622  
— s. Stapleton, G. E. 25, 37, 252, 269, 286, 353, 532, 540, 560, 627  
— s. Swanson, C. P. 564, 627  
— s. Taylor, B. 203, 213  
Hollcroft, J. W., E. Lorenz u. M. Matthews 31, 36  
Holmes, B. s. Collinson, E. 223, 233  
— s. Lea, D. E. 220, 234  
Holmes, B. E. 358, 373, 374, 376, 413, 416, 417, 422, 429, 450, 466  
— u. L. K. Mee 374, 413, 422, 433, 466  
— s. Cater, D. B. 374, 413, 422, 456  
— s. Loney, W. B. 413  
— s. Mitchell, J. S. 451  
Holmes, G. W. s. Hale, C. H. 334, 335, 346  
Holthusen, H. 11, 20, 36, 267, 271, 273, 292, 323, 326, 329, 346, 356, 467, 547, 622  
— u. R. Braun 272, 346  
— u. H. Hamann 321, 323, 327, 328, 346  
— u. C. Zweifel 11, 36  
Holzapfel, L. s. Günther, P. 93, 176  
Holzer, H., P. Glogner u. G. Sedlmayr 467  
— J. H. Hann u. S. Schneider 391  
— u. G. Sedlmayr 429  
— — — u. A. Kemnitz 467  
— s. Kröger, H., 429, 470  
Honig, R. E., u. C. W. Shepard 134, 177  
Hood, S. L. s. Norris, G. 365, 475  
Hooser, E. N. van s. Logie, L. C. 307, 349  
Hope, D. B. 395, 467  
Hopkins, J. W. s. McConkey, E. H. 379, 473  
Hopwood, F. C., u. J. T. Phillips 407, 467  
Horgan, V. J. s. Philpot, J. St. L. 183, 213  
Horikawa, M. s. Ueno, Y. 363, 484  
Horn, E. C. 258, 267  
Horne, A. S. 548, 550, 622  
Hornsey, Shirley s. Ebert, M. 22, 35  
Hornsey, S. 467  
— u. A. H. Howard 410  
— u. G. Silini 467  
— s. Gray, L. H. 21, 31, 35, 247, 266, 463  
Horst, H. D. von der s. Günther, P. 50, 143, 176  
Hoskinson, P. E., u. T. S. Osborne 25, 26, 36  
Hotta, Y., u. H. Stern 428, 467  
— s. Sampson, M. 420, 479  
Hotz, G. s. Müller, A. 268  
— s. Zimmer, K. G. 270  
Houtermans, T. 27, 36  
Howard, Alma s. Ebert, M. 22, 35  
Howard, A. 359, 373, 408, 410, 422, 467  
— u. D. L. Dewey 410  
— u. G. Douglas 419, 467  
— u. S. R. Pelc 373, 408, 410, 411, 413, 420, 422, 467  
— s. Ebert, M. 171, 246, 265, 450  
— s. Hornsey, S. 410  
— s. Pelc, S. R. 373, 374, 477  
— s. Tansley, K. 253, 254, 269  
Howard-Flanders, P. 23, 24, 36  
— u. T. Alper 27, 33, 36, 259  
— u. R. P. Boyce 467  
— — — u. L. Theriot 434  
— J. Levin u. L. Theriot 467  
— u. D. Moore 22, 36, 559, 622  
— u. O. C. A. Scott 467  
— u. E. A. Wright 32, 36  
— s. Alper, T. 24, 28, 34, 245, 253, 260, 264  
— s. Ebert, M. 86, 175  
Hsu, T. C. 467  
— W. C. Dewey u. R. M. Humphrey 467  
— u. D. S. Kellogg jr. 467  
— u. C. E. Somers 467  
— — — u. A. Cole 383  
— s. Somers, C. E. 482  
Huber, W. 177, 275, 282, 347  
— s. Brasch, A. 275, 282, 343  
Hubert, R. 357, 358, 467  
Hubmann, B. s. Hilz, H. 429, 430, 434, 466  
Hudson, J. A., u. D. B. Cater 434, 467  
Huff, R. L. s. Hennessy, T. G. 392, 465

- Hug, O. 273, 283, 286, 287, 288, 289, 302, 305, 322, 347, 397, 401, 405, 450, 467  
 — u. A. Kellerer 278, 293, 347  
 — u. H. Miltenburger 289, 347  
 — — u. H. Esch 289, 303, 347  
 — u. L. Schachinger 231, 234  
 — u. H.-J. Schliep 288, 347, 405, 467  
 — u. I. Wolf 283, 284, 347  
 — s. Esch, H. 289, 345  
 — s. Harder, D. 283, 284, 346  
 — s. Kellerer, A. 278, 280, 283, 348  
 Hughes, E. O. s. James, A. P. 617  
 Hughes, W. F. s. McDonald, J. E. 254, 268  
 Hughes, W. L., V. P. Bond, G. Brecher, E. P. Cronkite, R. B. Painter, H. Quastler u. F. G. Sherman 467  
 — s. Feinendegen, L. E. 460  
 — s. Gitlin, D. 375, 462  
 — s. Rubini, J. R. 479  
 Hughes-Schrader, S., u. H. Ris 548, 549, 550, 622  
 Hulse, E. V. 303, 347, 396, 467  
 Hummel, R. W., u. J. W. T. Spinks 83, 177  
 Humphrey, R. M., W. C. Dewey u. A. Cork 467  
 — s. Sinclair, W. W. 393, 481  
 — s. Blackwell, L. H. 393, 455  
 — s. Dewey, W. C. 361, 411, 412, 414, 458, 459  
 — s. Hsu, T. C. 467  
 Hunstein, W. s. Stutz, E. 313, 353  
 Hunt, E. L., u. D. S. Kimeldorf 403, 467  
 — s. Garcia, J. 302, 345, 403  
 — s. Smith, J. C. 405, 482  
 Hunt, J. W., L. H. Gray u. J. W. Boag 177  
 — s. Gray, L. H. 259, 266  
 Huntley, G. H., u. L. G. Lajtha 374, 375, 417, 418, 467  
 Hurlbert, R. B. s. Takahashi, T. 435, 483  
 Hursh, J. B. 314, 347  
 — u. G. W. Casarett 305, 347  
 Hurst, G. S. s. Upton, A. C. 259, 269  
 Hurwitz, J., J. J. Furth, M. Malmay u. M. Alexander 435, 467, 468  
 Huseby, R. A. s. Barnum, C. P. 453  
 — s. Vermund, H. 376, 484  
 Hussey, R. G., u. W. R. Thompson 214, 234  
 Hustrulid, A. s. Mann, A. K. 66  
 Hutchinson, F. 26, 36, 177, 202, 212  
 Hutchinson, F. u. E. Mosburg 228, 234  
 — A. Preston, u. B. Vogel 26, 36, 220, 234, 247, 262, 267  
 — u. D. A. Ross 177  
 — s. Braams, R. 11, 34, 203, 212  
 — s. McNulty, W. 228, 234  
 — s. Pollard, E. C. 9, 37  
 Hutchinson, R. s. Pollard, E. C. 240, 268  
 Hyde, B. B. s. Birnstiel, M. L. 435, 454  
 Hyman, G. A. s. Loeffler, R. K. 393, 472  
 Iaea 172  
 Ichijima, K. 523, 622  
 Inch, W. R. s. Haynes, R. H. 465  
 Inda, F. A. s. Ely, J. 300, 345  
 — s. Metcalf, R. G. 300, 350  
 Ilg, E. 50, 166, 167, 177  
 Ingraham, F. D. s. McLaurin, R. L. 303, 349, 350  
 Ingram, D. J. E. 172, 195, 212  
 Ingram, M. s. Spertzel, R. O. 482  
 Ioanid, G. s. Drimus, I. 175  
 Irvin, J. L. s. Evans, J. H. 460  
 Ising, V., u. A. Levan 572, 622  
 Istock, J. s. Becker, F. F. 453  
 Itzhaki, R. s. Alexander, P. 212  
 Itzhaki, Ruth F. 446, 468  
 — u. E. H. Belcher 393, 468  
 Itzhaki, S., u. M. Crone 424, 468  
 — s. Crone, M. 424, 458  
 Iversen, O. H. s. Evensen, A. 412  
 Iry, A. C., B. H. Orndoff, A. Jacoby u. J. E. Whitlow 405, 468  
 Jackson, K. L., u. C. Entenman 397, 468  
 Jacob, F., u. J. Monod 377, 435, 468  
 — s. Brenner, D. 377, 435, 455  
 Jacob, G., u. E. L. Wollman 502, 622  
 Jacobs, P. S. s. Ford, C. E. 621  
 Jacobsen, F. 334, 335, 337, 347  
 Jacobsen, L. O. s. Lorenz, E. 315, 349  
 Jacobson, L. O. s. Allen, J. G. 357, 452  
 — s. Prodder, C. L. 478  
 Jacoby, A. s. Ivy, A. C. 405, 468  
 Jaffé, G. 74, 177  
 Jaffe, J. J., L. G. Lajtha, J. Lascelles, M. G. Ord u. L. A. Stocken 425, 468  
 James, A. P. 578, 579, 583, 584, 630  
 — u. C. E. Chaplin 578, 630  
 James, A. P. u. E. O. Hughes 617  
 — u. B. Lee-Whiting 522, 622  
 — s. McGregor, J. F. 593, 631  
 — s. Newcombe, H. B. 616, 631  
 Jammet, H., G. Mathé, B. Pén-dic, B. Maupin, R. Latarjet, D. Kalic, L. Schwarzenberg, Z. Djukic u. V. Vigne 398, 468  
 Janković, V. s. Becarević, A. 453  
 Jarboe, C. H. s. Wiley, R. H. 143, 182  
 Jardetzky, Ch. D., u. C. P. Barnum 422, 468  
 Jaroslow, B. N. s. Taliaferro, W. H. 356, 451  
 Jayko, M. E., u. W. M. Garrison 177, 198, 202, 212, 217, 219, 234  
 — B. M. Weeks u. W. M. Garrison 219, 234  
 — s. Garrison, W. M. 219, 234  
 Jayson, G. G., G. Scholes u. J. Weiss 157, 161, 168, 177  
 Jenkins, V. K. s. Upton, A. C. 312, 314, 354  
 Jensen, C. O. 357  
 Jensen, H. s. Gray, J. L. 395, 463  
 Jeunet, F. s. Aebi, H. 390, 451  
 Johansen, I. 293, 347  
 Johns, H. E. s. Regehr, H. 249, 268  
 Johnson, D. A. s. Drake, M. P. 217, 233  
 Johnson, E. B. s. Caldecott, R. S. 561, 619  
 Johnson, G. R. A. 76, 100  
 — G. Stein u. J. Weiss 154, 177  
 — s. Clay, P. G. 174  
 Johnson, H. H. s. Swanson, C. P. 627  
 Johnson, P. s. Barron, E. S. G. 163, 164, 173, 217, 225, 232, 431, 453  
 Johnson, P. H. s. Barron, E. S. G. 225, 233  
 Johnson, W. H. s. Lampe, F. W. 178  
 Johnson, W. W. s. Gall, J. G. 420, 461  
 Johnston, A. H. s. Conger, A. D. 253, 265, 542, 620  
 Jolles, B., u. R. G. Mitchell 333, 337, 347  
 — M. Remington u. I. Simon-Reuss 441, 468  
 Jolly, J. 20, 36  
 Jones, A. R. 77, 177  
 Jones, E. A. 361  
 Jones, R. s. Crowther, J. A. 406, 458

- Jongpier, H. J. s. Bekkum, D. W. van 369, 453  
 Jordan, D. J. s. Clark, J. W. 241, 256, 257, 265  
 — s. Rambach, W. A. 255, 268  
 Jordan, D. L. s. Vogel, H. H. 241, 256, 257, 270, 307, 315, 354  
 Jordan, P. 248, 267  
 — s. Briegleb, G. 171  
 Joseph, B. J. s. Anderson, D. R. 50, 164, 173  
 Joseph, S. s. Barer, R. 381, 453  
 Jostes, E. 402, 468  
 — s. Scherer, E. 361  
 Jovanovich, M. 400, 468  
 Jovicki, G. s. Bećarević, A. 453  
 Jüngling, O. 271, 337, 347  
 — u. H. Langendorff 291, 347  
 Jungers, J. C. s. Lind, S. C. 138, 178  
 Juul, J. 271, 319, 331, 347
- Kärcher, K. H. 263, 267  
 Kahlstorf, A. 292, 331, 347  
 Kajiwara, K. s. Mueller, G. C. 412, 474  
 Kalic, D. s. Jammet, H. 398, 468  
 Kallman, R. F., u. G. Silini 298, 305, 347  
 — u. N. V. du Tabley 320, 347  
 — s. Kohn, H. I. 300, 305, 348  
 Kalmanson, A. E. s. Blumenfeld, L. A. 407, 455  
 Kameyama, M. s. Motokava, K. 404, 474  
 Kameyama, T. s. Novelli, G. D. 432, 475  
 Kamp, C. van der s. Rorsch, A. 479  
 Kanazir, D. 439, 468  
 — u. M. Errera 439, 468  
 — s. Panjevac, B. 441  
 Kanazir, D. T. s. Bérarević 453  
 — s. Petrović, S. 378, 441, 477  
 Kaplan, H. S. 366, 434, 468  
 — u. M. B. Brown 312, 347, 588  
 — u. L. E. Moses 366, 468  
 — K. C. Smith u. P. A. Tomlin 468  
 — u. P. A. Tomlin 366, 434, 468  
 — u. R. Zavarine 267, 468  
 — — u. Earle 434  
 Kaplan, I. I. 595, 597, 630  
 Kaplan, R. W. 25, 36, 249, 267  
 Kaplan, S. 248  
 Karczag, L. 407, 468  
 — u. M. Hanak 169, 177  
 Kasatkin, Y. N. 400, 468  
 Kasha, M. 449, 468  
 Katoh, A. s. Sampson, M. 420, 479  
 Katz, E. J., u. R. J. Hasterlik 468
- Kaufmann, B. P. 511, 564, 622  
 — M. R. McDonald u. M. H. Bernstein 445, 468  
 — u. A. Hollaender 564, 622  
 — u. H. Gay 564, 622  
 — u. K. Wilson 564, 622  
 — s. Bauer, H. 536, 618  
 — s. Demerec, M. 540, 620  
 Kay, E. R. M., N. S. Simmons u. A. L. Dounce 446, 468  
 Kay, R. E., J. O. Early u. C. Entenman 397, 468  
 — u. C. Entenman 433, 468  
 — D. C. Harris u. C. Entenman 468  
 Kayhart, A. 540, 622  
 Kayhart, M. 259, 267  
 Keene, J. P. 14, 36, 80, 84, 177  
 — s. Dale, W. M. 82, 89, 174, 227, 233  
 Keir, H. M., B. Binnie u. R. M. S. Smellie 423, 468  
 — s. Gray, E. D. 424, 463  
 Kekulé, A. 116  
 Kelbling, W. s. Kirchhoff 300, 348  
 Kellerer, A., u. O. Hug 278, 280, 348  
 — Hug O. 278, 293, 347  
 Kellogg jr., D. S. s. Hsu, T. C. 467  
 Kelly, E. L. s. Reed, T. E. 608, 631  
 Kelly, E. M. s. Russell, W. L. 317, 352, 479, 510, 537, 539, 567, 591, 592, 626, 632  
 Kelly, F. M. s. Clark, A. M. 545, 619  
 Kelly, L. s. Bennett, E. L. 416, 454  
 Kelly, L. S. 359, 413, 422, 468, 469  
 — J. D. Hirsch, G. Beach u. W. Palmer 408, 413, 422, 469  
 — — u. A. H. Payne 408, 469  
 — — u. N. L. Petrakis 409, 469  
 — u. A. H. Payne 413, 422, 469  
 — s. Payne, O. H. 376, 477  
 Kelner, A. 509, 566, 567, 622  
 Kemnitz, A. s. Holzer, H. 467  
 Kemp, T. 600, 630  
 Kennedy, J. M. s. Newcombe, H. B. 616, 631  
 Kenneth, D. A., u. J. H. Freed 348  
 Kenney, J. M. s. Abels, J. C. 358, 368, 439, 451  
 Kepp, R. K. 258, 259, 263, 267, 328, 329, 333, 348  
 — u. K. F. Michel 348  
 — u. K. Müller 267, 293, 329, 348  
 — — u. H. Reich 258, 259, 263, 267, 329, 348
- Kepp, R. K. u. L. Seyfarth 348  
 — s. Clemens, H. 333, 344  
 — s. Hofmann, D. 293, 346  
 Kereiakes, J. G. s. Berry, H. K. 454  
 — s. Wang, R. I. H. 395, 484  
 Kerrich, T. G. s. Cohen, L. 344  
 Kersten, H. s. Rauen, H. M. 478  
 Kersten, W. s. Rauen, H. M. 478  
 Keynan, A. s. Levingthal, C. 471  
 Khenokh, M. A. 177  
 Khvostova, W. W., u. A. A. Gavrilova 536, 622  
 Kihlman, B. A. 23, 36, 375, 469  
 Kihlman, B. L. 569, 622  
 Kile, J. C. s. Russell, W. L. 559, 626  
 Kilian, A. 160, 168, 177  
 Killander, D., C. Ribbing, N. R. Ringertz u. B. M. Richards 436, 469  
 Killman, S. A., J. R. Rubini u. E. P. Cronkite 399  
 — — u. V. P. Bond 399, 469  
 Kim, J. H., M. L. Eidinoff u. J. S. Laughlin 365, 469  
 Kimball, A. W. s. Novitski, E. 597, 598, 631  
 — s. Russel, W. L. 249, 250, 269  
 — s. Upton, A. C. 588, 632  
 Kimball, R. F. 316, 348, 544, 545, 565, 570, 622  
 — u. N. T. Gaither 560, 623  
 — — u. S. M. Wilson 565, 567, 623  
 — s. Bridgman, J. 544, 619  
 Kimeldorf, D. J. s. Garcia, J. 302, 345, 403, 461  
 — s. Smith, J. C. 405, 482  
 Kimeldorf, O. S. s. Hunt, E. L. 403, 467  
 Kimura, K. s. Sibatani, A. 481  
 Kimura, S. F. s. Sallmann, L. v. 254, 269  
 King, E. A. s. Mitchell, J. S. 379, 474  
 King, E. D. 564, 623  
 — u. H. A. Schneiderman 560, 623  
 — — u. K. Sax 560, 623  
 — s. Schneiderman, H. A. 560, 626  
 King, R. C., u. E. M. Wood 250, 267  
 Kingery, L. B. 272, 284, 324, 329, 348  
 Kinst, M. s. Stern, C. 578, 584, 632  
 Kirby, K. S. 366, 381, 469  
 Kirby-Smith, J. S., u. M. L. Randolph 407, 469  
 — u. C. P. Swanson 542, 623

- Kirby-Smith, J. S. s. Burton, M. 245  
 — s. Ehrenberg, L. 247  
 Kircher, J. F., J. S. McNulty, J. L. McFarlin u. A. Levy 77, 177  
 — s. Burt, B. P. 174  
 Kirchhoff, H., u. W. Kelbling 300, 348  
 Kirkham, W. R. s. Wang, T. Y. 382, 485  
 Kirschon, A. s. Allen, J. G. 357, 452  
 Kisielski, W. E., R. Baserga u. H. Lisco 412, 469  
 Kit, S. 364, 420, 469  
 Kitaeva, O. N. 302, 348  
 Klein, E. s. Caspersson, T. 359, 409, 436, 456  
 Klein, G., u. A. Forssberg 409, 436, 469  
 — — u. Révész 440  
 — s. Forssberg, A. 409, 433, 439, 461  
 Klemm, S. s. Koch, R. 469  
 Kloet, S. R. de s. Sibatani, A. 377, 435, 481  
 Klopfer, A., u. W. Schmidt 66, 121, 177  
 Klouwen, H. M. 378, 469  
 — A. W. M. Appelman u. I. Betel 371, 372, 469  
 — — — u. M. J. de Vries 469  
 — u. I. Betel 371, 469  
 Kluge, L. s. Reis, A. 357, 358, 397, 478  
 Knopf, P. M. s. Warner, J. R. 435, 485  
 Knowlton, N. P., u. L. H. Hempelmann 469  
 — — u. J. G. Hoffman 360, 469  
 Knuchel, H. s. Minder, W. 50, 51, 79, 80, 81, 82, 155, 179  
 Knudson, L. 525, 623  
 Kobayashi, M. s. Motokava, K. 404, 474  
 Koburg, E., u. W. Maurer 410, 469  
 Koch, A. L. s. Edwards, J. L. 410, 459  
 Koch, R. 449  
 — J. Fränz u. K. Markau 407, 469  
 — u. S. Klemm 469  
 — u. K. Markau 407, 469  
 — u. I. Seiter 429, 470  
 — s. Eltgen, D. 393, 460  
 — s. Hagen, U. 33, 36, 464  
 — s. Langendorff, H. 395, 471  
 Koch, W. s. Mund, W. 138, 179  
 Koch, W. H. s. Hart, E. J. 80, 81  
 Kodani, M. 489, 623  
 Köhnlein, W., u. A. Müller 248, 267, 407, 470  
 — s. Müller, A. 408, 475  
 — s. Zimmer, K. G. 270  
 Koelling, R. A. s. Garcia, J. 302, 334, 345, 461  
 Koenig, V. L. s. Drake, M. P. 217, 233  
 Kohn, H. I., u. S. E. Cunter 33, 36  
 — u. S. Gunter 241, 254, 258, 267  
 — u. R. F. Kallman 300, 305, 348  
 — s. Guttman, P. H. 360, 463  
 Koller, P. C. 290, 341, 348, 362, 364, 422, 470, 523, 547, 586, 623, 630  
 — u. J. A. R. S. Ahmed 519, 623  
 — u. D. W. Smithers 348  
 Kolotyркиn, Y. M. s. Proskurnin, M. A. 154, 180  
 Koloušek, J., u. Z. Dienstbier 397, 470  
 Kondo, S. s. Tazima, Y. 317, 354  
 Kondratieva, I. N. s. Livanov, M. N. 349  
 Konzak, C. F. 25, 36  
 — u. W. R. Singleton 581, 630  
 — s. Caldecott, R. S. 561, 619  
 — s. Curtis, H. J. 561, 620  
 — s. Kronstad, W. E. 571, 623  
 Kopp, P. s. Alexander, P. 212  
 Koppelman, R. s. Singh, U. N. 437, 481  
 Kordik, P. s. Burn, J. H. 391, 392, 456  
 Kornberg, A. 423, 470  
 — s. Schrecker, A. W. 392, 480  
 Korneeva, N. V. s. Demin, N. N. 392, 458  
 Korngold, G. C. s. Bendich, A. 442, 454  
 Kortüm, G. s. Briegleb, G. 171  
 Kos, E. s. Drakulić, M. 427, 459  
 Koski, W. S. s. Lampe, F. W. 178  
 Kotval, J. P., u. L. H. Gray 535, 623  
 Kowlessar, O. D., K. I. Altman u. L. H. Hempelman 470  
 Koza, R. W. s. Harrington, N. J. 386, 464  
 Krause, M., u. W. Plaut 419, 470  
 Krebs, A. s. Czerwenka, C. 299, 344  
 Krebs, A. T. s. Wang, R. T. H. 395, 484  
 Krebs, H. A. 229, 232, 234  
 Krebs, J. S., u. R. W. Brauer 305, 348  
 — s. Brauer, R. W. 305, 343  
 Krenz, F. H. 18, 36, 136, 178, 221, 234  
 — u. H. A. Dewhurst 82, 83, 178  
 Kretchmar, A. L. 401, 470  
 — u. C. Phipps 399, 470  
 — s. Andrews, G. A. 398, 399, 452  
 Kriegel, H., H. Langendorff u. K. Shibata 397, 470  
 — u. H.-J. Melching 395, 470  
 Kritter, H., u. C. Herović 438, 470  
 Kröger, H., H. W. Rotthauwe, B. Ulrich u. H. Holzer 429, 470  
 — s. Ochoa, S. 435, 476  
 Krönig, B., u. W. Friedrich 271, 272, 327, 348  
 Kröning, F., u. R. Sigmund 312, 348  
 Kronstad, W. E. 571, 623  
 — R. A. Nilan u. C. F. Konzak 571, 623  
 Kruekel, B. s. Benett, E. C. 416, 454  
 Krygier, A. s. Sandritter, W. 363, 479  
 Kuck, K. D. s. Zirkle, R. E. 270  
 Kudritsky, Y. K. 403  
 Kuehl, Le Roy 441, 470  
 Künkel, H. A., u. F. Oberheuser 293, 348  
 — s. Bettendorf, G. 454  
 — s. Höhne, G. 466  
 — s. Maass, H. 429, 430, 472  
 — s. Oberheuser, F. 275, 351  
 — s. Schubert, G. 313, 353, 480  
 Küstner, H. 405, 470  
 Kuffer, F. s. Durup, M. 175  
 Kuhn, U. S. G., u. D. G. Brown 304, 348  
 Kumatori, T. s. Lajtha, L. G. 374, 413, 418, 471  
 Kurien, K. C., P. U. Phung u. M. Burton 178  
 Kurland, C. G. s. Gros, F. 377, 463  
 Kurnick, N. B., B. W. Massey u. G. Sandeen 443, 470  
 — u. J. H. Herskowitz 502, 623  
 — u. N. Nokay 298, 348  
 — s. Bauer, R. D. 444, 453  
 Kusumoto, G. s. Meshitsuka, G. 179  
 Kuttig, H. 263, 267  
 Kuyper, C. M. A., S. Liébecq-Hutter u. S. Chèrremont-Comhaire 470  
 Kuzin, A. M. 440, 470  
 — s. Strazhevskaya, N. B. 440, 482  
 Labrum, E. L. s. Demerec, M. 571, 620

- Lacassagne, A. 356, 361, 470  
 — u. G. Gricoureff 361, 405, 470  
 — s. Regaud, C. 360
- LaCour, L. s. Darlington, C. D. 517, 620
- LaCour, L. F. s. Pelc, S. R. 420, 477
- Laddaga, M., u. U. Romagnoli 360, 470
- Ladner, H.-A. s. Langendorff, H. 471  
 — Melching, H.-J. 395, 473
- Läwen, A. 356, 358, 470
- Lagg, S. E. s. Hess, E. L. 465
- Lajtha, L. G. 320, 375, 394, 413, 415, 417, 450, 470  
 — u. R. Oliver 470  
 — — R. J. Berry u. E. Hell 394, 470  
 — — — u. W. D. Noyes 374, 413, 417, 418, 421, 470  
 — — u. F. Ellis 410, 470  
 — — T. Kumatori u. F. Ellis 374, 413, 418, 471  
 — u. H. D. Suit 394, 471  
 — s. Berry, R. J. 374, 375, 418, 454  
 — s. Ellis, F. 366, 460  
 — s. Ford, C. E. 621  
 — s. Gilbert, C. W. 412, 462  
 — s. Hell, E. 416  
 — s. Huntley, G. H. 374, 375, 417, 418, 467  
 — s. Jaffe, J. J. 425, 468  
 — s. Suit, H. D. 394, 483
- Lamarque, P., u. P. Bétoullieres 292, 348
- Lambert, S. s. Nizet, A. 387, 475
- Lamberts, H. s. Brinkman, R. 210, 212
- Lamberts, H. B. 395, 471  
 — u. D. G. Dijken 471  
 — s. Brinkman, R. 212, 385, 386, 395, 396, 456
- Lamerton, L. F., A. H. Pontifex, N. M. Blackett u. K. Adams 297, 306, 348  
 — s. Belcher, E. H. 393, 453  
 — s. Bensted, J. P. 313, 343  
 — s. Pontifex, A. H. 298, 351  
 — s. Quastler, H. 299, 351  
 — s. Wimber, D. R. 299, 354
- Lamfrom, H. s. Schweet, R. S. 394, 480
- Lampe, F. W. 134, 171, 178  
 — W. S. Koski, E. R. Werner u. W. H. Johnson 178
- Lampe, R. W., J. L. Franklin u. F. H. Field 243, 267
- Lamson, B. G., M. S. Billings u. L. R. Bennett 314, 348
- Lamy, R., u. H. J. Muller 546, 623
- Lancker, J. van s. Beltz, R. E. 413, 415, 422, 424, 454
- Lancker, J. L. van 413, 415, 424, 426, 471  
 — s. Fausto, N. 425, 460  
 — s. Fricke, H. 215, 216, 234  
 — s. Leone, C. A. 200, 213
- Lange, R., u. A. Pihl 189, 212  
 — — u. L. Eldjarn 217, 219, 234  
 — s. Pihl, A. 217, 235
- Langel, J. H. s. Mohler, F. L. 55
- Langen, P., u. E. Liss 471
- Langendorff, H. 290, 292, 296, 298, 300, 348, 349, 395, 449, 471  
 — U. Hagen u. H. Ernst 418, 422, 471  
 — u. R. Koch 395, 471  
 — — u. U. Hagen 471  
 — u. M. Langendorff 301, 349  
 — u. H.-J. Melching 395, 471  
 — — u. H.-A. Ladner 471  
 — — u. H. Rösler 396, 471  
 — — u. Ch. Streffer 395, 397, 471  
 — u. G. Saurborn 298, 349  
 — u. K. Sommermeyer 252, 267, 292, 349  
 — s. Eltgen, D. 393, 460  
 — s. Glocker, R. 271, 345  
 — s. Hagen, U. 248, 266, 464  
 — s. Jüngling, O. 291, 347  
 — s. Kriegel, H. 397, 470  
 — s. Melching, H.-J. 395, 473
- Langendorff, M. s. Langendorff, H. 301, 349
- Langham, W. H. s. Goldblith, S. A. 431, 462  
 — s. Storer, J. B. 241, 254, 255, 269
- Langhlin, J. S. s. Austin, M. K. 252, 258, 264
- Langsam, P. M. s. Pugh, R. P. 356, 478
- Larkin, I. C. jr. s. Stone, R. G. 258, 264
- Lascelles, J. s. Jaffe, J. J. 425, 468
- Laser, H. 271, 319, 349, 369, 387, 471  
 — u. M. J. Thornley 471
- Laskowski s. Engelring 382
- Lasnitski, I. 291, 292, 349  
 — u. D. E. Lea 253, 267
- Latarjet, R. 172, 450  
 — u. E. Ephrati 22, 36  
 — u. B. Ephrussi 535, 545, 623  
 — u. L. H. Gray 229, 234  
 — s. Ephrussi-Taylor, H. S. 22, 35, 559, 620, 621  
 — s. Jammet, H. 398, 468
- Lauber, K. s. Aebi, H. 390, 397, 451
- Lauf, P., N. Seemayer u. W. Oehlert 379, 471  
 — s. Oehlert, W. 410, 476
- Laughlin, J. S. s. Haas, L. L. 263, 266  
 — s. Kim, J. H. 365, 469  
 — s. Milvey, O. 80, 81  
 — s. Zsula, J. 90, 182
- Lavik, P. E. s. Harrington, H. 415, 464
- Lavik, P. S., u. G. W. Buckoloo, 376, 415, 471
- Law, L. W. 553, 623
- Lawrence, D. J. R. s. Butler, J. A. V. 456
- Lawrence, E. O. 267  
 — s. Lawrence, J. H. 254, 255, 267
- Lawrence, J. H., u. E. O. Lawrence 254, 255, 267  
 — s. Axelrod, D. 420, 452
- Lawrence, J. S. s. Craddock, C. G. 356, 457
- Lawrence, P. S. s. Macht, S. H. 595, 597, 631
- Lawrey, J. M. s. Fowler, J. F. 306, 345
- Lawton, E. J. s. Bellamy, W. D. 219, 233
- Lazar, J. s. Alexander, P. 211
- Lazarus 405, 407
- Lazo, R. M., H. A. Dewhurst u. M. Burton 80, 81
- Lea, D. E. 6, 7, 8, 17, 36, 43, 75, 109, 172, 178, 239, 240, 242, 243, 245, 250, 252, 267, 273, 349, 367, 441, 450, 517, 518, 519, 521, 532, 535, 542, 623  
 — u. D. G. Catchside 253, 521, 537, 623  
 — R. B. Haines u. E. Bretscher 251, 252, 267  
 — u. B. Holmes 220  
 — K. M. Smith, B. Holmes u. R. Markham 220, 234  
 — s. Catchside, D. G. 5, 34, 362, 456, 517, 518, 519, 520, 534, 564, 619  
 — s. Lasnitski, I. 253, 267
- Lebedinsky, A. V. 403, 405, 471  
 — U. G. Grigoryev u. G. D. Demirchoglyan 403, 471  
 — u. Z. N. Nakhil'Nitskaya 302, 349
- Lebez, D. s. Antonijeric, M. 387, 452
- Leblond, C. P. s. Amano, M. 452  
 — s. Clermont, Y. 361, 457  
 — s. Sainte-Marie, G. 361, 479
- Lederberg, E. Z. s. Giles, N. H. 504, 621
- Lee-Whiting, B. s. James, A. P. 522, 622
- Lefort, M. 50, 70, 71, 72, 76, 79, 86, 99, 100, 178, 246, 267  
 — u. M. Haissinsky 97, 98  
 — s. Anta, M. C. 70, 72, 97, 173

- Lefort, M. s. Bonet-Maury, P. 70, 557, 563, 619  
 — s. Haissinsky, M. 93, 94, 95, 100, 176  
 Lehninger, A. L. 451  
 Leinfelder, P. J., T. C. Evans u. E. Riley 254, 267  
 — s. Evans, T. C. 241, 266  
 — s. Riley, E. F. 241, 269, 313, 314, 352  
 Leit, M. B. s. Edwards, J. L. 410, 459  
 Leitch, J. L. 306, 349  
 Leiter, E. s. Spargo, B. 406, 482  
 Lefever, G. 503, 623  
 — u. M. M. Green 504, 623  
 — u. F. J. Ratty 506, 623  
 Lejeune, J., R. Turpin u. M. O. Rethore 630  
 — s. Turpin, R. 595, 597, 598, 632  
 Lemmon, R. M. 178  
 Lengel, J. H. 129  
 Leone, C. s. Fricke, H. 215, 216, 234  
 Leone, C. A., W. Landmann u. H. Fricke 200, 213  
 Leong, G. Y., W. G. Wisecup u. J. W. Grisham 305, 349  
 Lerner, I. M. 582, 630  
 Leroy, G. V. 308, 349  
 Leshner, S., D. Grahn u. G. A. Sacher 312, 349  
 — u. H. H. Vogel 255, 267  
 Leslie, J. 435, 471  
 Lessler, M. A. 471  
 LeStourgeon, W. L. s. Spalding, J. F. 305, 353  
 Lett, J. T. 403  
 — u. P. Alexander 213  
 — K. A. Stacey u. P. Alexander 207, 208, 213, 471  
 — s. Alexander, P. 207, 212, 434, 451  
 — s. Beer, J. Z. 320, 343  
 Leupold, U. 503, 623  
 Leván, A. 569, 572, 623  
 — u. J. J. Bieselle 572, 623  
 — s. Ising, V. 572, 622  
 Levin, J. s. Howard-Flanders, P. 467  
 Levingthal, C., A. Keynan u. A. Higa 471  
 Levy, A. s. Kircher, J. F. 77, 177  
 Levy, E. s. Peters, H. 477  
 Levy, H. B. 435, 471  
 Lewis, D. 588, 630  
 Lewis, E. B. 503, 506, 581, 623  
 Lewis, G. P. 396, 471  
 Lewis, H. s. Person, S. R. 25, 37  
 Libby, D., M. G. Ormerod, A. Charlesby u. P. Alexander 203, 213  
 Libenson, L. s. Abrams, R. 430, 451  
 Lichtenberger, H. s. Zinn, W. H. 73, 182  
 Lichtenstein, J. R. s. Cohen, S. S. 425, 457  
 Lichtler, E. J. s. Gardella, J. W. 409, 461  
 Liébecq-Hutter, S. s. Kuyper, C. M. A. 470  
 Liebenthal, J. L., F. L. Albright u. A. Sesonke 178  
 Lieberkühn, J. N. 361  
 Liebmann, H. s. Crowther, J. A. 406, 458  
 — s. Gray, L. H. 406, 463  
 Liechti, A. 271, 273, 292, 349  
 — W. Minder u. F. Wegmüller 82, 155, 178, 246, 267  
 — s. Feller, R. 155, 175  
 — s. Minder, W. 50, 51, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 155, 179, 246  
 — s. Mullis, A. 155, 179  
 Lima-de-Faria, A. 420, 472  
 Lind, S. C. 172  
 — u. D. C. Bradwell 134, 138, 178  
 — — u. J. H. Perry 138, 178  
 — C. J. Hochanadel u. J. A. Ghormley 172  
 — J. C. Jungers u. Ch. Schifflett 138, 178  
 — s. Glockler, G. 172  
 — s. Hochanadel, C. J. 177  
 Lindgren, M. s. Berg, N. O. 303, 343  
 Lindop, P. J., u. J. Rotblat 306, 314, 349  
 Linn, I. G. s. Moses, C. 313, 350  
 Lipetz, L. E. 286, 349, 405, 472  
 Lipinski, B. s. Danciewicz, A. M. 388, 458  
 Lipkin, M., P. Sherlock u. B. M. Bell 472  
 Lipmann, F. s. Nathans, D. 475  
 Lipshitz, R. s. Crampton, C. F. 382  
 Lipsky, S. s. Burton, M. 174  
 Lisco, H. s. Brues, A. M. 312, 343  
 — s. Hempelmann, L. H. 397, 401, 465  
 — s. Kisielski, W. E. 412, 469  
 — s. Prosser, C. L. 357, 403, 478  
 Liss, E. s. Langen, P. 471  
 Littlefield, J. W. 472  
 Littman, F. E., E. M. Corr u. A. P. Brady 178  
 Liuzzi, A. s. Zzula, J. 90, 182  
 Livanov, M. N. 302  
 — u. I. N. Kondratieva 349  
 Lloyd, P. H., u. A. R. Peacocke 206, 213, 446, 447, 472  
 Lochte, H. I. s. Thomas, E. D. 298, 354  
 Lodemann, E. s. Wacker, A. 484  
 Loeb, M. R. s. Cohen, S. S. 425, 457  
 Loebel, H., G. Stein u. J. Weiss 154, 161, 178  
 Loeffler, R. K. 393, 472  
 — V. P. Collins u. G. A. Hyman 393, 472  
 Löw-Beer, A. 357, 358, 472  
 Löw-Beer, B. V. A., u. W. Redisch 330, 332, 349  
 Lofstrom, J. E. s. Sikov, M. R. 309, 353  
 Logan, R. 472  
 — M. Errera u. A. Ficq 376, 436, 472  
 — s. Errera, M. 376, 436  
 Logemann, W. s. Bersin, T. 216, 233  
 Logie, L. C., M. D. Harris, R. E. Tatsch u. E. N. van Hooser 307, 349  
 — s. Overall, J. E. 302, 351  
 Lohmann, A. s. Stenström, W. 163, 181  
 Loiseleur, J. 163, 178  
 London, F. 113  
 Long, M. s. Gusberg, S. B. 438, 463  
 Looney, W. B. 415, 422, 472  
 — C. Campbell u. B. E. Holmes 413, 415, 422  
 Lorenz, E., W. E. Heston, A. B. Eschenbrenner u. M. Deringer 300, 349  
 — — L. O. Jacobsen, A. B. Eschenbrenner, M. Shimkin, M. Deringer u. J. Domiger 315, 349  
 — s. Eschenbrenner, A. B. 300, 345  
 — s. Hollcroft, J. W. 31, 36  
 Lorkiewicz, Z. s. Opara-Kubinska, Z. 366, 476  
 — s. Szybalski, W. 483  
 Lott, J. R. 472  
 Lotz, A. 51, 178  
 Lotz, H. P. 282  
 — u. K. Schmidt 349  
 Loutit, J. F. 440, 472  
 Love, R., u. R. J. Walsh 378, 472  
 Loveless, A. 623  
 — u. S. Revell 569, 624  
 Low-Beer, B. V. A. s. Smith, K. C. 482  
 Lucas, B. G. B. s. Emery, E. W. 32, 35  
 Luce, W. M., H. Quastler u. L. S. Skaggs 249, 267  
 Luck, C. F., u. W. Gordy 55, 178  
 Lucke, W. H., u. A. Sarachek 546, 624  
 Ludewig, S. s. Chanutin, A. 394, 457  
 Ludovici, P. P., R. A. Pock, R. T. Christian u. N. F. Miller 472  
 — — — G. M. Riley u. N. T. Miller 472

- Lüning, K. G., u. H. O. Henriksson 509, 539, 563, 567, 624  
 — u. A. Henze 563, 624  
 — u. J. Söderström 563, 624  
 — s. Bonnier, G. 580, 581, 629
- Lüthy, H. s. Zuppinger, A. 263, 270
- Luippold, H. E. s. Wolff, S. 414, 485, 486, 563, 571, 629
- Luippold, H. J. s. Conger, A. D. 254, 265, 553, 620
- Luizzi, A. s. Tyree, E. B. 256, 259, 269
- Lundin, J., C. J. Clemedson u. A. Nelson 472
- Lundqvist, U. s. Ehrenberg, L. 569, 620
- Lunz, J. D. 178
- Luria, S. E., u. M. Delbrück 551, 552, 624
- Lush, W. R. s. Trowell, O. A. 359, 361, 382, 484
- Luther, W. 290, 319, 349  
 — s. Czerwenka, C. 299, 344
- Lyon, M. F. s. Carter, T. C. 300, 344, 580, 581, 591, 593, 629
- Lyons, B. J. s. Black, R. M. 192, 212
- Maass, H. 430, 472  
 — u. H.-H. Adler 440, 472  
 — G. Höhne, H. A. Künkel u. G. H. Rathgen 429, 430, 472  
 — u. H. A. Künkel 472  
 — u. G. H. Rathgen 429, 472  
 — — H. A. Künkel u. G. Schubert 429, 472  
 — u. G. Schubert 472  
 — s. Bettendorf, G. 454  
 — s. Höhne, G. 466  
 — s. Hölzel, F. 466  
 — s. Rathgen, G. H. 478  
 — s. Schubert, G. 480
- MacComb, W. S., u. R. H. Quimby 307, 329, 330, 349  
 — s. Quimby, E. 330, 351
- Macht, S. H., u. P. S. Lawrence 595, 597, 631
- Mackendrick, M. E. 502, 503, 624
- MacKey, J. 251, 257, 267
- Maddock, C. L. s. D'Angio, G. J. 435, 458
- Maddux, S. C. s. Russell, W. L. 593, 632
- Magat, M. s. Durup, M. 175  
 — s. Haissinsky, M. 108, 176
- Magee, I. L., M. Burton u. W. H. Hamill 243
- Magee, J. L. 66, 178, 242, 243, 247, 268  
 — u. K. Funabashi 178
- Magee, J. L. s. Burton, M. 73, 174, 242, 243, 245, 265  
 — s. Dewhurst, H. A. 79, 174  
 — s. Samuel, A. H. 243, 244, 269
- Magee, W. E. s. Sheek, M. R. 409, 481
- Mahler, H. R., u. A. da S. Pereira 431, 472, 473
- Mahlman, H. A., u. J. W. Boyle 102, 178
- Main, R. K., L. J. Cole u. V. P. Bond 473  
 — — u. M. E. Ellis 444, 473  
 — — u. E. R. Walwick 360, 427, 473  
 — s. Walwick, E. R. 427
- Maisin, H. s. Maisin, J. 298, 349
- Maisin, J., H. Maisin, A. Dunjic u. P. Maldague 298, 349
- Major, M. H. s. Russell, L. B. 594, 632
- Makino, S. 573, 624
- Malamy, M. s. Hurwitz, J. 435, 467, 468
- Maldague, P. s. Maisin, J. 298, 349
- Maley, G. F., u. F. Maley 424, 473
- Maley, F. s. Maley, G. F. 424, 473
- Malheiros, N. s. Castro, D. 548, 549, 619
- Maly, R. 525, 624
- Mandel, H. G. s. Conzelmann, G. M. 376, 415, 457
- Mandel, P., u. P. Chambon 473  
 — s. Chambon, P. 433, 456, 457
- Mandi, E. s. Sztanyik, L. 393, 483
- Mandl, A. M. 361, 473
- Manion, J. P., u. M. Burton 141, 178
- Mann, A. K., A. Hustrulid u. J. T. Tate 66
- Mannik, J. s. Thomas, E. D. 298, 354
- Mantèva, V. L. 379, 473
- Mantieva, V. L. s. Georgiev, G. P. 435, 461, 462
- Mantsarinos, R., u. E. L. Canellakis 424, 473
- Marchbank, D. F. s. Zirkle, R. E. 270
- Marcus, P. J. s. Puck, T. T. 364, 478
- Marcus, Ph. s. Puck, Th. 293, 351
- Mardersteig, K. 296, 349
- Marinelli, D. s. Abels, J. C. 358, 368, 439, 451
- Marinelli, L. D., B. R. Nebel, N. H. Giles u. D. R. Charles 536, 624  
 — s. Hasterlik, R. J. 397, 465
- Markham, R. s. Lea, D. E. 220, 234
- Markovich, H. 533, 624
- Markovits, E. 271, 349
- Marquardt, H. 523, 624  
 — u. E. Grundmann 473
- Marrian, D. H. 379, 473  
 — s. Mitchell, J. S. 370, 379, 431, 434, 440, 474
- Marshak, A. 251, 252, 268, 358, 420, 473, 542, 624  
 — u. M. Bradley 251, 268, 542, 624
- Marston, R. Q. s. Smith, W. W. 298, 353
- Martin, C. J. s. Chick, H. 215, 233
- Martin, F. L. s. Hollaender, A. 21, 22, 36  
 — s. Stapleton, G. E. 252, 269, 532, 540, 627
- Martin, F. W. s. Glockler, G. 176
- Martius, H. 271, 329, 349
- Maschmann, E., u. E. Helmert 216, 234
- Mashman, J. s. Furth, J. 588, 630
- Mason, H. C. s. Moos, W. S. 304, 350
- Mason, R. s. Augenstein, L. 449, 450
- Mass, H. s. Henke, H. 465
- Massey, B. W. s. Kurnick, N. B. 443, 470
- Massey, H. S. W. 178  
 — u. E. H. S. Burhop 172
- Mathé, G. s. Jammet, H. 398, 468
- Mather, K. 581, 582, 631  
 — s. Durant, A. 582, 630
- Matheson, M. S. 178  
 — u. B. Smaller 77, 178  
 — s. Grossweiner, I. I. 77, 176  
 — s. Hart, E. J. 76, 79, 100, 177  
 — s. Smaller, B. 55, 181, 195, 213
- Matoni, H.-H. 271, 349
- Matthaei, J. H. s. Nierenberg, M. W. 475
- Matthews, M. s. Hollcroft, J. W. 31, 36
- Mattick, W. s. Stenström, W. 272, 353
- Mattok, G. L. s. Philips, G. O. 168, 179
- Matyášová, J. s. Skalka, M. 380, 438, 481
- Maurer, H. 595, 631
- Maurer, H. J. 49, 169, 178  
 — u. R. Dittmeyer 169, 178  
 — u. W. Minder 306, 349  
 — s. Zuppinger, A. 263, 270

- Maurer, W. s. Gerbaulet, K. 376, 430, 462  
 — s. Koburg, C. 410, 469  
 Maupin, B. s. Jammet, H. 398, 468  
 Maxwell, C. R., D. C. Peterson u. N. E. Sharpless 162, 178  
 — s. Sharpless, N. E. 162, 181  
 Maxwell, E., u. G. Ashwell 369, 473  
 Mayer, A. s. Henri, V. 407, 465  
 Mayer, V. K. s. Pugh, R. P. 356, 478  
 Maynard, E. H. s. Clemente, C. D. 404, 457  
 Mazia, D. 571, 624  
 — u. G. Blumenthal 221, 222, 234  
 — s. Bernstein, M. H. 445, 454  
 McCabe, L. J. s. Wolfrom, M. L. 168, 182  
 McCarty, M. s. Avery, O. T. 513, 618  
 McConkey, E. H., u. J. W. Hopkins 379, 473  
 McCulloch, E. A. s. Till, J. E. 298, 354, 365, 484  
 McDonald, J. E., W. F. Hughes u. V. G. Pfeiffer 254, 268  
 McDonald, M. R. 219, 220, 223, 229, 234  
 — u. E. C. Moore 234  
 — s. Kaufmann, B. P. 445, 468  
 McDonell, W. R. 157, 178  
 — u. E. J. Hart 89, 178  
 — u. A. S. Newton 89, 146, 178  
 McElya, A. B. s. Bollum, F. J. 424, 455  
 McEwen, B. S., V. G. Allfrey u. A. E. Mirsky 372, 473  
 McFall, R. s. Clemente, C. D. 404, 457  
 McFarling, J. L. s. Kircher, J. F. 77, 177  
 McGregor, J. F. 535, 576  
 — A. P. James u. H. B. Newcombe 593, 631  
 — u. H. B. Newcombe 594, 631  
 — s. Newcombe, H. B. 537, 625, 631  
 McLaren, A. D. 240, 268  
 McLaughlin, J. A. s. Szent-Györgyi, A. 483  
 McLaughlin, V. D. s. Bishop, D. F. 526, 619  
 McLaurin, R. L., O. T. Bailey, G. R. Harsh u. F. D. Ingraham 303, 349, 350  
 McLean, P. s. Glock, G. E. 370, 462  
 McLeish, J. 569, 624  
 — s. Darlington, C. D. 569, 620  
 McLeod, C. M. s. Avery, O. T. 513, 618  
 McNamara, P. s. Butler, J. A. V. 426, 427, 456  
 McNulty, J. S. s. Kircher, J. F. 77, 177  
 McNulty, W., u. F. Hutchinson 228, 234  
 McSheehy, T. W. s. Purdom, C. E. 317, 351  
 McWhirter, R. 323, 328, 340, 350  
 Meaburn, G. M. s. Back, R. A. 173  
 Mead, J. F. s. Serat, W. F. 155, 181  
 Medvedev, N. N. 564, 624  
 Medwedowsky, V. I. s. Bakh, N. A. 173  
 Mee, L. s. Aronson, D. 228, 232  
 Mee, L. K. 228, 234  
 — s. Cater, D. B. 374, 413, 422, 456  
 — s. Holmes, B. E. 374, 413, 422, 433, 466  
 Meek, E. S., u. S. M. Sparshott 473  
 Mehrishi, J. N. 407  
 Meisels, G. G., W. H. Hamil u. R. R. Williams 134, 178  
 Meissel, M. N., E. M. Brumberg, T. M. Conkratjeva u. I. J. Barksy 380, 473  
 — u. V. A. Sondak 380, 473  
 Meister, A., u. W. Minder 149, 155, 156, 178  
 Melara, H. E. s. Cuna, A. B. da 615, 630  
 Melching, H.-J. 395, 397, 400, 449, 473  
 — H. Ernst u. H. Rösler 396, 400, 473  
 — H. Langendorff u. H.-A. Ladner 395, 473  
 — O. Messerschmidt u. C. Streffer 397, 473  
 — — — u. K. Shibata 473  
 — s. Kriegel, H. 395, 470  
 — s. Langendorff, H. 395, 396, 397, 471  
 Mello, L. C. de s. Cuna, A. B. da 615, 630  
 Mellows, F. W., u. M. Burton 151, 178  
 Melville, G. S. s. Conte, F. P. 406, 457  
 — s. Upton, A. C. 259, 269  
 Melville jr., G. S., F. P. Conte, M. Slater u. A. C. Upton 241, 256, 268  
 — s. Upton, A. C. 269  
 Melville, H. W. 179  
 Mendelsohn, M. L. 412, 473  
 — F. C. Dohan u. H. A. Moore 411, 412, 473, 474  
 Mennigmann, H. D. s. Wacker, A. 484  
 Meredith, W. J. s. Dale, W. M. 15, 18, 19, 35, 82, 89, 174, 219, 220, 223, 226, 233, 246, 265  
 Merriman jr., G. R., u. E. F. Focht 312, 313, 350  
 Meselson, M. s. Brenner, D. 377, 435, 455  
 Meshitsuka, G., u. M. Burton 141, 146, 179  
 — K. Ouchi, K. Hirota u. G. Kusumoto 179  
 Messerschmidt, O. s. Melching, H.-J. 397, 473  
 Metcalf, R. G., F. A. Inda, T. B. Barnett u. G. W. Casarett 300, 350  
 — s. Ely, J. 300, 345  
 Metcalf, W. K. 392, 474  
 Metre, M. T. van s. Cavaliere, R. R. 401, 456  
 Meyer, J. s. Sartory, A. 300, 352  
 Michaelson, S. M., u. L. T. Odland 305, 350  
 Michel, K. F. s. Kepp, R. K. 348  
 Michelakis, A. M. s. Wolfrom, M. L. 168, 182  
 Mickey, G. H. 624  
 Miescher u. Flaskamp 263  
 Miescher, G. 272, 327, 331, 350  
 Mikaelson, K. 565, 624  
 Mikulski, Z. B. s. Alexander, P. 374, 451  
 Milham, M. s. Allen, J. G. 357  
 Miller, E. s. Eschenbrenner, A. B. 300, 345  
 Miller, D. S. 403, 474  
 Miller, L. L., u. E. Gates 389  
 Miller, N. 43, 79, 179, 246, 268  
 — u. J. Wilkinson 84, 88, 179, 246, 268  
 — s. Armstrong, D. 173  
 — s. Back, R. A. 173  
 — s. Donaldson, D. M. 89, 104, 174  
 — s. Hayon, E. 246, 267  
 Miller, N. F. s. Ludovici, P. P. 472  
 Miller, W. s. Wiley, R. H. 143, 182  
 Mills, W. A. s. Armentrout, S. A. 355, 446, 452  
 Miltenburger, H. s. Esch, H. 289, 345  
 — s. Hug, O. 289, 303, 347  
 Milvey, O., S. Genna, N. Barr u. J. S. Laughlin 80, 81

- Minder, Hedwig 40  
Minder, H., W. Minder u. A. Liechti 50, 51, 80, 155, 179  
Minder, W. 43, 47, 49, 50, 51, 54, 71, 72, 79, 81, 82, 85, 86, 87, 89, 90, 91, 96, 102, 143, 144, 150, 151, 155, 164, 167, 169, 179  
— u. E. Heydrich 50, 51, 79, 80, 81, 82, 150, 151, 155, 158, 179  
— H. Knuchel u. P. Gurtner 50, 51, 79, 80, 81, 82, 155, 179  
— u. A. Liechti 50, 51, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 155, 179, 246  
— u. H. Schindler 80, 81, 82, 155  
— u. D. Schoen 50, 51, 79, 80, 81, 82, 155, 166, 179  
— u. P. Tschichold 81, 155  
— s. Feller, R. 155, 175  
— s. Liechti, A. 82, 155, 178, 246, 267  
— s. Maurer, H. J. 306, 349  
— s. Meister, A. 149, 155, 156, 178  
— s. Minder, H. 50, 51, 80, 155, 179  
— s. Mullis, A. 155, 179  
— s. Zuppinger, A. 263, 270  
Mirsky, A. E., u. S. Osawa 474  
— — u. Allfrey 376  
— u. L. Pauling 215, 234  
— u. A. W. Pollister 382, 474  
— u. H. Ris 474  
— s. Allfrey, V. G. 372, 377, 452  
— s. McEwen, B. S. 372, 473  
— s. Osawa, S. 371, 372, 383, 476  
— s. Sibatani, A. 435, 481  
Mischke, J. P. s. Sparrow, A. H. 482  
Mitchell, C. J. s. Clark, A. M. 545, 546, 550, 619  
Mitchell, J. S. 32, 36, 255, 257, 268, 357, 358, 362, 367, 370, 379, 380, 382, 431, 434, 437, 438, 440, 441, 449, 451, 474  
— D. Brinkley u. J. L. Haybittle 370, 474  
— B. E. Holmes u. C. L. Smith 451  
— E. A. King, D. H. Marrian u. B. Chipperfield 379, 474  
— u. D. H. Marrian 370, 379, 431, 434, 440, 474  
— u. Simon-Reuss 33, 36, 37  
Mitchell, R. G. s. Jolles, B. 333, 337, 347  
Mittl, R. L., u. M. H. Theys 179
- Miyagawa, J. s. Gordy, W. 165, 176, 203, 212  
Moberger, G. 379  
— s. Bahr, G. F. 363, 453  
Modig, H. s. Révész, L. 363, 479  
Mohler, F. L. 170  
— J. H. Langel u. J. T. Tate 55  
— u. L. S. Taylor 74, 179  
Mohler, H. 129, 172  
Mohler, W. L., M. M. Elkind 366, 474  
Moje, A. P. s. Bettendorf, G. 454  
Mole, R. H. 273, 298, 305, 306, 307, 312, 315, 350, 589, 631  
— u. D. M. Temple 299, 350, 359, 360, 474  
— s. Burn, J. H. 391, 392, 456  
— s. Neary, G. J. 255, 257, 268, 298, 350, 406, 475  
Monesi, V. 474  
Monod, J. s. Jacob, F. 377, 435, 468  
Monsees, H. s. Demerec, M. 571, 620  
Montag, C. 310, 350  
Montagna, W., u. J. W. Wilson 361, 474  
Montgomery, P. O'B., u. S. Warren 553, 624  
Monty, K. J., u. A. L. Dounce 382, 385, 474  
— s. Dounce, A. L. 385, 445, 459  
Moody, G. J. s. Philips, G. O. 168, 179  
Moody, J. M. s. Andrews, I. R. 326, 332, 334, 335, 336, 337, 342  
Moore, D. s. Ebert, M. 86, 175  
— s. Howard-Flanders, P. 22, 36, 559, 622  
Moore, E. C. s. McDonald, M. R. 234  
Moore, G. E. s. di Paolo, J. A. 435, 459  
Moore, H. A. s. Mendelsohn, M. L. 411, 412, 473, 474  
Moos, W. S., J. B. Fuller, W. J. Henderson, F. Dallenbach u. R. A. Harvey 257, 268  
— — — u. R. A. Harvey 257, 268  
— H. C. Mason u. M. Counelis 304, 350  
Morczek, A., u. H. Buttenberg 298, 350  
Morgan, R. L. s. Alper, T. 452  
Mori-Chavez, P. s. Congdon, C. C. 450  
Morkau, K. s. Koch, R. 407, 469
- Morkovin, D., u. A. Feldman 364, 474  
— s. Puck, Th. 293, 351  
— s. Puck, T. T. 364, 478  
Moroson, H., u. P. Alexander 203, 204, 213  
Morris, D. D. s. Smith, J. C. 403, 482  
Morrison, D. C. s. Garrison, H. M. 160  
— s. Garrison, W. M. 158, 159, 176  
Morrison, M. s. Arnason, T. J. 542, 618  
Morse, S. s. Fricke, H. 13, 15, 35, 49, 78, 79, 82, 83, 175, 245, 246  
Morti, H. R. s. Aebi, H. 390, 451  
Mortimer, R. K. 522, 546, 624  
— u. C. A. Tobias 624  
Morton, N. E., J. F. Crow u. H. J. Muller 584, 613, 615, 631  
Morton, R. K. 429, 474  
Mosburg, E. s. Hutchinson, F. 228, 234  
Moseley, B. E. B., u. A. H. Schein 366, 474  
Moses, C., I. G. Linn u. A. J. Allen 313, 350  
Motokawa, K., J. Umetsu, M. Kobayashi u. M. Kameyama 404, 474  
Mottram, J. C. 20, 37, 547, 556, 624  
— G. M. Scott u. S. Russ 271, 350  
Mouli, Chandra s. Singh, B. B. 408, 481  
Moutschen-Dahmer, J. s. Ehrenberg, L. 571, 620  
— s. Ehrenberg, L. 571, 620  
Müller, A. 407, 474  
— G. Hotz u. K. G. Zimmer 268  
— W. Köhnlein u. K. G. Zimmer 408, 475  
— u. K. G. Zimmer 179, 268, 407, 475  
— s. Boag, J. W. 173, 264, 407, 455  
— s. Köhnlein, W. 248, 267, 407, 470  
— s. Kepp, R. K. 258, 259, 263, 267  
— s. Zimmer, K. G. 270, 408, 451  
Müller, E. s. Heeren, I. G. 329, 346  
Mueller, G. C., K. Kajiwara, E. Stubblefield u. R. R. Rueckert 412, 474  
— s. Stubblefield, E. 412, 418, 483

- Müller, J. s. Braun, H. 455  
 Müller, K. s. Hofmann, D. 292, 346  
 — s. Kepp, R. K. 293, 329, 348  
 Münster, A. s. Briegleb, G. 171  
 Müntzing, A. 545, 624  
 Münzel, H. 79  
 — u. O. Aerne 51, 80  
 Mulay, D. s. Tränkle, H. L. 332, 354  
 Muldal, S. s. Gilbert, C. W. 412, 462  
 Muller, H. J. 12, 37, 250, 268, 315, 350, 487, 500, 503, 509, 511, 530, 536, 542, 557, 561, 578, 612, 624, 625, 631  
 — J. H. Herskowitz, S. Abrahamson u. I. I. Oster 581, 631  
 — I. I. Oster u. S. Zimmering 316, 317, 350  
 — J. I. Valencia u. R. M. Valencia 580, 581, 631  
 — s. Lamy, R. 546, 623  
 — s. Morton, N. E. 584, 613, 615, 631  
 — s. Osborne, S. B. 631  
 — s. Ostertag, F. W. 590  
 Mullis, A., W. Minder, A. Liechti u. F. Wegmüller 155, 179  
 Muncz, C. M. s. Sallmann, L. V. 254, 269  
 Mund, W., u. W. Koch 138, 179  
 — u. C. Rosenblum 138, 179  
 Munro, T. R. 356, 365, 367, 475  
 Munson, R. I. s. Neary, G. J. 255, 257, 268, 406, 475  
 Munson, R. J. s. Neary, G. J. 298, 350  
 Muntz, J. A. s. Barron, E. S. G. 216, 217, 232  
 Muramatsu, M., u. H. Busch 379, 475  
 — J. L. Hodnett u. H. Busch 379, 475  
 Murphy, D. P., u. L. Goldstein 595, 631  
 Myers, D. K. 425, 444, 475  
 — Araki u. de Wolfe 369  
 — C. A. Hemphill u. C. M. Townsend 424  
 Nachtigall, W. 286, 287, 350  
 Nadkarni, M. V. s. Trams, E. G. 415, 484  
 Naftalin, L. 401  
 Nagy, J. 475  
 Nakamoto, T., u. S. B. Weiss 475  
 — s. Geiduschek, E. P. 461  
 — s. Weiss, S. B. 435, 485  
 Nakhil'Nitskaya, Z. N. s. Lebedinskiy, A. V. 302, 349  
 Narraway, C. A. s. Baldwin, W. F. 527, 618  
 Nathans, D., u. F. Lipmann 475  
 Nather, K., u. H. R. Schinz 271, 319, 350  
 Neal, F. E. 307, 350  
 — s. Corp, M. J. 299, 306, 344  
 Neary, G. J. 315, 319, 350  
 — H. J. Evans, S. M. Tonkinson u. F. S. Williamson 257, 260, 268, 362, 475  
 — R. I. Munson u. R. H. Mole 255, 257, 268, 406, 475  
 — R. J. Munson u. R. H. Mole 298, 350  
 — J. R. K. Savage u. H. J. Evans 250, 268, 362, 475  
 — S. M. Tonkinson u. F. S. Williamson 268, 475  
 — s. Evans, H. J. 21, 35, 254, 266  
 Nebel, B. R. s. Marinelli, L. D. 536, 624  
 Neel, J. V. 596, 614, 631  
 — u. W. J. Schull 578, 595, 597, 600, 610, 631  
 — s. Crowe, F. W. 607, 630  
 — s. Schull, W. J. 595, 597, 598, 632  
 Nelson, A. s. Clemedson, C. J. 297, 344  
 — s. Lundin, J. 472  
 Neurath, H., I. P. Greenstein, F. W. Putnam u. J. O. Erickson 215, 235  
 Nevill, A. s. Wainwright, S. D. 566, 628  
 Newcombe, H. B. 317, 350, 504, 507, 508, 509, 512, 517, 518, 519, 534, 536, 537, 547, 548, 560, 563, 566, 567, 568, 571, 586, 590, 625, 631  
 — u. R. Hawirko 553, 625  
 — J. M. Kennedy, S. J. Ax-ford u. A. P. James 616, 631  
 — u. J. F. McGregor 537, 625, 631  
 — u. M. H. Nyholm 504, 553, 625  
 — u. H. A. Whitehead 509, 566, 567, 625  
 — s. McGregor, J. F. 593, 594, 631  
 — s. Rhynas, P. O. W. 553, 554, 555, 626  
 — s. Rixon, R. H. 587, 631  
 Newton, A., P. P. Dendy, C. L. Smith u. P. Wildy 416, 417, 475  
 Newton, A. A. s. Wildy, P. 485  
 Newton, A. S. 147, 148, 179  
 — s. McDonell, W. R. 89, 146, 178  
 Nias, A. H. W., u. J. Paul 411, 475  
 Nice, C. M. 625  
 Nicholls, J. G. s. Allen, J. G. 405, 452  
 Nichols, G. O. s. Spargo, B. 406, 482  
 Nickson, J. J. 172  
 — s. Tyree, E. B. 256, 259, 269  
 Nicola, M. de 438, 475  
 Niedbala, T. F. s. Di Paollo, J. A. 435, 459  
 Nielsen, J. 334, 350  
 Nieuwerk, H. T. s. Bekkum, D. W. van 369, 453  
 Nilan, R. A. 561, 625  
 — s. Adams, J. D. 561, 618  
 — s. Kronstad, W. E. 571, 623  
 — s. Sire, M. W. 561, 562, 626  
 Nirenberg, M. W., u. J. H. Matthaëi 475  
 Nitz-Litzow, D., u. G. Bühner 475  
 Nizet, A., u. A. Herve 475  
 — S. Lambert u. Z. M. Bacq 387  
 — — A. Herve u. Z. M. Bacq 475  
 Nötzli, M. s. Zuppinger, A. 263, 270  
 Nogier, T. s. Regaud, C. 271, 352  
 Nokay, N. s. Kurnick, N. B. 298, 348  
 Nolan, T. F., W. E. Costolow u. L. DuSault 334, 350  
 — u. L. DuSault 334, 350  
 Noll, H. s. Staehelin, T. 482  
 — s. Wettstein, F. O. 377, 435, 485  
 Norman, A., u. J. A. Field 441, 446, 475  
 — u. W. Ginoza 11, 37, 475  
 — s. Ginoza, W. 11, 28, 35  
 Norman, U. s. Révész, L. 363, 479  
 Noronha-Wagner, M. s. Castro, D. 549, 550, 619  
 Norris, G., u. S. L. Hood 365, 475  
 North, D. T. s. Caldecott, R. S. 561, 619  
 Northrop, J. H. 215, 235  
 Norvick, M. s. Zinn, W. H. 73, 182  
 Notari, N. K. s. Singh, B. B. 408, 481  
 Notter, G., u. C. A. Gernzell 389, 401, 475  
 Novák, R. 288, 350, 396, 405, 475  
 — s. Forssberg, A. 368, 395, 461  
 Novelli, G. D., T. Kameyama u. J. M. Eisenstadt 432, 475  
 Novitski, E., u. A. W. Kimball 597, 598, 631  
 — s. Stern, C. 578, 584, 632

- Nowacki, W., u. H. Bürki 119, 179
- Nowell, P. C., u. L. J. Cole 318, 350, 351
- u. M. E. Ellis 259, 268
- s. Cole, L. C. 312, 314, 344
- Noyes, W. D. s. Lajhta, L. G. 374, 413, 417, 418, 421, 470
- Nurnberger, C. E. 557, 625
- Nybom, N. s. Forssberg, A. 565, 621
- Nyholm, M. H. s. Newcombe, H. B. 504, 553, 625
- Nygaard, O. F. 427, 451, 475
- u. S. Guttes 427, 475
- u. R. L. Potter 475, 476
- u. R. L. Potter 375, 415, 476
- s. Potter, R. L. 477
- Oakberg, E. F.** 361, 476
- u. R. L. DiMinno 476, 532, 625
- s. Russell, W. L. 593, 632
- Oberheuser, F., u. H. A. Künkel 275, 351
- s. Künkel, H. A. 293, 348
- O'Brien, J. S. 424, 476
- Ochoa, S., D. P. Burma, H. Kröger u. J. D. Weill 435, 476
- Odell jr., T. T., G. E. Cosgrove u. A. C. Upton 312, 351
- Odland, L. T. s. Michaelson, S. M. 305, 350
- Oehlert, W., P. Lauf u. N. Seemayer 410, 476
- s. Lauf, P. 379, 471
- Oehlkers, F. 569, 625
- Ogur, M., u. G. U. Rosen 502, 625
- Ohkura, K. s. Tanaka, K. 595, 597, 632
- Okada, S. 231, 235, 425, 476
- u. G. Fletcher 229, 230, 235
- u. G. Gehrman 217, 235
- u. L. H. Hempelmann 424, 476
- u. L. D. Peachey 476
- Okura, F. 523, 625
- Oldekop, M. s. Hilz, H. 429, 430, 434, 466
- Oliver, C. P. 531, 625
- Oliver, R. 320, 351
- s. Alper, T. 452
- s. Ellis, F. 366, 460
- s. Laitha, L. G. 374, 394, 410, 413, 417, 418, 421, 470, 471
- s. Suit, H. D. 394, 483
- Olson s. Rabinowits 394
- Opara-Kubinska, Z., Z. Lorkiewicz u. W. Szybalski 366, 476
- W. Szybalski 366, 476
- s. Szybalski, W. 366, 483
- Ord, M. G., u. L. A. Stocken 363, 369, 372, 373, 375, 376, 380, 391, 400, 415, 416, 418, 426, 438, 439, 442, 451, 476
- s. Esnouf, M. P. 360, 460
- s. Foster, R. 442, 461
- s. Jaffe, J. J. 425, 468
- s. Richmond, J. E. 433, 436, 479
- s. Stocken, L. A. 425
- Ord, M. J., u. J. F. Danielli 476
- Ormerod, M. G. s. Alexander, P. 210, 212
- s. Libby, D. 203, 213
- Orndoff, B. H. s. Ivy, A. C. 405, 468
- Osawa, S., V. G. Allfrey u. A. E. Mirsky 371, 372, 383, 476
- s. Allfrey, V. G. 372, 452
- s. Mirsky, A. E. 474
- Osborne, S. B., u. E. E. Smith 589, 631
- W. Ostertag u. H. J. Muller 631
- Osborne, T. S. s. Hoskinson, P. E. 25, 26, 36
- Ostegren, G. 548, 625
- Oster, I. I. s. Muller, H. J. 316, 317, 350, 581, 631
- Osterberg, K. A., u. L. W. Wattenberg 476
- Ostertag, W., u. H. J. Muller 590
- s. Osborne, S. B. 631
- Ottoleghi, M., u. G. Stein 143, 179
- Ouchi, K. s. Meshitsuka, G. 179
- Overall, J. E., W. L. Brown u. L. C. Logie 302, 351
- L. C. Logie u. W. L. Brown 302, 351
- Overbeck, L. s. Schubert, G. 313, 353
- Pack, G. T., u. E. H. Quimby** 326, 351
- Packard, C. 11, 37, 292, 351, 547, 625
- Pagès, M., u. M. Haissinky 179
- Paias, M. A. s. Anta, M. C. 167, 173
- Pain, R. H. s. Butler, J. A. V. 456
- s. Shooter, K. V. 382, 481
- Painter, E. E. s. Prosser, C. L. 357, 403, 478
- Painter, R. B. 413, 476
- u. R. M. Drew 410
- u. J. S. Robertson 413, 476
- s. Drew, R. M. 459
- s. Feinendegen, L. E. 460
- s. Hughes, W. L. 467
- Pahl, H. B. s. Bendich, A. 442, 454
- Pakoskey, A. M. s. Scott, D. B. McN. 363, 480
- Palilla, F. s. Bastian, R. 79
- Palm, J. D. s. Reed, S. C. 607, 608, 616, 631
- Palmer, W. s. Kelly, L. S. 408, 413, 422, 469
- Panjevac, B., G. Ristić u. D. Kanazir 441
- Pannett, C. A. s. Compton, A. 441, 457
- Pape, R. 272, 298, 328, 351
- u. A. Piringer-Kuchinka 298, 351
- s. Bornschein, H. 286, 343
- Parchwitz, E. s. Parchwitz, H. K. 437, 477
- Parchwitz, H. K., u. E. Parchwitz 437, 477
- u. E. Wittekind 379, 437, 477
- s. Breuer, H. 455
- Parkes, A. S. s. Ambroso, E. C. 574, 629
- Parish, D. J. s. Wiley, R. H. 143, 182
- Parish, D. L. s. Randolph, M. L. 407, 478
- Parrish, D. L. s. Randolph, M. L. 149, 180
- Pařízek, J. 477
- M. Arient, Z. Dienstbier u. J. Škoda 399, 477
- Parkins, G. F. s. Alexander, P. 434, 451
- Parr, W. s. Czerwenka C. 299, 344
- Parsons, D. F. 361, 402, 477
- Pasqualino, A., u. G. H. Bourne 388, 477
- Passonneau, J. V., u. T. R. Totter 415, 477
- Passynsky, A. G. 384, 445, 477
- s. Volkova, M. S. 385
- Patau, K. 548, 625
- Paterson, E. s. Gray, L. H. 273, 322, 326, 341 345
- Paterson, R. 333, 334, 335, 351
- u. S. Thompson 351
- Patrick, W. N. s. Barton, M. 174, 179
- Patt, H. M. 21, 37, 217
- s. Straube, R. L. 482
- Patten, F., u. W. Gordy 149, 179
- Patterson, R. 241, 268, 580
- Patti, F. s. Bonet-Maury, P. 224, 233
- Paul, J. 477
- s. Dickson, M. S. H. 413, 415, 418, 459
- s. Nias, A. H. W. 411, 475
- s. Weissman, S. M. 424, 485
- Paul, W. s. Bode, H. G. 258, 262, 263, 264

- Paul, W. s. Dittrich, W. 249, 252, 258, 265  
 — s. Fass, H. 266  
 Pauli, W. 116  
 Pauling, L. 116, 119, 172  
 — s. Mirsky, A. E. 215, 234  
 Paulson, J. F. 147  
 — s. Ausloos, P. 147, 173  
 Pauly, H. 432, 433, 477  
 Pavan, C. s. Cuna, A. B. da 615, 630  
 Payne, A. H. s. Kelly, L. S. 408, 413, 422, 469  
 Payne, O. H., L. S. Kelly u. C. Entenman 376, 477  
 Paxman, G. J. 582, 583, 631  
 Peachey, L. D. s. Okada, S. 476  
 Peacocke, A. R. 213  
 — s. Lloyd, P. H. 206, 213, 446, 447, 472  
 Pearlman, B. W. s. Friedman, M. 345  
 Pearse, M. L., M. A. Greenfield u. W. N. Valentine 298, 351  
 Pehap, A. s. Forssberg, A. 368, 461  
 Pelc, S. R. 419, 436, 477  
 — u. A. Howard 373, 374, 477  
 — u. L. F. La Cour 420, 477  
 — s. Howard, A. 373, 408, 410, 411, 413, 420, 422, 467  
 Pendic, B. s. Jammet, H. 398, 468  
 Penman, S., K. Scherrer, Y. Becker u. J. E. Darnell 435  
 Penrose, L. S. 610, 631  
 Percy, M. s. Gold, M. 428, 462  
 Pereira, A. da S. s. Mahler, H. R. 431, 472, 473  
 Perkins, M. E. s. Hellerman, R. 225, 234  
 Perry, H. s. Berry, H. K. 454  
 Perry, J. H. s. Lind, S. C. 138, 178  
 Perry, R. P. u. M. Errera 428, 437, 477  
 — — A. Hell u. H. Dürwald 477  
 — A. Hell u. M. Errera 428, 437, 477  
 — u. J. Seed 437  
 — s. Gaulden, M. E. 461  
 Person, S. R., u. H. Lewis 25, 37  
 Pessotti, R. s. Brauer, R. W. 305, 343  
 Peters, E. 298, 351  
 Peters, H. 361, 477  
 — u. E. Levy 477  
 — — u. M. Crone 477  
 Petersen, D. F. s. Dubois, K. P. 369, 459  
 Peterson, D. C. s. Maxwell, C. R. 162, 173  
 Petrakis, N. L. 382, 477  
 — P. M. Ashler u. R. L. Ferkel 438, 477  
 — s. Kelly, L. S. 409, 469  
 Petree, B. s. Hart, E. J. 80, 81  
 Petrović, S., D. T. Kanazir u. A. Bećarević 378, 441, 477  
 — s. Baćarević, A. 453  
 Petry, R. C. s. Schuler, R. H. 89, 145, 180  
 Pfahler, G. E. 284, 324, 351  
 Pfeiffer, V. G. s. McDonald, J. E. 254, 268  
 Philips, G. O. 179  
 — G. L. Mattok u. G. J. Moody 168, 179  
 Phillips, D. M. P. 435, 477  
 Phillips, H. J. S. s. Carter, T. C. 300, 344  
 Phillips, J. T. s. Hopwood, F. C. 407, 467  
 Phillips, R. J. S. s. Batchelor, A. L. 367, 453  
 — s. Carter, T. C. 580, 581, 591, 593, 629  
 — s. Searle, A. G. 367, 480  
 Philpot, J. St. L., V. J. Horgan, B. W. Porter u. D. B. Roodyn 183, 213  
 Phipps, C. s. Kretchmar, A. L. 399, 470  
 Phung, P. V., u. M. Burton 154, 180  
 — s. Kurien, K. C. 178  
 Pickett, L. W. s. Clark, G. L. 174  
 Pihl, A., u. L. Eldjarn 235  
 — — u. J. Bremer 235  
 — R. Lange u. L. Eldjarn 217, 235  
 — s. Eldjarn, L. 189, 212, 218, 219, 233  
 — s. Henriksen, T. 177, 203, 212, 407  
 — s. Lange, R. 189, 212, 217, 219, 234  
 Pires, M. L. de Camargo s. Cuna, A. B. da 615, 630  
 Pirie, A. 477  
 — R. van Heyningen u. J. W. Boag 217, 235, 360, 477  
 — s. Heyningen, R. van 360, 466  
 Piringer-Kuchinka, A. s. Pape, R. 298, 351  
 Pittinger, T. s. Atwood, K. C. 538, 618  
 Piza, S. de T. 548, 625  
 Platzman, R., u. J. Franck 196, 200, 213  
 — s. Franck, J. 2, 35  
 Platzman, R. L. s. Hart, E. J. 43, 120, 153, 159, 172  
 Plaut, W. s. Krause, M. 419, 470  
 Poek, R. A. s. Ludovici, P. P. 472  
 Polak, L. S., A. V. Topkiew u. N. Y. Chernyak 180  
 Politzer, G. s. Alberti, W. 271, 290, 291, 341, 342  
 Pollard, E. C. 9, 37, 247, 248, 249, 268  
 — u. A. E. Diamond 268  
 — W. R. Guild, F. Hutchinson u. R. B. Setlow 9, 37, 240, 268  
 Pollister, A. W. s. Mirsky, A. E. 382, 474  
 Pontecorvo, G. 491, 501, 502, 503, 625  
 — u. J. A. Roper 502, 503, 625  
 Pontifex, A. H., u. L. F. Lamerton 298, 351  
 — s. Lamerton, L. F. 297, 306, 348  
 Poretti, G. s. Zuppinger, A. 263, 270  
 Porter, B. W. s. Philpot, J. St. L. 183, 213  
 Porter, E. H. 364, 365, 477  
 Potter, R., u. L. J. Tolmach 478  
 — s. Beltz, R. E. 413, 415, 422, 424, 454  
 Potter, R. van 423, 424, 478  
 — s. Bollum, F. J. 415, 424, 455  
 Potter, R. L., u. F. H. Bethell 368, 269, 477  
 — u. O. F. Nygaard 477  
 — s. Nygaard, O. F. 375, 415, 475, 476  
 — s. Sugino, Y. 483  
 Potter, V. R. u. V. H. Auerbach 426, 478  
 — s. Schneider, J. H. 480  
 Pottie, R. F. R. Barker u. W. H. Hamill 180  
 Pottinger, M. A. s. Bachofer, C. S. 559, 618  
 Powers, E. L., R. B. Webb u. C. F. Ehret 24, 37  
 Poynter, M. s. Gray, L. H. 266  
 Pratt, A. W. s. Putney, F. K. 180  
 Preer, J. R. 493, 525, 625  
 Prescott, D. M., u. M. A. Bender 411, 412  
 Preston, A. s. Hutchinson, F. 26, 36, 220, 234, 247, 262, 267  
 Prévost-Bernas, A., A. Chapiro, C. Cousin, Y. Landler u. M. Magat 180  
 Prime jr., F. s. Wood, F. C. 271, 319, 354  
 Pritchard, R. H. 503, 626  
 Proctor, B. E., u. D. S. Bhatia 163, 180  
 — u. S. E. Goldblith 169, 180  
 — s. Goldblith, S. A. 431, 462  
 Proskurnin, M. A., u. Y. M. Kolotyркиn 154, 180

- Prosser, C. L., E. E. Painter,  
H. Lisco, A. M. Brues, L. O.  
Jacobson u. M. N. Swift  
357, 403, 478
- Prvadich-Neminskaya, T. V. s.  
Zubkova, S. R. 486
- Prydz, S., u. T. Henriksen 407,  
478
- Pucheault, J., u. C. Ferradini  
180
- Puck, Th., Ph. Marcus u.  
S. Cieciora 293, 351  
— D. Morkovin, Ph. Marcus u.  
S. Cieciora 293, 351
- Puck, T. T. 364, 478  
— S. J. Cieciora u. A. Robin-  
son 478  
— u. P. I. Marcus 364, 478  
— — u. S. J. Cieciora 364, 478  
— D. Morkovin, P. I. Marcus  
u. S. J. Cieciora 364, 478  
— u. J. Steffen 431, 478  
— u. M.-A. Yamada 478  
— s. Yamada, M. 413, 486
- Pugh, R. R., W. J. Harrington,  
V. K. Mayer, J. Rothschild,  
C. J. Graefe u. P. M. Lang-  
sam 356, 478
- Purdom, C. E. 316, 317, 351  
— u. T. W. McSheehy 317, 351
- Putnam, F. W. s. Neurath, H.  
215, 235
- Putney, F. K., u. A. W. PRATT  
180
- Quastler, H. 351, 357, 411, 412,  
416, 432, 478  
— J. P. M. Bensted, L. F. Lam-  
merton u. S. M. Simpson  
299, 351  
— u. F. G. Sherman 410, 478  
— s. Austin, M. K. 252, 258,  
264  
— s. Cattaneo, S. M. 410, 413,  
456  
— s. Hughes, W. L. 467  
— s. Luce, W. M. 249, 267  
— s. Sherman, F. G. 413, 418
- Quevedo jr., W. C., u. D. Grahn  
332, 351
- Quimby, E. H., u. W. S. Mac-  
Comb 330, 351  
— s. MacComb, W. S. 307, 329,  
330, 349  
— s. Pack, G. T. 326, 351
- Rabinowitz u. Olson 394
- Rados, A., u. H. R. Schinz 271,  
351
- Radu, Gh. s. Catsch, A. 249, 265
- Ragni, G., u. W. Szybalski 448,  
478
- Rahman, Y. E. 388, 478
- Rajewski, B. 241, 268  
— u. H. Dänzer 278, 351  
— u. K. Dose 201, 213  
— O. Heuse u. K. Aurand 304,  
351  
— u. A. Schraub 315, 351
- Rambach, W. A., J. A. D. Coo-  
per, H. L. Alt, H. H. Vogel  
jr., J. W. Clark u. D. J.  
Jordan 255, 268
- Ramler, W. J. s. Hart, E. J. 79,  
86, 177
- Ramsey, A. W., u. A. T.  
Calderon 65, 180
- Randolph, M. L., u. D. L.  
Parish 407, 478  
— u. D. L. Parrish 149, 180  
— s. Conger, A. D. 253, 265,  
407, 542, 620  
— s. Kirby-Smith, J. S. 407,  
469
- Raper, A. B. 608, 631
- Rapoport, S. Y., u. S. M. Gasa-  
nova 380
- Rappoport, D. A. 478  
— R. A. Seibert u. V. P.  
Collins 478
- Rathgen, G. H., u. H. Maass  
478  
— s. Höhne, G. 466  
— s. Maass, H. 429, 430, 472  
— s. Schubert, G. 480
- Ratty, F. J. s. Lefever, G. 506,  
623
- Rauch, H. s. Chase, H. B. 258,  
265
- Rauen, H. M., H. Kersten u.  
W. Kersten 478
- Raut, C., u. W. L. Simpson 525,  
625
- Rawlence, Elizabeth 617
- Ray, D. s. Braams, R. 11, 34,  
212
- Raychaudhuri, S. P. 531, 626
- Read, J. 21, 23, 37, 180  
— s. Gray, L. H. 252, 257, 266,  
295, 345, 346, 406, 463  
— s. Hewitt, H. B. 559, 622  
— s. Spear, F. G. 5, 37  
— s. Thoday, J. M. 21, 37, 356,  
484, 556, 557, 627
- Reddy, M. P. s. Burton, M.  
174  
— s. Hamashima, M. 176
- Redisch, W. s. Löw-Beer, B.  
V. A. 330, 332, 349
- Reed, E. W. s. Reed, S. C. 616,  
631
- Reed, S. C., u. J. D. Palm 607,  
608, 616, 631  
— E. W. Reed u. J. D. Palm  
616, 631
- Reed, T. E. 607, 616, 631  
— u. E. L. Kelly 608, 631
- Regand, C. 300, 351
- Regand, C. u. R. Ferroux 271,  
300, 351, 352  
— u. T. Nogier 271, 352  
— s. Ferroux, R. 300, 345  
— s. Lacassagne, A. 360
- Regehr, H., T. J. Arnason u.  
H. E. Johns 249, 268
- Reich, E., G. Acs u. R. M.  
Franklin 478
- Reich, E. R., R. M. Franklin,  
A. J. Shatkin u. E. L.  
Tatum 435, 478
- Reich, H. s. Kepp, R. K. 258,  
259, 263, 267, 329, 348
- Reich, R. s. Dieckmann, C. 252,  
265
- Reichard, P. 424, 478  
— Z. N. Cannellakis u. E. S.  
Cannellakis 478
- Reichardt, W. 368
- Reid, C. 172
- Reincke, U. s. Stutz, E. 313, 353
- Reinhard, M. C., u. K. L.  
Tucker 180
- Reis, A., u. L. Kluge 357, 358,  
397, 478
- Reis, R. H. s. Slatiss, H. M. 613,  
614, 632
- Reiskin, A. B. s. Scott, D. B.  
McN. 363, 480
- Reisner, A. 272, 321, 323, 326,  
328, 329, 330, 331, 332, 352
- Remington, M. s. Jolles, B. 441,  
468
- Renfer, H. R. s. Zuppinger, A.  
263, 270
- Renson, J. s. Bacq, Z. M. 385,  
453
- Rethore, M. O. s. Lejeune, J.  
630  
— s. Turpin, R. 595, 597, 598,  
632
- Reuss, A. s. Glocker, R. 271, 345
- Revell, S. s. Loveless, A. 569, 624
- Revell, S. H. 22, 37, 569, 626
- Révész, L. 440, 479  
— u. H. Bergstrand 479  
— — u. H. Modig 363, 479  
— U. Glas u. G. Hilding 479  
— u. U. Norman 363, 479  
— s. Caspersson, O. 363, 456  
— s. Glas, U. 363, 462
- Reynolds, J. P. 547, 626
- Rho, J. M., u. J. Bonner 377,  
479
- Rhoades, M. M. 492, 502, 509,  
626
- Rhoads, C. P. s. Abels, J. C.  
358, 368, 439, 451
- Rhody, R. B. s. Riley, E. F. 241,  
269
- Rhynas, P. O. W., u. H. B.  
Newcombe 553, 554, 555, 626
- Ribbing, C. s. Killander, D. 436,  
469

- Ricanati, M. s. Harrington, H. 448, 464
- Rich, A. s. Warner, J. R. 435, 485
- Rich, M. A. s. Delihhas, N. 366
- Richards, B. M., u. N. B. Atkin 364, 479
- u. H. G. Davies 379
- Richards, E. W. T. 74, 180
- Richards, J. D. s. Gray, E. D. 424, 463
- Richards, K. D. s. Riley, E. F. 241, 269
- Richards, R. D. s. Evans, T. C. 313, 314, 345
- s. Riley, E. F. 313, 314, 352
- Richmond, J. E., K. J. Altman u. K. Salomon 387, 479
- M. G. Ord u. L. A. Stocken 433, 436, 479
- s. Altman, K. I. 387, 452
- Richterich, R. s. Aebi, H. 390, 451
- Rick, C. M. 534, 626
- Riehl, N. 180
- Riese, O. s. Glocker, R. 176
- Rigg, T. 86, 99
- G. Stein u. J. Weiss 108, 180
- Riley, E. F., T. C. Evans, R. B. Rhody, P. J. Leinfelder u. K. D. Richards 241, 269
- P. J. Leinfelder, T. C. Evans u. R. B. Rhody 241, 269
- R. D. Richards u. P. J. Leinfelder 313, 314, 352
- s. Evans, T. C. 313, 314, 345
- s. Henshaw, P. S. 241, 256, 259, 267, 307, 312, 315, 346
- s. Leinfelder, P. J. 254, 267
- Riley, G. M. s. Ludovici, P. P. 472
- Riley, H. P. 565, 626
- s. Giles, N. H. 558, 559, 621
- s. Giles jr., N. H. 21, 35
- Ringertz, N. R. 436, 479
- s. Caspersson, T. 359, 409, 436, 456
- s. Killander, D. 436, 469
- Ris, H. 548, 550, 626
- Hughes-Schrader, S. 548, 549, 550, 622
- s. Mirsky, A. E. 474
- Risebrough, R. W., A. Tissières u. J. D. Watson 435, 479
- s. Gros, F. 377, 463
- Risse, O. 13, 37, 75, 76, 95, 180
- s. Glocker, R. 13, 35
- Ristić, G. s. Panjevac, B. 441
- Ritterhof, U. R. K. s. Glass, B. 580, 630
- Rivera, L. R. s. Boone, I. U. 314, 315, 343
- Rixon, R. H., J. M. A. Tishler u. H. B. Newcombe 587, 631
- s. Whitfield, J. F. 409, 434, 485, 553, 555, 628
- Roberts, F. J. A. 631
- Robertson, A. 582, 608, 632
- s. Clayton, G. 581, 582, 630
- Robertson, J. S. s. Bateman, J. L. 307, 308, 314, 342
- s. Bond, V. P. 241, 255, 264
- s. Painter, R. B. 413, 476
- Robins, A. B. s. Butler, J. A. V. 456
- Robinson, A. s. Puck, T. T. 478
- Robson, E. B. 581, 632
- Robson, J. M., u. R. S. Stacey 396, 479
- s. Auerbach, C. 569, 618
- Rochers, T. H. 180
- Rocklin, S. R. s. Hart, E. J. 79, 86, 177
- Röntgen, W. C. 286, 352
- Rörsch, A., A. Edelman u. J. A. Cohen 434, 479
- — C. van der Kamp u. J. A. Cohen 479
- Roesler, H., u. P. S. Henshaw 292, 352
- s. Langendorff, H. 396, 471
- s. Melching, H.-J. 396, 400, 473
- Rogers, B. S. s. Storer, J. B. 269
- Rogers, R. W., u. R. C. v. Borstel 479
- s. Borstel, R. C. v. 455
- Rohrschneider, W., u. R. Glauner 313, 352
- Roitt, J. M. 429, 479
- Rollefson, G. K., u. M. Burton 172
- s. Garrison, W. M. 158, 176
- Romagnoli, U. s. Laddaga, M. 360, 470
- Roodyn, D. B. s. Philpot, J. St. L. 183, 213
- Roper, J. A. 501, 626
- s. Pontecorvo, G. 502, 503, 625
- Rosario, C. Del s. Swann, W. F. G. 278, 279, 353
- Rosen, D. 197, 213
- S. Brohult u. P. Alexander 213
- s. Alexander, P. 183, 198, 202, 212
- Rosen, G. U. s. Ogur, M. 502, 625
- Rosen, V. J. s. Cole, L. J. 360, 457
- Rosenberg, B. s. Augenstein, L. 449, 450
- Rosenberger, H. s. Chaoul, H. 273, 326, 327, 332, 344
- Rosenblum, C. 180
- s. Mund, W. 138, 179
- Rosenfeld, F. M. s. Sparrow, A. H. 49, 169, 181
- Rosenkranz, H. S. s. Bendich, A. 442, 454
- Ross, D. A. s. Hutchinson, F. 177
- Ross, M. s. Alexander, P. 195, 212
- Ross, M. H. s. Ely, J. 300, 345
- Rossi, H. H., M. H. Biavati u. W. Gross 275, 352
- Rotblat, J. s. Butler, J. A. V. 456
- s. Lindop, P. J. 306, 314, 349
- Roth, J. S., J. Bukovsky u. H. J. Eichel 479
- Rothacker, O. s. Glocker, R. 290, 345
- Rothen, A. 222, 235
- Rother, J. 397, 479
- Rothermel, S. M., K. T. Woodward u. J. B. Storer 256, 269
- Rothschild, J. s. Pugh, R. P. 356, 478
- Rothschild, W. G., u. A. O. Allen 88, 180
- s. Allen, A. O. 172
- Rottenberg, W. 40
- Rotter s. Szöge 397
- Rotthauwe, H. W. s. Kröger, H. 429, 470
- Rowbottom, J. 164, 180
- s. Dainton, F. S. 75, 100, 101
- Rowley, J. s. Gilbert, C. W. 412, 462
- Rozendaal, H. M., W. D. Bellamy u. T. H. Baldwin 206, 213
- Rubini, J. R., E. P. Cronkite, V. P. Bond u. T. M. Fliedner 399, 479
- — — — u. W. L. Hughes 479
- s. Killman, S. A. 399, 469
- Rudstam, G., u. Th. Svedberg 51, 79, 80
- Rueckert, R. R. s. Mueller, G. C. 412, 474
- Rüfer, A. 49, 180
- Rugh, R. 302, 309, 352
- u. H. Clugston 25, 37, 298, 304, 352
- Rupert, C. S. s. Swanson, C. P. 564, 627
- Russ, S. s. Mottram, J. C. 271, 350
- Russell, C. s. Dale, W. M. 24, 35, 224, 233
- Russell, L. B., S. K. Badgett u. C. L. Saylor 310, 317, 352
- u. M. H. Major 594, 632
- K. F. Stelzner u. W. L. Russell 301, 302, 317, 352

- Russel, L. B. s. Russel, W. L. 249, 251, 269, 317, 352, 361, 510, 532, 537, 539, 559, 567, 590, 591, 592, 593, 626, 632
- Russell, P. J. s. Bendich, A. 418
- Russell, W. L. 316, 352, 479, 537, 575, 580, 581, 591, 592, 593, 626, 632
- J. W. Bangham u. J. S. Gower 592, 632
- u. E. M. Kelly 479
- J. C. Kile u. L. B. Russell 559, 626
- u. L. B. Russell 249, 251, 269, 361, 532, 539, 590, 591, 592, 626, 632
- — u. M. B. Cupp 592, 632
- — J. S. Gower u. S. C. Maddux 593, 632
- — u. E. M. Kelly 317, 352, 510, 537, 539, 567, 591, 592, 626, 632
- — u. A. W. Kimball 249, 250, 269
- — u. E. F. Oakberg 593, 632
- u. L. Wickham 590, 632
- s. Russell, L. B. 301, 302, 317, 352
- Rust, J. H. 304, 352
- Ryan, F. J. 510, 568, 626
- s. Strelzoff, E. 483
- Ryser, H., H. Aebi u. A. Zuppinger 369
- B. Schmidli, A. Zuppinger u. H. Aebi 369
- Sacher, G. A. 284, 285, 305, 314, 315, 352
- s. Brues, A. M. 312, 314, 343
- s. Grahn, D. 241, 266
- s. Leshner, S. 312, 349
- Sado, T. s. Tazima, Y. 317, 354
- Saenger, E. L. s. Berry, H. K. 454
- Sagik, B. P. s. Sheek, M. R. 409, 481
- Sainte-Marie, G., u. C. P. Leblond 361, 479
- Saldick, J., u. A. O. Allen 89
- Sallmann, L. v., C. A. Tobias, H. O. Anger, C. Welch, S. F. Kimura, C. M. Muncz u. A. Drungis 254, 269
- Salomon, K. s. Altman, K. I. 387, 452
- s. Richmond, J. E. 387, 479
- Salthouse, T. N. s. Baldwin, W. F. 618
- Salz, G. s. Dittrich, W. 258, 265
- Salzman, A. J. s. Schwarz, H. A. 95, 180
- Sampson, M., A. Katoh, Y. Hotta u. H. Stern 420, 479
- Sambrook, B. K., A. C. Thackray u. P. B. Woodyat 340, 352
- Sambrook, D. K. 341, 352
- Sams, C. F., u. G. D. Adams 404, 479
- Samssonow, N. 271, 319, 352
- s. Ferroux, R. 300, 345
- Samuel, A. H., u. J. L. Magee 243, 244, 269
- s. Burton, M. 242, 265
- s. Dewhurst, H. A. 79, 174
- Sandeen, G. s. Kurnick, N. B. 443, 470
- Sanderson, M. s. Allen, J. G. 357, 452
- Sandritter, W., u. A. Krygier 363, 479
- Sanner, T. s. Henriksen, T. 203, 212
- Santesson, L. s. Caspersson, T. 379, 438, 456
- Santos Roda, M. L. s. Anta, M. C. 167, 173
- Sanger, C. s. Churchill-Davidson, I. 31, 32, 34
- Sarachek, A. s. Lucke, W. H. 546, 624
- Saraeva, V. V. s. Bakh, N. A. 173
- Sarkar, N. K., A. Devi u. L. H. Hempelmann 433, 479
- Sartory, A., R. Sartory u. J. Meyer 300, 352
- Sartory, R. s. Sartory, A. 300, 352
- Sato, M., G.-M. Austin u. W. R. Stahl 403, 479
- Saunders, R. D. s. Haybittle, J. L. 89, 177
- Saurborn, G. s. Langendorff, H. 298, 349
- Savage, J. R. J. s. Neary, G. J. 362, 475
- Savage, J. R. K. s. Neary, G. J. 250, 268
- Sax, K. 317, 352, 362, 479, 517, 519, 521, 534, 536, 539, 547, 556, 565, 590, 626, 632
- u. R. T. Blumfield 362, 479
- u. E. V. Enzmann 519, 564, 626
- u. C. P. Swanson 547, 626
- s. King, E. D. 560, 623
- Saylors, C. L. s. Russell, L. B. 310, 317, 352
- Sbarra, A. J. s. Stapleton, G. E. 286, 353
- Scaife, J. F. 363, 369, 370, 377, 381, 429, 479, 480
- u. P. Alexander 359, 370, 382, 443, 446, 480
- u. B. Hill 368, 369, 480
- Scanlon, P. W. 341, 352
- Schaaf, J. s. Trautmann, J. 301, 354
- Schachinger, L. s. Hug, O. 231, 234
- Schaeffer, O. A., u. S. O. Thomson 152, 180
- Schafer 405
- Schairer, L. A. s. Sparrow, A. H. 545, 627
- s. Sparrow, A. H. 482
- Schall, L., u. H. J. Alius 330, 352
- Schauffer, W. G. 480
- Scheel, C. s. Berry, H. K. 454
- Scheer, K. E. s. Becker, J. 253, 263, 264
- s. Yiannakopoulos, A. 333, 354
- Scheibe, G. s. Briegleb, G. 171
- Schein, A. H. s. Moseley, B. E. B. 366, 474
- Scheinberg, S. L. s. Atwood, K. C. 599, 629
- Scherer, E., u. E. Jostes 361
- u. H.-S. Stender 451
- u. K. Voelker 402, 480
- u. W. Vogell 401, 480
- Scherrer, K. s. Penman, S. 435
- Scheuer, O. s. Duane, W. 65, 70, 175
- Schifflett, C. H. s. Lind, S. C. 138, 178
- Schindler, H. s. Minder, W. 80, 81, 82, 155
- Schinz, H. R. 263, 269
- u. B. Slotopolski 271, 300, 352, 361, 480
- u. A. Zuppinger 323
- s. Nather, K. 271, 319, 350
- s. Rados, A. 271, 351
- Schirren, C. G. 352
- u. A. Can 331, 353
- s. Caneghem, P. van 310, 343
- Schliep, H.-J. s. Hug, O. 288, 347, 405, 467
- Schmack, W. s. Hölzel, F. 466
- Schmermund, H. J. 400
- u. H. L. Heinrich 252, 253, 269
- s. Bettendorf, G. 454
- Schmidli, B. s. Aebi, H. 390, 397, 451
- s. Ryser, H. 369
- Schmidt, K. 51, 180
- s. Lotz, H. P. 349
- Schmidt, W. s. Klopfer, A. 66, 121, 177
- Schneider, Ch. s. Henglein, A. 29, 36, 177
- Schneider, D. O., u. G. F. Whitmore 367, 480
- Schneider, J. H. 480
- u. V. R. Potter 480
- Schneider, S. s. Holzer, H. 391
- Schneider, W. C. 480
- Schneiderman, E. D. s. King, E. D. 560, 623
- Schneiderman, H. A., u. E. D. King 560, 626
- s. King, E. D. 560, 623

- Schoen, D. s. Minder, W. 50, 51, 79, 80, 81, 82, 155, 166, 179  
 Schoenebeck, O. v. s. Grassmann, W. 216, 234  
 Schönleber, W. s. Glocker, R. 290, 345  
 Schoepfle, C. S., u. C. H. Fellows 136, 180  
 Schöttelndreyer, H. 328, 353  
 Schoffa, G. 149, 172, 180  
 Scholes, G., u. J. Weiss 203, 205, 213, 384, 480  
 — u. C. M. Wheller 180  
 — s. Daniels, M. L. 563, 620  
 — s. Emmerson, P. 384, 441, 445, 460  
 — s. Hayon, E. 165, 177  
 — s. Jayson, G. G. 157, 161, 168, 177  
 — s. Weiss, J. 205, 213  
 Scholes, M. E. s. Gray, L. H. 257, 266, 362  
 Scholtissek, C. 377, 480  
 Scholz, M. s. Hilz, H. 429, 430, 466  
 Scholz, W. 303  
 — E.-G. Ducho u. A. Breit 303, 353  
 Schramm, Eric 398  
 Schramm, G. s. Gurer, A. 622  
 Schraub, A. s. Rajewsky, B. 315, 351  
 Schrecker, A. W., u. A. Kornberg 392, 480  
 Schrek, R. 359, 361, 442, 480  
 — s. Stefani, S. 360, 482  
 Schubert, G. 269, 417, 480  
 — G. Bettendorf, H. A. Künkel, H. Maass u. G. H. Rathgen 480  
 — H. A. Künkel, L. Overbeck u. G. Uhlmann 313, 353  
 — s. Becker, J. 263, 264  
 — s. Dieckmann, C. 252, 265  
 — s. Dittrich, W. 249, 252, 258, 265, 417, 459, 553, 556, 620  
 — s. Fass, H. 266  
 — s. Henke, H. 465  
 — s. Höhne, G. 249, 267  
 — s. Maass, H. 429, 472  
 Schubert, C. S., u. R. H. Schuler 137, 180  
 Schuch, E. s. Hengstenberg, J. 432, 465  
 Schuler, R. H. 84, 180  
 — u. A. O. Allen 84, 180  
 — u. R. C. Petry 89, 145, 180  
 — s. Fassbender, R. W. 175  
 — s. Gäumann, T. 175  
 — s. Schubert, C. S. 137, 180  
 — s. Weber, E. N. 142, 167, 181  
 Schull, W. J. 614, 632  
 — u. J. V. Neel 595, 597, 598, 632  
 Schull, W. J. s. Crowe, F. W. 607, 630  
 — s. Neel, J. V. 578, 595, 597, 600, 610, 631  
 Schulman, J. H. s. Hart, E. J. 80, 81  
 Schulte, J. W., J. S. Suttle u. R. Wilhelm 143, 144, 180  
 Schultz, J. 572, 587, 626, 632  
 Schumacher 340, 353  
 Schuppli, R., u. H. H. Wagener 386, 480  
 Schwartz, D. 560, 626  
 — s. Swanson, C. P. 534, 559, 627  
 Schwartz, S. 368, 439, 480  
 — s. Wattenberg, L. W. 395, 485  
 Schwarz, G. 20, 37, 272, 310, 327, 353, 356, 401, 480  
 Schwarz, H. A. 180, 244, 269  
 — u. A. J. Salzman 95, 180  
 — s. Allen, A. O. 172  
 Schwarzenberg, L. s. Jammet, H. 398, 468  
 Scott, C. M. 356, 357, 360, 420, 480  
 Scott, D. B. McN., A. B. Reiskin u. A. M. Pakoskey 363, 480  
 Scott, G. M. s. Mottram, J. C. 271, 350  
 Scott, K. G. 480  
 Scott, O. C. A. 480  
 — s. Gray, L. H. 21, 31, 35, 247, 266, 463  
 — s. Howard-Flanders, P. 467  
 Scramm, G. s. Gierer, A. 513  
 Sealand, E. s. Ehrenberg, L. 79, 97, 175  
 Searle, A. G., u. R. J. S. Phillips 367, 480  
 — s. Batchelor, A. L. 367, 453  
 Sedlmayr, G. s. Holzer, H. 429, 467  
 Seed, J. 374, 379, 413, 428, 437, 480, 481  
 — s. Perry, R. P. 437  
 Seemayer, N. s. Lauf, P. 379, 471  
 — s. Oehlert, W. 410, 476  
 Seibert, R. A. s. Rappoport, D. A. 478  
 Seiter, I. s. Koch, R. 429, 470  
 Seitz, L., u. H. Wintz 272, 323, 327, 353  
 Seki, L. s. Barron, E. S. G. 225, 233  
 Semenow, N. N. 115, 172  
 Senvar, C. B., u. E. J. Hart 72, 180  
 Serat, W. F., u. J. F. Mead 155, 181  
 Serebrovskaya, R. I., u. N. I. Shapiro 12, 37  
 Sesonke, A. s. Liebenthal, J. L. 178  
 Setlow, R., u. B. Doyle 28, 37  
 Setlow, R. B. 240, 269  
 — s. Pollard, E. C. 9, 37, 240, 268  
 Seyfarth, L. s. Kepp, R. K. 348  
 Seymour, P. H. s. Bond, V. P. 241, 255, 264  
 — s. Carter, R. E. 241, 255, 265  
 Sgourakis, E. s. Baker, W. K. 21, 34, 560, 618  
 Shalek, R. J., u. T. W. Bonner 71, 181  
 — u. T. L. Gillespie 202, 213  
 Shapiro, B., u. E. A. Dickens 51, 164, 181  
 — u. L. Eldjarn 164, 181, 217, 235  
 — s. Eldjarn, L. 233  
 Shapiro, N. I. s. Serebrovskaya, R. I. 12, 37  
 Sharpless, N. E., A. E. Blair u. C. R. Maxwell 162, 181  
 — s. Maxwell, C. R. 162, 178  
 Shatkin, A. J. s. Reich, E. R. 435, 478  
 Shaw, E. I. 367, 481  
 Sheek, M. R., R. M. Des Armiers, B. P. Sagik u. W. E. Magee 409, 481  
 Shenhan, T. M. s. Wolfrom, M. L. 168, 182  
 Sheppard, C. W., u. V. L. Burton 147, 149, 181  
 — u. W. L. Withehead 181  
 — s. Conger, A. D. 254, 265  
 — s. Honig, R. E. 134, 177  
 Sherlock, P. s. Lipkin, M. P. 472  
 Sherman, F. G., u. A. Forssberg 481  
 — u. H. Quastler 413, 481  
 — s. Cattaneo, S. M. 410, 413, 456  
 — s. Hughes, W. L. 467  
 — Quastler, H. 410, 478  
 Shibata, K. s. Kriegel, H. 397, 470  
 — s. Melching, H.-J. 473  
 Shields, H., u. W. Gordy 149, 165, 181, 208, 213, 407, 481  
 — s. Gordy, W. 10, 29, 35, 55, 176, 201, 203, 212, 407, 462  
 Shifflett, C. H. s. Bernhardt, H. A. 173  
 Shimkin, M. s. Lorenz, E. 315, 349  
 Shooter, K. V., u. A.-R. Crathorn 481  
 — R. H. Pain u. J. A. V. Butler 382, 481  
 — s. Bianchi, P. A. 424, 427, 454  
 — s. Butler, J. A. V. 426, 427, 456  
 — s. Crathorn, A. R. 416, 458

- Shreeve, W. W. s. Feinendegen, L. E. 460
- Sibatani, A. 376, 378, 435, 481  
— S. R. de Kloet u. V. G. Allfrey 377  
— — u. A. E. Mirsky 435, 481  
— K. Yamana, K. Kimura u. T. Takahashi 481
- Sidorov, B. N. s. Dubinin, N. P. 500, 620
- Siebert, G. 391, 429, 481
- Sieburg, H. s. Grundmann, E. 379, 463
- Sievert, R., u. A. Forssberg 292, 353
- Sigelman, S. s. Friedenwald, J. S. 291, 345
- Sigmund, R. s. Kröning, F. 312, 348
- Sikov, M. R., u. J. E. Lofstrom 309, 353
- Šilha, M. 441, 481
- Silini, G. s. Hornsey, S. 467  
— s. Kallman, R. F. 298, 305, 347
- Siminovitich, L. s. Whitmore, G. F. 485
- Simon-Reuss, I. s. Jolles, B. 441, 468  
— s. Mitchell, J. S. 33, 36, 37
- Simmons, E. L. s. Hagen jr., C. W. 305, 315, 346
- Simmons, N. S. s. Kay, E. R. M. 446, 468
- Simpson, S. M. s. Quastler, H. 299, 351
- Simpson, W. L. s. Raut, C. 525, 626
- Sinclair, W. K. 393, 481  
— u. L. H. Blackwell 393, 481  
— — u. R. M. Humphrey 393, 481  
— s. Blackwell, L. H. 393, 455
- Singer, B. A. s. Fraenkel-Conrat, H. 513, 621
- Singer, T. P. s. Barron, E. S. G. 216, 217, 232
- Singh, B. B., B. Venkataraman, N. K. Notari, Chandra Mouli u. K. C. Bora 408, 481
- Singh, U. N., u. R. Koppelman 437, 481
- Singleton, W. R. 568, 626  
— u. F. J. Clark 568, 626  
— s. Konzak, C. F. 581, 630
- Sinsheimer, R. L. 481
- Sipe, C. R. s. Cronkite, E. P. 556, 620
- Sipilä, S. 451
- Sire, M. W., u. R. A. Nilan 561, 562, 626
- Sitterson, B. W. s. Andrews, G. A. 398, 399, 452
- Sivertsen, W. I. s. Cavalieri, R. R. 401, 456
- Skaggs, L. S. s. Luce, W. M. 249, 267
- Skalka, M., J. Matyášová u. J. Soška 380, 438, 481
- Skarzinski, B. s. Euler, H. v. 390, 460
- Skeb, Y. s. Errera, M. 376, 436
- Škoda, J. s. Pařízek, J. 399, 477
- Skoog, F. 168, 181, 389, 481
- Slater, M. s. Melville jr., G. S. 241, 256, 268  
— s. Upton, A. C. 269
- Slatis, H. M. 598, 632  
— R. H. Reis u. R. E. Hoene 613, 614, 632
- Slizynski, S. L. s. Auerbach, C. 576, 590, 629
- Slotopolski, B. s. Schinz, H. R. 271, 300, 352
- Slotopovsky, B. s. Schinz, H. R. 361, 480
- Sluka, E. s. Benjamin, E. 356, 358, 454
- Smaller, B., u. M. S. Matheson 55, 181, 195, 213  
— s. Matheson, M. S. 77, 178
- Smelik 395
- Smellie, R. M. S. 376, 481  
— s. Grav, H. J. 424, 463  
— s. Gray, E. D. 424, 463  
— s. Keir, H. M. 423, 468  
— s. Weissman, S. M. 424, 485
- Smight, J. D. s. Dunn, D. B. 570, 620
- Smith, Christianna 481
- Smith, C. I. s. Smith, H. 399, 482
- Smith, C. L. 10, 37, 222, 235, 421, 428, 449, 481  
— u. P. P. Dendy 481  
— s. Aronson, D. 228, 232  
— s. Dendy, P. P. 422, 458  
— s. Mitchell, J. S. 451  
— s. Newton, A. 416, 417, 475  
— s. Wildy, P. 485
- Smith, E. E. s. Osborne, S. B. 589, 631
- Smith, H., u. T. H. Bates 399, 401, 481, 482  
— — u. C. I. Smith 399, 482  
— u. B. Dymond 398, 482  
— s. Bates, T. H. 399, 453
- Smith, H. H. 318, 353
- Smith, H. P. s. Fricke, H. 13, 18, 35, 96, 157, 158, 160, 161, 175
- Smith, J. C., D. J. Kimeldorf u. E. L. Hunt 405, 482  
— u. D. D. Morris 403, 482
- Smith, K. C., u. B. V. A. Low-Beer 482  
— s. Kaplan, H. S. 468
- Smith, K. M. s. Lea, D. E. 220, 234
- Smith, L. 545, 626
- Smith, L. H., u. O. Vos 365, 482  
— s. Hayden, B. 560, 622
- Smith, M. W. s. Gaddum, J. H. 397, 461
- Smith, P. K. s. Conzelmann, G. M. 376, 415, 457  
— s. Trams, E. G. 415, 484
- Smith, W. V. s. Gordy, W. 29, 35
- Smith, W. W., R. Q. Marston u. J. Cornfield 298, 353
- Smithies, D. H. s. Baxendale, J. H. 154, 158, 173
- Smithers, D. W. 341  
— s. Koller, P. C. 348
- Snell, G. D., u. P. C. Aebersold 254, 269
- Snider, R. S. s. Haley, T. J. 289, 302, 346  
— s. Henshaw, P. S. 312, 315, 346
- Snyder, M. L. s. Carlson, J. G. 291, 344
- Sobels, F. H. 316, 353, 565, 626
- Söderström, J. s. Lünig, K. G. 563, 624
- Sörenson, S. P. L. 215, 235
- Sokolov, V. V. 298, 353
- Sommermeier, K. 172, 243, 262, 269, 280, 353  
— s. Langendorff, H. 252, 267, 292, 349
- Somers, C. E., A. Cole u. T. C. Hsu 482  
— s. Hsu, T. C. 383, 467
- Sondak, V. A. 380  
— s. Meissel, M. N. 380, 473
- Sonnenblick, B. P. 574, 632
- Soška, J. 380, 438  
— s. Skalka, M. 380, 438, 481  
— s. Beneš, L. 380, 438, 454
- Soupart, S. 398, 399, 482  
— s. Bigwood, E. J. 389, 398, 399, 454
- Souza, H. L. de s. Cuna, A. B. da 615, 630
- Spalding, J. F., T. T. Trujillo u. W. L. LeSturgeon 305, 353
- Spargo, B., J. R. Bloomfield, D. Glotzer, E. Leiter u. G. O. Nichols 406, 482
- Sparrman, B., L. Ehrenberg u. A. Ehrenberg 30, 37
- Sparrow, A. H. 361, 482, 494, 498, 532, 545, 547, 548, 626  
— u. E. Christensen 544, 626, 627  
— u. R. L. Cuany 532  
— — J. P. Mischke u. L. A. Schairer 482

- Sparrow, A. H. u. H. J. Evans 482  
 — u. F. M. Rosenfeld 49, 169, 181  
 — u. L. A. Schairer 545, 627  
 — u. R. C. Sparrow 523, 627  
 — s. Evans, H. J. 362, 460  
 Sparrow, R. C. s. Sparrow, A. H. 523, 627  
 Sparshott, S. M. s. Meek, E. S. 473  
 Spear, F. G. 292, 353, 360, 482  
 — u. A. Glücksmann 292, 341, 353  
 — L. H. Gray u. J. Read 5, 37  
 — u. L. G. Grimmett 290, 291, 353  
 — s. Canti, R. G. 271, 290, 343  
 Speder, E. s. Bergonié, J. 405, 454  
 Spencer, J. L., u. A. F. Blakeslee 542, 627  
 Spencer, W. P., u. C. Stern 531, 581, 627, 632  
 Spertzel, R. O., T. J. Bucci u. M. Ingram 482  
 Spiers, F. W. 32, 37  
 Spinks, J. W. T., u. R. J. Woods 172  
 — s. Freeman, G. R. 156, 175  
 — s. Hummel, R. W. 83, 177  
 Spirtes, M. A. s. Eichel, H. E. 429, 459  
 Stacey, K. A. 425, 442, 482  
 — s. Alexander, P. 202, 208, 212  
 Stacey, M. s. Barker, S. A. 210, 212  
 — s. Lett, J. T. 207, 208, 213, 417  
 Stacey, R. S. s. Robson, J. M. 396, 479  
 Staehelin, T., F. O. Wettstein u. H. Noll 482  
 — s. Wettstein, F. O. 377, 435, 485  
 Stahl 386  
 Stahl, W. R. s. Sato, M. 403, 479  
 Stadler, J. s. Gowen, J. W. 314, 345  
 Stadler, L. J. 12, 25, 37, 487, 503, 506, 545, 565, 568, 627  
 — u. F. Uber 568, 627  
 Stafford, W. H. s. Back, R. A. 173  
 Stahel, E. 74, 181  
 Stankovic, V. s. Forssberg, A. 368, 461  
 Stanners, C. P., u. J. E. Till 410, 482  
 — s. Whitmore, G. F. 359, 374, 409, 410, 485  
 Stapleton, G. E., u. C. W. Evington 27, 37  
 — u. A. Hollaender 25, 37, 560, 627  
 Stapleton, G. E., A. Hollaender u. F. L. Martin 252, 269, 532, 540, 627  
 — A. J. Sbarra u. A. Hollaender 286, 353  
 — s. Henshaw, P. S. 241, 256, 259, 267, 307, 312, 315, 346  
 — s. Hollaender, A. 21, 22, 36  
 Stark, M. B. s. Barr, N. F. 167, 173  
 Steacie, E. W. R. 181  
 Stearner, S. P., u. S. A. Tyler 306, 307, 353  
 — s. Vogel jr., H. H. 257, 270  
 Stedman, E., u. E. Stedman 382, 435, 482  
 — s. Stedman, E. 382, 435, 482  
 Stefani, S., u. R. Schrek 360, 482  
 Steffen, J. s. Puck, T. T. 431, 478  
 Steffensen, D. 482, 571, 627  
 Stein, G. 165, 181  
 — u. M. J. Day 223, 224, 235  
 — u. A. J. Swallow 224, 235  
 — u. J. Swallow 431, 482  
 — u. J. Weiss 154, 163, 181  
 — s. Day, M. J. 50, 154, 165, 174  
 — s. Eliezer, I. 175  
 — s. Gilat, Y. 176  
 — s. Johnson, G. R. A. 154, 177  
 — s. Loebel, H. 154, 161, 178  
 — s. Ottolenghi, M. 143, 179  
 — s. Rigg, T. 108, 180  
 Stelzner, K. F. s. Russell, L. B. 301, 302, 317, 352  
 Stenart 588  
 Stender, H.-S. s. Scherer, E. 451  
 Stenström, W., u. W. Mattick 272, 353  
 Stent, G., u. S. Brenner 482  
 Stent, G. S. 510, 627  
 Stern, B. E. s. Fowler, J. F. 273, 320, 326, 332, 345  
 — s. Caspari, E. 315, 344, 531, 581, 619, 630  
 Stern, C., G. Carson, M. Kinst, E. Novitski u. D. Uphoff 578, 584, 632  
 — s. Spencer, W. P. 531, 581, 627, 632  
 — s. Uphoff, D. E. 531, 581, 628, 632  
 Stern, H. s. Hotta, Y. 428, 467  
 — s. Sampson, M. 420, 479  
 Stern, K., u. R. Willheim 390, 482  
 Stenström, W., u. A. Lohmann 163, 181  
 Stenstrom, K. W. s. Vermund, H. 376, 484  
 Stevens, L., u. L. A. Stocken 424  
 Stevenson, A. C. 600, 603, 605, 606, 632  
 Stevenson, D. P. 181  
 Stewart, A., J. Webb u. D. Hewitt 588, 589, 632  
 Stewart, A. G. s. Ghormley, J. A. 77, 176  
 Stickley, E. E. s. Bond, V. P. 241, 255, 264  
 Stocken, L. A. 451, 482  
 — u. M. G. Ord 425  
 — s. Creasey, W. A. 371, 458  
 — s. Esnouf, M. P. 360, 460  
 — s. Jaffe, J. J. 425, 468  
 — s. Ord, M. G. 363, 369, 372, 373, 375, 376, 380, 391, 400, 415, 416, 418, 426, 438, 439, 442, 451, 476  
 — s. Richmond, J. E. 433, 436, 479  
 — s. Stevens, L. 424  
 Stodtmeister, R. s. Fliedner, T. M. 298, 345  
 Stone, R. S. 258, 264, 269, 356, 482  
 — u. I. C. Larkin jr. 258, 264, 269  
 Stoner, R. D., u. W. M. Hale 482  
 — s. Hale, W. M. 464  
 Stoodley, L. G. s. Cook, R. F. 408, 457  
 Storer, J. B. 285, 305, 306, 315, 353  
 — P. S. Harris, J. E. Furchner u. W. H. Langham 241, 254, 255, 269  
 — B. S. Rogers, J. U. Boone u. P. S. Harris 269  
 — s. Röthermel, S. M. 256, 269  
 Strandquist, M. 311, 321, 324, 325, 326, 328, 331, 334, 335, 336, 337, 338, 353  
 Straube, R. L., u. H. M. Patt 482  
 Strazhevskaya, N. B. 442  
 — u. A. M. Kuzin 440, 482  
 — u. V. A. Struchkov 367, 383, 434, 442, 483  
 Streffer, Ch. s. Langendorff, H. 395, 397, 471  
 Streffer, C. s. Melching, H.-J. 397, 473  
 Streisinger, G., u. N. C. Franklin 503, 627  
 Strelin, G. S. 360, 482  
 Strelzoff, E., u. F. J. Ryan 483  
 Ström, G. s. Ehrenberg, L. 569, 620  
 Stroud, A. N., A. M. Brues u. B. R. Svoboda 419, 483  
 Struchkov, V. A. s. Strazhevskaya, N. B. 367, 383, 434, 442, 483

- Stubblefield, E., u. G. C. Mueller 412, 418, 483  
 — s. Mueller, G. C. 412, 474  
 Stuhlmann, H. s. Dittrich, W. 31, 35  
 Sturtevant, A. H. 506, 627  
 Stutz, E., u. U. Blüthgen 313, 353  
 — W. Hunstein u. U. Reincke 313, 353  
 Subotić-Nikolić, S. P., u. A. Zuppinger 421, 483  
 Sugahara, T. s. Ueno, Y. 363, 484  
 Sugino, Y., E. P. Frenkel u. R. L. Potter 483  
 Suit, H. D., F. Ellis u. R. Oliver 394, 483  
 — L. G. Lajtha, R. Oliver u. F. Ellis 394, 483  
 — s. Lajtha, L. G. 394, 471  
 Suter, H. s. Aebi, H. 390, 451  
 Sutter, J. 614, 632  
 — u. L. Tabah 614, 632  
 Suttle, J. S. s. Schulte, J. W. 143, 144, 180  
 Sutton, A. s. Elkind, M. M. 365, 459  
 Sutton, E. 500, 627  
 — s. Demerec, M. 540, 620  
 Sutton, H. s. Elkind, M. 293, 294, 295, 298, 321, 331, 344, 345  
 Sutton, H. C. 224, 235  
 — s. Dainton, F. S. 83, 174  
 Svedberg, T., u. S. Brohult 200, 213  
 Svedberg, Th. s. Rudstam, G. 51, 79, 80  
 Svoboda, B. R. s. Stroud, A. N. 419, 483  
 Swallow, A. J. 120, 164, 165, 172, 181, 224, 225, 235, 431, 483  
 — s. Collinson, E. 431, 457  
 — s. Haybittle, J. L. 89, 177  
 — s. Stein, G. 224, 235  
 Swallow, J. s. Stein, G. 431, 482  
 Swan, G. A. s. Back, R. A. 173  
 Swann, W. F. G., u. C. Del Rosario 278, 279, 353  
 Swanson, C. P. 21, 37, 269, 558, 561, 562, 564, 627  
 — u. A. Hollaender 564, 627  
 — u. H. H. Johnson 627  
 — C. S. Rupert u. H. T. Yost 564, 627  
 — u. D. Schwartz 534, 559, 627  
 — u. H. T. Yost 564, 627  
 — s. Kirby-Smith, J. S. 542, 623  
 — s. Sax, K. 547, 626  
 Sweet, R. S., H. Lamfrom u. E. H. Allen 394, 480  
 Swift, M. N. s. Prosser, C. L. 478  
 Swint, R. B. s. Takahashi, T. 435, 483  
 Sworski, T. J. 99, 154, 181, 245, 269  
 — u. M. Burton 140, 181  
 Sylvén, B. 357, 358, 483  
 Szent-Györgyi, A., A. Hegyeli u. J. A. McLaughlin 483  
 Szöge u. Rotter (1921) 397  
 Sztanyik, L., O. Geszti u. E. Mandi 393, 483  
 Szybalski, W. 365, 366, 434, 483  
 — u. Z. Lorkiewicz 483  
 — u. Z. Opara-Kubinska 366, 483  
 — s. Djordjevic, B. 365, 459  
 — s. Erikson, R. L. 366, 460  
 — s. Opara-Kubinska, Z. 366, 476  
 — s. Ragni, G. 448, 478  
 — s. Wacker, A. 484  
 Tabah, L. s. Sutter, J. 614, 632  
 Tabley, N. V. du s. Kallman, R. F. 320, 347  
 Taimuto, S. J. s. Hart, E. J. 80, 81  
 Takahashi, T., R. B. Swint u. R. B. Hurlbert 435, 483  
 — s. Sibatani, A. 481  
 Taliaferro, L. G. s. Taliaferro, W. H. 356, 483, 451  
 — u. L. G. Taliaferro 356, 483  
 — — u. B. N. Jaroslow 356, 451  
 Tanada, T. 289, 353  
 Tanaka, K., u. K. Ohkura 595, 597, 632  
 Tansley, K., A. Howard, L. H. Gray u. J. W. Boag 253, 254, 269  
 Tapley, D. F. s. Bishop, C. J. 526, 619  
 Tappel, A. L. s. Duran, L. 165, 175  
 Taplin, G. V. 181  
 — u. C. H. Douglas 155, 181  
 Tarusoff, V. N. 183, 213  
 Tate, J. T. s. Mann, A. K. 66  
 — s. Mohler, F. L. 55  
 Tatsch, R. W. s. Logie, L. C. 307, 349  
 Tatum, E. L. s. Barrett, R. W. 572, 618  
 — s. Reich, E. R. 435, 478  
 Taylor, A. L. s. Wood, T. H. 27, 38  
 Taylor, B., J. P. Greenstein u. A. Hollaender 203, 213  
 Taylor, H. S. s. Eyring, H. 175  
 Taylor, J. H., W. F. Haut u. J. Tung 425, 483  
 Taylor, L. S. 74  
 — s. Mohler, F. L. 74, 179  
 Tazima, Y., u. S. Kondo 316, 317, 353, 354  
 — — u. T. Sado 317, 354  
 Teichmann, B. 356, 483  
 Temple, D. M. s. Mole, R. H. 299, 350, 359, 360, 474  
 Teply, J., u. J. Bednar 155, 181  
 Terasima, T., u. L. J. Tolmach 361, 374, 411, 413, 414, 483, 484  
 Terwilliger, D. E. s. Fenn, W. O. 571, 621  
 Terzi, M. 366, 484  
 Tew, J. T. s. Gray, J. L. 395, 463  
 Thackray, A. C. s. Sambrook, B. K. 340, 352  
 Theard, M., u. M. Burton 146, 181  
 Theismann, H. s. Bode, H. G. 258, 262, 263, 264  
 Theriot, L. s. Howard-Flanders, P. 434, 467  
 Theys, M. H. s. Mittl, R. L. 179  
 Thiele, A. s. Wels, P. 407, 485  
 Thielicke, G. s. Franzen, F. 396, 461  
 Thier, P. F. X. 404, 484  
 Thoday, J. M. 252, 253, 269, 519, 534, 542, 627  
 — u. J. Read 21, 37, 356, 483, 556, 557, 627  
 — s. Catcheside, D. G. 517, 518, 519, 520, 534, 564, 619  
 Thoday, J. N. s. Catcheside, D. G. 5, 34  
 Thomas, E. D., H. I. Lochte, J. Mannik u. J. Ferrebee 298, 354  
 — s. Hager, E. B. 299, 346  
 Thomas, J. K., u. E. J. Hart 108, 181  
 — s. Anbar, M. 94, 173  
 Thomas, L. E. s. Wang, T. Y. 382, 485  
 Thomlinson, R. H., u. L. H. Gray 31, 37  
 — s. Churchill-Davidson, J. 31, 32, 34  
 Thompson, P. A. s. Tyree, E. B. 256, 259, 269  
 Thompson, S. s. Paterson, R. 351  
 Thompson, W. R. s. Hussey, R. G. 214, 234  
 Thomson, D. H. s. Emmerson, P. 384, 441, 445, 460  
 — s. Weiss, J. 205, 213  
 Thomson, J. F. 391, 484  
 — M. Carttar u. W. W. Tourtelotte 415, 484

- Thomson, J. F. u. W. W.  
Tourtellotte 306, 307, 354
- Thomson, J. J. 181
- Thomson, S. O. s. Schaeffer,  
O. A. 152, 180
- Thornley, M. J. s. Laser, H.  
471
- Till, J. E. 413, 484  
— u. E. A. McCulloch 298,  
354, 365, 484  
— s. Stanners, C. P. 410, 482  
— s. Whitmore, G. F. 359, 365,  
374, 409, 410, 451, 485
- Timasheff, S. N. 379
- Timmons, P. S. s. Back, R. A.  
173
- Timoféeff-Ressovsky, N. W.  
530, 531, 536, 627  
— u. M. Delbrück 530, 627  
— u. K. G. Zimmer 3, 37, 250,  
262, 269, 451, 564, 627, 628  
— — u. M. Delbrück 509, 628  
— s. Willelmy, E. 530, 628  
— s. Zimmer, K. G. 509, 540,  
629
- Timofeevskij, A. D., A. A.  
Gorodeckij u. M. Calaja  
319, 354
- Tishler, J. M. A. s. Rixon, R. H.  
587, 631
- Tissières, A. s. Risebrough,  
R. W. 435, 479
- Toal, J. N. s. Williams, R. B.  
360, 361, 485
- Tobias, C. A. 262, 269, 535, 628  
— s. Mortimer, R. K. 624  
— s. Sallmann, L. v. 254, 269  
— s. Zirkle, R. E. 26, 27, 38,  
252, 270
- Tod, M. 354
- Toledo, J. S. de s. Cuna, A. B.  
da 615, 630
- Tolmach, L. J. s. Terasima, T.  
361, 374, 411, 413, 414,  
483, 484  
— s. Potter, R. 478
- Tomkinson, S. M. s. Neary,  
G. J. 362, 475
- Tomlin, P. A. s. Kaplan, H. S.  
366, 434, 468
- Toms, D. J. s. Alexander, P.  
188, 189, 190, 192, 193, 212
- Tonkinson, S. M. s. Neary,  
G. J. 257, 260, 268
- Topkiew, A. V. s. Polak, P. V.  
180
- Tornova-Svehlik, M. M. s.  
DeBruyn, P. P.-H. 298,  
344, 361, 458
- Totter, J. R. 415, 484  
— s. Passonneau, J. V. 415,  
477
- Tourtellotte, W. W. s. Thom-  
son, J. F. 306, 307, 354,  
415, 484
- Tovell, H. M. M. s. Gusberg,  
S. B. 438, 463
- Townsend, C. M. s. Myers,  
D. K. 424
- Tränkle, H. L., u. D. Mulay  
332, 354
- Trambarulo, R. F. s. Gordy, W.  
29, 35
- Trams, E. G., M. V. Nadkarni  
u. P. K. Smith 415, 484
- Traut, H. 250, 269
- Trautmann, J., J. G. Frey  
u. J. Schaaf 301, 354
- Trendelenburg, U. 396, 484
- Tricou, B. J., u. J. Doull 395,  
484
- Trott, K.-R. 289, 354
- Trowell, O. A. 359, 361, 362,  
381, 484, 528, 628  
— M. J. Corp u. W. R. Lush  
359, 361, 382, 484
- Trujillo, T. T. s. Spalding,  
J. F. 305, 353
- Tschermak-Woess, E. 420, 484
- Tschichold, P. 79, 181  
— s. Minder, W. 81, 155
- Tso u. Vinogradov 394
- Tso, P. O. P., J. Bonner u. J.  
Vinograd 484
- Tucker, K. L. s. Reinhard,  
M. C. 180
- Tütsch, K. s. Zuppinger, A.  
263, 270
- Tung, J. s. Taylor, J. H. 425,  
483
- Turkowitz, H. s. Anderson,  
R. S. 21, 34
- Turpin, R., J. Lejeune u. M.-O.  
Rethore 595, 597, 598, 632  
— s. Lejeune, J. 630
- Tweedie, M. C. K. s. Dale,  
W. M. 15, 35, 82, 89, 174
- Tyree, E. B., P. A. Thompson,  
H. N. Bane, A. Luizzi u.  
J. J. Nickson 256, 259, 269
- Tyler, S. A. s. Stearner, S. P.  
306, 307, 353
- Uber, F. s. Stadler, L. J. 568,  
627
- Uchiyama, T. s. Fausto, N.  
425, 460
- Ueno, Y., M. Horikawa, T.  
Aoyama u. T. Sugahara  
363, 484
- Uhlmann, E. M. 263, 269
- Uhlmann, G. s. Höhne, G. 466  
— s. Schubert, G. 313, 353
- Ulrich, B. s. Kröger, H. 429, 470
- Ulrich, H. 262, 269
- Umetsu, J. 404, 484  
— s. Motokava, K. 404, 474
- Uphoff, D. s. Stern, C. 578,  
584, 632
- Uphoff, D. E., u. C. Stern 531,  
581, 628, 632
- Upton, A. C. 241, 533, 588,  
628, 632  
— K. W. Christenberry, G. S.  
Melville, J. Furth u. G. S.  
Hurst 259, 269  
— J. Furth u. K. W. Christen-  
berry 269  
— V. K. Jenkins u. J. W.  
Conklin 312, 314, 354  
— G. S. Melville jr., M. Slater,  
F. P. Conte u. J. Furth  
269  
— F. F. Wolff, J. Furth u.  
A. W. Kimball 588, 632  
— s. Conte, F. P. 406, 457  
— s. Furth, J. 588, 630  
— s. Melville jr., G. S. 241,  
256, 268  
— s. Odell jr., T. T. 312, 351
- Uretz, R. B. s. Bloom, W. 455  
— s. Haynes, R. H. 465  
— s. Zirkle, R. E. 270, 509,  
543, 629
- Valencia, J. I. s. Muller, H. J.  
580, 581, 631
- Valencia, R. M. s. Muller, H. J.  
580, 581, 631
- Valentine, W. N. s. Pearse,  
M. L. 298, 351
- Vanderhaeghe, F. s. Errera, M.  
376, 436
- Vasileco, P. s. Drimus, I. 175
- Vendreli, R. 502, 628
- Veninga, T. S. 286, 354, 396,  
397, 484  
— u. J. E. de Boer 484  
— u. R. Brinkman 396, 484  
— s. Brinkman, R. 456
- Venkataraman, B. s. Singh,  
B. B. 408, 481
- Venter, J. H. s. DeBruyn,  
P. P. H. 361, 458
- Veraguth, P. s. Zuppinger, A.  
263, 270
- Vergoesen, A. J. s. Barendsen,  
G. W. 281, 342, 453
- Vermeil, C. 181  
— s. Cottin, M. 174
- Vermund, H., C. P. Barnum,  
R. A. Huseby u. K. W.  
Stenstrom 376, 484  
— s. Barnum, C. P. 453
- Verwey, E. I. W. 181
- Vigne, V. s. Jammet, H. 398,  
468
- Vincent, J. s. Fricke, H. 216,  
234
- Vinograd, J. s. Tso, P. O. P.  
484
- Vinogradov s. Tso 394
- Vintemberger, P. 547, 628

- Voelker, K. s. Scherer, E. 402, 480
- Vogel, B. s. Hutchinson, F. 26, 36, 220, 234
- Vogel, H. H., J. W. Clark u. D. L. Jordan 241, 256, 257, 270, 307, 315, 354
- u. D. L. Jordan 354
- s. Leshner, S. 255, 267
- Vogel jr., H. H., u. S. P. Stearner 257, 270
- s. Clark, J. W. 241, 256, 257, 265
- s. Rambach, W. A. 255, 268
- Vogel, R. s. Hutchinson, F. 247, 262, 267
- Vogell, W. s. Scherer, E. 401, 480
- Voke, E. L. s. Duffy, T. T. 330, 344
- Volkova, M. S., u. A. G. Passynsky 385
- Volz, K. W. s. Elkind, M. M. 459
- Vonberg, D. D. s. Alper, T. 452
- Voogd, J. L. s. Becker, F. F. 389, 453
- Vorst, A. van den s. Dorlet, C. 407, 459
- Vos, O. s. Bekkum, D. W. van 453
- s. Smith, L. H. 365, 482
- Vries, M. J. de s. Klouwen, H. M. 469
- Wachsmann, F. 273, 311, 331, 332, 340, 354
- s. Barth, G. 319, 342
- s. Chaoul, H. 273, 326, 327, 332, 344
- Wacker, A., H. Dellweg u. E. Lodemann 484
- H. D. Mennigmann u. W. Szybalski 484
- s. Weygand, F. 570, 628
- Wadel, J. s. Brinkman, R. 385, 386, 456
- Wagener, H. H. s. Schuppli, R. 386, 480
- Wahl, A. C. s. Dorfman, L. M. 175
- Wainwright, L. K. 563, 571, 628
- Wainwright, S. D., u. A. Nevill 566, 628
- Wake, R. G. 412, 484
- Wakefield, C. s. Garcia, J. 461
- Wakonig-Vaartaja, R. 484
- Walker, D. C. s. Back, R. A. 173
- Walker, P. M. B., u. H. B. Yates 484
- s. Davies, H. G. 458
- Wall, P. E. s. French, A. B. 391, 461
- Wallace, B. 584, 585, 632
- Walsh, R. s. Hart, E. J. 101, 102
- Walsh, R. J. s. Love, R. 378, 472
- Walwick, E. R., u. R. K. Main 427
- s. Main, R. K. 360, 427, 473
- Waly, A. s. Brasch, A. 275, 282, 343
- Wang, R. I. H., J. G. Kereiakes, R. R. Anderson u. A. T. Krebs 395, 484
- Wang, T. Y. 484
- W. R. Kirkham, R. D. Dallah u. L. E. Thomas 382, 485
- Wanner, H. 628
- Ward, J. F. s. Emmerson, P. 384, 441, 445, 460
- s. Weiss, J. 205, 213
- Warner, J. R., P. M. Knopf u. A. Rich 435, 485
- Warren, S. s. Gjessing, E. 399, 462
- s. Montgomery, P. O'B. 553, 624
- Wassmer, E. 65, 181
- Watson, G. M. 485
- Watson, J. D., u. F. H. C. Crick 513, 628
- s. Gros, F. 377, 463
- s. Risebrough, R. W. 435, 479
- Watson, J. H. L. 181
- Wattenberg, L. W. 485
- u. S. Schwartz 395, 485
- s. Osterberg, K. A. 476
- Watts, J. W. s. Harris, H. 437, 464
- Webb, E. C. s. Dixon, M. 231
- Webb, J. s. Stewart, A. 588, 589, 632
- Webb, R. B. s. Powers, E. L. 24, 37
- Weber, E. N., P. F. Forsyth u. R. H. Schuler 142, 181
- u. R. H. Schuler 167, 181
- Weber, P. P. s. Gordon, S. A. 389, 462
- Weberling, R. s. Bastian, R. 79
- Webster, J. H. D. s. Dodds, E. C. 397, 459
- Weeks, B. M., u. W. M. Garrison 163, 182
- s. Garrison, H. M. 160
- s. Garrison, W. M. 158, 175, 176
- s. Jayko, M. E. 219, 234
- Wegmüller, F. 49, 50, 155, 169, 182
- s. Liechti, A. 82, 155, 178, 246, 267
- s. Mullis, A. 155, 179
- Weigle, J. J. 510, 628
- Weill, J. D. s. Ochoa, S. 435, 476
- s. Chambon, P. 433, 456, 457
- Weiss, J. 13, 65, 84, 97, 182, 226, 235, 246, 270, 384, 485
- P. Emerson, G. Scholes, D. H. Thomson u. J. F. Ward 205, 213
- s. Armstrong, D. 173
- s. Clay, P. G. 174
- s. Daniels, M. L. 563, 620
- s. Emmerson, P. 384, 441, 445, 460
- s. Hayon, E. 165, 177, 246, 267
- s. Jayson, G. G. 157, 161, 168, 177
- s. Johnson, G. R. A. 154, 177
- s. Loebl, H. 154, 161, 178
- s. Rigg, T. 108, 180
- s. Scholes, G. 180, 203, 205, 213
- s. Stein, G. 154, 163, 181
- Weiss, J. J. s. Scholes, G. 384, 480
- and C. M. Wheeler 355, 447
- Weiss, S. B. 441, 445, 485
- u. T. Nakamoto 435, 485
- s. Geiduschek, E. P. 461
- s. Nakamoto, T. 475
- Weissberger, A. 47, 172
- Weissman, S. M., R. M. S. Smellie u. J. Paul 424, 485
- s. Gray, E. D. 424, 463
- Welch, C. s. Sallmann, L. V. 254, 269
- Welling, W., u. J. A. Cohen 378, 485
- Wels, P., u. A. Thiele 407, 485
- Werner, E. R. s. Lampe, F. W. 178
- Westall, R. C. s. Crumpler, M. R. 399, 458
- Westgarth, D. R. s. Brown, J. A. H. 306, 307, 314, 343
- Wettstein, F. O., T. Staehelin u. H. Noll 377, 435, 485
- s. Staehelin, T. 482
- Weygand, F., A. Wacker u. H. Dellweg 570, 628
- Weymouth, P. P. 387, 388, 485
- Wheller, C. M. s. Scholes, G. 180
- s. Weiss, J. J. 355
- White s. Dougherty 389
- White, J. s. Williams, R. B. 360, 361, 485
- White, M. J. D. 548, 628
- Whitehead, H. A. s. Newcombe, H. B. 509, 566, 567, 625
- Whitfield, J. F. 554
- u. R. H. Rixon 409, 434, 485, 553, 555, 628
- Whiting, A. R. 509, 543, 544, 547, 574, 575, 628, 632

- Whiting, A. R. s. Atwood, K. C. 411, 452, 575, 629  
 — u. C. H. Bostian 545, 628  
 Whitlow, J. E. s. Ivy, A. C. 405, 468  
 Whitman, G. H. s. Zinn, W. H. 73, 182  
 Whitmore, G. F., C. P. Stan-  
 ners, J. E. Till u. S. Gulyas  
 359, 374, 409, 410, 485  
 — u. J. E. Till 365, 451  
 — — R. B. L. Gwatkin, L.  
 Siminovitich u. A. F.  
 Graham 485  
 — s. Elkind, M. M. 365  
 — s. Schneider, D. O. 367, 480  
 Whittinghill, M. 522, 628  
 Whright, J. 182  
 Wickham, L. s. Russell, W. L.  
 590, 632  
 Wieland, H. 13, 37, 38, 182  
 Wieringen, J. S. van 182  
 Wijsman, R. A. 262  
 Wilbur, K. M. s. Fisher, W. D.  
 384, 445, 461  
 Wilcox, W. S. 144, 182  
 — s. Dismukes, E. B. 174  
 Wild, W., u. T. F. Williams 89  
 — s. Burns, W. G. 140, 173  
 Wildy, P., C. L. Smith, A. A.  
 Newton u. P. Dendy 485  
 — s. Newton, A. 416, 417, 475  
 Wiley, R. H., W. Miller, C. H.  
 Jarboe, J. R. Harrell u.  
 D. J. Parish 143, 182  
 Wilhelm, G. 401, 485  
 Wilhelm, R. s. Schulte, J. W.  
 143, 144, 180  
 Wilkins, M. H. F. 513, 628  
 Wilkinson, J. s. Miller, N. 84,  
 88, 179, 246, 268  
 Willcock, E. G. s. Hardy, W. B.  
 176  
 Willelmy, E., N. W. Timoféef-  
 Ressovsky u. K. G. Zimmer  
 530, 628  
 Willheim, R. s. Stern, K. 390, 482  
 Williams, K. G. s. Emery, E. W.  
 32, 35  
 Williams, M. W., R. D. Baker  
 u. R. W. Covill 391, 485  
 Williams, R. B., J. N. Toal,  
 J. White u. H. M. Carpenter  
 360, 361, 485  
 — s. Becker, F. F. 389, 453  
 Williams, R. C. s. Fraenkel-  
 Conrat, H. 513, 621  
 Williams, R. J. 485  
 Williams, R. R. 128, 182  
 — s. Barker, R. 128, 173  
 — s. Meisels, G. G. 134, 178  
 — s. Zubler, E. 182  
 Williams, T. F. s. Burns, W. G.  
 140, 173  
 — s. Wild, W. 89  
 Williams-Ashman, H. G. s.  
 Alivisatos, S. G. A. 401, 452  
 Williamson, F. S. s. Evans,  
 H. J. 254, 266  
 — s. Neary, G. J. 257, 260, 268,  
 362, 475  
 Willoughby, D. A. 396, 485  
 Wilson, C. T. R. 2, 38  
 Wilson, C. W. 320, 321, 354  
 — Hewitt, H. B. 364, 465  
 Wilson, J. s. Allsopp, C. B. 168,  
 172  
 Wilson, J. W. s. Montagna, W.  
 361, 474  
 Wilson, K. s. Kaufmann, B. P.  
 564, 622  
 Wilson, S. M. s. Kimball, R. F.  
 565, 567, 623  
 Wilzbach, K. E. 152, 182  
 Wimber, D. E. 410, 485  
 Wimber, D. R., u. L. F. Lamer-  
 ton 299, 354  
 Windholz, F. 628  
 Wintz, H. 301, 354, 405, 485  
 — s. Seitz, L. 272, 323, 327,  
 353  
 Wirtz, K. s. Briegleb, G. 171  
 Wise, C. F. 129  
 Wisecup, W. G. s. Leong, G. Y.  
 305, 349  
 Withehead, W. L. s. Sheppard,  
 C. W. 181  
 Witkin, E. M. 509, 510, 512, 550,  
 551, 552, 566, 567, 568, 628  
 — s. Demerec, M. 571, 620  
 Witte, E. 327, 328, 331, 333, 354  
 Wittekind, E. s. Parchwits,  
 H. K. 379, 437, 477  
 Wittry, S. E. s. Bachofer, C. S.  
 405, 452  
 Wolf, I. s. Hug, O. 283, 284,  
 347  
 Wolfe, de s. Myers, D. K. 369  
 Wolff, F. F. s. Upton, A. C. 588,  
 632  
 Wolff, S. 317, 318, 354, 485, 563,  
 628  
 — u. von Borstel 565, 628,  
 629  
 — u. H. E. Luippold 414, 485,  
 486, 563, 571, 629  
 Wolfrom, M. L., W. W. Bink-  
 ley, L. J. McCabe, T. M.  
 ShenHan u. A. M. Miche-  
 lakis 168, 182  
 Wollman, E. L. s. Jacob, G.  
 502, 622  
 Wood, E. M. s. King, R. C. 250,  
 267  
 Wood, F. C., u. F. Prime jr.  
 271, 319, 354  
 Wood, T. H. 27, 38  
 — u. A. L. Taylor 27, 38  
 Woods, R. J. s. Spinks, J. W. T.  
 172  
 Woodward, K. T. s. Rothermel,  
 S. M. 256, 269  
 Woodyat, P. B. s. Sambrook,  
 B. K. 340, 352  
 Wright, D. s. Back, R. A. 173  
 Wright, E. A. s. Howard-  
 Flanders, P. 32, 36  
 Wright, K. A. s. Hicks, S. P.  
 304, 346  
 Wyckoff, H. O. s. Hart, E. J.  
 80, 81  
 Yalow, R. S. 51, 164, 182  
 — u. S. A. Berson 51, 164, 182  
 Yamada, M., u. T. T. Puck 413,  
 486  
 Yamada, M.-A. s. Puck, T. T.  
 478  
 Yamana, K. s. Sibatani, A. 481  
 Yamazaki, J. s. Clemente, C. D.  
 404, 457  
 Yates, H. B. s. Walker, P. M. B.  
 484  
 Yiannakopoulos, A., u. K. E.  
 Scheer 333, 354  
 Yin, M. W. s. Goyer, R. A. 398,  
 462, 463  
 Yongis, P. s. Edwards, J. L.  
 410, 459  
 Yost, H. T. s. Swanson, C. P.  
 564, 627  
 Zakovsky, J. s. Bornschein, H.  
 286, 343  
 Zamenhof, S. s. Dunn, D. B.  
 570, 620  
 — s. Greer, S. 366, 434, 463  
 Zavarine, R. s. Kaplan, H. S.  
 267, 468  
 Zavoisky, E. 29, 38, 182  
 Zbarskii, J. B., u. G. P.  
 Georgiev 377, 486  
 Zerahn, K. s. Ahlström, L. 419,  
 451  
 Zimmer, K. G. 29, 38, 50, 52,  
 53, 166, 172, 182, 211, 213,  
 247, 250, 260, 261, 262, 270,  
 407, 451, 486  
 — L. Ehrenberg, u. A. Ehren-  
 berg 29, 38, 52, 182, 407,  
 486  
 — H. D. Griffith u. N. W.  
 Timoféeff-Ressovsky 509,  
 629  
 — W. Köhnlein, G. Hotz u. A.  
 Müller 270  
 — u. A. Müller 270, 408, 451  
 — u. N. W. Timoféeff-Res-  
 sovsy 540, 629  
 — s. Ehrenberg, A. 175, 407,  
 459  
 — s. Ehrenberg, L. 266, 407,  
 459  
 — s. Müller, A. 179, 268, 407,  
 408, 475

- Zimmer, K. G. s. Timoféeff-Res-  
sovsky, N. W. 3, 37, 250, 262,  
269, 451, 499, 564, 627, 628  
— s. Willelmy, E. 530, 628  
Zimmering, S. s. Muller, H. J.  
316, 317, 350  
Zinn, W. H., H. Lichtenberger,  
M. Norvick, G. H. Whitman,  
C. J. B. Zitek, J. G. Feldes,  
V. C. Hall u. R. O. Harold-  
son 73, 182  
Zirkle, R. E. 238, 253, 262, 270,  
356, 451, 542, 629  
— P. C. Aebersold u. E. R.  
Dempster 252, 270  
— W. Bloom u. R. B. Uretz  
270, 509, 543, 629  
— D. F. Marchbank u. K. D.  
Kuck 270  
Zirkle, R. E. u. C. A. Tobias 26,  
27, 38, 252, 270  
— s. Bloom, W. 455  
Zitek, C. J. B. s. Zinn, W. H. 73,  
182  
Zsula, J., A. Liuzzi u. J. S.  
Laughlin 90, 182  
Zubkova u. Chernavskaya  
392  
Zubkova, S. R., u. T. V.  
Prvadich-Neminskaya 486  
Zubler, E., W. H. Hamil u. R.  
R. Williams 182  
Zuidereld, J. s. Brinkman, R.  
212  
Zuideveld, J. s. Brinkman, R.  
385, 386, 456  
Zuppinger, A. 262, 263, 270, 271,  
292, 311, 322, 326, 329, 332,  
335, 337, 339, 340, 341,  
354  
Zuppinger, A., H. Cottier, O.  
Glauser, H. Lüthy, W. Minder,  
G. Poretti, H. R. Renfer u. K.  
Tütsch 263, 270  
— u. M. Favre 254, 263,  
270  
— P. Veraguth, G. Poretti,  
M. Nötzli u. H.-J. Maurer  
263, 270  
— s. Aebi, H. 390, 397, 451  
— s. Favre, M. 313, 345  
— s. Ryser, H. 369  
— s. Schinz, H. R. 323  
— s. Subotić-Nikolić, S. P. 421,  
483  
Zweifel, C. s. Holthusen, H. 11,  
36

## Sachverzeichnis

(Deutsch-Englisch)

Bei gleicher Schreibweise in beiden Sprachen sind die Stichwörter nur einmal aufgeführt

- Abbau synthetischer Polymere, *degradation of synthetic polymers* 189ff.  
„Abklingzeiten“, „*fade-out periods*“ 274  
abnormes Kerngeschlecht bei Weibern, *abnormal nuclear sex in females* 604  
abskopale Reaktion, *abscopal reaction* 363, 370, 422  
absolute Viskosität des Wassers, *absolute viscosity of water* 63  
Absolutmessung des strahlenchemischen Umsatzes, *absolute measurement of radiation chemical yield* 80ff.  
absorbierte Dosis (rad), *absorbed dose (rad)* 44ff.  
Absorptionsereignis, *event of absorption* 273ff.  
Acetabularia 491, 492  
Acetaldehyd, *acetaldehyde* 153  
Acetylcholinesterase, *acetylcholinesterase* 392  
Acetylen s. Azetylen 122, 138  
Achondroplasie, *achondroplasia* 574, 601, 607, 610  
8-Aethoxycoffein, *8-ethoxycaffeine* 23, 569  
8,3 A Röntgenstrahlen, *8,3 A Roentgen rays* 362  
(8,3-Diäthylaminopropylamino-6-methoxychinolin)-dihydrojodid, (*8,3-diethylamino-propylamino-6-methoxy-quinoline*)-dihydrojodide 398  
8-Hydroxychinolin, *8-hydroxyquinoline* 29  
Actinien, *actiniae* 286  
Actinomycin D 365, 435  
Acyl-Phosphat, *acyl phosphate* 440  
additive Wirkung, *additive effect* 230, 231  
Adenin, *adenine* 415, 501, 513  
Adenin-4-6-<sup>14</sup>C, *adenine-4-6-<sup>14</sup>C* 416  
Adenin-8-<sup>14</sup>C, *adenine-8-<sup>14</sup>C* 410, 415ff.  
Adenocarcinom, *adenocarcinoma* 338  
— C3H der Mamma, *mammary adeno-carcinoma C3H* 31  
Adenosin-Desaminasen, *adenosine deaminases* 425  
Adenosindiphosphat, *adenosine diphosphate* 169  
Adenosinmonophosphat (AMP), *adenosine monophosphate (AMP)* 378  
Adenosintriphosphat, *adenosine triphosphate* 368, 392  
Adipinsäure, *adipin acid* 155  
Adrenalin, *adrenaline* 395ff.  
aerobische Bedingungen, *aerobic conditions* 23  
AET 384, 391  
Äthan, *ethane* 122, 124, 134, 135, 153  
Äthanol, *ethanol* 55, 146, 150, 157, 224  
Äther, *ether* 147  
Äthylalkohol, *ethyl alcohol* 146, 155  
Äthylamin, *ethylamine* 161, 162, 187  
Äthylbenzol, *ethyl benzene* 141  
Äthylen, *ethylene* 118, 122, 152ff.  
Äthylenbromid, *ethylene bromide* 155  
Äthylenimin, *ethylenimine* 569  
Äthylenoxyd, *ethylene oxide* 569  
Affe, *monkey* 303, 419  
Aggregatebildung in Globulin-Sol, *formation of aggregates in globulin sols* 407  
Aggregation von Protein, *aggregation of protein* 196, 197  
Agrostis stolonifera 30  
Akatalasie, *acatalasia* 390  
Akkumulation von Metaboliten, temporäre, *temporary accumulation of metabolites* 386ff., 417  
— von Nukleotiden und RNS, *accumulation of nucleotides and RNA* 380, 438  
akkumulierte Dosis, *accumulated dose* 284, 285  
Aktionspotential, *action potential* 289  
„aktiviertes Wasser“, „*activated water*“ 13, 84  
Aktivierung von Wasser, *activation of water* 84  
Aktivierungsenergie, *activation energy* 114ff.  
„aktuelle Dosisleistung“, *actual dose rate* 273, 276ff., 327ff.  
akute Strahlenkrankheit, *acute radiation disease* 303, 306  
— Strahlenmortalität, *acute radiation mortality* 304ff.  
— Zellauflösung, *acute cytolysis* 361  
akuter Strahlentod, *acute radiation death* 302  
ALAD 388  
Alanin 53ff., 162ff.  
Albers-Schönbergsche Krankheit, *Albers-Schönberg disease* 602  
Albinismus, *albinism* 603  
Albumin, Humanserum, *human serum albumin* 196ff.  
Aldehyde, *aldehyds* 147, 158  
Aldolase 230, 390  
aliphatische Aminosäuren *aliphatic amino acids* 163  
— Kohlenwasserstoffe, *aliphatic hydrocarbons* 133ff., 153ff.  
alkalische Ribonuklease, *alkaline ribonuclease* 388ff.  
Alkohol-Dehydrogenase, *alcohol dehydrogenase* 217, 218, 231

- Alkohole, *alcohols* 146ff., 157ff.  
 alkylierende Substanzen, *alkylating agents* 430  
 Allele, *alleles* 490ff.  
 Allel-Mutante, *mutant allele* 492, 501  
 Alles-oder-Nichts-Effekt, *all-or-none-effect*  
 5, 20  
 —Zerstörung von spezifischen sich verbindenden  
 Gruppen, *all-or-none destruction of specific  
 combining groups* 216  
 Allium cepa 405, 516, 526, 565  
 Allylalkohol, *allyl alcohol* 187  
 $\alpha$ -Aminobuttersäure,  *$\alpha$ -aminobutyric acid* 53ff.  
 $\alpha$ -Aminoisobuttersäure,  *$\alpha$ -amino-isobutyric acid*  
 54  
 alpha-Chymotrypsin, Dualaktivität, *dual  
 activity of alpha-chymotrypsin* 228  
 alpha-Cytomembran, *alpha-cytomembrane* 437,  
 438  
 alpha-Strahlen, *alpha rays* 21, 93, 140, 147ff.,  
 163, 211, 222, 226ff., 240, 295, 535  
 —, Bestrahlung von Wasser, *irradiation of  
 water with alpha rays* 71ff., 101, 183  
 $\alpha$ -Teilchen, LET,  *$\alpha$ -particles, LET* 240, 242  
 $\alpha$ -Teilchenbestrahlung von Enzymen, *irradiation  
 of enzymes by  $\alpha$ -particles* 226, 227  
 — von Protein, *irradiation of proteins with  
 $\alpha$ -particles* 198, 199  
 $\alpha$ -Teilchenwirkung auf DNS,  *$\alpha$ -particle-action  
 on DNA* 207ff., 375, 420ff.  
 Alterung bestrahlter Individuen, *aging of exposed  
 individuals* 590  
 —, vorzeitige, *premature aging* 314, 315  
 Amblyostoma-Larva 258  
 Ameisensäure, *formic acid* 158ff.  
 Amine, *amines* 161, 162  
 Aminoacidurie, *amino-aciduria* 397ff.  
 Aminoäthanol, *aminoethanol* 401  
 Aminopurin, *aminopurine* 570  
 Aminosäuren, *amino acids* 31, 53, 149, 162ff.,  
 196ff., 248, 397ff., 433  
 —, Deaminierung, *deamination of amino acids*  
 17, 18  
 Ammoniak-Koeffizient, *ammonia coefficient* 397  
 AMP 427, 440  
 Anämie, *anemia* 601, 605, 606  
 anaerobische Bedingungen, *anaerobic conditions* 23  
 — Glykolyse, *anaerobic glycolysis* 369  
 — —, Anstieg der Strahlenresistenz bei Zu-  
 nahme der, *increase in radioresistance with  
 increase of anaerobic glycolysis* 553  
 „anamnestische Reaktion“, *“anamnestic  
 reaction”* 389  
 Anaphase 291, 489ff., 516ff.  
 aneuploide Embryonen, *aneuploid embryos* 575  
 Aneurin 169  
 angeborene Mißbildungen, *congenital  
 abnormalities* 594ff.  
 anharmonischer Oszillator, *unharmonic oscillator*  
 111ff.  
 Anoxie-Bedingungen, *anoxic conditions* 22ff.,  
 32, 292, 320, 405, 420  
 anoxyse Tumorzellen, *anoxic tumour cells*  
 364, 375, 420  
 — Tumorzellsysteme, *anoxic tumour cell systems*  
 375
- Anoxybiose, *anoxybiosis* 271  
 Anpassung, *adaptation* 298, 299  
 Anthranilsäure, *anthranilic acid* 395  
 Antikörperreaktion, *antibody response* 356, 358  
 Antikörpersynthese, *synthesis of antibodies* 389  
 Antimycin A 370  
 Antirrhinum 25  
 Appearance-Potential 56, 121ff.  
 Arachnodaktylie, *arachnodactyly* 601  
 Arbacia 523ff.  
 Arbeit zur Erzeugung eines Ionenpaars, *energy  
 for production of one ion pair* 41  
 Arginin, *arginine* 201  
 Argon 23  
 aromatische Aminosäuren, *aromatic amino  
 acids* 163, 164  
 „Arousal-Reaktionen“, *arousal reactions* 302  
 Artemia salina 25  
 Askaris, *Ascaris* 11, 271, 292, 489, 548  
 Ascorbinsäure, *ascorbic acid* 168  
 Ascorbinsäuregehalt der Nebenniere, *ascorbic  
 acid content of the adrenal gland* 394, 395,  
 404  
 Aspartinsäure, *aspartic acid* 398, 415  
 Aspergillus 500ff., 514, 532, 540ff.  
 — nidulans 500ff.  
 Aspergillussporen, *Aspergillus spores* 25, 496  
 —, sichtbare Mutationen, *visible mutations in  
 Aspergillus spores* 560  
 Aszitestumor, *ascites tumour* 22ff., 259, 373,  
 378, 409, 417ff., 427ff., 434  
 Ataxie, *ataxia* 601  
 Atmung, *respiration* 357, 369ff., 430  
 Atmungskette, *respiratory chain* 370  
 Atombindung, covalente, *covalent atomic bond*  
 111  
 Atomorbital, *atomic orbital* 116ff.  
 ATP 368ff., 392, 396, 427ff.  
 ATP-ADP-Fraktion, *ATP-ADP-fraction* 439  
 ATPase 369  
 ATP-Synthese, Hemmung, *inhibition of ATP  
 synthesis* 440  
 Atropin, *atropine* 396, 403  
 A-Typ-Zelle nach CASPERSSON und SANTESSON,  
*A type cell as described by CASPERSSON and  
 SANTESSON* 438, 439  
 audiogene Anfälle, *audiogenic seizures* 403, 404  
 „Aufbauzeiten“, *“build-up periods”* 274  
 Auge, *eye* 314, 503ff.  
 Augenfarbenmutation, *eye colour mutation*  
 503ff., 541, 543  
 Augenlinse, *eye lens* 254, 264  
 Ausbeute bei Bestrahlung von Chlorkohlen-  
 wasserstoffen, *yield of irradiation of chlor  
 hydrocarbons* 151  
 — an Drosophila-Mutationen, *yield in Drosophila  
 mutations* 531ff., 565  
 — an „Induktionen“ in lysogenen Bakterien,  
*yield of “inductions” in lysogenic bacteria*  
 532ff.  
 —, Ionen-, *“ionic yield”* 19, 20, 244ff.  
 — an Isochromatid-Brüchen, *yield of  
 isochromatid breaks* 534ff.  
 — von Reaktionsprodukten, *yield of reaction  
 products* 98ff., 124ff., 219ff.

- Ausbeute an rezessiven Lethalmutanten, *yield of recessive lethals* 531ff.  
 — an somatischen Mutationen, *yield of somatic mutations* 532  
 Ausbeute-Dosis-Beziehung, *yield-dose relationship* 3, 15ff., 219  
 Ausbeute-Konzentration-Abhängigkeit, *yield-concentration dependence* 17, 18, 220  
 Auslösungsmechanismus für den Beginn der DNS-Synthese, *trigger mechanism for the onset of DNS synthesis* 413  
 Ausschlußprinzip von PAULI, PAULI'S *exclusion principle* 116  
 Autofluoreszenz, *autofluorescence* 380  
 Autogamie, *autogamy* 545  
 Autoradiographie, *autoradiography* 373, 417, 419ff., 436  
 Autosom, *autosome* 529ff.  
 autosomale rezessive Erbanlagen, *autosomal recessive traits* 603  
 Autoxydation, *autoxidation* 229, 407  
 Auxin 368, 388, 389  
 auxotrophische Mutante, *auxotrophic mutant* 501  
 Azet-Essigsäure, *aceto-acetic acid* 439  
 Azeton, *acetone* 147, 150, 282  
 Azetylocholin, *acetyl-choline* 391ff.  
 Azetylen, *acetylene* 122, 138  
 Azide 371  
 Azimutalquantenzahl, *azimuthal quantum number* 110
- BAIBA** 397ff.  
 — Stoffwechsel, *metabolism of BAIBA* 399  
 Bakterien-Chromosom, *bacterial chromosome* 412  
 Bakteriophage, *bacteriophage* 248, 261, 499ff.  
 — „lambda“, *“lambda” bacteriophage* 533ff.  
 — X 174, *bacteriophage X 174* 423  
 Bacterium cadaveris 432ff.  
 — luminiscence 283  
 — megaterium 186  
 — mesentericus 251  
 — subtilis 366  
**BAL** 565  
 Basalzellcarcinom der Haut, *basalcelled carcinoma of the skin* 361  
 Basispaar, *base pair* 513  
 bedingte Aversion gegen Saccharin, *conditioned aversion to saccharin* 403  
 — Reflexe, *conditioned reflexes* 403  
 Bendich-Verfahren, *Bendich procedure* 442  
 Benzol, *benzene* 139ff., 170  
 —, Bromierung, *bromation of benzene* 50  
 —, massenspektrometrische Messungen, *mass spectrometric measurements in benzene* 55, 56  
 Benzolmolekül, Bindungsverhältnisse, *benzene molecule, linkability* 118, 119, 132  
 Benzochinon, *benzoquinone* 29  
 Benzoyl-Argininamid, *benzoyl-argininamide* 389  
 Bernsteinsäure, *succinic acid* 161  
 Bestrahlung der Lenden- und Beckenregion wegen ischialgiformer Beschwerden, *irradiation of the lumbar and pelvic region for “sciatic” neuralgia* 597  
 Handbuch der med. Radiologie, Bd. II/1
- Bestrahlungszeit, *duration of irradiation* 279  
 Beta-aminoisobuttersäure, *beta-aminoisobutyric acid (BAIBA)* 397ff.  
 $\beta$ -Galaktosidase,  *$\beta$ -galactosidase* 432  
 $\beta$ -Glukuronidase,  *$\beta$ -glucuronidase* 388  
 $\beta$ -Indolessigsäure,  *$\beta$ -indole acetic acid* 168  
 $\beta$ -Mercaptoäthylamin,  *$\beta$ -mercaptoethylamine* 29  
 Betastrahlen, Induktion von Hauttumoren, *induction of skin tumours by beta-radiation* 312, 313  
 Bildungswärme, *heat of formation* 119  
 Bindegewebsreaktion, *reaction of connective tissue* 263  
 Bindung, *linkage* 491ff.  
 —, metallische, *metallic bond* 111  
 Bindungsenergien, *bond energies* 115, 119ff., 136ff., 152ff.  
 Bioamine, *bio-amines* 396  
 biochemische Spätwirkungen, *late biochemical effects* 360  
 biologische Sofortreaktion, *biological immediate reaction* 289  
 — Strahlenwirkung, *biological radiation effect* 282  
 „biologischer Zeitfaktor“, *biological time factor* 272, 292  
 Biolumineszenz, *bioluminescence* 283  
 biophysikalische Veränderungen, *biophysical changes* 403, 404  
 Biosynthese der DNS, *biosynthesis of DNA* 423  
 Biotin 501  
 biphasischer Kurventyp, *biphasic type of curve* 374  
 Biradikale, *biradicals* 53, 78, 96, 153  
 Bivalente, *bivalents* 494  
 Blättchen-Fraktion, *platelet fraction* 394  
 Blairscher Ansatz, *Blair's hypothesis* 285, 308  
 Blattlaus, *aphid* 550  
 Blitzphotolyse, *flash photolysis* 183  
 Blut, peripheres, *peripheral blood* 296ff., 305  
 blutbildende Organe, *hemopoietic organs* 296ff.  
 Blutegel, *leech* 288, 405  
 Blutplättchen, *platelets* 297  
 Blutsverwandten-Ehen, *consanguineous matings* 613ff.  
 Bombyx mori 292  
 Bohrsches Magneton, *magneton of BOHR* 52  
 „Boten-RNS“, *messenger RNA* 363, 376ff., 425, 432, 435ff.  
 Brachydaktylie, *brachydactyly* 601  
 Bragg-Gray-Prinzip, *Bragg-Gray principle* 45, 47  
 Bremsstrahlung 240  
 British anti-lewisite (BAL) 565  
 Brom, *bromine* 50, 96, 144, 145  
 Bromdesoxyuridin, *bromodeoxyuridine* 570  
 Bromoform 156  
 Bromurazol, *bromouracil* 570  
 Bronchialkarzinom, *carcinoma of the bronchus* 32, 263  
 B-Typ-Zelle nach CASPERSSON und SANTESSON, *B type cell as described by CASPERSSON and SANTESSON* 438, 439  
 Bufotenin, *bufotenine* 396  
 Bunsen-Roskoesches Gesetz, *Bunsen-Roscoe's law* 271, 285

- Butadiene, *butadienes* 127 ff.  
 Butane, *butanes* 123 ff., 282  
 Butanol 157  
 Butene, *butenes* 126, 127  
 Butylalkohol, *butyl alcohol* 146  
 Butylbromid, *butyl bromide* 144, 145  
 Butylon, *butyl ion* 131  
  
<sup>14</sup>C-Adenin, *<sup>14</sup>C-adenine* 422  
 [<sup>14</sup>C]-ATP 425  
<sup>14</sup>C-Formiat, *<sup>14</sup>C-formate* 415 ff.  
<sup>14</sup>C-Glutaminsäure, *<sup>14</sup>C-glutamic acid* 409  
<sup>14</sup>C-Glycin, *<sup>14</sup>C-glycine* 416  
 2-<sup>14</sup>C-Glycin, 2-<sup>14</sup>C-*glycine* 436, 439  
<sup>14</sup>C-Leucin, *<sup>14</sup>C-leucine* 433  
<sup>14</sup>C-Lysin, *<sup>14</sup>C-lysine* 436  
<sup>14</sup>C-markiertes Thymin, *<sup>14</sup>C-labelled thymine* 398  
 [6-<sup>14</sup>C]-Orotsäure, [6-<sup>14</sup>C]-*orotic acid* 377, 425, 429  
<sup>14</sup>C-2-Thymin, *<sup>14</sup>C-2-thymidine* 375, 409 ff.  
 [2-<sup>14</sup>C]-Thymin, [2-<sup>14</sup>C]-*thymine* 399  
 [5-<sup>14</sup>C]-Thymin, [5-<sup>14</sup>C]-*thymine* 399  
<sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 399  
 Calcium-Ion, *calcium ion* 383, 443, 449  
 Calciummangel, *calcium deficiency* 571  
 Calliphora 286, 287  
 calorimetrische Messung, *calorimetric measurement* 81  
 Capronsäure, *capronic acid* 161  
 Carbonat, *carbonate* 415  
 Carbonylgruppen, *carbonyl groups* 201 ff.  
 Carboxypeptidase 219 ff.  
 carcinogene Strahlenwirkung, *carcinogenic radiation effect* 315  
 Carcinogenität, *carcinogenicity* 572 ff.  
 Casein 282  
 celluläre Strahlenwirkung, *cellular radiation effect* 281 ff., 285 ff., 308  
 Cer, *cerium* 97 ff.  
 Cervixcarcinom, *carcinoma of the cervix* 334, 364, 438 ff.  
 Charakteristika, fortgesetzt veränderliche, *continuously variable characters* 580 ff.  
 —, quantitative, *quantitative characters* 594, 615  
 charakteristische Dauer der Zustandsänderung, *characteristic duration of change in state* 275  
 Chelatbildner, *chelating agents* 187  
 chemische Carcinogene, *chemical carcinogenes* 572, 573  
 — Nachweisverfahren strahlenchemischer Umsetzungen, *chemical methods of proof in radiation chemical processes* 47 ff., 78 ff.  
 — Radiosensibilatoren, *chemical radiosensitisers* 32, 33, 223 ff., 356, 364 ff.  
 — Strahlenschutzstoffe, *chemical radioprotective agents* 165, 188, 261, 385 ff., 395 ff.  
 — Veränderungen in der DNS, *chemical changes in DNA* 205 ff., 359 ff.  
 Chemoreceptor 288  
 Chiasmata 494 ff.  
 Chiasmotypie, *crossing over* 495 ff.  
 chinesischer Hamster, *Chinese hamster* 318, 411, 414  
 Chininsulfat, *quinine sulfate* 167  
 Chinone, *quinones* 33, 440  
  
 Chlamydomonas 526  
 Chlorabspaltung, *splitting off of chlorine* 150 ff.  
 Chloralhydrat, *chloral hydrate* 156  
 Chloramphenicol 433  
 Chlorbenzol, *chlorobenzene* 154, 156 ff.  
 Chloroform 143, 144, 150 ff.  
 Chloroplast 525  
 Cholesterol 357 ff.  
 Cholinesterase 391 ff.  
 Chondrosarkom, *chondrosarcoma* 32  
 Chortophaga 518, 522 ff., 574  
 Chromatidaberrationen, *chromatid aberrations* 375, 558 ff.  
 Chromatid-Auslöschung, *chromatid deletion* 558  
 Chromatid-Austausch, *chromatid exchange* 558  
 Chromatidbrüche, strahleninduzierte, *radiation-induced breaks in chromatids* 5, 21, 22  
 Chromatide, *chromatides* 488 ff.  
 Chromatographie, *chromatography* 49  
 Chromonemata 488  
 „Chromosin“ 382, 443  
 Chromosom, *chromosome* 488 ff.  
 —, metazentrisches, *metacentric chromosome* 434  
 chromosomale Gene, *chromosomal genes* 490 ff.  
 Chromosomenaberrationen, *chromosome aberrations* 21, 22, 25, 251, 317 ff., 362, 492 ff., 534 ff., 574 ff.  
 Chromosomen-Anomalien, *chromosomal anomalies* 606  
 Chromosomenbruch, Anzahl der hierzu erforderlichen Ionisationen, *number of ionizations required to produce a chromosome break* 521  
 —, *chromosome breakage* 21, 250 ff., 274, 318, 362, 422, 487 ff., 574 ff.  
 Chromosomenbrüche, Anteil der sich restituierenden, *proportion of chromosome breaks which reconstitute* 520 ff.  
 —, Dauer ihres Offenseins, *time over which chromosome breaks remain open* 521  
 — und Wiedervereinigung, *chromosome breakage and reunion* 516 ff.  
 Chromosomenbrücken, *chromosome bridges* 543 ff.  
 Chromosomenfragmente, *chromosome fragments* 561  
 Chromosomengröße, *chromosome size* 544  
 Chromosomenmutation, *chromosomal mutation* 249 ff., 491 ff.  
 Chromosomenveränderungen, Häufigkeit, *frequency of chromosome changes* 21, 250 ff., 491 ff.  
 Chromosomenverklumpung, *chromosome stickiness* 523, 543, 569 ff.  
 Chromosomenwiedervereinigung, *reunion of chromosomes* 27, 28, 437 ff., 564  
 Chromosomenzahl, *chromosome number* 544  
 „Chromosomin“ 382  
 Chronaxie, *chronaxy* 287  
 chronische Gammabestrahlung von Mäusen, *chronic gamma irradiation of mice* 592  
 — von Pflanzen, *chronic gamma irradiation of plants* 532  
 — lymphatische Leukämie, *chronic lymphatic leukaemia* 367, 398 ff.

- chronische myeloische Leukämie, *chronic myeloid leukemia* 367, 368, 397  
 — Strahleneinwirkung, *chronic radiation, influence of* 257  
 Chrysanthemum 545  
 Chymotrypsin 228, 231, 384  
 CIB-Methode, *CIB method* 530  
 C<sub>y</sub>L-Technik, *C<sub>y</sub>L technique* 584  
<sup>60</sup>Co, Bestrahlung von Benzol, *irradiation of benzene with <sup>60</sup>Co gamma rays* 140  
<sup>60</sup>Co-Strahlung, *<sup>60</sup>Co rays* 21, 25, 26, 48, 80, 101, 275, 364, 592  
 Coenzym A, *coenzyme A* 26  
 — I, *coenzyme I* 224, 358  
 Colchizin, *colchicine* 565  
 Colobomata 601  
 Colorimetrie, *colorimetry* 50  
 Colpidium 11  
 Cornea 290, 318, 360  
 Corticoid-ähnliche Substanzen, *corticoid-like substances* 401  
 Cortison, *cortisone* 361  
 Crepis capillaris 561  
 Crocker-Sarkom der Maus, *Crocker mouse sarcoma* 373  
 Crossing over 495ff.  
 Crosslinking beweglicher Moleküle, *crosslinking of flexible molecules* 184ff.  
 — der DNS, *crosslinking of DNA* 205ff.  
 —, intermolekulares, *inter-molecular crosslinking* 184ff., 191  
 —, intramolekulares, *intra-molecular crosslinking* 191, 192  
 — von Nukleoprotein, *crosslinking of nucleoprotein* 208ff.  
 — von Proteinen, *crosslinking of proteins* 197ff.  
 — synthetischer Polymere, *crosslinking of synthetic polymers* 189ff.  
 „Crossover unit“ 495  
 Crustaceen, *crustacean* 286  
 CsCl-Gradient-Zentrifugierung, *CsCl gradient centrifugation* 366  
 Cyclohexan, *cyclohexane* 139ff.  
 Cyclohexanon 154  
 Cyclohexen, *cyclohexyl* 139ff.  
 Cystamin, *cystamine* 187  
 Cysteamin, *cysteamine* 164, 165, 208ff., 393, 395, 418, 422  
 Cystein, *cysteine* 149, 163ff., 215ff., 406, 418, 565  
 Cysteinhydrochlorid, *cysteine hydrochloride* 407  
 Cystein-Monohydrat, *cysteine monohydrate* 53ff.  
 Cysteinsäure, *cysteic acid* 398  
 Cystin, *cystine* 54, 165, 187, 201, 398  
 Cytidin, *cytidine* 415, 424  
 Cytidin-Phosphat, *cytidine phosphate* 430  
 Cytochrom, *cytochrome* 369, 401  
 —c-Reductase, *cytochrome c reductase* 230  
 —Reductase, *cytochrome reductase* 217  
 Cytogen, *cytogene* 492  
 Cytoplasmaströmung, *cytoplasmic streaming* 526  
 cytoplasmatische Basophilie, *cytoplasmic basophilia* 438  
 — Feststoffe, *cytoplasmic solids* 381  
 — Körper, *cytoplasmic particles* 525ff.  
 Cytosin, *cytosine* 513  
 D<sub>37</sub> 364ff., 414, 417, 421, 432ff., 441, 448  
 Dahlbominus 526, 545  
 d-Aminosäure-Oxydase, *d-aminoacid-oxidase* 227  
 Darm, *intestine* 254, 255, 299, 369, 371, 375  
 Darmkryptenzellen der Maus, *intestinal crypt cells of the mouse* 410  
 Darmschleimhaut, *intestinal mucosa* 299, 369, 371, 396  
 Datura 540  
 De Broglie Wellenlänge, *length of De Broglie wave* 68  
 degenerative Strahlenspätchäden, *degenerative late radiation damages* 314ff.  
 — Zellveränderungen, *degenerative changes of cells* 292  
 deletäre Mutationen, *deleterious mutations* 577ff.  
 delta-Amino-Fruchtsäure-Dehydrase, *delta-aminolaevalic acid dehydrase* 388  
 delta-Strahlen, *delta rays* 8ff., 227  
 Demaskierung von SH- und S-S-Gruppen, *unmasking of SH and S-S groups* 216  
 Denaturierung, *denaturation* 197, 200, 215ff.  
 Denaturierungsmittel, *denaturation agents* 215  
 Depolymerisation von Mucopolysacchariden, *depolymerisation of mucopoly-saccharides* 385, 386, 449  
 Depression von Tracer-Eisenaufnahme, *depression of tracer iron uptake* 392, 393  
 Dermatitis II. Grades, *second degree dermatitis* 330  
 Dermis 385  
 Desoxycytidin, *deoxycytidine* 399, 400, 426  
 Desoxycytidindiphosphat, *deoxycytidine diphosphate* 424  
 Desoxycytidinmonophosphat, *deoxycytidine monophosphate* 424  
 Desoxycytidinphosphat, *deoxycytidine phosphate* 430  
 Desoxycytidintriphosphat, *deoxycytidine triphosphate* 439  
 Desoxycytidylat (dCMP)-Desaminase, *deoxycytidylate (dCMP) deaminase* 425  
 Desoxycytidylsäure, *deoxycytidylic acid* 415, 423, 426  
 Desoxynukleosidtriphosphate, *deoxynucleoside-triphosphate* 427  
 Desoxynukleotide, *deoxynucleotides* 426  
 Desoxyribonukleinsäure, *deoxyribonucleic acid* 10, 169, 203ff., 355ff., 402, 408ff., 513ff.  
 Desoxyribonukleohiston, *deoxyribonucleohistone* 446  
 Desoxyribonukleoprotein, *deoxyribonucleoprotein* 445  
 Desoxyribonukleoprotein-Gele, *deoxyribonucleoprotein gels* 385, 443, 445ff.  
 Desoxyribonukleoproteinsystem des Kerns, *deoxyribonucleoprotein system of the nucleus* 434  
 Desoxyribonukleoside, *deoxyribonucleosides* 380, 423, 426, 438ff.  
 Desoxyribonukleosid-Triphosphate, *deoxyribonucleoside triphosphate* 423ff.  
 Desoxyribonukleotide, *deoxyribonucleotides* 380, 424, 438ff.

- Desoxyribonukleotide, mono- und triphosphorylierte, *deoxyribonucleotides, mono- and triphosphorylated deoxyribonucleotides* 439
- Desoxyribopolynukleotide, *deoxyribopoly-nucleotides* 380, 438
- Desoxyribose, *deoxyribose* 400, 439
- Desoxyribosegehalt der Rattenleber, *deoxyribose content of rat liver* 400
- Desoxyuridinmonophosphat, *deoxyuridine monophosphate* 439
- Deuteronen, Bestrahlung von Benzol, *irradiation of benzene with deuterons* 140
- , LET, *deuterons, LET* 240, 242, 252
- Diabetes insipidus 601, 603
- mellitus 605
- Diäthylsulfat, *diethyl sulphate* 569
- Diakinese, *diakinesis* 494
- Diamantbindung, *diamond bond* 111
- Diaphorase 392
- dicht ionisierende Strahlung, *densely ionizing radiation* 275, 295, 314ff., 540ff.
- — —, Wirkung auf Enzyme, *effects of densely-ionizing radiations on enzymes* 226, 227
- Dichte der absorbierten Energie, *density of absorbed energy* 275
- Dielektrizitätskonstanten, *dielectric constants* 58
- Diepoxyde, *diepoxides* 569
- Differentialblutbild, *differential blood picture* 298
- differentielle Ionisation, *differential ionization* 238
- Dihydronicotinamid-Derivate, *dihydronicotinamide derivatives* 401
- Dijodtyrosin, *diiodtyrosine* 49
- Dimerisation, *dimerization* 133ff., 158ff.
- Dinitrophenol 371
- Diploid 489, 545ff.
- Diploten-Stadium, *diplotene stage* 494, 576
- Diptera 420
- direkte und indirekte Wirkungen ionisierender Strahlen, Geschichte, *direct and indirect effects of ionizing radiations, history* 1ff.
- Strahlenwirkung, *direct radiation effect* 242
- Trefferwirkung, *direct hit action* 3ff., 16, 109, 183ff., 508ff.
- Direktwirkung an DNS, *direct action on DNA* 207ff.
- an Polymeren, *direct action on polymers* 192ff.
- auf Proteine, *direct action on proteins* 199ff.
- Direktwirkungstheorie, *direct action theory* 1, 3ff., 28, 508ff.
- Dische-positive Substanzen, *Dische-positive substances* 400
- Dissoziationsenergie, *dissociation energy* 65ff., 113, 120
- Disulfidbindungen, verfügbare, *available disulphide bonds* 197, 199
- Disulfidgruppe, gemischte, *mixed disulphide group* 189
- DNAase II 387
- DNase 231
- DNH 446
- DNP 381ff., 427ff.
- DNS, *DNA* 10, 169, 203ff., 355ff., 402, 408ff., 513ff.
- , cytoplasmatische, *cytoplasmic DNA* 420
- , einsträngige, *single-stranded DNA* 423, 447
- , extrahierbare, *extractable DNA* 381, 443
- , Fraktionierung, *fractionation of DNA* 442
- , native, Injektion nach letaler Bestrahlung, *injection of native DNA after lethal irradiation* 441
- , Reutilisation, *reutilization of DNA* 440
- , vereint mit kristalliner Hefe-Milchsäuredehydrogenase, *DNA associated with crystalline yeast lactic dehydrogenase* 431
- , Wirkung auf den Stoffwechsel normaler bestrahlter Zellen und maligner Tumoren, *role of DNA in effects of ionizing radiation on the metabolism of normal tissues and malignant tumours* 408ff.
- , zwei Arten von, *two types of DNA* 418
- DNS<sub>1</sub>, *DNA<sub>1</sub>* 418ff., 442
- DNS<sub>2</sub>, *DNA<sub>2</sub>* 418ff., 442
- DNS-abhängige RNS-Polymerase, *DNA dependent RNA polymerase* 435
- — RNS-Synthese, *DNA-dependent RNA synthesis* 365
- DNS-asen, *DNA-ases* 383ff., 443, 447
- , Freisetzung, *DNA-ases, liberation* 443
- DNS-Fasern, orientierte, *oriented DNA fibers* 402
- DNS-Fraktionen unterschiedlicher Strahlenempfindlichkeit, *fractions of DNA of different radiosensitivity* 412, 442
- DNS-Gehalt von Tumorzellen, *DNA content of tumour cells* 364, 415ff.
- DNS-Labilisierung, *labilization of DNA* 381ff.
- DNS-Neubildung, *formation of new DNA* 409, 416
- DNS-Nukleotidyl-Transferase, *DNA nucleotidyl transferase* 427
- DNS-Polymerase, *DNA-polymerase* 356, 423ff., 447
- DNS-Proteinkomplex des Kerns, makromolekularer, *macromolecular DNA-protein complex of the nucleus* 431
- DNS-Replikation, *DNA replication* 412
- DNS-Schablone, *DNA template* 372, 419, 423
- DNS-Schädigung in situ, *damage to DNA in situ* 434
- DNS-Synthese, *DNA synthesis* 298ff., 357ff., 373ff., 408ff.
- —, Beschleunigung, *acceleration of DNA synthesis* 419
- —, Ingangsetzung, *initiation of DNA synthesis* 422, 424ff.
- — in leukämischen Mäusen, *DNA synthesis in leukaemic mice* 427
- —, morphologische Studie, *DNA synthesis, morphological study* 423
- DNS-Vorstufen, Einbau, *DNA precursors, incorporation* 372ff., 418ff.
- DOCA 362
- dominant mutierende Erbanlagen, *dominant mutant traits* 601ff.
- dominante Gen-Mutationen, *dominant gene mutations* 577

- dominante Letalveränderungen, *dominant lethal changes* 574 ff.  
 — Sterilität, *dominant sterility* 577  
 dominantes Allel, *dominant allele* 492  
 Dopamin, *dopamine* 396  
 Doppelbindung, *double bond* 118 ff.  
 Doppelbrechung, *birefringe* 441, 446  
 dosimetrische Grundlagen der Strahlenchemie, *dosimetric principles in radiation chemistry* 43 ff.  
 Dosisionisierender Photonenstrahlung, *dose of ionizing photon radiation* 42  
 Dosisleistung, Abhängigkeit des Umsatzes, *dose rate, dependance of yield on* 84  
 — und Fraktionierungseffekt, *dose rate and fractionation effect* 538 ff.  
 — und Mutationsrate, *dose rate effects on yield of mutations* 592  
 — und RBW, *dose rate and RBE* 256 ff.  
 — und Überlebenszeit, *dose rate and survival time* 304  
 Dosisleistungskurven, *dose-rate curves* 262  
 Dosismessung auf chemischem Wege, *chemical dose measurement* 78, 246  
 Dosis-modifizierender Faktor, *dose-modifying factor* 20 ff.  
 Dosismultiplikationsfaktor, *dose-multiplying factor* 294, 311  
 Dosis-Wirkungsbeziehungen, *dose-effect relationships* 529  
 Dosiswirkungskurve, *dose-effect curve* 4, 16, 261 ff., 278 ff., 321, 530 ff., 587 ff.  
 —, exponentielle, *exponential dose-effect curve* 4, 15 ff., 261, 280, 432 ff.  
 —, lineare, *linear dose-response curve* 530 ff., 587 ff.  
 — für die Hemmung der DNS-Synthese, *dose-response curves for the inhibition of synthesis of DNA* 374 ff., 417 ff.  
 Down's Syndrom, *Down's syndrome* 603 ff.  
 DPNH 429  
 DPPH 29  
 3-Hydroxykynurenin, *3-hydroxykynurenine* 395  
 Drosophila melanogaster 6, 11, 12, 21, 249, 250, 258, 261, 275, 292 ff., 315 ff., 445, 491 ff., 529 ff.  
 — virilis 509  
 Drosophila-Population 584 ff.  
 Drosophila-Samen, *Drosophila sperm* 531 ff.  
 Dünndarm, *small intestine* 255, 299, 405, 408, 415  
 Dünndarmatrophie, *atrophy of small intestine* 255  
 Dünndarmepithel, *epithelium of small intestine* 299  
 Dünndarmmuskel, Säuger-, *muscle of mammalian small intestine* 405  
 Dupuytren'sche Kontraktur, *Dupuytren's contracture* 601  
 E 39 437  
 Earle's L-Mäusefibroblastenzellkulturen, strahlenresistente und strahlenempfindliche, *radioresistant and radiosensitive colonies of Earle's mouse fibroblast cells* 554 ff.  
 Earle's L-Mäusestamm, *Earle's L-mouse strain* 379  
 — L-Zellen, *Earle's L-cells* 409  
 ECTEOA Cellulose 442  
 ED<sub>50</sub> 393  
 „Edelgaskonfiguration“, „rare gas configuration“ 110  
 EEG 304, 404  
 — von Hunden, *EEG in dogs* 404  
 — von Kaninchen, *EEG in rabbits* 404  
 — bei Ratten, *EEG in rats* 404  
 Ehrlich-Ascites-Carcinomzellen, strahlenresistente, *radioresistant Ehrlich ascites carcinoma cells* 553  
 Ehrlich-Ascites-Tumor der Maus, *Ehrlich mouse-ascites tumour* 22 ff., 31, 259, 373, 379, 409, 417 ff., 427 ff.  
 Ehrlich-Carcinom der Maus, strahlenresistenter Stamm, *radioresistant strain of the Ehrlich carcinoma of the mouse* 417  
 Eialbumin, *egg albumin* 282  
 Eichspektren, *gauging spectra* 121 ff.  
 Eigenwerte der Wellenfunktion, *eigenvalue of wave function* 115 ff.  
 „einfache Brüche“, „single breaks“ 203  
 — Reaktion, *single reaction* 230  
 Ein-Gen-Erbanlagen, *single gene traits* 601 ff.  
 „Eintreffer“, „single hit“ 441, 446, 535  
 Eintreffer-Chromosomen- und Chromatid-Aberrationen, *single hit chromosome and chromatid aberrations* 534 ff.  
 Eintrefferkurve, *single-target hit curve* 280  
 Eintreffertheorie, „single-hit theory“ 3, 4, 278  
 Ein-Trefferwirkung, *single-hit effect* 519 ff.  
 Eis, *ice* 59, 61, 77, 78  
 —, elektronische Zustände in bestrahltem, *electronic states in irradiated ice* 77 ff.  
 Eisen-Ion, *iron ion* 50  
 Eisenstoffwechsel, *iron metabolism* 392 ff.  
 Eisensulfat, Strahlenoxydation, *oxidation of iron sulfate by radiation* 78 ff., 246 ff.  
 Eiweißdenaturierung, *denaturation of proteins* 215 ff.  
 Eiweißfällung, *precipitation of proteins* 215  
 Eiweißkoagulation, *coagulation of proteins* 215  
 Elektivität, *electivity* 262 ff., 338  
 elektrische Doppelbrechung, *electric birefringence* 441, 446  
 — Potentialunterschiede, *electrical potential differences* 405  
 elektrisches Dipolmoment, *electric dipole moment* 58 ff.  
 Elektroencephalogramm, *electroencephalogram* 302, 304, 404  
 Elektrolyte, *electrolytes* 51  
 Elektrolytgleichgewicht, *equilibrium of electrolytes* 289  
 Elektronen, freie, *free electrons* 73  
 —, hydratisierte, *hydrated electrons* 14, 183, 243  
 —, schnelle, *fast electrons* 240, 295, 328, 333, 340  
 —, solvatisierte, *solvated electrons* 14, 183, 243  
 —, thermalisierte, *thermalized electrons* 107  
 —, ungepaarte, *unpaired electrons* 29, 53, 105, 113

- Elektronenanregung, *stimulation of electrons* 68, 149
- Elektronenbestrahlung von Benzol, *irradiation of benzene with electrons* 140, 141
- Elektronenergethem, *erythema caused by electron irradiation* 263, 329
- elektronenmikroskopische Untersuchungen, *electronmicroscopical studies* 401, 402, 437, 438, 442
- Elektronenpaarbildung, *formation of electron pairs* 111
- Elektronenspin, *electron spin* 52 ff., 112, 132
- Resonanz, *electron spin resonance* 29 ff., 52, 149, 203, 208 ff., 407, 408
- Elektronentransportkette, *electron transport chain* 370
- Elektronenwanderung, *migration of electrons* 195
- Elektrophorese, *electrophoresis* 49
- elektrophoretische Geschwindigkeit, *electrophoretic velocity* 406
- Elektroretinogramm, *electroretinogram* 286, 287, 404
- „Elementar-DNS“, „*primer*“ DNA 423, 426 ff.
- Elkind-Phänomen, *phenomenon of Elkind* 293 ff., 307, 320, 321
- Elternbestrahlung, Wirkung auf das Geschlechtsverhältnis der Nachkommen, *effects of exposure of parents on the sex ratio of offspring* 596 ff.
- Embryonalentwicklung, *embryonic development* 309 ff., 575
- embryonales Normalgewebe, *normal embryonic tissue* 379
- „empfindlicher“ Punkt, „*sensitive*“ spot 6
- endoplasmatisches Retikulum, *endoplasmatic reticulum* 402
- endotherme Reaktion, *endothermal reaction* 114
- „Energiedosis“, *absorbed dose* 45 ff.
- Energietransport, *energy transport* 83, 141, 275
- Energieübertragung, *energy transfer* 209
- in festen Polymeren, *energy transfer in solid polymers* 29, 188
- Entfärbungsreaktion, *decolorization reaction* 165 ff.
- entwicklungsmäßige Mißbildungen, *developmental malformations* 604 ff.
- Entzündungsbestrahlung, *antiphlogistic irradiation* 303
- Enzymaktivierung, *enzyme activation* 387
- Enzymaktivität, Abfall nach kleinen Strahlendosen, *decrease in enzyme activity after irradiation with small doses* 389 ff.
- enzymatische Synthese der DNS, *enzymatic synthesis of DNA* 423
- Enzymcharakteristiken, Änderung, *modification of enzymic characteristics* 228 ff.
- Enzymdenaturierung, *denaturation of enzymes* 215 ff.
- Enzyme, *enzymes* 187 ff., 283 ff., 427, 435, 449
- Bestrahlungsausbeute, *enzymes, radiation yields* 219 ff.
- , bifunktionelle, *bifunctional enzymes* 228 ff.
- und Enzymsysteme, Steigerung der Aktivität nach Bestrahlung, *increase in the activity of certain enzymes and enzyme systems after irradiation* 386 ff.
- Enzyme, kristalline, *crystalline enzymes* 216, 247
- , Strahlenempfindlichkeit, *enzymes, radiation sensitivity of* 11
- , Strahlenwirkungen auf, *radiation effects on enzymes* 214 ff.
- Enzymsysteme, querverbundene, *interrelated enzyme systems* 229 ff.
- „Enzymfreisetzung“, „*enzyme release*“ 387, 389
- Enzyminaktivierung, *enzyme inactivation* 211
- Enzym-Induktion, Stimulierung, *stimulation of enzyme induction* 387
- Enzymreaktion, Coenzym-gekoppelte, *coenzyme-coupled enzyme reaction* 231
- Eosin 50
- Methylenblau, *eosin methylene blue* 511 ff.
- Epidermitis exsudativa 325
- sicca 325
- Epidermoidtumoren, *epidermoidal tumours* 334
- Epilation 331
- Epilationsdosis, *epilation dose* 327
- Epilepsie, idiopathische, *idiopathic epilepsy* 605
- Epipharynxtumoren, *tumours of the epipharynx* 334 ff.
- Equationsteilung, *equational division* 496
- Erbanlagen, *genetic traits* 600 ff.
- , bedingt durch grobe Chromosomenaberrationen, *traits due to gross chromosomal aberrations* 604 ff.
- Erbkrankheiten, Häufigkeit, *frequencies of hereditary diseases* 600 ff.
- erbliche Defekte, Anstieg, *increase of hereditary defects* 611, 612
- Ergosterin, *ergosterol* 282
- Erholung, *recovery* 272, 276 ff., 283 ff., 384, 434, 444, 449
- , celluläre, *cellular recovery* 292 ff., 331
- , Halbwertszeiten, *halfvalue times of recovery* 305
- von der initialen Schädigung, *recovery from initial damage* 449
- von Mitosehemmung, *recovery from mitotic inhibition* 361, 432
- nach Mutationen bei Mäusen, *recovery from mutations in mice* 593
- bei Punktmutationen, *recovery after point mutations* 316, 317
- nach Totalbestrahlung, *recovery after total body irradiation* 305 ff.
- Erholungsfaktor der Haut, *recovery factor of skin* 331 ff.
- „Erholungsfunktion“, „*recovery function*“ 284
- Erholungsprozesse, langsame, *slow recovery processes* 276 ff.
- Erholungsvorgänge, intracelluläre, *intracellular recovery* 290 ff.
- Erregungszustand, *excited state* 2
- erste Ruhephase, *first resting phase* 411
- erstes Intervall  $G_1$ , *first interval  $G_1$*  373 ff., 410 ff., 422 ff.
- Erythem, *erythema* 258, 262, 322 ff.
- Erythemdosis, *erythema dose* 325 ff.
- Erythemmesser, *erythema meter* 330
- Erythropoietin 394
- Erythrozyten, *erythrocytes* 392 ff.

- Escherichia coli* 21, 22, 27, 251, 252, 259, 366, 424, 427, 432ff., 502, 504ff., 568ff.  
 — — K 12 532  
 — —, resistente Mutanten, *resistant mutants of Escherichia coli* 550ff.  
 — —Chromosom, *E. coli chromosome* 412, 504ff.  
 Esel, *donkey* 304, 305  
 ESR 29ff., 52, 149, 203, 208ff., 407, 408  
 —Spektrographie, *ESR-spectrography* 407  
 Essigsäure, *acetic acid* 148, 149, 158ff.  
 Esteraseaktivität, *esterase activity* 228, 229  
 Euchromatin 562  
 Exciton 449  
 exotherme Reaktion, *exothermal reaction* 114, 142  
 Exponentialkurven, reine, *pure exponential curves* 261  
 exponentielle Überlebenskurve, *exponential survival curve* 4, 15  
 „Expositionen“-Dosis, *exposure* 44  
 Extrapolationszahl, *extrapolation number* 320, 364, 433, 448  
 extrem fraktionierte Bestrahlung, *extremely fractionated irradiation* 323ff., 340  
  
 Faktorenaustausch, *crossing over* 495ff.  
 —, induzierter, *induced crossing over* 522  
 —, Lokalisation, *crossover mapping* 500ff.  
 „Faktorenaustausch-Einheit“, *“crossover unit”* 495  
 Farbblindheit, *colour blindness* 610  
 Farbstoffe, *dyes* 165  
 Farnsporen, *fern spores* 525  
<sup>55</sup>Fe 80  
<sup>59</sup>Fe 80, 392ff.  
 —Aufnahme in Erythrocyten, Depression, *depression of <sup>59</sup>Fe-uptake into erythrocytes* 393  
 Fehlgeburt, *miscarriage* 614  
 Fellfarben-Genorte, *coat colour gene loci* 591ff.  
 Fellfarben-Mutation bei Mäusen, *coat colour mutation in mice* 537ff., 580  
 Fermente, s. Enzyme  
 Fertilität, *fertility* 300ff., 307, 310  
 Fertilitätsminderung, *reduction of fertility* 254  
 Fettsäuren, *fatty acids* 147ff., 158ff.  
 —, Reaktionsprodukte nach Bestrahlung mit  $\alpha$ -Strahlen, *fatty acids, reaction products after  $\alpha$ -irradiation* 148  
 Feulgen-Färbung, *Feulgen-staining* 379, 436  
 Feulgen-positive Kernkörper, *Feulgen-positive nuclear body* 420  
 Fibroblastenkulturen, *cultures of fibroblasts* 290, 292, 421, 437  
 Fibrosarkom, *fibrosarcoma* 319  
 Flavin 370  
 —adenin-dinukleotid, *flavin adenine dinucleotide* 392  
 —mononukleotid, *flavin mononucleotide* 392  
 Flavoprotein 392  
 Fließgleichgewicht, *flowing equilibrium* 278, 296  
 flüssige Luft, Bestrahlung bei Temperatur von, *irradiation at liquid air temperature* 563  
 „Fluktuationstest“, *“fluctuation test”* 552  
  
 Fluor, *fluorine* 142ff.  
 Fluoreszenzerscheinungen in Eis, *fluorescence in ice* 77  
 Fluoreszenzmikroskopie, *fluorescence microscopy* 380  
 fluorierte Pyrimidin-Derivate, *fluorinated pyrimidine derivatives* 425  
 Fluorochrom, *fluorochrome* 380  
 Fluorwasserstoff, *hydrogen fluoride* 64  
 Folgereaktion, *consecutive reaction* 230  
 Formaldehyd, *formaldehyde* 153, 158  
 Formiat, *formate* 415  
 Fraktionierung, *fractioning* 271ff., 291ff., 322ff., 538ff.  
 — und RBW, *fractioning and RBE* 256ff., 319  
 —, Wirkungssteigerung bei, *fractioning, increase of effectiveness by* 271  
 Fraktionierungsfaktor, *factor of fractioning* 323ff.  
 Frank-Condon-Prinzip, *Frank-Condon principle* 68  
 freie Radikale, *free radicals* 13, 30, 68ff., 113, 243ff., 274ff., 407  
 — —, Definition, *definition of free-radicals* 13  
 Freundsche Dosimeterreaktion, *dosimeter reaction of Freund* 144  
 Fricke-Dosimeter 82  
 Froschhaut, *frog skin* 289  
 Froschetina, *retina of frog* 286, 536  
 Fruchtfliege, *fruitfly*, s. *Drosophila*  
 Früheffekte, RBW für, *RBE for early effects* 258  
 Fruktosediphosphat, *fructose diphosphate* 230  
 FUDR 428  
 5-Adenylsäure, *5-adenylic acid* 396  
 5-Bromodesoxyuridin, Steigerung der Strahlensensibilität durch, *radiosensitization by 5-bromodeoxyuridine* 364ff., 408, 434  
 5-Brom-Urazil, *5-bromouracil* 366, 408, 434  
 5-Fluor-Desoxyuridin, *5-fluoro-deoxyuridine* 365, 425, 428  
 5-Fluorouracil 365, 425  
 5-Fluoruridin, *5-fluorouridine* 425  
 5-Hydroxyindolazetharnsäure, *5-hydroxyindolaceturic acid* 396, 400  
 5-Hydroxyindolessigsäure, *5-hydroxyindolacetic acid* 396, 400  
 5-Hydroxy-Tryptamin, *5-hydroxy-tryptamine* 187, 210, 385, 386, 395ff.  
 5-Jod-Desoxyuridin, *5-jodo-deoxyuridine* 365, 408, 434  
 5-J<sup>131</sup>-Jod-Desoxyuridin, *5-I<sup>131</sup>-deoxyuridine* 375  
 5-Nukleotidase, *5-nucleotidase* 388  
 5-Ribonukleosid-Diphosphate, *5-ribonucleoside diphosphate* 440  
 5-Ribonukleosid-Triphosphate, *5-ribonucleoside triphosphate* 440  
 „50 %-Effekt“, *“50 % effect”* 359, 415, 416, 449, 526  
 50 %-Hemmung der DNS-Synthese, *50 per cent inhibition of synthesis of DNA* 415ff.  
 funktionelle Störungen des Nervensystems, *functional disturbances of nervous system* 302ff.

- Galaktose<sub>1</sub>, *galactose*<sub>1</sub> 522  
 Galaktose<sub>2</sub>, *galactose*<sub>2</sub> 522  
 Gamma-Globulin 355, 446  
 Gammastrahlung, *gamma rays* 21, 73, 77, 80ff., 163, 240ff., 297ff., 314  
 —, LET, *gamma radiation, LET* 240ff.  
 Ganzbestrahlung, Veränderung von verschiedenen Stoffen bei, *total body irradiation, changes of various matters during* 47  
 Ganzkörperbestrahlung, *whole body irradiation* 304ff., 392ff., 398, 429, 441, 445  
 — und Erholung, *total body irradiation and recovery* 304ff.  
 gastrointestinales Strahlensyndrom, *gastro-intestinal radiation syndrome* 307  
 Gaumenspalte, *cleft palata* 605  
 Geburtenstatistik, *registration of births* 616  
 Geburtsgewichtsunterschiede, *birthweight variations* 595, 615  
 Gehirn, *brain* 386  
 geladene Intermediärprodukte, *charged intermediates* 73  
 „gemischte Disulfid-Hypothese“, „*mixed disulphide hypothesis*“ 218, 219  
 Gene, *genes* 248, 487ff.  
 —, Fellfarben- von Mäusen, *coat colour genes in mice* 591ff.  
 —, nicht-chromosomale, *genes, non-chromosomal* 492ff.  
 —, rezessiv-mutierende, *recessive mutant genes* 578ff.  
 genetische Folgen physiologischer Schädigung, *genetic consequences of physiological damage* 522ff.  
 — Information, Träger, *bearers of genetic information* 488ff.  
 — —, Verschlüsselung, *coding of genetic information* 513ff.  
 — Konstitution, *genetic constitution* 362, 492ff.  
 — Strahlenwirkungen in Individuen, *genetic radiation effects in individuals* 573ff.  
 — — Populationen, *genetic radiation effects in populations* 573ff.  
 — — Säugern, *genetic radiation effects in mammals* 573ff.  
 — Wirkung, Empfindlichkeit männlicher und weiblicher Keimzellen, *genetic effect, sensitivity of male and female germ cells* 592, 593  
 — —, hervorgerufen durch Einzeltreffer in Genen, *genetic effect caused by single hits in genes* 6, 519ff.  
 — — ionisierender Strahlungen, *genetic effect of ionizing radiations* 487ff.  
 — — in Körperzellen, *genetic effect in somatic cells* 586ff.  
 genetischer Apparat, *genetic apparatus* 488ff.  
 — Schaden, Abschätzung, *assessment of genetic damage* 599ff.  
 genetisches Strahlenrisiko, *genetic radiation risk* 317, 533, 534, 589ff., 599ff.  
 Gen-Hemmungshypothese von STEDMAN und STEDMAN, *gene inhibition hypothesis of STEDMAN and STEDMAN* 435  
 Genmutation, *gene mutation* 12, 249ff., 274, 315ff., 490ff.  
 Genmutationsprozeß, Periode des „Unentschiedenseins“, *period of indeterminacy during process of gene mutation* 567  
 Gen-Ort, *gene locus* 490ff., 591ff.  
 Genotypus, *genotype* 492  
 Genveränderungen, grobe, *coarse genetic changes* 515ff.  
 gesättigte aliphatische Kohlenwasserstoffe, *saturated aliphatic hydrocarbons* 133ff., 153ff.  
 Gesamtbestrahlungszeit, *total irradiation time* 271, 276, 321, 330, 334ff.  
 Gesamtcorticoide, *total corticoids* 401  
 Gesamttrockenmasse, *total dry mass* 436  
 Geschlechtsbestimmung, *sex determination* 496ff.  
 Geschlechtsentwicklung, Defekte, *defects of sexual development* 604  
 geschlechtsgebundene Erbanlagen, *sex-linked traits* 603ff.  
 — Mutationen, *sex-linked mutations* 579ff.  
 Geschlechtsverhältnis männlich/Gesamt, *sex ratio male/total* 596ff.  
 —, Veränderungen, *changes in sex ratio* 594ff.  
 Gewebekultur, *tissue culture* 271, 290, 293  
 Gewebetransplantationsstudien, *tissue transplantation studies* 362  
 gewebliche Strahlenwirkung, *radiation effects in tissues* 295ff.  
 Gicht, *gout* 397  
 Glaukom, *glaucoma* 601, 603  
 Gleichgewicht, *equilibrium* 72, 75  
 Globin-Synthese, *globin synthesis* 387  
 Globulinfraktion, *globulin fraction* 363, 444  
 Glomerulosklerose, interkapilläre, *intercapillary glomerulosclerosis* 360  
 Glukose, *glucose* 168, 429ff.  
 Glutamin-Oxalessigsäure-Transaminase, *glutamic-oxalacetic acid transaminase* 389  
 Glutamin-Oxalessig-Transaminase, *glutamic-oxaloacetic transaminase* 389  
 Glutamin-Pyruvatsäure-Transaminase, *glutamic-pyruvic acid transaminase* 389  
 Glutaminsäure, *glutamic acid* 398, 403, 417  
 Glutathion, *glutathione* 28, 164, 165, 204, 215ff., 363  
 — Reductase, *glutathione reductase* 217, 363  
 Glyceraldehyd-3-phosphat-dehydrogenase, *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase* 390, 391  
 Glycin, *glycine* 18, 52ff., 149, 162ff., 187, 398, 415  
 Glycol 146, 158  
 Glycolaldehyd, *glycol aldehyde* 153  
 Glycoxalsäure, *glycoxalic acid* 159  
 Glycylglycin, *glycylglycine* 54  
 Glykolsäure, *glycol acid* 159ff.  
 Glykolyse, *glycolysis* 357, 429ff.  
 glykolytische Enzyme, *glycolytic enzymes* 391  
 Glyoxylsäure, *glyoxylic acid* 159  
 Goldhamster 303  
 Gonaden, *gonades* 254ff., 299ff.  
 GOT 389  
 G<sub>1</sub>-Phase, *G<sub>1</sub>-phase* 373ff., 410ff., 422ff.  
 G<sub>2</sub>-Phase, *G<sub>2</sub>-phase* 373ff., 410ff., 431ff.

- GPT 389  
 Granulocyten, *granulocytes* 305  
 Granulosazellnekrose, *granular cell necrosis* 304  
 Grassamen, *grass seeds* 30, 31  
 große Chromosomen, *large chromosomes* 544ff.  
 Grundzustand, elektronischer, *electronic ground state* 112ff.  
 GTP 435  
 Guanin, *guanine* 513  
 —Rest, *guanine residue* 204  
 Guanosin-Desaminasen, *guanosine deaminase* 425  
 Guanosintriphosphat, *guanosine triphosphate* 435  
 G-Wert, *G-value* 20, 43, 53ff., 78, 80ff., 108ff., 134ff., 186, 203, 244ff.  
 — von DNS, *G-value of DNA* 205, 447  
 —, Enzyme, *G-value, enzymes* 220, 221  
 —, Halogenwasserstoffbildung, *G-value of halogen-hydrogen compounds* 155  
 gynäkologische Tumoren, *gynaecological malignancies* 400
- H-Atome, *H-atoms* 13, 223ff., 244ff.  
 H-Radikal, *H-radical* 108, 183ff., 223ff., 243ff., 557  
 [<sup>3</sup>H]-Cytidin, [<sup>3</sup>H]-*cytidine* 376, 379  
<sup>3</sup>H-Leucin, <sup>3</sup>H-*leucine* 376  
<sup>3</sup>H-Thymidin-Einbau, <sup>3</sup>H-*thymidine incorporation* 374  
<sup>3</sup>H-Thymidin-Markierung, <sup>3</sup>H-*thymidine labelling* 296  
 [<sup>3</sup>H]-Thymidin-stoßmarkierte Zellen, [<sup>3</sup>H]-*thymidine pulse-labelled cells* 414  
 HCN 216  
 HO<sub>2</sub>-Radikal, *HO<sub>2</sub>-radical* 23ff., 183ff., 244ff.  
 Haaranomalien, *hair anomalies* 601  
 Haarfarbe, Felerdung, *hair colour mosaicism* 599  
 Haarwuchs der Maus, *hair growth of the mouse* 410  
 Habrobracon 411, 543, 545ff., 575ff., 587  
 Hämatopoese, Hemmung, *inhibition of hematopoiesis* 254, 255  
 haematopoietisches Säugergewebe, *mammalian hematopoietic tissue* 434  
 Haemin-Synthese, *haemin synthesis* 387  
 Haemocyaninspaltung, *splitting of haemocyanin* 199  
 Hämoglobin, *hemoglobin* 282, 392ff.  
 Hämoipoese, *hemopoiesis* 296ff., 362  
 —, extramyeloische, *extramyeloic hemopoiesis* 298  
 hämopoietisch bedingter Strahlentod, *hemopoiesis-induced radiation death* 305ff.  
 hämorrhagische Diathese, *hemorrhagic diathesis* 297  
 Halbleiter, *semiconductor* 247  
 halbsterile Nachkommenschaft, *semisterile offspring* 576  
 „Halbwertszeit des Plasmaeisenschwundes“, „*plasma iron disappearance half-time*“ 393  
 Haldane-Muller-Prinzip, *Haldane-Muller-principle* 612  
 Hallux valgus 602
- Halogenkohlenwasserstoffe, höher homologe, *higher homologous halogen hydrocarbons* 143ff.  
 Halogenverbindungen, *halogen compounds* 155ff.  
 —, organische, *organic halogen compounds* 142ff.  
 Hamster 318, 411  
 Haploid 489, 545ff.  
 Harn-Aminoäthanol, *urinary aminoethanol* 401  
 Harn-Desoxyribonuklease, *urinary deoxyribonuclease* 400  
 Harnsäure, *uric acid* 357ff., 397  
 Harnstoff, *urea* 19, 187, 397  
 Hasenscharte, *hare lip* 605  
 Hauptkettenbruch, *main chain scission* 184, 191  
 — in DNS, *main-chain scission of DNA* 203, 207  
 Hauptquantenzahl, *principal quantum number* 110  
 Haut, feine Änderungen im Gefüge, *subtle changes in the texture of the skin* 386  
 —, Zeitfaktorstudien, *studies of time factor of skin* 271ff., 307, 324ff.  
 Hautcarcinom, *carcinoma of skin* 325, 334ff.  
 Hauterythem, *erythema of skin* 258, 262, 322ff.  
 Hautnekrose, *dermal necrosis* 325  
 Hauttumoren, *skin tumours* 311  
 HED 405  
 Hefe, *yeast* 21, 499, 578ff., 615  
 —, diploide, *diploid yeast* 252, 545, 578  
 —, haploide, *haploid yeast* 252, 535, 578  
 —, kristalline, *crystalline yeast* 216, 431  
 Hefe-Hexokinase, *yeast hexokinase* 225  
 Hefen-Autolysat, *yeast autolysate* 386  
 Hefezellen, *yeast cells* 26, 27  
 HeLa 53-Stamm, *HeLa 53-strain* 413  
 HeLa-Zellen, *HeLa-cells* 253, 295, 364, 374, 379, 409ff., 435  
 HeLa S 3-Zellen, synchronisierte in Kultur, *synchronized HeLa S 3 cells in culture* 414  
 Hemizygote 529ff.  
 Hemmung der DNS-Synthese, *inhibition of synthesis of DNA* 357, 373ff., 408ff.  
 — —, Beziehung zum NAD(DPN)-Gehalt, *relationship between inhibition of DNA synthesis and content of NAD(DPN)* 428ff.  
 — Speichelsekretion, *inhibition of salivary secretion* 405  
 Heparin 358  
 Hepatektomie, partielle, *partial hepatectomy* 374, 378, 422ff., 433  
 Hepatocyten, *hepatocytes* 423, 436  
 Heptan, *heptane* 282  
 Herz, *heart* 303  
 Heterochromatin 562  
 heterochromatische Region, *heterochromatic region* 569  
 heterochromatischer Sektor in der Iris, *heterochromatic sector in the iris of the eye* 599  
 Heterogenität der DNS, *heterogeneity of DNA* 420  
 Heterosis 582, 608, 613ff.  
 heterozygote Organismen, *heterozygous organisms* 492, 611ff.  
 Heterozygotie, Vorzug, *heterozygous advantage* 613

- Heuschrecken-Neuroblasten, *neuroblasts of locusts* 291, 361, 386, 431, 432, 522, 574
- Hexachloräthan, *hexachlor ethane* 143, 150
- Hexamethyläthan, *hexamethyl ethane* 129, 131
- „Hilfsvolumen-Methode“, „*associate-volume method*“ 7, 8
- Hirngewebe, *brain tissue* 303, 304, 386
- Hirntumor, *cerebral tumour* 32
- Hiroshima-Nachkommen, *Hiroshima offspring* 597, 610
- Hirschsprungische Krankheit, *Hirschsprung's disease* 602
- Hirudo med. L. 288, 405
- Histamin, *histamine* 187, 395ff.
- Histidin, *histidine* 201
- histologische Veränderungen, *histological changes* 373
- Histone, *histones* 382, 435, 444
- Histongehalt, nuklearer, *nuclear histone content* 436ff.
- hochstrahlenempfindliche biochemische Veränderungen, *highly radiosensitive biochemical changes* 367ff.
- Zellen, *highly radiosensitive cells* 372ff.
- Hoden, *testes* 254, 255, 271, 296, 299ff., 329
- Hodenatrophie der Maus, RBW, *atrophy of mouse testes*, *RBE* 254
- Holzöl, *wood oil* 282
- homologe autosomale Chromosomen, *homologous autosomal chromosomes* 412
- homozygote Organismen, *homozygous organisms* 492, 611ff.
- Hüftgelenkdislokation, *dislocated hip* 605
- Hühnerembryo, *chick embryo* 357, 416
- Hühnerfibroblast, *chicken fibroblast* 290, 409
- Hühnerherzfibroblasten, *chicken heart fibroblasts* 253, 295
- humorale Faktoren, *humoral factors* 387
- Hund, *dog* 395
- Hyaluronidase 28, 384
- Hyaluronsäure, *hyaluronic acid* 28
- Hybrid 60
- Hybridisierung, *hybridisation* 117ff.
- Hydratation, *hydration* 59ff., 88, 106ff.
- Hydrazin, *hydrazine* 95, 96
- Hydrazinsynthese, *hydrazine synthesis* 171
- Hydrocephalus 602, 605
- Hydrocharis 526
- Hydrolyse höher polymerer Verbindungen, *hydrolysis of higher polymeric compounds* 63
- Hydroniumion, *hydronium ion* 60ff.
- Hydroperoxyd, *hydroperoxid* 66ff., 75ff., 100ff., 153ff.
- Hydroperoxyl 557
- Hydroxoniumradikal, *hydroxonium radical* 74
- Hydroxycaprinsäure, *hydroxycapron acid* 155
- Hydroxyprolin, *hydroxyproline* 398
- Hydroxysäuren, *hydroxy acids* 55
- Hyperaminoacidurie, *hyperaminoaciduria* 398
- hypertone Salzlösung, *hypertonic saline solution* 432
- Hypopharynx-tumoren, *tumours of the hypopharynx* 339ff.
- Hypophysenadenom, basophiles, *basophilic hypophysal adenoma* 338
- hypothalamische Nervenzentren, *hypothalamic nerve centres* 395, 403, 404
- Hypoxie, pharmakologisch verursachte, *pharmacologically caused hypoxia* 187
- Ichthyosis congenita 603, 610
- Identität strahleninduzierter Inaktivatoren, *identity of radiation-induced inactivating agents* 225
- immunologische Faktoren, *immunological factors* 367
- Schädigung, *immunological injury* 356
- Impftumoren, *implantable tumours* 293
- „Impulsfunktion“, „*impulse function*“ 284
- Impuls-Pausenverhältnis, *impulse-interval ratio* 292, 293, 297, 328
- in vitro-Bestrahlung, *in vitro irradiation* 364ff.
- Inaktivierung von Enzymen in wässrigen Lösungen, *inactivation of enzymes in aqueous solutions* 219ff., 247
- Inaktivierungsquerschnitt, „*inactivation cross section*“ 9
- Indigocarmin, *indigo carmine* 167
- Strahlenwirkung, *indirect radiation effect* 2, 12ff., 16, 27, 109, 153ff., 194ff., 242, 262
- indirekte Wirkung auf DNS, *indirect action on DNA* 203, 204
- —, Grenzwert, *boundary value of indirect action* 150
- — an Polymeren, *indirect action on polymers* 194ff.
- — auf Protein, *indirect action on protein* 196ff.
- —, Theorie, *indirect-action theory* 12ff.
- Individuen, *individuals* 573ff.
- Indol, *indole* 168
- Indolessigsäure, *indolacetic acid* 368, 388, 389
- Indoxylsulfat, *indoxyl-sulphate* 401
- inelastischer Stoß, *inelastic collision* 67, 68
- Informationstheorie, *information theory* 432
- Infrarot, *infra-red* 563ff.
- Inhibitoren-Destruktion, *destruction of inhibitors* 387ff.
- „Initial-DNS“, „*primer*“ DNA 423, 426ff., 447
- Initialwirkungen, *initial effects* 359
- Inosin-Phosphorylasen, *inosine phosphorylases* 425
- Insekten, *insects* 292
- , ausgewachsene, *adult insects* 526
- INT 369
- Intensität, *intensity* 533ff.
- Interferenzmikroskopie, *interference microscopy* 379
- Interferometrie, *interferometry* 379
- Interphase 489ff., 547ff., 586ff.
- , verlängerte, *prolonged interphase* 526ff., 547ff.
- Interphasen-Kern, *interphase nucleus* 490
- Interphasentod, *interphase death* 372
- Intervalle, bestrahlungsfreie, *irradiation-free intervals* 276, 293
- intestinaler Strahlentod, *intestinal radiation death* 299
- Invertase 214
- Ionenausbeute, „*ionic yield*“ 19, 20, 43

- Ionenbindung, elektrovalente, *electrovalent ion bond* 111  
 —, heteropolare, *heteropolar ion bond* 111  
 Ionenchemie, *ion chemistry* 74  
 Ionendichte, Einfluß auf chemische Veränderungen, *influence of ion density on chemical changes* 226  
 — und Mutation, *ion density effects in mutation* 540ff.  
 Ionendosis, *ion dose* 43  
 Ionen-Molekularreaktion, *ion-molecular reaction* 139  
 Ionen-Radikalreaktion, *ion-radical reaction* 139  
 Ionisation, *ionization* 2  
 Ionisationsdichte, *ionization density* 6, 21  
 I. Q. von Kindern, *I.Q. of children* 582  
 irreversible Strahlungswirkung, *irreversible radiation effect* 281ff., 321  
 Ischämie, *ischaemia* 356  
 Isobutan, *isobutane* 124ff.  
 Isobuten, *isobutene* 127  
 Isochromatid-Aberrationen, *isochromatid aberrations* 542  
 Isochromatid-Auslöschung, *isochromatid deletion* 558  
 Isochromatid-Brüche, *isochromatid breaks* 534ff.  
 isoelektrischer Punkt, *isoelectric point* 216  
 Isoleucin, *isoleucine* 54  
 Isopropylbenzol, *isopropyl benzene* 141  
 (Isopropylnoradrenalin)-Hydrochlorid, *(isopropylnoradrenaline)-hydrochloride* 398  
 Isoproterenol 398  
 Isotopennachweisverfahren, *isotope proof methods* 79, 80  
 Isotopieeffekte des Wasserstoffs, *isotopic effects of hydrogen* 76  
 Isozitroneinsäure-Dehydrogenase, *isocitric dehydrogenase* 217  
  
**Jensen-Sarkom der Ratte, *Jensen rat sarcoma*** 357, 397, 416  
 Jod, *iodine* 29, 142ff.  
 Jodabspaltung, *splitting-off of iodine* 145  
 Jodoacetat, *iodo-acetate* 33  
 Jodoform 144  
 Jodtyrosin, *iodotyrosine* 51  
 Jodurazol, *iodouracil* 448  
  
**Kälberthymus-Desoxyribonucleohiston, *calf-thymus desoxyribonucleohistone*** 441  
**Kälberthymuskern, *calf-thymus nuclei*** 376, 447  
 Kälte, mutagener Effekt, *mutagenic effect of cold* 571  
 Kalium, *potassium* 371ff.  
 Kaliumverlust, *potassium loss* 372  
 Kaninchenaugenlinse, *lens of rabbit eye* 254  
 Kaninchendarm, *intestine of rabbit* 287, 288  
 Kaninchenserum, antinatives, *antinative rabbit serum* 215, 216, 228  
 Katalase, *catalase* 216, 220, 222ff., 433ff.  
 —, intra-nukleare, *intranuclear catalase* 390ff.  
 —, nukleare, *nuclear catalase* 390, 391  
 Katalasehemmer, *catalase inhibitors* 565  
 Katarakt, congenitale, *congenital cataract* 601  
 Kataraktbildung nach Bestrahlung, *cataract formation after irradiation* 217, 312ff., 360  
 Kathepsin, *cathepsin* 387  
 Kathepsin-Aktivierung, *cathepsin activation* 216  
 Katzenpfote, *cat's paw* 403  
 Kaulquappe, *tadpole* 586  
 Keimdrüsen, *germinative glands* 254, 255, 300ff.  
 Keimgewebe, *germinative tissue* 300ff.  
 „Kennzeit“, *time characteristic* 287  
 Kernalbumin, *nuclear albumin* 382  
 Kern-ATP, *nuclear ATP* 371ff.  
 Kerneweißsynthese, *nuclear protein synthesis* 379ff., 433  
 Kernenergie-Unfälle, *nuclear energy accidents* 308, 397, 597  
 Kernglobulin, *nuclear globulin* 382  
 Kernmembran, *nuclear membrane* 402, 408, 490  
 Kernphosphorylierung, *nuclear phosphorylation* 371, 372  
 Ketone, *ketones* 147  
 Kettenreaktion, *chain reaction* 113ff.  
 Kinasen, *kinases* 424ff.  
 Kinder bestrahlter Eltern, *children born to irradiated parents* 595ff.  
 — aus Hiroshima und Nagasaki, *children born in Hiroshima and Nagasaki* 595ff., 610  
 Kinetik der Strahlenwirkung, *kinetics of radiation effect* 278ff.  
 kleine Chromosomen, *small chromosomes* 544  
 Kleinfelter-Syndrom, *Kleinfelter's syndrome* 604  
 Kleinhirn, *cerebellum* 304  
 klinische Anwendung von Sauerstoff in der Strahlentherapie, *clinical application of oxygenation in radiotherapy* 31ff.  
 Knäuelbildung, *coiling* 184  
 Knochenmark, *bone marrow* 296ff., 307, 318, 365, 369, 371, 380, 417, 420  
 Knochentumoren, menschliche, *human bone tumours* 589ff.  
 Knochenwachstum, *growth of bone* 310, 313  
 Körperzellen, *somatic cells* 586ff.  
 Kohlendioxyd, *carbon dioxide* 399, 560  
 Kohlenmonoxyd, *carbon monoxide* 96, 560  
 Kohlenstoffatom, Bindungsverhältnisse, *linkability of carbon atom* 117  
 Kohlenstoffoxyde, *carbon oxides* 121ff.  
 Kohlenstoffverbindungen, einfachste, *simplest carbon compounds* 121ff.  
 Kohlenwasserstoffe, bromierte, *bromated hydrocarbons* 144, 145  
 —, gesättigte, *saturated hydrocarbons* 133ff., 153ff.  
 —, ungesättigte, *unsaturated hydrocarbons* 133ff., 153ff.  
 —, zyklische, *cyclic hydrocarbons* 139ff.  
 kolloidale Graphitteilchen, *colloidal graphite particles* 406  
 kolloidales Gold, *colloidal gold* 406  
 Kolloide, *colloids* 406, 407  
 Kompensationen, *compensations* 304, 309  
 Komplexbildung mit DNS, *complex formation with DNA* 435  
 Konduktometrie, *conductivity measurement* 50, 51  
 „Konfluenzdosis“, „confluent dose“ 276ff.

- konjugierte Enzyme, *conjugated enzymes* 227, 228  
 „konstitutionelle“ Krankheiten, „*constitutional disorders*“ 605ff.  
 Kontaktbestrahlung, *contact irradiation* 327, 337  
 Konzentrationseffekt, *concentration effect* 248, 252  
 „Konzentrationsgift“, „*concentration poison*“ 274  
 „Kopier-Irrtums-Theorie“, *copy error theory* 508ff.  
 Koppelung, *coupling* 117  
 Koppelungsenergien, *coupling energies* 117  
 Krebszellkern, *nucleus of cancer cell* 435  
 kristalline Enzyme, *crystalline enzymes* 216  
 künstliche Modifizierung des Strahleneffekts, *artificial modification of radiation effects* 556ff.  
 Kugeldosimeter, *sphere dosimeter* 81  
 Kumulationsfunktion, *accumulation function* 284, 285  
 kumulative Dosen, *accumulative doses* 330  
 — Wirkung, *accumulative action* 5, 330  
 „Kurzzeitbestrahlung“, „*short-time irradiation*“ 323  
 „Kurzzeitdosis“, „*short time dose*“ 273  
 kurzzeitig fraktionierte Bestrahlung, *short-time fractionated irradiation* 323ff.  
 Kynurenin, *kynurenine* 395  
 Kynureninase 395  
 Kynuren-Säure, *kynurenic acid* 395, 400  
  
 Labilisierung von Desoxyribonucleoproteinen, *labilization of deoxyribonucleoproteins* 381ff.  
 Ladungsneutralisation, *charge neutralisation* 2  
 Ladungsträger mit endlicher Lebensdauer, *charge carriers with determinate life time* 74  
 Ladungstransport, *charge transport* 133, 142  
 Ladungsübertragung, *charge transfer* 105  
 Laktatdehydrogenase, *lactate dehydrogenase* 390  
 Landschutz-Aszites-Tumorzellen, *Landschutz-ascites tumour cells* 423, 424  
 Langzeitaufnahmen, *time-lapse photographs* 379  
 Langzeitbestrahlung, *long-time irradiation* 323ff.  
 „Langzeitdosis“, „*long time dose*“ 273  
 langfristig fraktionierte Bestrahlung, *long-time fractionated irradiation* 323ff.  
 Larynxcarcinom, *carcinoma of the larynx* 32, 333ff.  
 latente Strahlenschäden, *latent radiolesions* 360, 528  
 Latenzperiode, *latent period* 287, 301, 305, 308, 313, 382, 385, 405  
 Laurence-Moon-Biedl-Syndrom, *Laurence-Moon-Biedl syndrome* 603  
 LD<sub>50</sub> 305ff.  
 —, akute, *acute LD<sub>50</sub>* 314  
 LD<sub>50-10</sub> 255  
 LD<sub>50-30</sub> 256, 393  
 Lebensspanne, vererbliche Effekte, *heritable effects to life-span* 593, 594, 615  
 Lebensstatistiken, *vital statistics* 616  
 Lebensunterlagen, *vital records* 616  
  
 Lebensverkürzung, *shortening of life span* 297, 312ff.  
 Leber, *liver* 360, 371, 387ff., 401, 422ff.  
 Leitfähigkeit, *conductivity* 51  
 Leitfähigkeitsbänder, *conductivity bands* 111  
 Leitfähigkeitsmessung, *conductivity measurement* 74  
 Leptoten-Stadium, *leptotene stage* 494  
 LET 84ff., 211, 238ff., 318, 333, 540ff.  
 Letalchromosom, *lethal chromosome* 12, 574ff.  
 Letaldominante, *dominant lethal* 411, 574ff., 590  
 Letaldosis, *lethal dose* 255ff.  
 Letaleffekte bei höheren Organismen, *lethal effects in higher organisms* 255ff., 361  
 —, Photo-Umkehrung, *photoreversal of lethal effects* 567ff.  
 Letal-Equivalent, *lethal equivalent* 613ff.  
 Letalfaktoren, *lethal factors* 249ff.  
 Letalität, *lethality* 21  
 — total bestrahlter Tiere, *lethality of totally irradiated animals* 298  
 Letalmechanismus, *mechanism of death* 297  
 Letalmutanten, autosomale, *autosomal lethals* 596  
 —, rezessive, *recessive lethals* 529ff., 577ff.  
 Leuchtbakterien, *photosynthetic bacteria* 283, 433  
 Leucin, *leucine* 436  
 LEÜ s. LET  
 Leukämie, *leukemia* 312ff., 398ff., 587ff.  
 —, lymphocytäre, *lymphocytic leukemia* 365  
 Leukämierate bei Atombombenopfern, *incidence of leukemia in atomic bomb survivors* 588  
 — nach Bestrahlung, *frequency of leukemia following exposure to ionizing radiation* 535, 588, 610  
 — nach Fetalbestrahlung, *incidence of leukemia after foetal irradiation* 589  
 — von Patienten nach Behandlung mit Röntgenstrahlen wegen M. Bechterew, *incidence of leukemia in patients treated with Roentgen rays for ankylosing spondylitis* 588  
 leukämogene Wirkung, *leukemogenic effect* 312, 313, 587ff.  
 Leukocyten, *leukocytes* 297ff., 356, 367ff.  
 —, Anstieg des organischen säurelöslichen Phosphorgehalts, *increase in the organic acid-soluble phosphorus content of leucocytes* 439  
 Lieberkühnsche Krypten, *crypts of Lieberkühn* 299, 361  
 Lilium 489, 544  
 Linearbeschleuniger, *linear accelerator* 359  
 — Reaktion, *linear response* 529ff., 592  
 linearer Energietransfer, *linear energy transfer* 84ff., 211, 238ff., 318, 333, 540ff.  
 Lipide, *lipids* 439  
 L-Mäusestamm-Fibroblasten, *strain L mouse fibroblasts* 411  
 locker ionisierende Strahlung, *loosely ionizing radiation* 275, 295, 314  
 Löslichkeit von Eiweiß, Verlust, *loss of solubility of protein* 215  
 „Lösungseffekt“, „*dilution effect*“ 14ff.

- L-P 59 Mäusestamm, Zellkultur, *L-P 59 strain mouse cells in culture* 411
- L-Serin, *L-serine* 18
- Luft/N<sub>2</sub>-Verhältnis, *Air/N<sub>2</sub> ratio* 558ff.
- Luftsauerstoff in bestrahlten Lösungen, *oxygen of air in irradiated solutions* 85, 86
- Lunge, *lungs* 303
- Lungencarcinom, *carcinoma of the lungs* 340
- Lungenfibrose, *fibrosis of the lungs* 263
- Luzula purpurea 548ff.
- 1-<sup>14</sup>C-Glycin, *1-<sup>14</sup>C-glycine* 433
- 1-<sup>14</sup>C-Ribose, *1-<sup>14</sup>C-ribose* 429
- lymphatisches System, *lymphatic system* 296ff.
- Lymphocyten, *lymphocytes* 356, 360ff., 418, 528, 529
- Lymphom der Maus, *lymphoma of mouse* 312, 319, 374
- Lymphosarkom, *lymphosarcoma* 372, 427
- L<sub>1</sub>, *lymphosarcoma L<sub>1</sub>* 31
- lysogene Bakterien, *lysogenic bacteria* 532ff.
- „Linkage“ 495ff.
- Lysin-Decarboxylase, *lysine decarboxylase* 432
- Lysozym, *lysozyme* 202
- L-Zellen, *L-cells* 434
- Mäuse-Aszites-Tumor, *mouse ascites-tumour* 22ff., 363, 417ff., 427ff.
- Magendarmkanal, *gastro-intestinal tract* 303
- Magnesium-Ion, *magnesium ion* 383, 423, 443
- Magnesiummangel, *magnesium deficiency* 571
- magnetische Zentren, *long-lived magnetic centers* 31, 407
- Maissamen, *maize seeds* 408, 502, 509, 560
- Makromoleküle, Einfluß äußerer Faktoren auf die Strahlenwirkung in, *influence of external factors on radiation effects in macromolecules* 185ff.
- , verschiedene Arten der strahleninduzierten Veränderungen, *different types of radiation damages produced in macromolecules* 184ff.
- als Sitz initialer chemischer Veränderungen, *macromolecules as the site for initial chemical lesion* 183ff., 384
- „Makromolekulare Schädigung“, „*macromolecular lesion*“ 367, 384ff., 431, 434, 448, 449
- Makronukleus, *macronucleus* 545
- Maleinhydrazid, *maleic hydrazine* 569
- maligne Tumoren, *malignant tumours* 313, 322ff., 362, 380, 429, 436
- Zellen, *malignant cells* 412, 414
- Maltose 168
- Mammacarcinom, *mammary carcinoma* 31, 334, 339, 340
- der Maus, *mammary carcinoma of mouse* 320, 411
- Manganchlorid, *manganous chloride* 571
- Mannit, *mannitol* 370
- manisch-depressive Psychosen, *manic-depressive psychoses* 605
- Manometrie, *manometry* 48
- Massenbremsvermögen, *mass stopping power* 45
- Massenschwächungskoeffizienten, *mass attenuation coefficients* 46
- Massenspektrometrie, *mass spectrometry* 55ff., 107, 121ff.
- Massenstreuokoeffizienten, *mass scatter coefficients* 46
- Mastzellen, *mast cells* 406
- Matrix des Bindegewebes, *matrix of connective tissues* 385, 386
- Mausergewebe 283, 296ff.
- mechanische Beanspruchung von Chromosomen während der Bestrahlung, *mechanical stresses on chromosomes during irradiation* 565
- Megacolon 602
- Mehrbereichskurven, *multirange curves* 280
- Mehrfachbindungen, *multiple bonds* 63
- Mehrtrefferkurven, *multi-target curves* 280
- Mehrtreffervorgänge, *multiple hit processes* 278, 529ff.
- Meiosis 493ff.
- Melanin 185
- Melanoblastom, *melanoblastoma* 319
- Melanophoren, *melanophores* 395
- Melanoplus 571
- Menadiol 370
- Menadion, *menadione* 370
- menschliche Knochenmark-Kultur, *human bone marrow in culture* 410, 417
- Normalzellen, *normal human cells* 365
- Populationen, strahlengenetische Untersuchungen, *surveys of human populations for studies of radiation genetics* 595ff.
- menschlicher Nachwuchs bestrahlter Eltern, *human offspring from irradiated parents* 595ff.
- Meristem der Bohnenwurzel, *bean root meristem* 373, 410, 419
- Merkaptane, *mercaptans* 149
- Merkaptoäthanol, *mercaptoethanol* 448
- Mesoxalsäure, *mesoxalic acid* 159, 160
- Messenger-RNS, *messenger RNA* 363, 376ff., 425, 432, 435ff.
- „metabolische DNS“, „*metabolic DNA*“ 419, 420
- Metaphase 291, 489ff., 516ff.
- Methämoglobin, *methemoglobin* 390ff.
- Methan, *methane* 122, 134ff., 153
- Methanol 55, 146, 153, 157, 158
- Methionin-<sup>35</sup>S, *methionine-<sup>35</sup>S* 394
- Methotrexat, *methotrexate* 365
- Methylalkohol, *methyl alcohol* 146
- Methylbutan, *methyl butane* 129ff.
- Methylcyclohexan, *methyl cyclohexane* 139ff.
- Methylenblau, *methylene blue* 50, 165ff., 223
- Methylgrün-Färbung, *methyl-green staining* 438
- Methylhexan, *methyl hexane* 129
- Methylmalonsäure-Semialdehyd, *methylmalonic acid semialdehyde* 399
- Methylpentan, *methyl pentane* 129ff.
- metionische Reaktion, *metionie reaction* 28
- Michaeliskonstante, Änderung, *change of Michaelis constant* 228
- Micrococcus radiodurans 366
- Microphthalmos 603
- „Migrationsvolumen“, *migration volume* 262
- Mikrointerferometrie, Abtast-, *scanning microinterferometry* 436
- „Mikronekrosen“, „*micronecroses*“ 380
- Mikronukleus, *micronucleus* 545

- Mikrophotometrie, *microphotometry* 436  
 Mikrosomen, *microsomes* 376  
 mikrosomenähnliche Partikel im Nucleus, *microsome-like particles in the nucleus* 390  
 Mikrostrahlbestrahlung des Nucleolus, *microbeam irradiation of nucleolus* 437, 509  
 Mikrostrahl-Experimente, *microbeam experiments* 543  
 Mikrowellenspektroskopie, *microwave spectroscopy* 29ff., 52ff., 247  
 Milbe, *mite* 548  
 Milchsäure, *lactic acid* 161, 395, 439  
 Milchsäure-Dehydrogenase, *lactic dehydrogenase* 217, 429  
 Milz, *spleen* 254, 255, 297, 361, 362, 369, 371ff., 402, 415, 445  
 — bei myeloischer Leukämie, *myeloid leukaemia spleen* 371, 372  
 Mimosa pudica 289  
 Mimose, *mimosa* 289  
 Mindestexpositionszeit, *minimum exposure time* 287  
 Mißbildungen, *malformations* 309ff., 594ff.  
 mitochondriale Phosphorylierung, *mitochondrial phosphorylation* 368ff.  
 Mitochondrien, *mitochondriae* 368ff., 401ff., 429, 525  
 —, isolierte, *isolated mitochondria* 370  
 Mitose, abnorme, *abnormal mitosis* 586  
 Mitosehemmung, *mitotic inhibition* 290ff., 359, 367, 394, 412, 422, 431ff.  
 —, sekundäre Veränderungen, *secondary changes to mitotic inhibition* 432  
 Mitosemaximum, *maximum of mitosis* 319  
 mitose-stimulierende Aktivität des Serums, *mitosis-stimulating activity of serum* 441  
 Mitosestörungen, *disturbances of mitosis* 290  
 Mitosezyklus, *mitotic cycle* 373, 547ff.  
 mitotischer Index, *mitotic index* 297  
 „mittlere Dosisleistung“, *medium dose rate* 273, 276, 314, 332  
 — —, optimale, *optimal medium dose rate* 312  
 „mittlere Schmelztemperatur“, „*mean melt temperature*“ 447  
 — Überlebenszeit, *medium survival time* 305ff.  
 „mittleres Anregungspotential“, *mean excitation potential* 46  
 — Zellvolumen, *mean cell volume* 409  
 MnCl<sub>2</sub> 571  
 modifizierende Faktoren, *modifying agents* 565ff.  
 Molekülbindung, Modelldarstellung, *model of molecular bond* 111ff.  
 —, organische, *organic molecular bond* 110ff.  
 Molekularanregung, *molecular stimulation* 68  
 molekulare celluläre Umsätze, *molecular cellular metabolism* 282  
 Molekulargewicht, Abfall, *decrease in molecular weight* 446  
 —, Verteilung, *molecular weight distribution* 447  
 Molekularorbital, *molecular orbital* 116ff.  
 Molekularproduktausbeute, *molecular yield* 102ff.  
 Molekularprodukte, *molecular products* 73, 102ff.  
 Mongolismus, *Mongolian idiocy* 603ff.  
 Monocetylphosphat, *monocetylphosphate* 406  
 M. Hodgkin 338, 389, 398  
 Mormoniella 536, 540, 543  
 morphologische Koloniemutationen, *colony morphology mutations* 537, 548, 571  
 Mucopolysaccharide, *mucopolysaccharides* 385, 402, 408  
 Mungbohnenkeimling, *mung bean seedling* 388  
 Muscheln, *mussels* 286  
 Muskel, gestreifter, *striated muscle* 405  
 Muskelkontraktur, *contraction of muscle* 288  
 mutagene Aktivität von chemischen Carcinogenen, *mutagenic activity of chemical carcinogens* 572, 573  
 — Wirkung von 31 MeV Photonen, *mutagenic effect of 31 MeV photons* 250  
 — — von Neutronen, *mutagenic effect of neutrons* 250  
 — —, Photo-Umkehrung, *photoreversal of mutagenic effect* 567ff.  
 mutagener Effekt von Röntgenstrahlen, Umkehr, *reversal of Roentgen ray induced mutagenic effects* 563ff.  
 Mutagenität, *mutagenicity* 572ff.  
 Mutation, *mutation* 249ff., 499ff.  
 —, Bestimmung der „Länge“, *determination of "length" of mutation* 506  
 —, chemisch-induzierte, *chemically induced mutation* 511  
 —, deletäre, *deleterious mutation* 577ff.  
 — zu erhöhter Strahlenresistenz, *mutations to radioresistance* 550ff.  
 —, irreversible, *irreversible mutation* 502ff.  
 —, reversible, *reversible mutation* 502ff., 593  
 —, rezessive, *recessive mutation* 591ff.  
 —, rezessiv-letale, *recessive-lethal mutation* 316, 499, 577ff.  
 — oder Selektion, *mutation versus selection* 607ff.  
 — zu Streptomycin-Unabhängigkeit, *mutation to streptomycin independence* 560  
 —, Verdoppelungsdosis, *mutation, rate doubling dose* 579ff.  
 —, Vergleich induzierter mit natürlichen, *induced mutation as compared with natural* 583, 584  
 —, Vorteile-Nachteile, *mutation, benefit versus detriment* 583  
 — zu Wachstumsfaktor-Unabhängigkeit, *mutation to growth factor independence* 560  
 Mutationen an bestimmten Orten in Mäusespermatogonien bei chronischer bzw. akuter Bestrahlung, *mutations at specific loci in mouse spermatogonia by chronic and acute irradiation* 539, 591ff.  
 — mit geringer Wirkung, *mutations with slight effect* 578  
 —, geschlechtsgebundene, *sex linked mutations* 579ff.  
 — somatischer Zellen, *mutations of somatic cells* 594, 599  
 Mutationsanzahl und Dosis, lineares Verhältnis, *linear relationship between numbers of mutations and dose* 530ff.  
 Mutationsrate, *rate of mutation* 315ff., 579ff.  
 —, induzierte, bei Mäusen, *induced mutation rate in mice* 591ff.

- Mutationsrate, natürliche, *natural mutation rate* 580, 610
- Mutationsursprung strahlenresistenter Klone von *E. coli*, *mutational origin of radiation resistant clones of E. coli* 552
- mutiertes Gen, Natur, *nature of mutated gene* 500
- Muton 501
- Mycosis fungoides 338
- myeloische Leukämie, *myeloic leukemia* 312
- Myleran 569
- Myopie, *myopia* 603
- Myosin 216
- Myxosarkom, *myxosarcoma* 32
- $N_2$  558 ff.
- $^{15}N$ -Glycin,  $^{15}N$ -glycine 436
- $NH_3$ -Bildung,  *$NH_3$  formation* 54
- NO 22 ff.
- „Nachwirkungen“, „after effects“ 229, 384, 446, 448
- NAD (DPN) 368 ff., 428 ff.
- (TPN) 429
- NADase 429 ff.
- NADH<sub>2</sub> 429, 431
- (DPNH) 370, 401, 430
- , phosphoryliertes Derivat von, *phosphorylated derivative of NADH<sub>2</sub>* 431
- NAD-Kinase, *NAD kinase* 429 ff.
- NADPH<sub>2</sub> (TPNH) 370
- NAD-Pyrophosphorylase, *NAD pyrophosphorylase* 425, 429, 431
- Nagasaki-Nachkommen, *Nagasaki offspring* 597, 610
- Nagerleukämie, *murine leukemia* 366
- Nahrungsmangel, *starvation* 566
- Narbenplatten nach Elektronenbestrahlung, *cicatricial plates after electron irradiation* 263
- Natrium, *sodium* 372
- $Na_2S_2O_3$  386
- Natriumacetat, *sodium acetate* 187
- Natrium-[1- $^{14}C$ ]-Pyruvat, *sodium-[1- $^{14}C$ ]-pyruvate* 399
- Natrium-[3- $^{14}C$ ]-Pyruvat, *sodium-[3- $^{14}C$ ]-pyruvate* 399
- Natriumcyanid, *sodium cyanide* 187, 565
- Natriumformiat, *sodium formate* 19, 187
- Natriumhyposulfat, *sodium hyposulphate* 565
- Natriumoxalat, *sodium oxalate* 19
- Natriumpropionat, *sodium propionate* 187
- Natriumpropylat, *sodium propylate* 187
- Natriumthiosulfat, *sodium thiosulphate* 386
- Natriumverlust, *sodium loss* 372
- Natriumxylylsulfonat, *sodium xylene sulphonate* 444
- Natriumzitrat, *sodium citrate* 427
- natürliche Mutationsrate, Mensch, *natural mutation rates in man* 610
- Strahlenschutzstoffe, *natural radio-protecting substances* 396
- Strahlung, *natural background radiation* 588
- Nebelkammer, *cloud chamber* 2, 3, 8
- Nebennieren, *adrenal glands* 389, 394, 395, 404
- Nebularine 569
- Nephrosklerose, *nephrosclerosis* 314
- Nerven-Muskel-Präparate, *nerve-muscle preparations* 405
- Nervensystem, *nervous system* 302 ff., 408
- Nervenzellen, *nerve cells* 289
- Neugeborenen-Tod, *neonatal death* 595, 514
- Neuroblasten, embryonale, *embryonic neuroblasts* 291, 361, 386, 431, 574
- Neurofibromatosis 602
- Neurospora crassa 504 ff., 526 ff., 572 ff.
- Neutronen, *neutrons* 21, 48, 295, 304, 314, 315, 367, 419 ff., 540 ff.
- , thermische, *thermal neutrons* 238, 366
- nicht-chromosomale Gene, *non-chromosomal genes* 492 ff., 525 ff.
- Nicht-Histon-Proteine, *non-histone proteins* 382
- Nichtleiter, *nonconductor* 247
- nicht-lineare Reaktion, *non-linear response* 536 ff.
- Nicht-Protein-Sulphydrylspiegel, *non-protein sulphydryl level* 363
- Nicht-SH-Gruppen im Eiweißmolekül, *non-SH groups in protein molecule* 219
- Nicotinamid, *nicotinamide* 429 ff.
- Mononukleotid, *nicotinamide mononucleotide* 429
- Nicotinsäure, *nicotinic acid* 431
- Niederfrequenz-Wechselstromleitfähigkeit, Abnahme, *decrease in low frequency alternating-current conductivity* 386
- Niere, *kidney* 401, 402, 419
- Nierenzellen, Säuger-, *mammalian kidney cells* 419, 444
- Nitella 289
- Nitrobenzol, *nitrobenzene* 154
- n-Oktadecylamin, *n-octadecylamine* 406
- Noradrenalin, *noradrenaline* 396
- Norleucin, *nor-leucine* 53 ff.
- Norvalin, *nor-valine* 53 ff.
- n-RNS, *n-RNA* 376 ff., 441
- Nucleolus 402, 408, 428, 432, 435 ff.
- nukleare Phosphorylierung, Hemmung, *inhibition of nuclear phosphorylation* 418
- Nukleinsäuren, *nucleic acids* 31, 203 ff., 372 ff., 407
- Nukleinsäurestoffwechsel, *nucleic acid metabolism* 372 ff.
- Nukleohistone, *nucleohistones* 363, 444
- Nukleolide, *nucleolides* 513
- Nukleoproteine, *nucleoproteins* 203 ff., 380 ff., 408 ff.
- , starre, *rigidity of nucleoproteins* 209
- , zelluläre, *cellular nucleoproteins* 206
- Nukleoproteinkomplex, künstlicher, *artificial nucleoprotein complex* 355, 446, 447
- Nukleoprotein-Makromolekül, Aufbau stadium, *stage of assembly of the nucleoprotein macromolecule* 432
- Nukleoside, *nucleosides* 440
- Nukleosid-Phosphorylierung, *nucleoside phosphorylation* 418
- Nukleosid-Triphosphat, *nucleoside triphosphate* 435
- Nukleotide, *nucleotides* 440
- Nystagmus 602

- O.A.S.P.** 367, 368  
 Oberflächendenaturierung, *surface denaturation* 222  
 Oberflächen-Enzymfilme, *surface films of enzymes* 221  
 Ödem, temporäres, *temporary edema* 386  
 Oenothera 581  
 Oesophaguskarzinom, *carcinoma of oesophagus* 32  
 OH-Radikale, *OH radicals* 13, 223ff., 243ff., 557  
 Ohranomalien, *ear anomalies* 601  
 Oktane, *octanes* 129ff.  
 Omegatronmassenspektrometer, *omegatron mass spectrometer* 122  
 Oocyten, *oocytes* 590ff.  
 optische Drehmessungen, *optical rotation measurements* 216  
 Orbital 116ff.  
 Organgewichte, *weights of organs* 307  
 organische Halogenverbindungen, *organic halogene compounds* 142ff.  
 — Lösungen, *organic solutions* 150  
 — Phosphate, *organic phosphates* 367ff.  
 — Synthesen, *organic syntheses* 170, 171  
 organischer säurelöslicher Phosphorgehalt von Leukozyten und Erythrocyten, *organic acid-soluble phosphorus content of leukocytes and erythrocytes* 367, 368  
 Organogenese, *organogenesis* 309  
 Orotsäure, *orotic acid* 415  
 Orthochinone, *orthoquinones* 440  
 Osgood-Leukämie, *Osgood leukaemia* 364  
 Osteitis deformans 602  
 Osteosarkom, *osteosarcoma* 319  
 osteotrope Nuclide, *osteotropic nuclides* 313  
 Ovar, *ovary* 301, 302  
 —, Maus, *mouse ovary* 402  
 Oxalsäure, *oxalic acid* 159ff.  
 Oxydation von Eisensulfatlösung, *oxidation of ferrous sulphate solution* 15  
 oxydative Inaktivierung von Enzymen, *oxidative inactivation of enzymes* 223ff.  
 — Phosphorylierung, *oxidative phosphorylation* 368ff.  
 Oxygen 24  
 Oxyhaemoglobin 392  
  
<sup>32</sup>P 357ff., 367, 372ff., 400, 409ff., 429  
 Paarreaktion, *coupled reaction* 230  
 Pachyten-Stadium, *pachytene stage* 494, 498  
 Pankreas, *pancreas* 371  
 Papain 225  
 —Aktivierung, *papain activation* 216  
 Para-Aminobenzolsäure, *para-aminobenzoic acid* 501  
 Paraffine, *paraffins* 134ff., 170, 188  
 —, gasförmige, *gaseous paraffins* 134ff.  
 —, höhere, *higher paraffins* 135ff.  
 paramagnetische Resonanz, *paramagnetic resonance* 10, 51ff., 77  
 — Resonanzabsorption, *paramagnetic absorption of resonance* 51ff.  
 — Zentren, *paramagnetic centers* 51f., 247, 407  
 Paramecia aurelia 316  
 Paramecium 316, 525ff., 544ff.  
 Paulingsche Formel, *Pauling's formula* 120  
 Pausendauer, *length of interval* 290  
 Pediculoides 548  
 Pediculopsis 548  
 Pentan, *pentane* 135ff.  
 Pepsin 214ff.  
 Pepsinogen 215  
 Peptid-Glied, *peptide link* 219  
 periphere Nerven, *peripheral nerves* 302, 405  
 Permeabilitätsstörungen, *disturbances of permeability* 274, 386  
 Peroxyradikale, organische, *peroxide organic radicals* 24  
 Pferdebohne, *broad bean* 21ff., 251, 252, 257, 291, 356, 366, 373, 375, 410, 412, 414, 419  
 Pflanzensamen, *plant seeds* 271  
 Pflanzenzellen, *plant cells* 289  
 pH, Einfluß, *influence of pH* 197, 221  
 pH-Messung, *pH measuring* 50, 51, 221  
 Phaenotypus, *phenotype* 492  
 Phagenmutation, *mutation of phage* 249  
 Phagenresistenz, *phage resistance* 512ff.  
 Pharynxcarzinom, *carcinoma of pharynx* 32, 333, 337ff.  
 Pharynxtumoren, *tumours of the pharynx* 333, 337  
 Phaseneffekt, *phase effect* 27, 28  
 Phenazinmethosulfat, *phenazine methosulphate* 370  
 Phenolgruppen in Pepsin und Pepsinogen, *phenol groups in pepsin and pepsinogen* 215  
 Phenolrot, *phenol red* 167  
 Phenoltrichloressigsäure, *phenoltrichloroacetic acid* 381  
 Phenylalanin, *phenylalanine* 376, 398, 436  
 Phenylketonurie, *phenylketonuria* 574, 603, 610  
 Phokomelie, *phocomelia* 602  
 Phosgen, *phosgene* 144, 156  
 —, elektrisches, *electric phosgene* 404  
 Phosphate, labile, *labile phosphates* 371  
 Phosphoglyzeraldehyddehydrogenase, *phosphoglyceraldehyde dehydrogenase* 216ff.  
 Phosphorylierung, *phosphorylation* 368ff., 418  
 —, oxydative, Entkopplung, *uncoupling of oxidative phosphorylation* 440  
 photometrische Messungen, *photometric measurements* 79  
 Photoreceptor 288  
 Photo-Umkehrung, *photo reversal* 509ff., 566ff.  
 Phycomyces Blakesleeanus 368, 395  
 Physarum polycephalum 427  
 physikalisch-chemische Eigenschaften von Proteinen, *physico-chemical properties of proteins* 200  
 „physikalischer Zeitfaktor“, *physical time factor* 272, 275  
 physiologische, strahleninduzierte Kinetik, *physiological radiation-induced kinetics* 273  
 Physostigmin, *physostigmine* 396  
 $\pi$ -Bindung,  *$\pi$ -bond* 118ff.  
 Pigmentierung, *pigmentation* 332  
 Pilzwachstum, *growth of fungi* 289  
 Pisum sativum 251, 540

- Plasmaeisenkonzentration, *plasma iron concentration* 393, 394  
 Plasmaeisenumsatz, *plasma iron turnover* 393  
 Plasmagen, *plasmagene* 492  
 Plasma-Peptidase, *plasma peptidase* 389  
 Plasmocid 398  
 Plattenepithelcarcinom, *squamous cell carcinoma* 326, 334, 338ff.  
 Pneumococcus 513, 559  
 p-Nitrophenol, *p-nitrophenol* 29  
 p-Nitroso- $\alpha$ -naphthol 29  
 Polarographie, *polarography* 363  
 Polaron 14, 243  
 Pollenmutterzelle, *pollen mother cells* 494ff.  
 Pollenschlauchteilung, *pollen tube division* 542  
 Polyacrylsäure, *polyacrylic acid* 194  
 Polyadenylsäure, *polyadenylic acid* 446  
 Polyäthylen, *polyethylene* 186, 193ff.  
 polycythaemische Mäuse, *polycythaemic mice* 394  
 Polydaktylie, *polydactyly* 602  
 Polygen, *polygene* 581  
 Polyisobutylen, *polyisobutylene* 28, 190ff.  
 Polymer 28ff.  
 „Polymerisat“, „*polymerism*“ 133, 138ff., 152, 164, 185ff.  
 Polymethylacrylat, *polymethylacrylate* 186ff.  
 Polymethylmetacrylat, *polymethylmetacrylate* 28, 192ff.  
 Polymorphismus, ausgeglichener, *balanced polymorphism* 608  
 Polynukleotid-Fraktion, *polynucleotide fraction* 444  
 Polypeptid, *polypeptide* 397  
 Polyploidie, *polyploidy* 362, 363, 523, 544ff.  
 Polypodium aureum 525  
 Polysaccharide, *polysaccharides* 210, 385, 402  
 Polysom, *polysome* 435  
 Polystyren, *polystyrene* 193, 194  
 Polythen, *polythene* 193  
 Polyuridylsäure, *polyuridylic acid* 446  
 Polyvinylchlorid, *polyvinyl chloride* 432  
 Polyvinylpyrrolidon, *polyvinyl pyrrolidone* 29, 191ff.  
 Populationen, *populations* 573ff., 584ff.  
 Porphyrie, *porphyria* 603  
 Portulaca 509  
 Positionseffekt, *position effect* 506  
 prämitotische Bestrahlung, *premitotic irradiation* 586  
 — Nicht-Synthesephase, *premitotic non-synthetic phase* 411ff.  
 präoperative Tumorbestrahlung, *preoperative irradiation of tumour* 322  
 Prä-Prophase, *preprophase* 412, 432  
 Prä-Prophasenhemmung, *pre-prophase inhibition* 360, 431  
 P/O-Verhältnis, *P/O ratio* 369  
 „Positionseffekt-Rearrangements“, „*position effect rearrangements*“ 500  
 postmitotische Bestrahlung, *post-mitotic irradiation* 586  
 — Phase, *postmitotic phase* 411  
 Potentialänderung, *alteration of potential* 303  
 potenzierende Strahlenwirkung, *potentiating radiation effect* 230  
 Präsynthese-Stadium, *presynthetic stage* 426  
 Präzipitation, *precipitation* 215  
 primäre physikalische Schritte, *primary physical steps* 2ff.  
 — Radikalausbeuten, *primary radical yields* 101  
 primärer Bruch, *primary breakage* 22  
 „— Zeitfaktor“, „*primary time factor*“ 276, 285, 297, 306  
 „Primärisationen“, *primary ionizations* 239  
 Primärprodukte, ionisierte, in wäßrigen Systemen, *primary products, ionized, in hydrous systems* 107  
 —, ungeladene, *uncharged primary products* 132  
 Primärreaktionen, *primary reactions* 132  
 Primärschädigung, *primary lesion* 9  
 Primärvorgang, physikalischer, *primary physical act* 2  
 Primordialocyten, *primordial oocytes* 361  
 Proflavin, *proflavine* 570  
 Proliferationsfähigkeit, Hemmung, *inhibition of the capacity for proliferation* 361, 364, 408ff.  
 —, Verlust, *loss of capacity for proliferation* 448  
 Prolin, *proline* 163, 201, 398  
 Propan, *propane* 134ff.  
 Prophase 291, 489ff.  
 Propionsäure, *propionic acid* 161  
 Propylalkohol, *propyl alcohol* 146  
 Propylion, *propyl ion* 131  
 prothetische Gruppe, *prosthetic group* 216  
 Protamin, *protamine* 208  
 Proteaseaktivität, *protease activity* 228, 229  
 Protein, saures, *acidic protein* 446  
 Proteine, *proteins* 31, 49, 215, 318, 376, 386, 389, 407, 430ff.  
 Proteinmoleküle, entfaltete, *unfolded protein molecules* 215ff.  
 Proteinsynthese, *synthesis of protein* 318, 376, 386, 389, 430ff.  
 —, Beziehung zwischen DNS und RNS, *relationship between DNA and RNA and protein synthesis* 432ff.  
 Protonen, *protons* 240, 543  
 —, LET, *protons, LET* 240  
 Protonenwirkung auf Chromosomengruppen, *proton effect to chromosome groups* 543  
 Protozoen-Bewegung, *protozoan motility* 526  
 protrahierte Bestrahlung, *protracted irradiation* 281, 293, 296, 299ff., 306ff.  
 protrahiert-fraktionierte Bestrahlung, *protracted-fractionated irradiation* 281, 296, 323  
 Protrahierung, *protraction* 256, 257, 272, 322ff.  
 — und RBW, *protraction and RBE* 256, 257  
 —, Wirkungssteigerung bei, *increase of effectiveness by protraction* 272  
 Protrahierungsfaktor, *factor of protraction* 323ff.  
 Prunus 581  
 Pseudo-Cholinesterase 392  
 Pseudomonas 366  
 Psoriasis 605  
 P-Substanz, *substance P*  
 Pteris longifolia 252  
 Puls-Radiolyse, *pulse radiolysis* 14  
 Punktmutation, *point mutation* 249ff., 274, 315ff., 367, 499ff.

- Purin-Derivate, *purine derivatives* 569ff.  
 Purinunabhängigkeit, *purine independence* 22  
 Puromycin 365, 412  
 Pyknose, *pyknosis* 443  
 Pyridinnukleotide, *pyridine nucleotides* 370  
 Pyridoxal-5-phosphat, *pyridoxal-5-phosphate* 396  
 Pyrimidine 204ff., 570  
 Pyronin-Färbung, *pyronin staining* 438  
 Pyruvat, *pyruvate* 371
- Quantenausbeute für Ultraviolettinaktivierung von Enzymen, *quantum yields for ultraviolet inactivation of enzymes* 215  
 quantitative Abschätzung des genetischen Wagnisses, *quantitative assessments of genetic hazards* 599ff.
- R**<sub>1</sub> 411  
**R**<sub>2</sub> 411  
 „rad“ 44, 237  
 Radikalausbeute, *radical yield* 102ff., 195, 248  
 Radikalbildung, *formation of radicals* 65, 69, 73ff.  
 —, Folgereaktionen, *formation of radicals, consecutive reactions* 69, 70, 73, 149  
 Radikale, „eingefangene“, „trapped“ radicals 27, 107, 185, 208ff.  
 —, freie, *free radicals* 13, 113, 243ff., 274ff., 407  
 —, freie, in Grassamen, *free radicals in grass seeds* 30  
 —, Lebensdauer, *life time of radicals* 31  
 „Radikalfänger“, „radical traps“ 166, 170, 243ff.  
 Radikal-Ionen, *radical ions* 13, 65ff., 132, 138  
 Radikalzahl, *number of radicals* 195  
 radioaktive Nuclide, inkorporierte, *radioactive nuclides, incorporated* 313  
 Radiochemie, *radiochemistry* 41  
 Radioisotopennachweis, *radioisotope proof method* 51  
 Radiokurabilität, *radiocurability* 438  
 Radiolyse von deuteriertem Alkohol, *radiolysis of deuterated alcohol* 146  
 — von Wasser, *radiolysis of water* 26, 65ff.  
 radiomimetische Chemikalien, *radiomimetic chemicals* 569ff.  
 — Wirkungen, *radiomimetic effects* 567ff.  
 „Radionastie“, *radionasty* 289  
 Radionekrosen, *radionecroses* 32  
 Radiophosphor, *radiophosphorus* 357ff.  
 „Radiosensitisation“, „radiosensitization“ 435, 440  
 Radium 322  
 —, Betastrahlung, *beta-radiation of radium* 292  
 Randbedingungen, *boundary conditions* 115, 116  
 Rattencornealepithel, *rat corneal epithelium* 360  
 Rattenhepatocyten, *rat hepatocytes* 415  
 Rattenhirn, *rat brain* 391  
 Rattenleberkerne, *rat-liver nuclei* 376  
 Rattenniere, *rat kidney* 391  
 Rattenthymus, *rat thymus* 373, 391, 446
- RBW, *RBE* 211, 236ff., 360, 375, 393, 420ff.  
 —, Abhängigkeit von Dosis und Dosisleistung, *dependance of RBE on dose and dose rate* 259, 260  
 — von Alpha-Teilchen, *RBE of alpha-particles* 420ff.  
 — — für die Aufnahmehemmung von Vorstufen in die DNS, *RBE of alpha-particles for inhibition of uptake of precursors into DNA* 422  
 — bei cellulären Strahlenwirkungen, *RBE of cellular radiation effects* 295ff.  
 — und Dosisleistung, *RBE and dose rate* 256ff.  
 — und Fraktionierung, *RBE and fractioning* 256ff.  
 — als Funktion der Ionendichte, *RBE as a function of ion density* 540ff.  
 — für die Hemmung der DNS-Synthese, *RBE for inhibition of DNA synthesis* 420ff.  
 — für Mutationsinduktion, *RBE in inducing mutations* 540ff.  
 — von Polonium-Alpha-Teilchen, *RBE of polonium alpha-particles* 421  
 — von Radon-Alpha-Teilchen, *RBE of radon alpha-particles* 421  
 — schneller Neutronen, *RBE of fast neutrons* 256, 315, 375, 420ff.  
 — für Tumorregression, *RBE for tumour regression* 263  
 —, ultraharte Röntgenstrahlung, *RBE of ultrahard roentgen radiation* 256, 420ff.  
 — und Zeitfaktor, *RBE and time factor* 295ff., 314, 319, 333  
 RBW-Werte für Letaleffekte, *RBE values for lethal effects* 241, 393  
 Reaktionseinheit, *reaction unit* 41  
 Reaktionsprodukte, Ausbeute, *yield of reaction products* 98ff., 124ff.  
 Reaktionswärme, *heat of reaction* 114  
 „Reaktivität“, „reactivity“ 293  
 Reaktorstrahlungen, *reactor radiations* 48  
 Recon 501  
 Reduktion der <sup>59</sup>Fe-Inkorporation, *reduction of <sup>59</sup>Fe-incorporation* 393  
 Reduktionsmechanismus, *mechanism of reduction* 100  
 Reduktionsreaktionen, *reduction reactions* 223  
 „Reduktionsteilung“, *meiotic division* 493ff.  
 reduzierte Lipoate, *reduced lipoates* 424  
 reflex-ähnliche Reaktionen niederer Tiere auf ionisierende Strahlen, *reflex-like responses of lower animals to ionizing radiation* 405  
 Regelmechanismen, *control mechanisms* 283  
 Regeneration 296ff., 309  
 Regenwurm, *earthworm* 405  
 Registrierung von Geburten, Eheschließungen und Todesfällen, *registrations of births, marriages and deaths* 616  
 Regulationsmechanismen der Zellproduktion, *mechanism of regulation of cell production* 297  
 Rekombinationsvorgänge, *recombination processes* 279, 282, 500ff.  
 relative biologische Wirksamkeit (RBW), *relative biological effectiveness (RBE)* 211, 236ff., 295ff., 375, 393, 420ff.

- relative Wirksamkeit von Radium-Gammastrahlen und schnellen Neutronen, *relative effectiveness of radium-gamma-rays and fast neutrons* 406
- Reparationsvorgänge, *reparation processes* 272, 299, 309, 527
- Reproduktionsablauf, *reproductive performance* 594
- Reproduktionsfähigkeit, Verlust der unversehrten, *loss of reproductive integrity* 364, 413, 448
- Residualchromosomenprotein, *residual chromosomal protein* 385
- Residualdosis, äquivalente, *equivalent residual dose (ERD)* 308
- „Residualprotein“, „*residual protein*“ 382ff., 442
- Residualschäden, *residual damage* 311, 314
- Resonanzbande, paramagnetische, Feinstruktur, *microstructure of paramagnetic resonance band* 52
- Resonanzenergie, *resonance energy* 119
- Resonanzhybrid, *resonance hybrid* 120
- Restitution 187, 210, 282, 309, 497ff., 518ff., 562ff.
- Restschaden, *residual damage* 311, 314
- Reticulocyten, *reticulocytes* 297, 381, 387, 395
- Retinoblastom, *retinoblastoma* 602, 607, 610
- reversible Strahlenwirkung, *reversible radiation effect* 281ff.
- rezessive Letalmutation, *recessive lethal mutation* 499, 577ff.
- —, Wahrscheinlichkeit der Induktion, *probability of inducing a recessive lethal mutation* 598
- Mutation, *recessive mutation* 591ff.
- „sichtbare“ Mutationen, *recessive "visible" mutations* 499
- rezessives Allel, *recessive allele* 492, 610
- rezessiv-mutierende Gene, *recessive mutant genes* 578ff.
- Rheobase, *rheobasis* 287
- Rhesus-Unverträglichkeit, *Rhesus incompatibility* 606
- Rhodnius 586
- Rhodnius prolixus 527ff.
- Rhodopseudomonas spheroides 433
- Riboflavin 49, 169, 392
- Ribonuclease 202, 220, 380, 387ff., 409, 438
- Ribonukleinsäure, *ribonucleic acid (s. RNS, RNA)*
- Ribonukleinsäuregehalt, *content of ribonucleic acid* 409, 513
- Ribonukleoproteine, *ribonucleoproteins* 376, 380ff., 437ff.
- Ribonukleotid-Reduktase-System, *ribonucleotide reductase system* 424
- Ribosom, *ribosome* 377ff., 435
- Ricinusöl, *castor oil* 282
- Rickettsien, *Rickettsia* 525
- Riesenzellen, *giant cells* 374, 411
- Rinderserum, *bovine serum* 199ff.
- Rinderserumalbumin, *bovine serum albumin* 199ff., 369
- Ring-X-Chromosom, *ring-X-chromosome* 250, 559
- RNP 376, 380ff., 437
- RNS, cytoplasmatische, *cytoplasmic RNA* 437
- , Gesamtkern-, *total nuclear RNA* 425
- mit hohem Molekulargewicht, *high molecular weight RNA* 379
- , mikrosomale, *microsomal RNA* 378
- , nukleare, *nuclear RNA* 376ff., 427, 433, 437
- , nukleolare, *nucleolar RNA* 376ff.
- , ribosomale, *ribosomal RNA (rRNA)* 377
- RNSase, *RNAase* 384, 390
- RNS-DNS-Komplexe, *RNA-DNA complexes* 379
- RNS-I-Fraktion, *RNA I fraction* 377
- RNS-II-Fraktion, *RNA II fraction* 377ff.
- RNS-Konzentration, *RNA concentration* 421
- RNS-Polymerase, *RNA polymerase* 433, 435, 447
- RNS-Synthese, *RNA synthesis* 355, 372, 409, 417, 422, 425ff.
- , unkontrollierte, *uncontrolled synthesis of RNA* 436
- Röntgen (R) 44, 540
- Röntgen-Bestrahlung von Proteinen, *irradiation with Roentgen rays of proteins* 198, 199
- Röntgenerythem, *roentgen erythema* 263
- „Röntgenphosphän“ 286
- Röntgenstrahlen, LET, *Roentgen rays, LET* 240, 242
- , harte, *hard Roentgen-rays* 21
- , weiche, *soft Roentgen-rays* 21, 437
- Röntgenstrahlenwirkung und Hitze, Vergleich der Wirkung, *Roentgen radiation and heat, comparison of effects* 526ff.
- Roggensamen, *barley seeds* 25ff., 407, 560, 561
- Rohrzucker, *cane sugar* 168
- rRNS, *rRNA* 377ff.
- Rückbildung maligner Tumoren, *retrogression of malignant tumours* 373
- Rückenmark, *spinal cord* 303ff.
- Rückkopplungsvorgänge, *feedback processes* 283
- Rückmutation, *back mutation* 500ff., 570
- , biochemische, *biochemical back mutation* 580
- , fluoreszierende, *fluorescent back mutation* 507
- Rückreaktionen, *back reactions* 73
- Ruhepotential der Zelle, *rest potential of cell* 289
- Rundzellensarkom, *round cell sarcoma* 319
- S<sub>0</sub> 375, 417
- S<sub>1</sub> 417ff.
- <sup>35</sup>S-Methionin, *<sup>35</sup>S-methionine* 436
- Saccharum 546
- Sättigungseffekt, *saturation effect* 248, 252
- „—, zeitlicher“, „*time saturation effect*“ 274, 538
- Sättigungsmethode, *saturation method* 324, 330
- Säugerzellen, *mammalian cells* 365
- säurelösliche organische Verbindungen, *acid-soluble organic compounds* 439
- Säuren, *acids* 147ff., 158ff.
- Salizylat, *salicylate* 427
- Salzsäurebildung, *formation of hydrochloric acid* 155
- Samenblase, *seminal vesicle* 420
- Samenzellköpfe, *spermheads* 209
- Sarkom, *sarcoma* 319ff.
- 378, *sarcoma* 378 31
- sarkomogene Wirkung, *sarcomagenic effect* 313

- Sauerstoff, *oxygen* 7, 23, 31, 32, 74ff., 186, 271, 282, 318, 329, 356, 405, 408, 418, 420, 431, 508, 546ff.
- , Einfluß auf die Strahlenchemie des Wassers, *influence of oxygen on radiation chemistry of water* 74ff., 223
- , gelöster molekularer, Einfluß auf Strahlenempfindlichkeit, *influence of dissolved molecular oxygen on radiosensitivity* 23, 341
- , klinische Anwendung, *oxygen, clinical application* 31, 32
- Sauerstoffeffekt, *oxygen effect* 14, 20ff., 202ff., 245ff., 260, 295
- mit Alpha-Strahlung auf Vicia, *oxygen effect with alpha irradiation of Vicia* 557ff.
- auf Chromosomenaberrationen, *oxygen effect on chromosome aberrations* 21ff., 253, 508, 570ff.
- in Crepis-Samen, *oxygen effect in Crepis seeds* 561
- , negativer, *negative oxygen effect* 385
- auf Protein, *oxygen effect on proteins* 198
- mit Röntgenbestrahlung von Vicia, *oxygen effect with Roentgen irradiation of Vicia* 557
- mit verschiedenen Strahlenqualitäten, *oxygen effect with different qualities of radiation* 558
- Sauerstoffgewebedruck, *oxygen tissue tension* 32
- sauerstoffhaltige Verbindungen, *oxygen compounds* 145ff., 157ff.
- Sauerstoffnachbehandlung nach Bestrahlung, *post-irradiation treatment with oxygen* 561ff.
- Sauerstoffspannung, *oxygen tension* 31, 32, 322
- Sauerstoff-Verstärkungsverhältnis, *oxygen enhancement ratio* 433
- saure Desoxyribonuklease, *acid deoxyribonuclease* 387
- Phosphatase, *acid phosphatase* 388
- Ribonuklease, *acid ribonuclease* 388
- S- $\beta$ -Aminoäthylisothiuroniumbromid-hydrobromid, *S- $\beta$ -aminoethylisothiuronium bromide hydrobromide* 384
- Schaf, *sheep* 305
- Schallvibrationen, *sonic vibrations* 565
- Schimären, *chimaeras* 511ff.
- Schizophrenie, *schizophrenia* 605
- Schizosaccharomyces 503
- Schleimhaut, *mucosa* 299, 329, 332, 335ff.
- Schleimhautreaktion und Tumorrückbildung, *reaction of mucosa and tumour regression* 336ff.
- Schnecke, *snail* 286, 405
- schnelle Elektronen, LET, *fast electrons, LET* 240
- Schrittmacher des Metabolismus, *pace-maker of metabolism* 229
- Schrödinger-Gleichung, *Schrödinger's equation* 115
- Schutz gegen crosslinking, *protection against crosslinking* 188, 189
- durch Energieübertragung, *protection by energy transfer* 189
- von Enzymen, *protection of enzymes* 203
- Schutzstoffe, *protectives* 165, 188, 261, 385, 565
- Schutzwirkung, *protection effect* 16ff., 97, 142, 165, 247, 385
- als analytisches Hilfsmittel, *protection effect as analytical tool* 18, 19
- in festen Polymeren, *protection effect in solid polymers* 29
- durch gemischte Disulfidbildung, *protection by mixed disulphide formation* 218, 219
- auf Polymere in wäßriger Lösung, *protection effect in polymers in aqueous solution* 29
- durch Zugabe von anderen Stoffen, *protection by added substances* 186ff., 208ff.
- Schwachbestrahlung, *low-dose irradiation* 303
- Schwarzschild'sches Gesetz, *Schwarzschild's law* 271, 285, 324
- schwefelhaltige Verbindungen, *sulphur-containing compounds* 149, 150, 164, 165, 203
- Schwefelsäureester, *ester sulphuric acids* 358
- Schwefelwasserstoff, *hydrogen sulphide* 95, 149
- Schwellenwert, *threshold value* 274
- der Dosis, *threshold value of dose* 315, 532
- — Dosisleistung, *threshold value of dose rate* 286, 288, 303, 314, 332
- Schwermetallspuren, *traces of heavy metals* 407
- Schwundrate des Plasmaeisens, *plasma iron disappearance rate* 393
- Sciara 517
- Scilla 523
- Sedimentationskoeffizient, Verteilung, *sedimentation coefficient distribution* 447
- Seeigel, *sea-urchin* 287, 290
- Seeigelei, Teilungsverzögerung, *cleavage delay in sea-urchin egg* 543
- Segmente, *sectorials* 511ff.
- Segregation 496ff.
- Sehfunktion, *visual function* 404, 405
- sekundäre biologische Prozesse, *secondary biological processes* 359ff.
- Sekundärelektron, "secondary" electron 2
- Seminom, *seminoma* 361
- Senfgas, *mustard gas* 569ff.
- Serin, freies, *free serine* 401
- Serotonin, *serotonine* 187, 210, 385ff., 395ff.
- SH-Enzyme, *SH enzymes* 216ff., 246
- SH-Gruppen, *SH groups* 50, 215, 363
- SH-Schutzsubstanz, *SH-protective agent* 188ff.
- SH-Verbindungen, *SH compounds* 216ff.
- Shigella flexneri 22, 259
- Sichelzell-Anämie, *sickle cell anaemia* 606
- 37 %-Dosis, *37 %-dose* 4, 7, 364ff.
- 17-Hydroxycorticosteroid, *17-hydroxycorticosteroids* 401
- im Plasma, *17-hydroxycorticosteroids in plasma* 389
- 17-Ketosteroid, *17-ketosteroids* 401
- $\sigma$ -Bindung,  *$\sigma$ -bond* 118, 122ff., 152ff.
- sigmoide Dosiswirkungskurve, *sigmoid-shaped dose effect curve* 281
- Simultanreaktion, *simultaneous reaction* 230ff.
- Skelettsystem, *skeletal system* 310, 311
- Skorpion, *scorpion* 548
- Sofortreaktionen von Zellen, *immediate reactions of cells* 286ff., 385ff.
- Sofortwirkung von Strahlung auf die Haut, *immediate effect of radiation on skin* 386

- Solanum lycopersicum 251, 540  
 somatische Mutation, *somatic mutation* 315, 318, 532ff.  
 — Zellen, Kultur, *somatic cell cultures* 599  
 somatischer Faktorenaustausch, *somatic crossing over* 496ff.  
 Sorbit, *sorbitol* 168  
 Späteeffekte, RBW für, *RBE for late effects* 258, 259  
 Spaltung der Sekundärstruktur, *disruption of secondary structure* 185  
 Speicheldrüsenzellen der Drosophila, *salivary gland cells of Drosophila* 445, 491, 515  
 Speichelsekretion, *salivary secretion* 405  
 S-Periode, *S period* 373ff.  
 Spermatische, *spermatids* 249, 590  
 Spermatozyt, *spermatocyte* 316, 590  
 Spermatoγονie, *spermatogonium* 316, 361, 532, 580, 591ff.  
 Spermien, reife, *spermatoid, ripe* 249  
 S-Phase, *S phase* 410ff., 418  
 S<sub>2</sub>-Phase, *S<sub>2</sub> phase* 374, 417  
 Spina bifida 605  
 — — Bildung, *formation of spina bifida* 309  
 Spinabsättigung, *spin saturation* 60  
 Spindel, *spindle* 489ff.  
 Spindelwirkungen, *spindle effects* 523  
 Spindelzelltumor der Mamma, *mammary spindle cell tumour* 31  
 Spinquantenzahl, *spin quantum number* 110  
 Spirogyra 548ff.  
 Spirygyra crassa 549  
 Spongospore 548  
 Spontanmutation, *spontaneous mutation* 506ff.  
 Spontanumoren der Maus, *spontaneous tumours of the mouse* 379  
 Spureneffekt, *trace effect* 87  
<sup>90</sup>Sr 313, 333, 589  
 Staudingersche Regel, *Staudinger's rule* 48, 49  
 Steatococcus tuberculatus 549ff.  
 Steigerung der Empfindlichkeit, *sensitization* 32, 33, 223ff., 356, 364ff., 435, 440  
 Sterilität, *sterility* 300ff., 576ff.  
 —, behandelte Frauen, *women treated for sterility* 595, 597  
 Stickoxydul, *nitrogen monoxide* 48  
 Stickstoffgehalt, *content of nitrogen* 409  
 stickstoffhaltige Verbindungen, *nitrogen-containing compounds* 149, 150, 161ff.  
 Stickstoffoxyd, *nitric oxide* 22ff., 30, 48  
 Stickstoff-Senf, *nitrogen mustard* 569  
 Störung durch Wasserstoffsuperoxyd, *interference by hydrogen peroxide* 225  
 Stoffeinheiten, *units of matter* 43  
 Stoffwechsel, *metabolism* 272, 305, 318, 329  
 Stoffwechselhemmer, *metabolic inhibitors* 365  
 Stoßionisation, *impact ionization* 55  
 Strabismus 605  
 Strahlenchemie anorganischer wäßriger Systeme, *radiation chemistry of anorganic hydrous systems* 57ff.  
 —, Begriff, *radiation chemistry, definition* 40ff.  
 — einfacher organischer Verbindungen, *radiation chemistry of simple organic compounds* 109ff.  
 Strahlenchemie wäßriger Lösungen einfacher organischer Stoffe, *radiation chemistry of hydrous solutions of simple organic compounds* 152ff.  
 — des Wassers, wäßriger Lösungen und einfacher organischer Verbindungen, *radiation chemistry of water, aqueous solutions and simple organic compounds* 39ff., 109ff.  
 strahlenchemische Ausbeute, *radiation-chemical yield* 42, 43  
 — Dosimeterreaktion, *radiation-chemical dosimetric reaction* 78ff., 246  
 — Oxydation in wäßrigen Lösungen, *radiation-chemical oxidation in hydrous solutions* 92ff.  
 — Primärreaktionen des Wassers, *radiation-chemical primary reactions of water* 65ff.  
 — Reaktionen in konventionellen Systemen, *radiation-chemical reactions in conventional systems* 132ff.  
 — —, Zeitfaktor, *radiation-chemical reactions, time factor* 282  
 Strahlendosimetrie, *radiation dosimetry* 44ff., 78  
 strahlenempfindliche Komponente S<sub>1</sub>, *radiosensitive (S<sub>1</sub>) component* 417  
 Strahlenempfindlichkeit von Chromosomen für die Induktion von Brüchen, *radiosensitivity of chromosomes to induction of breakage* 547ff.  
 — des Cytoplasmas, *radiosensitivity of cytoplasm* 543ff.  
 —, Einfluß gelösten molekularen Sauerstoffs, *influence of dissolved molecular oxygen on radiosensitivity* 23  
 —, — des Wassergehaltes, *influence of water content on radiation sensitivity* 24ff.  
 — von Embryonalstadien, *radiosensitivity of embryonic states* 310  
 — — Enzymen, *radiation sensitivity of enzymes* 11  
 — — Mikroorganismen, *radiosensitivity of microorganisms* 251ff.  
 —, natürliche Variationen, *natural variations in radiosensitivity* 544ff.  
 — und Nukleinsäuregehalt, *radiosensitivity and nucleic acid content* 366  
 — von Organen und Geweben, *radiosensitivity of organs and tissues* 253ff., 298ff., 371  
 —, phasenförmige Änderung, *phasic changes of radiosensitivity* 272  
 — und Poliploidie-Grad, *radiosensitivity and degree of poliploidy* 544ff.  
 — — Sauerstoffspannung, *radiosensitivity and oxygen tension* 31ff., 259  
 —, Unterschied zwischen maximaler und minimaler, *difference between maximum and minimum radiosensitivity* 547  
 — wachsender Säuger-Knochen, *radiosensitivity of growing mammalian bones* 32  
 — und Zeitfaktor, *radiation sensitivity and time factor* 298ff.  
 — von Zellen, *radiosensitivity of cells* 211, 290  
 — des Zellkerns, *radiosensitivity of the nucleus* 543ff.  
 Strahlenerythem, *radiation erythema* 258, 262

- Strahlengefährdung, Studien an Säugern, *mammalian studies relating to hazards* 590ff.
- Strahlengenetik, *radiation genetics* 315ff., 487ff., 590ff.
- strahlengenetisches Risiko, Berechnung, *radiation genetic risk, calculation* 609ff.
- —, Berechnungen basierend auf Angaben aus Blutsverwandten-Ehen, *radiation genetic risk, calculations based on consanguineous marriage data* 613ff.
- —, — auf der Basis des totalen „genetischen Todes“, *radiation genetic risk, calculation based on total "genetic death"* 612, 613
- —, — — der Zunahme erblicher Krankheiten, *radiation genetic risk, calculation based on the prevalence of hereditary diseases* 611, 612
- Strahlenhärtung, *hardening by irradiation* 135
- strahleninduzierte Chromosomenbrüche, *radiation-induced chromosome breaks* 21, 250ff., 487ff., 497ff.
- embryonale Mißbildungen, *radiation-induced embryonic malformations* 397
- genetische Veränderungen, Studien am Menschen, *radiation-induced genetic changes, human studies* 594ff.
- Strahlenkatarakt, *radiogenic cataract* 217, 313, 314, 360
- Strahlenkonservierung, *preservation by irradiation* 165
- Strahlenkrebs, *radiation cancer* 259, 311ff.
- Strahlenoxydation, einfache, *simple oxidation by radiation* 92ff.
- Strahlenpathologie, *radiation pathology* 296ff.
- Strahlenqualität, Abhängigkeit biologischer Strahlenwirkungen, *dependance of biologic radiation effects on radiation quality* 248ff.
- — physikalischer und chemischer Strahlenwirkungen, *dependance of physical and chemical radiation effects on radiation quality* 242ff., 556ff.
- , Einfluß auf Radikalausbeute, *influence of radiation quality on radical yield* 103
- , — auf die Strahlenwirkung, *influence of radiation quality on radiation effect* 236ff., 540ff.
- , Wirksamkeit verschiedener bei der Induktion von Chromosomen- und Chromatid-aberrationen, *efficiency of different qualities of radiation in inducing chromosome and chromatid aberrations* 540ff.
- , — — — von Mutationen, *efficiency of different qualities of radiation in inducing mutations* 540ff.
- Strahlenreaktion in Abhängigkeit von Dosis, und ihre zeitliche und räumliche Verteilung, *radiation response in relation to dose and its distribution in time and space* 529ff.
- Strahlenreaktionen in der Gasphase, *radiation reactions during gaseous phase* 121ff.
- Strahlenreduktion, Ausbeute in einfachen wäßrigen Elektrolytlösungen, *reduction by radiation, yield in simple hydrous electrolytic solutions* 99
- , einfache, *simple reduction by radiation* 96ff.
- strahlenresistente Komponente  $S_2$ , *radio-resistant ( $S_2$ ) component* 417
- Zellen, *radioresistant cells* 444
- Strahlenresistenz, *radiation resistance* 299, 320, 362, 525, 543ff.
- von Cytoplasma, relative, *relative radio-resistance of cytoplasm* 543ff.
- bei höherem Poliploidie-Grad, *radioresistance with higher degree of polyploidy* 544ff.
- individueller menschlicher Tumoren, *radio-resistance of individual human tumours* 438
- Strahlenschutz, Grundnormen, *radiation protection, basic standards* 264
- Strahlenschutzstoffe, *radioprotective substances* 165, 188, 261, 385ff., 395ff., 427
- Strahlenspät Schäden, *late radiation damages* 311ff., 339
- der Haut, *late radiation damages of skin* 332
- Strahlentherapie maligner Tumoren, *radio-therapy of malignant tumours* 320, 322ff., 333ff., 399, 401, 405
- Strahlenunfall, *accidental radiation exposure* 308, 397, 399
- Strahlenwirkung auf Einzelzellen, *radiation effect on single cells* 364
- — Eiweiß, *radiation effect on protein* 215ff.
- — Eiweißstruktur, *radiation effect on protein structures* 196ff.
- — genetisches Material, *radiation effect on genetic materials* 499ff.
- — Gewebstoffwechsel, *radiation effect on tissue metabolism* 355ff.
- — Kerneiweiße, *radiation effect in nucleic acids* 203ff.
- — Nukleinsäuren, *radiation effect in nucleic acids* 203ff.
- — Polymere, *radiation effect in polymers* 28, 29
- — Stoffwechselprozesse in Beziehung zur Strahlenempfindlichkeit, *radiation effect on metabolic processes in relation to radio-sensitivity* 359ff.
- — Tumorstoffwechsel, *radiation effect on tumour metabolism* 355ff.
- während der verlängerten Interphase, *radiation effect during prolonged interphase* 526ff.
- in vitro auf DNS und Nukleoproteine, *effects of irradiation in vitro on DNA and nucleoproteins* 445ff.
- in vivo auf DNS und Nukleoproteine, *effects of irradiation in vivo on DNA and nucleoproteins* 441ff.
- Strandquist-Darstellung, modifizierte, *modified Strandquist presentation* 325, 326, 331
- Strandquist-Gerade, *Strandquist straight line* 285ff., 303, 311, 320, 321, 324ff.
- Streptomyces 507, 509, 537, 548, 559ff., 567ff.
- Streptomycinresistenz, *streptomycin resistance* 22, 507, 512ff.
- Stress 388, 396, 400
- Strontium-90 313, 333, 589
- Struma maligna 335
- Struma-Exophthalmus, *exophthalmic goiter* 605
- Styran, *styrene* 282
- Subletalschaden, *sub-lethal damage* 365

- Succinat-INT-Reductase, *succinate-INT reductase* 369
- Succinodehydrogenase, *succinic dehydrogenase* 370
- Succinoxydase, *succinoxydase* 216
- Succinsäure, *succinic acid* 399, 427
- „Summationsgift“, „*summation poison*“ 274
- Supervolttherapie, *supervolt therapy* 263
- Suppressor-Mutationen, *suppressor mutations* 505
- supramolekulare DNS-Strukturen, *DNA supramolecular structures* 367, 383
- Suszeptibilität, *susceptibility* 51ff.
- symmetrischer Austausch, *symmetrical exchanges* 517ff.
- synchrone Mitose, *synchronous mitosis* 374
- Synchronkulturen, *synchronous cultures* 411
- Synchronteilung, *synchronous division* 427
- Syndaktylie, *syndactyly* 602
- Synkavit 32, 33, 370, 379, 396, 431
- Synovia-Flüssigkeit, *synovial fluid* 210
- Synthese-Phase, *synthetic phase* 410ff.
- synthesehemmende Medikamente, *synthesis-inhibiting drugs* 565
- t-Butylbenzol, *t-butyl benzene* 141
- Tabakmosaikvirus, *tobacco mosaic virus* 10, 11, 28, 513
- Tatronsäure, *tatronic acid* 159, 160
- Taubheit, *deafness* 601
- T 1-Bakteriophage, *T 1 bacteriophage* 25, 26, 248, 507
- T 2-Bakteriophage, *T 2 bacteriophage* 402
- T 4-Bakteriophage, *T 4 bacteriophage* 502ff., 570
- T 7-Coliphage 447
- Taurin, *taurine* 397, 398
- , freies und kombiniertes, *free and combined taurine* 398
- Taurinurie, *taurinuria* 397ff.
- Teerkarzinom 2146, *tar carcinoma 2146* 31
- Teersarkom 173, *tar sarcoma 173* 31
- Teilchenspuren, *particle "tracks"* 2, 3
- Teilungsverzögerung, *division lag* 523ff.
- Teilungszyklus, *division cycle* 408ff.
- , Dauer der Phasen, *duration of phases of division cycle* 410ff.
- Teleangiektasien, *teleangiectasiae* 332
- Telophase 489ff.
- Temperaturabhängigkeit, *dependance on temperature* 318, 563ff.
- strahlenchemischer Prozesse, *temperature dependance of radiochemical processes* 186
- Temperatureffekt der Strahlenreaktion, *temperature effect of radiation reaction* 83
- Tetrahymena 544
- Tetraploid 489, 546
- Tetrazoliumsalze, *tetrazolium salts* 370, 511
- Thalassaemie, *thalassaemia* 608
- thermisch denaturierte DNS, *thermally denaturated DNA* 423
- Thermolumineszenz von Eis, *thermoluminescence in ice* 77
- Thiamin, *thiamine* 49
- Thioharnstoff, *thiourea* 19, 29, 187, 192, 208
- Thiole, *thionic compounds* 164
- Thioredoxin 424
- Threonin, *threonine* 398
- Thymidin, *thymidine* 415
- Thymidinkinase, *thymidine kinase* 424ff.
- Thymidin-Phosphorylase, *thymidine phosphorylase* 425
- Thymidintriphosphat, *thymidine triphosphate* 415, 423ff.
- Thymidin-2-<sup>14</sup>C, *thymidine-2-<sup>14</sup>C* 375, 409ff.
- Thymidylat-Kinase, *thymidylate kinase* 426
- Thymidylat-Synthetase, *thymidylate synthetase* 424, 425
- Thymidyl-Kinase, *thymidylc kinase* 426
- Thymidylsäure, *thymidylc acid* 415, 423
- Thymin, *thymine* 398, 408, 416, 433, 513
- Thyminumwandlung in BAIBA, *conversion of thymine to BAIBA* 399
- Thymocyten, *thymocytes* 369ff., 429
- Thymonucleinsäure, *thymonucleic acid* 49
- Thymus 254, 255, 298, 359, 371ff., 416, 436, 442ff.
- Thymus-Lymphomatose, *thymic lymphomatosis* 587ff.
- Tillina 544
- Tipula oleracea 420
- Titration 49, 50, 79
- Tityus 548
- Toleranzdosis, *tolerance dose* 327, 337
- Toluol, *toluene* 139ff.
- Tonsillenkarzinom, *carcinoma of tonsil* 32
- Totgeburt, *stillbirth* 594ff.
- Tradescantia 21, 253, 290, 317, 362, 410, 489, 514, 516ff., 541ff., 568ff.
- träge Gase, *inert gases* 22ff.
- Transaminasenaktivitäten des Serums, *transaminase activities of serum* 389
- „Transfer-Enzym“, „*transfer enzyme*“ 435
- „transforming principle“ 559
- Translokation, *translocation* 250, 604
- Translokations-Heterozygote, *translocation heterozygotes* 575ff.
- Treffertheorie, *treffer theory* (2. engl. Stichwort: *target-hit theory*) 1, 3, 33, 261, 262, 274ff., 315ff., 508ff.
- „Treffervolumen“, „*target volume*“ 228, 261
- Triäthylenmelamin, *tri-ethylene melamine* 429
- Triarylmethanverbindungen, *triaryl methane compounds* 167
- Tricarboxylsäure-Zyklus, *tricarboxylic acid cycle* 399
- Trichloräthan, *trichlor ethane* 143
- Trillium erectum 489, 494ff., 523, 547ff.
- triphasische Kurve, *triphasic curve* 374, 375, 417
- Triploid 489, 493, 575ff.
- „Trisomie“, „*trisomy*“ 604
- tritierte Desoxycytidylsäure, *tritiated deoxy-cytidylic acid* 426
- tritiertes Cytidin, *tritiated cytidine* 437
- Thymidin, *tritiated thymidine* 398, 409ff.
- —, Autoradiographie, *tritiated thymidine autoradiography* 379, 416ff.
- Triturus 543
- tRNS, *tRNA* 376ff., 435ff.

- Trockenmasse, *dry matter* 29  
Trophocyten, *trophocytes* 440  
Trypsin 202, 214, 228, 231, 384  
—, kristallines, *crystalline trypsin* 219, 220  
Tryptamin, *tryptamine* 395ff.  
Tryptophan 168, 508, 522  
Tryptophan-Auxin-Enzyme von Tiergewebe, *tryptophane-auxin enzyme of animal tissue* 388, 389  
Tryptophanstoffwechsel, *tryptophane metabolism* 395  
TTP 424  
Tulpen-Mikrosporen, *tulip microspores* 519  
Tumorbett, *tumour bed* 31, 340  
Tumoren, nichtepitheliale, *nonepithelial tumours* 312  
—, strahlenresistente, *radioresistant tumours* 553ff.  
—, transplantable, *transplantable tumours* 254, 255, 540  
Tumor-Induktion, *tumour induction* 587ff.  
Tumorzellen, *tumour cells* 374, 416ff.  
—, sich-nicht-teilende, *non-dividing tumour cells* 412  
Tungöl, *tung oil* 282  
Turner-Syndrom, *Turner's syndrome* 604  
Tyramin, *tyramine* 187, 208  
Tyrosin, *tyrosine* 49, 201
- Ubichinon-Cytochrom-b-Region, *ubiquinone-cytochrome b region* 370  
Ubichinone, *ubiquinones* 370  
Übelkeit, *nausea* 396  
Überlappungsfaktor, "overlapping factor" 8  
Überlebenskurve, exponentielle, *survival curve, exponential* 4, 6, 551  
—, s-förmige, *survival curve, sigmoid-shape* 4ff.  
Überträger-RNS, *transfer RNA (tRNA)* 376ff., 435ff.  
Uferzellen, *littoral cells* 423  
ultrafraktionierte Bestrahlung, *ultra-fractionated irradiation* 259, 275, 292, 297, 327ff., 421  
Ultraviolett-Absorption, *ultraviolet absorption* 434, 436, 438  
Ultraviolettbestrahlung von Eiweiß, *irradiation of proteins with ultra-violet light* 215  
— von *E. coli*, *ultra-violet radiation on E. coli* 439, 507  
ultraviolettes Licht, *ultraviolet light* 366, 407, 563ff.  
Ultraviolettfluoreszenzanalyse, *ultraviolet fluorescence analysis* 49, 505  
ultraviolett-mikrophotographische Methoden, *ultraviolet photomicrographic methods* 357, 380, 434, 438  
Ultraviolett-Nachbehandlung, *ultraviolet post-treatment* 564  
Ultraviolett-Strahlung, Mikrostrahl, *microbeam of ultraviolet radiation* 422  
Ultraviolett-Umkehrung, *ultraviolet reversal* 567ff.  
UMP 424  
Unbestimmtheitsrelation, *uncertainty principle* 68, 116
- ungesättigte Kohlenwasserstoffe, *unsaturated hydrocarbons* 123ff., 138, 139, 147, 153ff.  
unspezifische Cholinesterase, *nonspecific cholinesterase* 392  
Urazil, *uracil* 522  
Urease 215, 225  
Urethan, Chromosomenbrüche und -Rearrangements nach, *chromosomal breaks and rearrangements produced by urethane* 569  
Uridin-diphosphat, *uridine diphosphate* 396  
Uridinmonophosphatgehalt, *uridine monophosphate content* 378  
Uridin-Phosphorylasen, *uridine phosphorylases* 425  
Uridintriphosphat- $\alpha$ - $^{32}P$ , *uridine triphosphate- $\alpha$ - $^{32}P$*  433  
Uridylsäure, *uridylic acid* 424  
Urinausscheidung, *urinary excretion* 395ff.  
— von Metaboliten, *urinary excretion of metabolites* 397ff.  
— — 17-Ketosteroiden, *urinary excretion of 17-ketosteroids* 401  
— — Taurin, *urinary taurine excretion* 397  
Urin-Diastase, *urinary diastase* 397  
Urodele 290, 291  
Uterus 303  
Uteruscarcinom, *carcinoma of the uterus* 334  
UV-Krebs, *UV-induced carcinoma* 313
- Vakuolenbildung, *formation of vacuoles* 402  
van der Waalsche Kräfte, *van der Waal's powers* 67  
van't Hoff'sches Exponentialgesetz, *van't Hoff exponential law* 106  
vegetatives Nervensystem, *vegetative nervous system* 302ff.  
Verdoppelungen, *duplications* 575  
Verdopplungsdosis, *Drosophila, doubling dosis in drosophila* 581  
—, Maus, *doubling doses in mice* 581, 591ff.  
—, Mensch, *doubling dose for man* 608ff.  
— für Mutationen, *rate doubling dose for mutations* 579ff.  
verdopplungsunfähige Gameten, *duplication-deficiency gametes* 576  
Verdopplungszeit, *doubling time* 410ff.  
Verdünnungseffekt, *dilution effect* 82, 246  
vererbliche Anlagen, Häufigkeit, *frequency of hereditary traits* 606  
— Effekte auf die Lebensdauer, *heritable effects on longevity* 593  
— partielle Sterilität, *hereditary partial sterility* 576, 577  
— Wirkungen in Individuen, *heritable effects in individuals* 574ff.  
Vererbung, cytoplasmatische, *cytoplasmic inheritance* 492ff.  
Verhaltenscharakteristika, *behavioural characters* 594  
Verhaltenserregung, *behavioural arousal* 403  
Verhaltensstörungen, *disturbances of behaviour* 286ff.  
Verminderung der primären Antikörperreaktion, *reduction of the primary antibody response* 356, 358

- „Vernetzung“, *netting* 135  
 Versine 571  
 „versteckte Brüche“, „*hidden breaks*“ 203  
 verzögerte Tötung, *delayed killing* 366  
 — Zelltötung, *delayed killing of cells* 413ff., 448  
 Vettern-Ehen, *cousin-marriages* 613ff.  
 Vicia faba 21 ff., 251, 252, 257, 291, 356, 366,  
 373, 375, 410, 412, 414, 419, 489, 516,  
 540, 556ff.  
 4-Amino-5-Imidazolcarboxamid, *4-amino-5-imidazol-carboxamide* 415  
 Viren, *viruses* 248, 261, 510ff.  
 Virusmutation, *mutation of virus* 249  
 Viskosität, *viscosity* 48, 49, 63, 383ff., 442ff.  
 — einsträngiger DNS, *viscosity of single-stranded DNA* 447  
 — nativer doppelsträngiger DNS, *viscosity of two-stranded native DNA* 448  
 —, spezifische, *specific viscosity* 448  
 Viskositätsmessung, *viscometry* 48, 49  
 Viskositätsverminderung der extrahierten DNS, *decrease in viscosity of extracted DNA* 383ff., 447  
 Vitamin K 369  
 Vitamine, *vitamines* 168ff.
- Wachstum, *growth* 310, 311, 313  
 Wachstumsstörungen des Skelettsystems, *disturbances of skeletal growth* 310ff.  
 Wachstumshemmung bei höheren Organismen, *inhibition of growth in higher organisms* 255ff., 358  
 Wachstumsrate, natürliche, *natural rate of growth* 294  
 Walker-Carcinom der Ratte, *Walker rat carcinoma* 437, 442  
 Wasser, Massenspektrometrie, *mass spectrometry of water* 66  
 Wassergehalt, Einfluß auf DNS-Veränderungen, *influence of water content on DNA changes* 206  
 — des Gehirns, *water content of the brain* 386  
 — der Milz, *water content of spleen* 386  
 — als modifizierender Faktor der Strahlenempfindlichkeit, *water content as modifying factor of radiation sensitivity* 24ff., 409  
 — des Thymus, *water content of thymus* 386  
 Wassermolch, *newt* 543  
 Wassermolekül, Aufbauschema, *water molecule, scheme of structure* 59  
 Wasserradikale, *radicals of water* 65ff., 83ff., 183, 223ff.  
 Wasserprodukte, Natur der aktiven, *nature of active products of water* 84, 85, 223  
 Wasserspaltung, *fission of water* 65ff.  
 Wasserstoff, molekularer, *hydrogen, molecular* 14, 113, 152  
 Wasserstoffbindung, *hydrogen bond* 207ff., 215ff.  
 Wasserstoffsuperoxyd, *hydrogen peroxyde* 13, 14, 21, 66ff., 183ff., 216ff., 243ff., 392, 429, 556ff.  
 Wasserstoffübertragung, *hydrogen transfer* 188  
 Watson-Crick-Modell, *Watson-Crick model* 513ff.
- Weberknecht, *daddy-long-legs* 420  
 Wechselbeziehungen zwischen direkter und indirekter Strahlenwirkung, *interrelation between direct and indirect mode of action of radiation* 20  
 Weinsäure, *tartaric acid* 159ff.  
 weißes Blutbild, *white blood picture* 254  
 Weizenkeime, *wheat germs* 407  
 Weizensamen, *wheat seeds* 407  
 Wellenmechanik, *wave mechanics* 115ff.  
 Widderhoden, *ram testis* 300  
 Wiederherstellung genetischer Schäden nach Bestrahlung, *postirradiative repair of genetic damage* 566ff.  
 —, sofortige, *instantaneous repair* 187, 210  
 Wiedervereinigungs-Abstand, *distance over which rejoining may occur* 518ff.  
 Wilsonkammer, *Wilson-chamber* 2, 3, 8  
 Wirkung hoher Dosen, *high dose effects* 537ff.  
 — kleiner Strahlendosen auf das Nervensystem, *effects of small doses of radiation on the nervous system* 403, 404  
 Wirkungsquerschnitte, *cross sections* 247  
 Wirkungssteigerung bei Fraktionierung, *increase of effectiveness by fractioning* 271  
 Wollfasern, *wool fibres* 201, 202  
 Würmer, *worms* 286
- Xanthin, *xanthine* 397  
 Xanthozol 119  
 Xanthurensäure, *xanthurenic acid* 395, 400  
 X-Chromosom, *X-chromosome* 491ff., 529ff., 579, 596, 598  
 —, „heißes“, „*hot*“ X-chromosome 412  
 „X/n“-Verhältnis, „*X/n*“ ratio 420
- Y-Chromosom, *Y-chromosome* 496ff., 596  
 Yoshida-Aszitestumor, *Yoshida ascites tumour* 409, 429  
 Yoshida-Sarkom der Ratte, *Yoshida sarcoma of rats* 253
- Zahnanomalien, *tooth anomalies* 602  
 Zehenanomalien, *toe anomalies* 602  
 Zeitfaktor, *time factor* 271ff.  
 —, Definition, *definition of time factor* 273  
 — bei Fraktionierung, *time factor of fractioning* 329ff.  
 — der Haut, *time factor of skin* 296, 325ff.  
 —, klinische Beobachtungen an Tumoren, *clinical studies of time factor in tumours* 334ff.  
 — im mathematischen Modell, *time factor, mathematical model* 279ff.  
 —, Voraussetzungen für das Zustandekommen, *prerequisites for time factor* 274ff.  
 Zeitfaktorstudien an Tiertumoren, *studies of time factor in animal tumours* 319ff.  
 Zeit-Intensitätsfaktor, *time-intensity factor* 5  
 Zeitkurven, *time curves* 262  
 Zellen, sich nicht teilende, *non-dividing cells* 526ff.  
 Zellkern, Verlust von Natrium und Kalium, *loss of sodium and potassium from cell nucleus* 372

- Zellkinetik, *cellular kinetics* 294ff.  
 Zellkultur von Säugerzellen, *mammalian cells in artificial culture* 586  
 Zellkulturen, *cell cultures* 281, 291, 293ff.  
 Zellpermeabilität, *cellular permeability* 289, 303  
 Zellpopulation, Dynamik, *cell population dynamics* 590ff.  
 Zellrefraktometrie, *cell refractometry* 381  
 Zellteilung, *cell division* 251ff., 410ff., 487ff., 547ff., 586ff.  
 Zelltod, *death of cells* 251, 290, 292, 297, 448, 524, 586ff.  
 Zellulose, *cellulose* 210  
 zentralnervöses Strahlensyndrom, *central nervous radiation syndrome* 304, 307  
 Zentriol, *centriole* 490ff.  
 Zentromer, *centromere* 488ff.  
 Zentromeren, diffuse, "diffuse centromeres" 544, 548ff.  
 Zentrosom, *centrosome* 490ff.  
 Zerfall der DNS nach Bestrahlung, *breakdown of DNA after irradiation* 427  
 ζ-Potential von Kolloiden, *ζ-potential of colloids* 406, 407  
 Zielgröße, Bestimmung, *determination of target sizes* 7  
 —, Schätzung, *estimate of target sizes* 6ff.  
 Zitrat, *citrate* 370ff.  
 Zitronensäure, *citric acid* 439  
 Zitronensäurezyklus, *citric acid cycle* 370  
 Zuckerrohr, *sugarcane* 546  
 zufällige Spaltung von Polynukleotid-Strängen, *random scission of polynucleotide strands* 447  
 zulässige Strahlenbelastung, Probleme, *problems of permissible exposures* 616  
 2-Aminoäthanol, *2-aminoethanol* 401  
 Zwei-Bruchaberrationen, *two-break aberrations* 562  
 zweifache Ionisierung, *double ionization* 124  
 2-Methyl-1,4-Naphthalchinol-bis (Dinatriumphosphat), *2-methyl-1,4-naphthaquinol bis (disodium phosphate)* 370, 379, 396, 431  
 2-p-Jodphenyl-3-p-Nitrophenyl-5-Phenyl-Monotetrazoliumchlorid, *2-p-iodophenyl-3-p-nitrophenyl-5-phenyl-monotetrazolium chloride* 369  
 Zwei-Treffer-Kurve, *two-hit-curve* 5  
 Zwei-Treffer-Rückbildungen, *two-hit rearrangements* 536ff.  
 Zwei-Trefferwirkung, *two-hit effect* 519ff., 536ff.  
 2,4-Dinitrophenol 365  
 Zwiebel, *onion* 405, 419, 519  
 Zwillinge, *twins* 595  
 Zwischenferment, *intermediate ferment* 230  
 Zwischenmembranraum, *intermembranous space* 402  
 Zwitter-Ion, *dual ion* 149  
 Zyanid, *cyanide* 371  
 Zygoten-Stadium, *zygotene stage* 494, 576

## Subject Index

(English-German)

Where English and German spelling of a word is identical the German version is omitted

- abnormal nuclear sex in females, *abnormes Kerngeschlecht bei Weibern* 604
- abscopal reaction, *abscopale Reaktion* 363, 370, 422
- absolute measurement of radiation chemical yield, *Absolutmessung des strahlenchemischen Umsatzes* 80 ff.
- viscosity of water, *absolute Viskosität des Wassers* 63
- absorbed dose (rad), *absorbierte Dosis (rad)* 44 ff.
- dose, „*Energiedosis*“ 45 ff.
- absorption, event of, *Absorptionsergebnis* 273 ff.
- acatalasia, *Akatalasie* 390
- accidental radiation exposure, *Strahlenunfall* 308, 397, 399
- accumulated dose, *akkumulierte Dosis* 284, 285
- accumulation function, *Kumulationsfunktion* 284, 285
- of metabolites, temporary, *Akkumulation von Metaboliten, temporäre* 386 ff., 417
- of nucleotides and RNA, *Akkumulation von Nukleotiden und RNS* 380, 438
- accumulative action, *kumulative Wirkung* 5, 330
- doses, *kumulative Dosen* 330
- Acetabularia 491, 492
- acetaldehyde, *Acetaldehyd* 153
- acetic acid, *Essigsäure* 148, 149, 158 ff.
- aceto-acetic acid, *Azet-Essigsäure* 439
- acetone, *Azeton* 147, 150, 282
- acetyl-choline, *Azetylcholin* 391 ff.
- acetylcholinesterase, *Acetylcholinesterase* 392
- acetylene, *Azetylen* 122, 138
- achondroplasia, *Achondroplasie* 574, 601, 607, 610
- acid deoxyribonuclease, *saure Desoxyribonuklease* 387
- phosphatase, *saure Phosphatase* 388
- ribonuclease, *saure Ribonuklease* 388
- acid-soluble organic compounds, *säurelösliche organische Verbindungen* 439
- acids, *Säuren* 147 ff., 158 ff.
- actiniae*, *Actinien* 286
- Actinomycin D 365, 435
- action potential, *Aktionspotential* 289
- “activated water”, „*aktiviertes Wasser*“ 13, 84
- activation energy, *Aktivierungsenergie* 114 ff.
- of water, *Aktivierung von Wasser* 84
- actual dose rate, „*aktuelle Dosisleistung*“ 273, 276 ff., 327 ff.
- acute cytolysis, *akute Zellauflösung* 361
- LD<sub>50</sub>, *LD<sub>50</sub>, akute* 314
- radiation death, *akuter Strahlentod* 302
- — disease, *akute Strahlenkrankheit* 303, 306
- — mortality, *akute Strahlenmortalität* 304 ff.
- acyl phosphate, *Acyl-Phosphat* 440
- adaptation, *Anpassung* 298, 299
- additive effect, *additive Wirkung* 230, 231
- adenine, *Adenin* 415, 501, 513
- adenine-4-6-<sup>14</sup>C, *Adenin-4-6-<sup>14</sup>C* 416
- adenine-8-<sup>14</sup>C, *Adenin-8-<sup>14</sup>C* 410, 415 ff.
- adenocarcinoma, *Adenocarcinom* 338
- adenosine deaminases, *Adenosin-Desaminasen* 425
- diphosphate, *Adenosindiphosphat* 169
- monophosphate (AMP), *Adenosinmonophosphat (AMP)* 378
- triphosphate, *Adenosintriphosphat* 368, 392
- adipin acid, *Adipinsäure* 155
- adrenal glands, *Nebennieren* 389, 394, 395, 404
- adrenaline, *Adrenalin* 395 ff.
- aerobic conditions, *aerobische Bedingungen* 23
- AET 384, 391
- “after effects”, „*Nachwirkungen*“ 229, 384, 440, 448
- aggregates in globulin sols, formation of, *Aggregatebildung in Globulin-Sol* 407
- aggregation of protein, *Aggregation von Protein* 196, 197
- aging of exposed individuals, *Alterung bestrahlter Individuen* 590
- , premature, *Alterung, vorzeitige* 314, 315
- Agrostis stolonifera 30
- air/N<sub>2</sub> ratio, *Luft/N<sub>2</sub>-Verhältnis* 558 ff.
- ALAD 388
- Alanin 53 ff., 162 ff.
- Albers-Schönberg disease, *Albers-Schönbergsche Krankheit* 602
- albinism, *Albinismus* 603
- albumin, human serum, *Albumin, Humanserum* 196 ff.
- alcohol dehydrogenase, *Alkohol-Dehydrogenase* 217, 218, 231
- alcohols, *Alkohole* 146 ff., 157 ff.
- aldehyds, *Aldehyde* 147, 158
- Aldolase 230, 390
- aliphatic amino acids, *aliphatische Aminosäuren* 163
- hydrocarbons, *aliphatische Kohlenwasserstoffe* 133 ff., 153 ff.

- alkaline ribonuclease, *alkalische Ribonuklease* 388 ff.
- alkylating agents, *alkylierende Substanzen* 430
- alleles, *Allele* 490 ff.
- Allium cepa* 405, 516, 526, 565
- all-or-none destruction of specific combining groups, *Alles-oder-Nichts-Zerstörung von spezifischen sich verbindenden Gruppen* 216
- effect, *Alles-oder-Nichts-Effekt* 5, 20
- allyl alcohol, *Allylkohol* 187
- $\alpha$ -aminobutyric acid,  $\alpha$ -*Aminobuttersäure* 53 ff.
- $\alpha$ -amino-isobutyric acid,  $\alpha$ -*Aminoisobuttersäure* 54
- alpha-chymotrypsin, dual activity of, *alpha-Chymotrypsin, Dualaktivität* 228
- alpha-cytomembrane, *alpha-Cytomembran* 437, 438
- $\alpha$ -particle-action on DNA,  $\alpha$ -*Teilchenwirkung auf DNS* 207 ff., 375, 420 ff.
- $\alpha$ -particles, irradiation of enzymes by,  $\alpha$ -*Teilchenbestrahlung von Enzymen* 226, 227
- , irradiation of proteins,  $\alpha$ -*Teilchen-Bestrahlung von Protein* 198, 199
- , LET,  $\alpha$ -*Teilchen, LET* 240, 242
- alpha rays, *alpha-Strahlen* 21, 93, 140, 147 ff., 163, 211, 222, 226 ff., 240, 295, 535
- , irradiation of water with, *alpha-Strahlen, Bestrahlung von Wasser* 71 ff., 101, 183
- Amblyostoma-Larva 258
- amines, *Amine* 161, 162
- amino acids, *Aminosäuren* 31, 53, 149, 162 ff., 196 ff., 248, 397 ff., 433
- —, deamination of, *Aminosäuren, Deaminierung* 17, 18
- amino-aciduria, *Aminoacidurie* 397 ff.
- aminoethanol, *Aminoöthanol* 401
- aminopurine, *Aminopurin* 570
- ammonia coefficient, *Ammoniak-Koeffizient* 397
- AMP 427, 440
- anemia, *Anämie* 601, 605, 606
- anaerobic conditions, *anaerobische Bedingungen* 23
- glycolysis, *anaerobische Glykolyse* 369
- —, increase in radioresistance with increase of, *anaerobische Glykolyse, Anstieg der Strahlenresistenz bei Zunahme der* 553
- “anamnestic reaction”, *„anamnestische Reaktion“* 389
- Anaphase 291, 489 ff., 516 ff.
- aneuploid embryos, *aneuploide Embryonen* 575
- Aneurin 169
- anoxibiosis, *Anoxybiose* 271
- anoxic conditions, *Anoxie-Bedingungen* 22 ff., 32, 292, 320, 405, 420
- tumour cell systems, *anoxische Tumorzellsysteme* 375
- — cells, *anoxische Tumorzellen* 364, 375, 420
- anthranilic acid, *Anthranilsäure* 395
- antibodies, synthesis of, *Antikörpersynthese* 389
- antibody response, *Antikörperreaktion* 356, 358
- Antimycin A 370
- antiphlogistic irradiation, *Entzündungsbestrahlung* 303
- Antirrhinum 25
- aphid, *Blattlaus* 550
- appearance potential 56, 121 ff.
- arachnodac tyly, *Arachnodaktylie* 601
- Arbacia 523 ff.
- arginine, *Arginin* 201
- Argon 23
- aromatic amino acids, *aromatische Aminosäuren* 163, 164
- arousal reactions, *„Arousal-Reaktionen“* 302
- Artemia salina* 25
- artificial modification of radiation effects, *künstliche Modifizierung des Strahleneffekts* 556 ff.
- Ascaris, Askaris* 11, 271, 292, 489, 548
- ascites tumour, *Aszitestumor* 22 ff., 259, 373, 379, 409, 417 ff., 427 ff., 434
- ascorbic acid, *Askorbinsäure* 168
- — content of the adrenal gland, *Askorbinsäuregehalt der Nebenniere* 394, 395, 404
- aspartic acid, *Aspartinsäure* 398, 415
- Aspergillus* 500 ff., 514, 532, 540 ff.
- *nidulans* 500 ff.
- spores, *Aspergillussporen* 25, 496
- —, visible mutations in, *Aspergillussporen, sichtbare Mutationen* 560
- “associate-volume method”, *„Hilfsvolumen-Methode“* 7, 8
- ataxia, *Ataxie* 601
- atomic orbital, *Atomorbital* 116 ff.
- ATP 368 ff., 392, 396, 427 ff.
- synthesis, inhibition, *ATP-Synthese* 440
- ATP-ADP-fraction, *ATP-ADP-Fraktion* 439
- ATPase 369
- atropine, *Atropin* 396, 403
- A type cell as described by CASPERSSON and SANTESSON, *A-Typ-Zelle nach CASPERSSON und SANTESSON* 438, 439
- audiogenic seizures, *audiogene Anfälle* 403, 404
- autoxidation, *Autoxydation* 229, 407
- autofluorescence, *Autofluoreszenz* 380
- autogamy, *Autogamie* 545
- autoradiography, *Autoradiographie* 373, 417, 419 ff., 436
- autosomal recessive traits, *autosomale rezessive Erbanlagen* 603
- autosome, *Autosom* 529 ff.
- Auxin 368, 388, 389
- auxotrophic mutant, *auxotrophische Mutante* 501
- Azide 371
- azimuthal quantum number, *Azimutalquantenzahl* 110
- back mutation, *Rückmutation* 500 ff., 570
- —, biochemical, *Rückmutation, biochemische* 580
- —, fluorescent, *Rückmutation, fluoreszierende* 507
- reactions, *Rückreaktionen* 73
- bacteria, photosynthetic, *Leuchtbakterien* 283, 433
- bacterial chromosome, *Bakterien-Chromosom* 412
- bacteriophage, *Bakteriophage* 248, 261, 499 ff.
- , “lambda”, *Bakteriophage „lambda“* 533 ff.
- X 174, *Bakteriophage X 174* 423

- Bacterium cadaveris 432ff.  
 — luminiscence 283  
 — megaterium 186  
 — mesentericus 251  
 — subtilis 366  
 BAIBA 397ff.  
 —, metabolism of, *BAIBA-Stoffwechsel* 399  
 BAL 565  
 barley seeds, *Roggensamen* 25ff., 407, 560, 561  
 basalcell carcinoma of the skin, *Basalzellcarcinom der Haut* 361  
 base pair, *Basispaar* 513  
 behaviour, disturbances of, *Verhaltensstörungen* 286ff.  
 behavioural arousal, *Verhaltenserregung* 403  
 — characters, *Verhaltenscharakteristika* 594  
 Bendich procedure, *Bendich-Verfahren* 442  
 benzene, *Benzol* 139ff., 170  
 —, bromation of, *Benzol, Bromierung* 50  
 —, mass spectrometric measurements in, *Benzol, massenspektrometrische Messungen* 55, 56  
 — molecule, linkability, *Benzolmolekül, Bindungsverhältnisse* 118, 119, 132  
 benzoquinone, *Benzoquinon* 29  
 benzoyl-argininamide, *Benzoyl-Argininamid* 389  
 beta-aminoisobutyric acid (BAIBA), *Beta-aminoisobuttersäure* 397ff.  
 $\beta$ -galactosidase,  *$\beta$ -Galaktosidase* 432  
 $\beta$ -glucuronidase,  *$\beta$ -Glukuronidase* 388  
 $\beta$ -indole acetic acid,  *$\beta$ -Indolessigsäure* 168  
 $\beta$ -mercaptoethylamine,  *$\beta$ -Mercaptoäthylamin* 29  
 beta-radiation, induction of skin tumours by, *Betastrahlen, Induktion von Hauttumoren* 312, 313  
 bio-amines, *Bioamine* 396  
 biological immediate reaction, *biologische Sofortreaktion* 289  
 — radiation effect, *biologische Strahlenwirkung* 282  
 — time factor, „*biologischer Zeitfaktor*“ 272, 292  
 bioluminescence, *Bioluminescenz* 283  
 biophysical changes, *biophysikalische Veränderungen* 403, 404  
 biosynthesis of DNA, *Biosynthese der DNS* 423  
 biotin 501  
 biphasic type of curve, *biphasischer Kurventyp* 374  
 biradicals, *Biradikale* 53, 78, 96, 153  
 birefringe, *Doppeltbrechung* 441, 446  
 births, registration of, *Geburtenstatistik* 616  
 birthweight variations, *Geburtsgewichtsunterschiede* 595, 615  
 Blair's hypothesis, *Blairscher Ansatz* 285, 308  
 bivalents, *Bivalente* 494  
 blood, peripheral, *Blut, peripheres* 296ff., 305  
 Bohr, magneton of, *Bohrsches Magneton* 52  
 Bombyx mori 292  
 bond, covalent atomic, *Atombindung, covalente* 111  
 —, diamond, *Diamantbindung* 111  
 — energies, *Bindungsenergien* 115, 119ff., 136ff., 152ff.  
 —, metallic, *Bindung, metallische* 111  
 bone, growth of, *Knochenwachstum* 310, 313  
 bone marrow, *Knochenmark* 296ff., 307, 318, 365, 369, 371, 380, 417, 420  
 — tumours, human, *Knochentumoren, menschliche* 589ff.  
 boundary conditions, *Randbedingungen* 115, 116  
 bovine serum, *Rinderserum* 199ff.  
 — — albumin, *Rinderserumalbumin* 199ff., 369  
 brachydactyly, *Brachydaktylie* 601  
 Bragg-Gray principle, *Bragg-Gray-Prinzip* 45, 47  
 brain, *Gehirn* 386  
 — tissue, *Hirngewebe* 303, 304, 386  
 breakdown of DNA after irradiation, *Zerfall der DNS nach Bestrahlung* 427  
 Bremsstrahlung 240  
 British anti-lewisite (BAL) 565  
 broad bean, *Pferdebohne* 21ff., 251, 252, 257, 291, 356, 366, 373, 375, 410, 412, 414, 419  
 bromine, *Brom* 50, 96, 144, 145  
 bromodeoxyuridine, *Bromdesoxyuridin* 570  
 bromoform 156  
 bromouracil, *Bromurazil* 570  
 B type cell as described by CASPERSSON and SANTESSON, *B-Typ-Zelle nach CASPERSSON und SANTESSON* 438, 439  
 bufotenine, *Bufotenin* 396  
 “build-up periods”, „*Aufbauzeiten*“ 274  
 Bunsen-Roscoe's law, *Bunsen-Roskoessesches Gesetz* 271, 285  
 butadienes, *Butadiene* 127ff.  
 butanes, *Butane* 123ff., 282  
 butanol 157  
 butenes, *Butene* 126, 127  
 butyl alcohol, *Butylalkohol* 146  
 — bromide, *Butylbromid* 144, 145  
 — ion, *Butylion* 131  
 $^{14}\text{C}$ -adenine,  *$^{14}\text{C}$ -Adenin* 422  
 $^{14}\text{C}$ -ATP 425  
 $^{14}\text{C}$ -formate,  *$^{14}\text{C}$ -Formiat* 415ff.  
 $^{14}\text{C}$ -glutamic acid,  *$^{14}\text{C}$ -Glutaminsäure* 409  
 $^{14}\text{C}$ -glycine,  *$^{14}\text{C}$ -Glycin* 416  
 $2\text{-}^{14}\text{C}$ -glycine,  *$2\text{-}^{14}\text{C}$ -Glycin* 436, 439  
 $^{14}\text{C}$ -labelled thymine,  *$^{14}\text{C}$ -markiertes Thymin* 398  
 $^{14}\text{C}$ -leucine,  *$^{14}\text{C}$ -Leucin* 433  
 $^{14}\text{C}$ -lysine,  *$^{14}\text{C}$ -Lysin* 436  
 $^{14}\text{CO}_2$  399  
 $[6\text{-}^{14}\text{C}]$ -orotic acid,  *$[6\text{-}^{14}\text{C}]$ -Orotsäure* 377, 425, 429  
 $^{14}\text{C}$ -2-thymidine,  *$^{14}\text{C}$ -2-Thymidin* 375, 409ff.  
 $[2\text{-}^{14}\text{C}]$ -thymine,  *$[2\text{-}^{14}\text{C}]$ -Thymin* 399  
 $[5\text{-}^{14}\text{C}]$ -thymine,  *$[5\text{-}^{14}\text{C}]$ -Thymin* 399  
 calcium deficiency, *Calciummangel* 571  
 — ion, *Calcium-Ion* 383, 443, 449  
 calf thymus deoxyribonucleohistone, *Kälberthymus-Desoxyribonucleohiston* 441  
 — — nuclei, *Kälberthymuskern* 376, 447  
 Calliphora 286, 287  
 calorimetric measurement, *calorimetrische Messung* 81  
 cancer cell, nucleus of, *Krebszellkern* 435  
 cane sugar, *Rohrzucker* 168  
 capronic acid, *Capronsäure* 161

- carbon atom, linkability of, *Kohlenstoffatom, Bindungsverhältnisse* 117
- compounds, simplest, *Kohlenstoffverbindungen, einfachste* 121 ff.
- dioxide, *Kohlendioxyd* 399, 560
- monoxide, *Kohlenmonoxyd* 96, 560
- oxides, *Kohlenstoffoxyde* 121 ff.
- carbonate, *Carbonat* 415
- carbonyl groups, *Carbonylgruppen* 201 ff.
- carboxypeptidase 219 ff.
- carcinogenic radiation effect, *carcinogene Strahlenwirkung* 315
- carcinogenicity, *Carcinogenität* 572 ff.
- carcinoma of the bronchus, *Bronchialkarzinom* 32, 263
- of the cervix, *Cervixcarcinom* 334, 364, 438 ff.
- of the larynx, *Larynxcarcinom* 32, 333 ff.
- of the lungs, *Lungencarcinom* 340
- of oesophagus, *Oesophaguskarzinom* 32
- of pharynx, *Pharynxcarcinom* 32, 333, 337 ff.
- of skin, *Hautcarcinom* 325, 334 ff.
- of tonsil, *Tonsillenkarzinom* 32
- of the uterus, *Uteruscarcinom* 334
- casein 282
- castor oil, *Ricinusöl* 282
- catalase, *Katalase* 216, 220, 222 ff., 433 ff.
- inhibitors, *Katalasehemmer* 565
- , intranuclear, *Katalase, intra-nukleare* 390 ff.
- , nuclear, *Katalase, nukleare* 390, 391
- cataract, congenital, *Katarakt, congenitale* 601
- formation after irradiation, *Kataraktbildung nach Bestrahlung* 217, 312 ff., 360
- cathepsin, *Kathepsin* 387
- activation, *Kathepsin-Aktivierung* 216
- cat's paw, *Katzenpfote* 403
- cell cultures, *Zellkulturen* 281, 291, 293 ff.
- division, *Zellteilung* 251 ff., 410 ff., 487 ff., 547 ff., 586 ff.
- nucleus, loss of sodium and potassium from, *Zellkern, Verlust von Natrium und Kalium* 372
- population dynamics, *Zellpopulation, Dynamik* 590 ff.
- refractometry, *Zellrefraktometrie* 381
- cellular kinetics, *Zellkinetik* 294 ff.
- permeability, *Zellpermeabilität* 289, 303
- radiation effect, *celluläre Strahlenwirkung* 281 ff., 285 ff., 308
- cellulose, *Zellulose* 210
- central nervous radiation syndrome, *zentral-nervöses Strahlensyndrom* 304, 307
- centriole, *Zentriol* 490 ff.
- centromere, *Zentromer* 488 ff.
- “centromeres”, diffuse, *Zentromeren, diffuse* 544, 548 ff.
- centrosome, *Zentrosom* 490 ff.
- cerebellum, *Kleinhirn* 304
- cerebral tumour, *Hirntumor* 32
- cerium, *Cer* 97 ff.
- chain reaction, *Kettenreaktion* 113 ff.
- characteristic, time, „*Kennzeit*“ 287
- duration of change in state, *charakteristische Dauer der Zustandsänderung* 275
- characters, continuously variable, *Charakteristika, fortgesetzt veränderliche* 580 ff.
- , quantitative, *Charakteristika, quantitative* 594, 615
- charge carriers with determinate life time, *Ladungsträger mit endlicher Lebensdauer* 74
- neutralisation, *Ladungsneutralisation* 2
- transfer, *Ladungsübertragung* 105
- transport, *Ladungstransport* 133, 142
- charged intermediates, *geladene Intermediärprodukte* 73
- chelating agents, *Chelatbildner* 187
- chemical carcinogenes, *chemische Carcinogene* 572, 573
- changes in DNA, *chemische Veränderungen in der DNS* 205 ff., 359 ff.
- dose measurement, *Dosismessung auf chemischem Wege* 78, 246
- methods of proof in radiation chemical processes, *chemische Nachweisverfahren strahlen-chemischer Umsätze* 47 ff., 78 ff.
- radioprotective agents, *chemische Strahlenschutzstoffe* 165, 188, 261, 385 ff., 395 ff.
- radiosensitizers, *chemische Radiosensibilatoren* 32, 33, 223 ff., 356, 364 ff.
- chemoreceptor 288
- chiasmata 494 ff.
- chick embryo, *Hühnerembryo* 357, 416
- chicken fibroblast, *Hühnerfibroblast* 290, 409
- heart fibroblasts, *Hühnerherzfibroblasten* 253, 295
- children born in Hiroshima und Nagasaki, *Kinder aus Hiroshima und Nagasaki* 595 ff., 610
- — to irradiated parents, *Kinder bestrahlter Eltern* 595 ff.
- chimaeras, *Schimären* 511 ff.
- Chinese hamster, *chinesischer Hamster* 318, 411, 414
- Chlamydomonas 526
- chloral hydrate, *Chloralhydrat* 156
- chloramphenicol 433
- chlorbenzene, *Chlorbenzol* 154, 156 ff.
- chlorine, splitting off of, *Chlorabspaltung* 150 ff.
- chloroform 143, 144, 150 ff.
- chloroplast 525
- cholesterol 357 ff.
- cholinesterase 391 ff.
- chondrosarcoma, *Chondrosarkom* 32
- Chortophaga 518, 522 ff., 574
- chromatid aberrations, *Chromatidaberrationen* 375, 558 ff.
- deletion, *Chromatid-Auslöschung* 558
- exchange, *Chromatid-Austausch* 558
- chromatids, *Chromatide* 488 ff.
- radiation-induced breaks in, *Chromatidbrüche, strahleninduzierte* 5, 21, 22
- chromatography, *Chromatographie* 49
- chromonemata 488
- „chromosin“ 382, 443
- chromosomal anomalies, *Chromosomen-Anomalien* 606
- genes, *chromosomale Gene* 490 ff.
- mutation, *Chromosomenmutation* 249 ff., 491 ff.

- chromosome, *Chromosom* 488ff.  
 — aberrations, *Chromosomenaberrationen* 21, 22, 25, 251, 317ff., 362, 492ff., 534ff., 574ff.  
 — break, number of ionizations required to produce, *Chromosomenbruch, Anzahl der hierzu erforderlichen Ionisationen* 521  
 — breakage, *Chromosomenbruch* 21, 250ff., 274, 318, 362, 422, 487ff., 574ff.  
 — — and reunion, *Chromosomenbrüche und Wiedervereinigung* 516ff.  
 — breaks, time over which — remain open, *Chromosomenbrüche, Dauer ihres Offenseins* 521  
 — — which reconstitute, proportion of, *Chromosomenbrüche, Anteil der sich restituierenden* 520ff.  
 — bridges, *Chromosomenbrücken* 543ff.  
 — changes, frequency of, *Chromosomenveränderungen, Häufigkeit* 21, 250ff., 491ff.  
 — fragments, *Chromosomenfragmente* 561  
 —, metacentric, *Chromosom, metazentrisches* 434  
 — number, *Chromosomenzahl* 544  
 — size, *Chromosomengröße* 544  
 — stickiness, *Chromosomenverklumpung* 523, 543, 569ff.  
 chromosomes, reunion of, *Chromosomenwiedervereinigung* 27, 28, 437ff., 564  
 „Chromosomin“ 382  
 chronaxy, *Chronaxie* 287  
 chronic gamma irradiation of mice, *chronische Gammabestahlung von Mäusen* 592  
 — — — of plants, *chronische Gamma-bestahlung von Pflanzen* 532  
 — lymphatic leukaemia, *chronische lymphatische Leukämie* 367, 398ff.  
 — myeloid leukemia, *chronische myeloische Leukämie* 367, 368, 397  
 — radiation, influence of, *chronische Strahlen-einwirkung* 257  
 chrysanthemum 545  
 chymotrypsin 228, 231, 384  
 cicatricial plates after electron irradiation, *Narbenplatten nach Elektronenbestahlung* 263  
 citrate, *Zitrat* 370ff.  
 citric acid, *Zitronensäure* 439  
 — — cycle, *Zitronensäurezyklus* 370  
 CLB method, *CLB-Methode* 530  
 cleft palate, *Gaumenspalte* 605  
 clinical application of oxygenation in radiotherapy, *klinische Anwendung von Sauerstoff in der Strahlentherapie* 31ff.  
 cloud chamber, *Nebelkammer* 2, 3, 8  
<sup>60</sup>Co gamma rays, irradiation of benzene with, *<sup>60</sup>Co, Bestahlung von Benzol* 140  
 coat colour gene loci, *Fellfarben-Genorte* 591ff.  
 — — mutation in mice, *Fellfarben-Mutation bei Mäusen* 537ff., 580  
 coenzyme A, *Coenzym A* 26  
 coenzyme I, *Coenzym I* 224, 358  
 coiling, *Knäuelbildung* 184  
 colchicine, *Colchizin* 565  
 cold, mutagenic effect of, *Kälte, mutagener Effekt* 571  
 colloidal gold, *kolloidales Gold* 406  
 — graphite particles, *kolloidale Graphitteilchen* 406  
 colloids, *Kolloide* 406, 407  
 colobomata 601  
 colony morphology mutations, *morphologische Koloniemutationen* 537, 548, 571  
 colorimetry, *Colorimetrie* 50  
 colour blindness, *Farbblindheit* 610  
 Colpidium 11  
 compensations, *Kompensationen* 304, 309  
 complex formation with DNA, *Komplexbildung mit DNS* 435  
 concentration effect, *Konzentrationseffekt* 248, 252  
 “— poison”, „*Konzentrationsgift*“ 274  
 conditioned aversion to saccharin, *bedingte Aversion gegen Saccharin* 403  
 — reflexes, *bedingte Reflexe* 403  
 conductivity, *Leitfähigkeit* 51  
 — bands, *Leitfähigkeitsbänder* 111  
 — measurement, *Konduktometrie* 50, 51, 74  
 “confluent dose”, „*Konfluenzdosis*“ 276ff.  
 congenital abnormalities, *angeborene Mißbildungen* 594ff.  
 conjugated enzymes, *konjugierte Enzyme* 227, 228  
 connective tissue, reaction of, *Bindegewebsreaktion* 263  
 consanguineous matings, *Blutsverwandten-Ehen* 613ff.  
 consecutive reaction, *Folgereaktion* 230  
 “constitutional” disorders, „*konstitutionelle Krankheiten*“ 605ff.  
 contact irradiation, *Kontaktbestahlung* 327, 337  
 control mechanism, *Regelmechanismen* 283  
 copy error theory, „*Kopier-Irrtums-Theorie*“ 508ff.  
<sup>60</sup>Co rays, *<sup>60</sup>Co-Strahlung* 21, 25, 26, 48, 80, 101, 275, 364, 592  
 cornea 290, 318, 360  
 corticoid-like substances, *Corticoid-ähnliche Substanzen* 401  
 cortisone, *Cortison* 361  
 coupled reaction, *Paarreaktion* 230  
 coupling, *Koppelung* 117  
 — energies, *Koppelungsenergien* 117  
 cousin-marriages, *Vettern-Ehen* 613ff.  
 Crepis capillaris 561  
 crystalline enzyme, *kristalline Enzyme* 216  
 Crocker mouse sarcoma, *Crocker-Sarkom der Maus* 373  
 cross sections, *Wirkungsquerschnitte* 247  
 crossing over, *Chiasmotypie, Faktorenaustausch* 495ff.  
 — —, induced, *Faktorenaustausch, induzierter* 522  
 crosslinking of DNA, *Crosslinking der DNS* 205ff.  
 — of flexible molecules, *Crosslinking beweglicher Moleküle* 184ff.  
 —, inter-molecular, *Crosslinking, inter-molekulares* 184ff., 191

- crosslinking, intra-molecular, *Crosslinking, intra-molekulares* 191, 192  
 — of nucleoprotein, *Crosslinking von Nukleoprotein* 208ff.  
 — of proteins, *Crosslinking von Proteinen* 197ff.  
 — of synthetic polymers, *Crosslinking synthetischer Polymere* 189ff.
- crossover mapping, *Faktorenaustausch, Lokalisation* 500ff.  
 "Crossover unit", „*Faktorenaustausch-Einheit*“ 495
- crustacean, *Crustaceen* 286
- CsCl gradient centrifugation, *CsCl-Gradient-Zentrifugierung* 366
- cyanide, *Zyanid* 371
- cyclohexane, *Cyclohexan* 139ff.
- cyclohexanon 154
- cyclohexyl, *Cyclohexen* 139ff.
- CyL technique, *CyL-Technik* 584
- cystamine, *Cystamin* 187
- cysteamine, *Cysteamin* 164, 165, 208ff., 393, 395, 418, 422
- cysteic acid, *Cysteinsäure* 398
- cystine, *Cystin* 54, 165, 187, 201, 398
- cysteine, *Cystein* 149, 163ff., 215ff., 406, 418, 565  
 — hydrochloride, *Cysteinhydrochlorid* 407  
 — monohydrate, *Cystein-Monohydrat* 53ff.
- cytidine, *Cytidin* 415, 424  
 — phosphate, *Cytidin-Phosphat* 430
- cytochrome, *Cytochrom* 369, 401  
 — c reductase, *Cytochrom-c-Reductase* 230  
 — reductase, *Cytochrom-Reductase* 217
- cytogene, *Cytogen* 492
- cytoplasmic basophilia, *cytoplasmatische Basophilie* 438  
 — inheritance, *Vererbung, cytoplasmatische* 492ff.  
 — particles, *cytoplasmatische Körper* 525ff.  
 — solids, *cytoplasmatische Feststoffe* 381  
 — streaming, *Cytoplasmaströmung* 526
- cytosine, *Cytosin* 513
- D<sub>37</sub> 364ff., 414, 417, 421, 432ff., 441, 448
- daddy-long-legs, *Weberknecht* 420
- Dahlbominus 526, 545
- d-aminoacid-oxidase, *d-Aminosäure-Oxydase* 227
- Datura 540
- deafness, *Taubheit* 601
- death of cells, *Zelltod* 251, 290, 292, 297, 448, 524, 586ff.  
 —, mechanism of, *Letalmechanismus* 297
- De Broglie wave, length of, *De Broglie Wellenlänge* 68
- decolorization reaction, *Entfärbungsreaktion* 165ff.
- degenerative changes of cells, *degenerative Zellveränderungen* 292  
 — late radiation damages, *degenerative Strahlenspättschäden* 314ff.
- degradation of synthetic polymers, *Abbau synthetischer Polymere* 189ff.
- delayed killing, *verzögerte Tötung* 366  
 — — of cells, *verzögerte Zelltötung* 413ff., 448
- deleterious mutations, *deletäre Mutationen* 577ff.
- delta-aminolaevulinic acid dehydrase, *delta-Amino-Fruchtsäure-Dehydrase* 388
- delta rays, *delta-Strahlen* 8ff., 227
- denaturation, *Denaturierung* 197, 200, 215ff.  
 — agents, *Denaturierungsmittel* 215
- densely ionizing radiation, *dicht ionisierende Strahlung* 275, 295, 314ff., 540ff.  
 — — — effects on enzymes, *dichtionisierende Strahlung, Wirkung auf Enzyme* 226, 227
- density of absorbed energy, *Dichte der absorbierten Energie* 275
- deoxycytidine, *Desoxycytidin* 399, 400, 426  
 — diphosphate, *Desoxycytidindiphosphat* 424  
 — monophosphate, *Desoxycytidinmonophosphat* 424  
 — phosphate, *Desoxycytidinphosphat* 430  
 — triphosphate, *Desoxycytidintriphosphat* 439
- deoxycytidylate (dCMP) deaminase, *Desoxycytidylat (dCMP)-Desaminase* 425
- deoxycytidylic acid, *Desoxycytidylsäure* 415, 423, 426
- deoxynucleoside triphosphate, *Desoxynucleosid-triphosphate* 427
- deoxynucleotides, *Desoxynucleotide* 426
- deoxyribonucleic acid, *Desoxyribonukleinsäure* 10, 169, 203ff., 355ff., 402, 408ff., 513ff.
- deoxyribonucleohistone, *Desoxyribonucleohiston* 446
- deoxyribonucleoprotein, *Desoxyribonucleoprotein* 445
- deoxyribonucleoprotein gels, *Desoxyribonucleoprotein-Gele* 385, 443, 445ff.  
 — system of the nucleus, *Desoxyribonucleoproteinsystem des Kerns* 434
- deoxyribonucleoside triphosphate, *Desoxyribonucleosid-Triphosphate* 423ff.
- deoxyribonucleosides, *Desoxyribonucleoside* 380, 423, 426, 438ff.
- deoxyribonucleotides, *Desoxyribonucleotide* 380, 424, 438ff.
- deoxyribopolynucleotides, *Desoxyribopolynucleotide* 380, 438
- deoxyribose, *Desoxyribose* 400, 439  
 — content of rat liver, *Desoxyribosegehalt der Rattenleber* 400
- deoxyuridine monophosphate, *Desoxyuridinmonophosphat* 439
- depolymerisation of mucopoly-saccharides, *Depolymerisation von Mucopolysacchariden* 385, 386, 449
- depression of tracer iron uptake, *Depression von Tracer-Eisenaufnahme* 392, 393
- dermal necrosis, *Hautnekrose* 325
- dermatitis, second degree, *Dermatitis II.Grades* 330
- dermis 385
- desoxyribonucleotides, mono- and triphosphorylated, *Desoxyribonucleotide, mono- und triphosphorylierte* 439
- deuterons, irradiation of benzene with, *Deuteronen, Bestrahlung von Benzol* 140

- deuterons, LET, *Deuteronen*, LET 240, 242, 252
- developmental malformations, *entwicklungsmäßige Mißbildungen* 604ff.
- diabetes insipidus 601, 603
- mellitus 605
- diakinesis, *Diakinese* 494
- diaphorase 392
- dielectric constants, *Dielektrizitätskonstanten* 58
- diepoxides, *Diepoxyde* 569
- diethyl sulphate, *Diäthylsulfat* 569
- differential ionization, *differentielle Ionisation* 238
- blood picture, *Differentialblutbild* 298
- dihyronicotinamide derivatives, *Dihydro-nicotinamid-Derivate* 401
- diodotyrosine, *Dijodtyrosin* 49
- “dilution effect”, *Verdünnungseffekt* 14ff., 82, 246
- dimerization, *Dimerisation* 133ff., 158ff.
- dinitrophenol 371
- diploid 489, 545ff.
- diplotene stage, *Diploten-Stadium* 494, 576
- Diptera 420
- direct action on DNA, *Direktwirkung an DNS* 207ff.
- — on polymers, *Direktwirkung an Polymeren* 192ff.
- — on proteins, *Direktwirkung auf Proteine* 199ff.
- — theory, *Direktwirkungstheorie* 1, 3ff., 28, 508ff.
- hit action, *direkte Trefferwirkung* 3ff., 16, 109, 183ff., 508ff.
- and indirect effects of ionizing radiations, history, *direkte und indirekte Wirkungen ionisierender Strahlen*, *Geschichte* 1ff.
- radiation effect, *direkte Strahlenwirkung* 242
- disappearance rate, plasma iron, *Schwundrate des Plasmaeisens* 393
- Dische-positive substances, *Dische-positive Substanzen* 400
- disruption of secondary structure, *Spaltung der Sekundärstruktur* 185
- dissociation energy, *Dissoziationsenergie* 65ff., 113, 120
- distance over which rejoining may occur, *Wiedervereinigungs-Abstand* 518ff.
- disulphide bonds, available, *Disulfidbindungen, verfügbare* 197, 199
- group, mixed, *Disulfidgruppe, gemischte* 189
- division cycle, *Teilungszyklus* 408ff.
- cycle, duration of phases of, *Teilungszyklus, Dauer der Phasen* 410ff.
- lag, *Teilungsverzögerung* 523ff.
- DNA, *DNS* 10, 169, 203ff., 355ff., 402, 408ff., 513ff.
- associated with crystalline yeast lactic dehydrogenase, *DNS, vereint mit kristalliner Hefe-Milchsäuredehydrogenase* 431
- content of tumour cells, *DNS-Gehalt von Tumorzellen* 364, 415ff.
- , cytoplasmic, *DNS, cytoplasmatische* 420
- dependent RNA polymerase, *DNS-abhängige RNS-Polymerase* 435
- DNA of different radiosensitivity, fractions of, *DNS-Fraktionen unterschiedlicher Strahlenempfindlichkeit* 412, 442
- , role of in effects of ionizing radiation on the metabolism of normal tissues and malignant tumours, *DNS, Wirkung auf den Stoffwechsel normaler bestrahlter Zellen und maligner Tumoren* 408ff.
- , extractable, *DNS, extrahierbare* 381, 443
- fibres, oriented, *DNS-Fasern, orientierte* 402
- , formation of new, *DNS-Neubildung* 409, 416
- , fractionation of, *DNS, Fraktionierung* 442
- , labilization of, *DNS-Labilisierung* 381ff.
- after lethal irradiation, injection of native, *DNS, native, Injektion nach letaler Bestrahlung* 441
- nucleotidyl transferase, *DNS-Nukleotidyl-Transferase* 427
- precursors, incorporation, *DNS-Vorstufen, Einbau* 372ff., 418ff.
- replication, *DNS-Replikation* 412
- , reutilization of, *DNS, Reutilisation* 440
- , single-stranded, *DNS, einsträngige* 423, 447
- in situ, damage to, *DNS-Schädigung in situ* 434
- supramolecular structures, *supramolekulare DNS-Strukturen* 367, 383
- synthesis, *DNS-Synthese* 298ff., 357ff., 373ff., 408ff.
- —, acceleration of, *DNS-Synthese, Beschleunigung* 419
- — in leukaemic mice, *DNS-Synthese in leukämischen Mäusen* 427
- —, initiation of, *DNS-Synthese, Inangansetzung* 422, 424ff.
- —, morphological study, *DNS-Synthese, morphologische Studie* 423
- template, *DNS-Schablone* 372, 418, 423
- , two types of, *DNS, zwei Arten von* 418
- DNA<sub>1</sub>, *DNS<sub>1</sub>* 418ff., 442
- DNA<sub>2</sub>, *DNS<sub>2</sub>* 418ff., 442
- DNA-ases, *DNS-asen* 383ff., 443, 447
- , liberation, *DNS-asen, Freisetzung* 443
- DNA-dependent RNA synthesis, *DNS-abhängige RNS-Synthese* 365
- DNA-polymerase, *DNS-Polymerase* 356, 423ff., 447
- DNA-protein complex of the nucleus, macromolecular, *DNS-Proteinkomplex des Kerns, makromolekularer* 431
- DNase 231
- DNAase II 387
- DNH 446
- DNP 381ff., 427ff.
- DOCA 362
- dog, *Hund* 395
- dominant allele, *dominantes Allel* 492
- gene mutations, *dominante Gen-Mutationen* 577
- lethal changes, *dominante Letalveränderungen* 574ff.
- mutant traits, *dominant mutierende Erbanlagen* 601ff.
- sterility, *dominante Sterilität* 577

- donkey, *Esel* 304, 305  
dopamine, *Dopamin* 396  
dose of ionizing photon radiation, *Dosis ionisierender Photonenstrahlung* 42  
— rate, dependance of yield on, *Dosisleistung, Abhängigkeit des Umsatzes* 84  
— — effects on yield of mutations, *Dosisleistung und Mutationsrate* 592  
— — and fractionation effect, *Dosisleistung und Fraktionierungseffekt* 538ff.  
— — and RBE, *Dosisleistung und RBW* 256ff.  
— — and survival time, *Dosisleistung und Überlebenszeit* 304  
dose-effect curve, *Dosiswirkungskurve* 4, 16, 261ff., 278ff., 321, 530ff., 587ff.  
— —, exponential, *Dosiswirkungskurve, exponentielle* 4, 15ff., 261, 280, 432ff.  
— relationships, *Dosis-Wirkungsbeziehungen* 529  
dose-modifying factor, *Dosis-modifizierender Faktor* 20ff.  
dose-multiplying factor, *Dosismultiplikationsfaktor* 294, 311  
dose-rate-curves, *Dosisleistungskurven* 262  
dose-response curve, linear, *Dosis-Wirkungskurve, lineare* 530ff., 587ff.  
— — for the inhibition of synthesis of DNA, *Dosis-Wirkungskurven für die Hemmung der DNS-Synthese* 374ff., 417ff.  
dosimetric principles in radiation chemistry, *dosimetrische Grundlagen der Strahlenchemie* 43ff.  
double bond, *Doppelbindung* 118ff.  
— ionization, *zweifache Ionisierung* 124  
doubling dose for man, *Verdopplungsdosis, Mensch* 608ff.  
— doses in mice, *Verdopplungsdosis, Maus* 581, 591ff.  
— doses in drosophila, *Verdopplungsdosis, Drosophila* 581  
— time, *Verdopplungszeit* 410ff.  
Down's syndrome, *Down's Syndrom* 603ff.  
DPNH 429  
NADH<sub>2</sub> (DPNH) 370, 401, 430  
DPPH 29  
Drosophila melanogaster 6, 11, 12, 21, 249, 250, 258, 261, 275, 292ff., 315ff., 445, 491ff., 529ff.  
Drosophilapopulation, *Drosophila-Population* 584ff.  
Drosophila sperm, *Drosophila-Samen* 531ff.  
— virilis 509  
dry matter, *Trockenmasse* 29  
dual ion, *Zwitter-Ion* 149  
duplication-deficiency gametes, *verdopplungs-unfähige Gameten* 576  
duplications, *Verdoppelungen* 575  
Dupuytren's contracture, *Dupuytren'sche Kontraktur* 601  
dyes, *Farbstoffe* 165  
ear anomalies, *Ohranomalien* 601  
Earle's L cells, *Earle's L Zellen* 409  
— L-mouse strain, *Earle's L-Mäusestamm* 379  
— mouse fibroblast cells, radioresistant and radiosensitive colonies of, *Earle's L-Mäuse-fibroblastenzellkulturen, strahlenresistente und strahlenempfindliche* 554ff.  
early effects, RBE for, *Früheffekte, RBW für* 258  
earthworm, *Regenwurm* 405  
*E. coli* chromosome, *E. coli-Chromosom* 412, 504ff.  
ECTEOA Cellulose 442  
ED<sub>50</sub> 393  
edema, temporary, *Ödem, temporäres* 386  
EEG 302, 304, 404  
— in dogs, *EEG von Hunden* 404  
— in rabbits, *EEG von Kaninchen* 404  
— in rats, *EEG bei Ratten* 404  
effects of irradiation in vitro on DNA and nucleoproteins, *Strahlenwirkung in vitro auf DNS und Nukleoproteine* 445ff.  
— — — in vivo on DNA and nucleoproteins, *Strahlenwirkung in vivo auf DNS und Nukleoproteine* 441ff.  
— of small doses of radiation on the nervous system, *Wirkung kleiner Strahlendosen auf das Nervensystem* 403, 404  
egg albumin, *Eialbumin* 282  
Ehrlich ascites carcinoma cells, radioresistant, *Ehrlich-Aszites-Carcinomzellen, strahlenresistente* 553  
— carcinoma of the mouse, radioresistant strain of the, *Ehrlich-Carcinom der Maus, strahlenresistenter Stamm* 417  
— mouse-ascites tumour, *Ehrlich-Aszites-Tumor der Maus* 22ff., 31, 259, 373, 379, 409, 417ff., 427ff.  
eigenvalue of wave function, *Eigenwerte der Wellenfunktion* 115ff.  
8-ethoxycaffeine, *8-Äthoxycoffein* 23, 569  
8-hydroxyquinoline, *8-Hydroxychinolin* 29  
8,3 A Roentgen rays, *8,3 A Röntgenstrahlen* 362  
(8,3-diethylaminopropylamino-6-methoxyquinoline)dihydroiodide, *(8,3-Diäthylamino-propylamino-6-methoxy-chinolin)-dihydrojodid* 398  
electivity, *Elektivität* 262ff., 338  
electric birefringence, *elektrische Doppeltbrechung* 441, 446  
— dipole moment, *elektrisches Dipolmoment* 58ff.  
electrical potential differences, *elektrische Potentialunterschiede* 405  
electroencephalogram, *Elektroencephalogramm* 302, 304, 404  
electrolytes, *Elektrolyte* 51  
—, equilibrium of, *Elektrolytgleichgewicht* 289  
electron irradiation, erythema caused by, *Elektronenergthem* 263, 329  
— pairs, formation of, *Elektronenpaarbildung* 111  
— spin, *Elektronenspin* 52ff., 112, 132  
— — resonance, *Elektronenspin-Resonanz* 29ff., 52, 149, 203, 208ff., 407, 408  
— transport chain, *Elektronentransportkette* 370  
electrons, fast, *Elektronen, schnelle* 240, 295, 328, 333, 340  
—, free, *Elektronen, freie* 73  
—, hydrated, *Elektronen, hydratisierte* 14, 183, 243

- electrons, irradiation of benzene with, *Elektronenbestrahlung von Benzol* 140, 141  
 —, migration of, *Elektronenwanderung* 195  
 —, solvated, *Elektronen, solvatisierte* 14, 183, 243  
 —, stimulation of, *Elektronenanregung* 68, 149  
 —, thermalized, *Elektronen, thermalisierte* 107  
 —, unpaired, *Elektronen, ungepaarte* 29, 53, 105, 113
- electronmicroscopical studies, *elektronenmikroskopische Untersuchungen* 401, 402, 437, 438, 442
- electrophoresis, *Elektrophorese* 49
- electrophoretic velocity, *elektrophoretische Geschwindigkeit* 406
- electroretinogram, *Elektroretinogramm* 286, 287, 404
- Elkind, phenomenon of, *Elkind-Phänomen* 293ff., 307, 320, 321
- embryonic development, *Embryonalentwicklung* 309ff., 575  
 — tissue, normal, *embryonales Normalgewebe* 379
- endoplasmatic reticulum, *endoplasmatisches Retikulum* 402
- endothermal reaction, *endotherme Reaktion* 114
- energy transfer, *Energieübertragung* 209  
 — — in solid polymers, *Energieübertragung in festen Polymeren* 29, 188  
 — transport, *Energietransport* 83, 141, 275
- enzymatic synthesis of DNA, *enzymatische Synthese der DNS* 423
- enzyme activation, *Enzymaktivierung* 387  
 — activity after irradiation with small doses, decrease in, *Enzymaktivität, Abfall nach kleinen Strahlendosen* 389ff.  
 — inactivation, *Enzyminaktivierung* 211  
 — induction, stimulation of, *Enzym-Induktion, Stimulierung* 387  
 — reaction, coenzyme-coupled, *Enzymreaktion, Coenzym-gekoppelte* 231  
 — “release”, „*Enzymfreisetzung*“ 387, 389  
 — systems, interrelated, *Enzymesysteme, querverbundene* 229ff.
- enzymes, *Enzyme* 187ff., 283ff., 427, 435, 449  
 —, bifunctional, *Enzyme, bifunktionelle* 228ff.  
 —, crystalline, *Enzyme, kristalline* 216, 247  
 —, denaturation of, *Enzymdenaturierung* 215ff.  
 — and enzyme systems after irradiation, increase in the activity of certain, *Enzyme und Enzymsysteme, Steigerung der Aktivität nach Bestrahlung* 386ff.  
 —, radiation effects on, *Enzyme, Strahlenwirkungen auf* 214ff.  
 —, radiation sensitivity of, *Enzyme, Strahlenempfindlichkeit* 11  
 —, radiation yields, *Enzyme, Bestrahlungs- ausbeute* 219ff.
- enzymic characteristics, modification of, *Enzymcharakteristiken, Änderung* 228ff.
- eosin 50  
 — methylene blue, *Eosin-Methylenblau* 511ff.
- epidermitis exsudativa 325
- epidermoidal tumours, *Epidermoidtumoren* 334
- epilation 331  
 — dose, *Epilationsdosis* 327
- epilepsy, idiopathic, *Epilepsie, idiopathische* 605
- epipharynx, tumours of the, *Epipharynx-tumoren* 334ff.
- equational division, *Equationsteilung* 496
- equilibrium, *Gleichgewicht* 72, 75
- equivalent residual dose (ERD), *Residualdosis, äquivalente* 308
- ergosterol, *Ergosterin* 282
- erythema, *Erythem* 258, 262, 322ff.  
 — dose, *Erythemdosis* 325ff.  
 — meter, *Erythemmesser* 330
- erythropoietin 394
- erythrocytes, *Erythrocyten* 392ff.
- Escherichia coli* 21, 22, 27, 251, 252, 259, 366, 424, 427, 432ff., 502, 504ff., 568ff.  
 — —, resistant mutants of, *Escherichia coli, resistente Mutanten* 550ff.
- ESR 29ff., 52, 149, 203, 208ff., 407, 408
- ESR-spectrography, *ESR-Spektrographie* 407
- ester sulphuric acids, *Schwefelsäureester* 358
- esterase activity, *Esteraseaktivität* 228, 229
- E 39 437
- ethane, *Äthan* 122, 124, 134, 135, 153
- ethanol, *Äthanol* 55, 146, 150, 157, 224
- ether, *Äther* 147
- ethyl alcohol, *Äthylalkohol* 146, 155  
 — benzene, *Äthylbenzol* 141
- ethylamine, *Äthylamin* 161, 162, 187
- ethylene, *Äthylen* 118, 122, 152ff.  
 — bromide, *Äthylenbromid* 155  
 — oxide, *Äthylenoxyd* 569
- ethylenimine, *Äthylenimin* 569
- euchromatin 562
- excited state, *Erregungszustand* 2
- exciton 449
- exophthalmic goiter, *Struma-Exophthalmus* 605
- exothermal reaction, *exotherme Reaktion* 114, 142
- exponential curves, pure, *Exponentialkurven, reine* 261  
 — survival curve, *exponentielle Überlebenskurve* 4, 15
- exposure, „*Expositions*“-*Dosis* 44
- extrapolation number, *Extrapolationszahl* 320, 364, 433, 448
- extremely fractionated irradiation, *extrem fraktionierte Bestrahlung* 323ff., 340
- eye, *Auge* 314, 503ff.  
 — colour mutation, *Augenfarbenmutation* 503ff., 541, 543  
 — lens, *Augenlinse* 254, 264
- “fade-out periods”, „*Abklingzeiten*“ 274
- fast electrons, LET, *schnelle Elektronen, LET* 240
- fatty acids, *Fettsäuren* 147ff., 158ff.  
 — —, reaction products after  $\alpha$ -irradiation, *Fettsäuren, Reaktionsprodukte nach Bestrahlung mit  $\alpha$ -Strahlen* 148
- <sup>55</sup>Fe 80
- <sup>59</sup>Fe 80, 392ff.
- <sup>59</sup>Fe-uptake into erythrocytes, depression of, *<sup>59</sup>Fe-Aufnahme in Erythrocyten, Depression* 393

- feedback processes, *Rückkopplungsvorgänge* 283  
fern spores, *Farnsporen* 525  
fertility, *Fertilität* 300ff., 307, 310  
—, reduction of, *Fertilitätsminderung* 254  
Feulgen-positive nuclear body, *Feulgen-positive Kernkörper* 420  
Feulgen-staining, *Feulgen-Färbung* 379, 436  
fibroblasts, cultures of, *Fibroblastenkulturen* 290, 292, 421, 437  
fibrosarcoma, *Fibrosarkom* 319  
“50% -effect”, „50% -Effekt“ 359, 415, 416, 449, 526  
50 per cent inhibition of synthesis of DNA, *50% -Hemmung der DNS-Synthese* 415ff.  
first interval  $G_1$ , *erstes Intervall  $G_1$*  373ff., 410ff., 422ff.  
— resting phase, *erste Ruhepause* 411  
5-adenylic acid, *5-Adenylsäure* 396  
5-bromodeoxyuridine, radiosensitization by, *5-Bromodesoxyuridin, Steigerung der Strahlensensibilität durch* 364ff., 408, 434  
5-bromouracil, *5-Brom-Urazil* 366, 408, 434  
5-fluoro-deoxyuridine, *5-Fluor-Desoxyuridin* 365, 425, 428  
5-fluorouracil 365, 425  
5-fluorouridine, *5-Fluoruridin* 425  
5-hydroxyindolacetic acid, *5-Hydroxyindol-essigsäure* 396, 400  
5-hydroxyindolaceticuric acid, *5-Hydroxyindol-acetharnsäure* 396, 400  
5-hydroxy-tryptamine, *5-Hydroxy-Tryptamin* 187, 210, 385, 386, 395ff.  
5-iodo-deoxyuridine, *5-Jod-Desoxyuridin* 365, 408, 434  
5- $I^{131}$ -deoxyuridine, *5- $J^{131}$ -Jod-Desoxyuridin* 375  
5-nucleotidase, *5-Nukleotidase* 388  
5-ribonucleoside diphosphate, *5-Ribonucleosid-Diphosphate* 440  
— triphosphate, *5-Ribonucleosid-Triphosphate* 440  
flash photolysis, *Blitzphotolyse* 183  
flavin 370  
— adenine dinucleotide, *Flavin-adenin-dinucleotid* 392  
— mononucleotide, *Flavin-Mononucleotid* 392  
flavoprotein 392  
flowing equilibrium, *Fließgleichgewicht* 278, 296  
“fluctuation test”, „Fluktuationstest“ 552  
fluorescence in ice, *Fluoreszenzerscheinungen in Eis* 77  
— microscopy, *Fluoreszenzmikroskopie* 380  
fluorinated pyrimidine derivatives, *fluorierte Pyrimidin-Derivate* 425  
fluorine, *Fluor* 142ff.  
fluorochrome, *Fluorochrom* 380  
formaldehyde, *Formaldehyd* 153, 158  
formate, *Formiat* 415  
formic acid, *Ameisensäure* 158ff.  
4-amino-5-imidazol-carboxamide, *4-Amino-5-Imidazolcarboxamid* 415  
fractionation, *Fraktionierung* 271ff., 291ff., 322ff., 538ff.  
fractioning, factor of, *Fraktionierungsfaktor* 323ff.  
fractioning, increase of effectiveness by, *Fraktionierung, Wirkungssteigerung bei* 271  
— and RBE, *Fraktionierung und RBW* 256ff., 319  
Frank-Condon principle, *Frank-Condon-Prinzip* 68  
free radicals, *freie Radikale* 13, 30, 68ff., 113, 243ff., 274ff., 407  
— —, definition of, *freie Radikale, Definition* 13  
Freund, dosimeter reaction of, *Freundsche Dosimeterreaktion* 144  
Fricke-Dosimeter 82  
frog skin, *Froschhaut* 289  
fructose diphosphate, *Fruktosediphosphat* 230  
fruitfly, s. *Drosophila, Fruchtfliege*  
FUDR 428  
functional disturbances of nervous system, *funktionelle Störungen des Nervensystems* 302ff.  
fungi, growth of, *Pilzwachstum* 289  
  
galactose<sub>1</sub>, *Galaktose<sub>1</sub>* 522  
galactose<sub>2</sub>, *Galaktose<sub>2</sub>* 522  
gamma radiation, LET, *Gamma-Strahlung, LET* 240ff.  
gamma rays, *Gammastrahlung* 21, 73, 77, 80ff., 163, 240ff., 297ff., 314  
gamma-globulin 355, 446  
gastro-intestinal radiation syndrome, *gastrointestinales Strahlensyndrom* 307  
— tract, *Magendarmkanal* 303  
gauging spectra, *Eichspektren* 121ff.  
gene inhibition hypothesis of STEDMAN and STEDMAN, *Gen-Hemmungshypothese von STEDMAN und STEDMAN* 435  
— locus, *Gen-Ort* 490ff., 591ff.  
— mutation, *Genmutation* 12, 249ff., 274, 315ff., 490ff.  
— —, period of indeterminacy during process of, *Genmutationsprozeß, Periode des „Unentschiedenseins“* 567  
genes, *Gene* 248ff., 487ff., 578ff.  
— in mice, coat colour, *Gene, Fellfarben von Mäusen* 591ff.  
—, non-chromosomal, *Gene, nicht-chromosomale* 492ff.  
—, recessive mutant, *Gene, rezessiv-mutierende* 578ff.  
genetic apparatus, *genetischer Apparat* 488ff.  
— changes, coarse, *Genveränderungen, grobe* 515ff.  
— consequences of physiological damage, *genetische Folgen physiologischer Schädigung* 522ff.  
— constitution, *genetische Konstitution* 362, 492ff.  
— damage, assessment of, *genetischer Schaden, Abschätzung* 599ff.  
— effect caused by single hits in genes, *genetische Wirkung, hervorgerufen durch Einzeltreffer in Genen* 6, 519ff.  
— — of ionizing radiations, *genetische Wirkungen ionisierender Strahlungen* 487ff.

- genetic effect, sensitivity of male and female germ cells, *genetische Wirkung, Empfindlichkeit männlicher und weiblicher Keimzellen* 592, 593
- in somatic cells, *genetische Wirkungen in Körperzellen* 586ff.
- information, bearers of, *genetische Information, Träger* 488ff.
- —, coding of, *genetische Information, Verschlüsselung* 513ff.
- radiation effects in individuals, *genetische Strahlenwirkungen in Individuen* 573ff.
- — — in mammals, *genetische Strahlenwirkungen in Säugern* 573ff.
- — — in populations, *genetische Strahlenwirkungen in Populationen* 573ff.
- — risk, *genetisches Strahlenrisiko* 317, 533, 534, 589ff., 599ff.
- traits, *Erbanlagen* 600ff.
- genotype, *Genotypus* 492
- germinative glands, *Keimdrüsen* 254, 255, 300ff.
- tissue, *Keimgewebe* 300ff.
- giant cells, *Riesenzellen* 374, 411
- glaucoma, *Glaukom* 601, 603
- globin synthesis, *Globin-Synthese* 387
- globulin fraction, *Globulinfraktion* 363, 444
- glomerulosclerosis, intercapillary, *Glomerulosklerose, interkapilläre* 360
- glucose, *Glukose* 168, 429ff.
- glutamic acid, *Glutaminsäure* 398, 403, 427
- glutamic-oxaloacetic acid transaminase, *Glutamin-Oxalessigsäure-Transaminase* 389
- glutamic-oxaloacetic transaminase, *Glutamin-Oxalessig-Transaminase* 389
- glutamic-pyruvic acid transaminase, *Glutamin-Pyruvatsäure-Transaminase* 389
- glutathione, *Glutathion* 28, 164, 165, 204, 215ff., 363
- reductase, *Glutathion-Reductase* 217, 363
- glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, *Glyceraldehyd-3-phosphat-dehydrogenase* 390, 391
- glycine, *Glycin* 18, 52ff., 149, 162ff., 187, 398, 415
- Glycol 146, 158
- acid, *Glykolsäure* 159ff.
- aldehyde, *Glycolaldehyd* 153
- glycolysis, *Glykolyse* 357, 429ff.
- glycolytic enzymes, *glykolytische Enzyme* 391
- glycoxic acid, *Glycoxalsäure* 159
- glycylglycine, *Glycylglycin* 54
- glyoxylic acid, *Glyoxylsäure* 159
- goldhamster 303
- gonades, *Gonaden* 254ff., 299ff.
- GOT 389
- gout, *Gicht* 397
- G<sub>1</sub>-phase, *G<sub>1</sub>-Phase* 373ff., 410ff., 422ff.
- G<sub>2</sub>-phase, *G<sub>2</sub>-Phase* 373ff., 410ff., 431ff.
- GPT 389
- granular cell necrosis, *Granulosazellnekrose* 304
- granulocytes, *Granulocyten* 305
- grass seeds, *Grassamen* 30, 31
- ground state, electronic, *Grundzustand, elektronischer* 112ff.
- growth, *Wachstum* 310, 311, 313
- , natural rate of, *Wachstumsrate, natürliche* 294
- GTP 435
- guanine, *Guanin* 513
- residue, *Guanin-Rest* 204
- guanosine deaminase, *Guanosin-Desaminasen* 425
- triphosphate, *Guanosintriphosphat* 435
- G value, *G-Wert* 20, 43, 53ff., 78, 80ff., 108ff., 134ff., 186, 203, 244ff.
- of DNA, *G-Wert von DNS* 205, 447
- , enzymes, *G-Wert, Enzyme* 220, 221
- of halogen-hydrogen compounds, *G-Wert, Halogenwasserstoffbildung* 155
- gynaecological malignancies, *gynäkologische Tumoren* 400
- Habrobracon 411, 543, 545ff., 575ff., 587
- haematopoietic tissue, mammalian, *hämatopoietisches Säugergewebe* 434
- haemin synthesis, *Hämin-Synthese* 387
- haemocyanin, splitting of, *Hämocyaninspaltung* 199
- hair anomalies, *Haaranomalien* 601
- colour mosaicism, *Haarfarbe, Färbung* 599
- growth of the mouse, *Haarwuchs der Maus* 410
- Haldane-Muller principle, *Haldane-Muller-Prinzip* 612
- “half-time, plasma iron disappearance”, *„Halbwertszeit des Plasmaeisenschwundes“* 393
- hallux valgus 602
- halogen compounds, *Halogenverbindungen* 155ff.
- —, organic, *Halogenverbindungen, organische* 142ff.
- hydrocarbons, higher homologous, *Halogenkohlenwasserstoffe, höher homologe* 143ff.
- hamster 318, 411
- haploid 489, 545ff.
- hardening by irradiation, *Strahlenhärtung* 135
- hare lip, *Hasenscharte* 605
- H atoms, *H-Atome* 13, 223ff., 244ff.
- hazards, mammalian studies relating to, *Strahlengefährdung, Studien an Säugern* 590ff.
- HCN 216
- [<sup>3</sup>H]-cytidine, [<sup>3</sup>H]-*Cytidin* 376, 379
- heart, *Herz* 303
- heath of formation, *Bildungswärme* 119
- heavy metals, traces of, *Schwermetallspuren* 407
- HED 405
- HeLa cells, *HeLa-Zellen* 253, 295, 364, 374, 379, 409ff., 435
- HeLa S3 cells in culture, synchronized, *HeLa S3-Zellen, synchronisierte in Kultur* 414
- HeLa 53 strain, *HeLa 53-Stamm* 413
- hematopoiesis, inhibition of, *Hämatopoese, Hemmung* 254, 255
- hemizygote 529ff.
- hemoglobin, *Hämoglobin* 282, 392ff.
- hemopoiesis, *Hämopoiese* 296ff., 362
- , extramyeloidic, *Hämopoiese, extramyeloische* 298

- hemopoiesis-induced radiation death, *hämopoietisch bedingter Strahlentod* 305 ff.
- hemopoietic organs, *blutbildende Organe* 296 ff.
- hemorrhagic diathesis, *hämorrhagische Diathese* 297
- heparin 358
- hepatectomy, partial, *Hepatektomie, partielle* 374, 378, 422 ff., 433
- hepatocytes, *Hepatocyten* 423, 436
- heptane, *Heptan* 282
- hereditary defects, increase of, *erbliche Defekte, Anstieg* 611, 612
- diseases, frequencies of, *Erbkrankheiten, Häufigkeit* 600 ff.
- partial sterility, *vererbliche partielle Sterilität* 576, 577
- traits, frequency of, *vererbliche Anlagen, Häufigkeit* 606
- heritable effects in individuals, *vererbliche Wirkungen in Individuen* 574 ff.
- — on longevity, *vererbliche Effekte auf die Lebensdauer* 593
- heterochromatic region, *heterochromatische Region* 569
- sector in the iris of the eye, *heterochromatischer Sektor in der Iris* 599
- heterochromatin 562
- heterogeneity of DNA, *Heterogenität der DNS* 420
- heterosis 582, 608, 613 ff.
- heterozygous advantage, *Heterozygotie, Vorzug* 613
- organisms, *heterozygote Organismen* 492, 611 ff.
- hexachlor ethane, *Hexachloräthan* 143, 150
- hexamethyl ethane, *Hexamethyläthan* 129, 131
- “hidden breaks”, „*versteckte Brüche*“ 203
- high dose effects, *Wirkung hoher Dosen* 537 ff.
- highly radiosensitive biochemical changes, *hochstrahlenempfindliche biochemische Veränderungen* 367 ff.
- — cells, *hochstrahlenempfindliche Zellen* 372 ff.
- hip, dislocated, *Hüftgelenkdislokation* 605
- Hiroshima offspring, *Hiroshima-Nachkommen* 597, 610
- Hirschsprung's disease, *Hirschsprungsche Krankheit* 602
- Hirudo med. L.* 288, 405
- histamine, *Histamin* 187, 395 ff.
- histidine, *Histidin* 201
- histological changes, *histologische Veränderungen* 373
- histone content, nuclear, *Histongehalt, nuklearer* 436 ff.
- histones, *Histone* 382, 435, 444
- <sup>3</sup>H-leucine, *<sup>3</sup>H-Leucin* 376
- homologous autosomal chromosomes, *homologe autosomale Chromosomen* 412
- homozygous organisms, *homozygote Organismen* 492, 611 ff.
- HO<sub>2</sub> radical, *HO<sub>2</sub>-Radikal* 23 ff., 183 ff., 244 ff.
- H radical, *H-Radikal* 108, 183 ff., 223 ff., 243 ff., 557
- <sup>3</sup>H-thymidine incorporation, *<sup>3</sup>H-Thymin-Einbau* 374
- <sup>3</sup>H-thymidine labelling, *<sup>3</sup>H-Thymin-Markierung* 296
- pulse-labelled cells, *<sup>3</sup>H-Thymin-stoßmarkierte Zellen* 414
- human bone marrow in culture, *menschliche Knochenmark-Kultur* 410, 417
- offspring from irradiated parents, *menschlicher Nachwuchs bestrahlter Eltern* 595 ff.
- populations for studies of radiation genetics, surveys of, *menschliche Populationen, strahlen genetische Untersuchungen* 595 ff.
- humoral factors, *humorale Faktoren* 387
- hyaluronidase 28, 384
- hyaluronic acid, *Hyaluronsäure* 28
- hybrid 60
- hybridisation, *Hybridisierung* 117 ff.
- hydration, *Hydratation* 59 ff., 88, 106 ff.
- hydrazine, *Hydrazin* 95, 96
- synthesis, *Hydrazinsynthese* 171
- hydrocarbons, bromated, *Kohlenwasserstoffe, bromierte* 144, 145
- , cyclic, *Kohlenwasserstoffe, zyklische* 139 ff.
- , saturated, *Kohlenwasserstoffe, gesättigte* 133 ff., 153 ff.
- , unsaturated, *Kohlenwasserstoffe, ungesättigte* 133 ff., 153 ff.
- hydrocephalus 602, 605
- Hydrocharis 526
- hydrochloric acid, formation of, *Salzsäurebildung* 155
- hydrogen bond, *Wasserstoffbindung* 207 ff., 215 ff.
- fluoride, *Fluorwasserstoff* 64
- , molecular, *Wasserstoff, molekularer* 14, 113, 152
- peroxyde, *Wasserstoffsperoxyd* 13, 14, 21, 66 ff., 183 ff., 216 ff., 243 ff., 392, 429, 556 ff.
- sulphide, *Schwefelwasserstoff* 95, 149
- transfer, *Wasserstoffübertragung* 188
- hydrolysis of higher polymeric compounds, *Hydrolyse höher polymerer Verbindungen* 63
- hydronium ion, *Hydroniumion* 60 ff.
- hydroperoxid, *Hydroperoxyd* 66 ff., 75 ff., 100 ff., 153 ff.
- hydroperoxyl 557
- hydroxonium radical, *Hydroxoniumradikal* 74
- hydroxy acids, *Hydroxysäuren* 55
- hydroxycapron acid, *Hydroxycaprinsäure* 155
- hydroxyproline, *Hydroxyprolin* 398
- hyperaminoaciduria, *Hyperaminoacidurie* 398
- hypertonic saline solution, *hypertone Salzlösung* 432
- hypopharynx, tumours of the, *Hypopharynx-tumoren* 339 ff.
- hypophyseal adenoma, basophilic, *Hypophysenadenom, basophiles* 338
- hypothalamic nerve centres, *hypothalamische Nervenzentren* 395, 403, 404
- hypoxia, pharmacologically caused, *Hypoxie, pharmakologisch verursachte* 187
- Ichthyosis congenita 603, 610
- ice, *Eis* 59, 61, 77, 78
- , electronic states in irradiated, *Eis, elektronische Zustände in bestrahltem* 77 ff.

- identity of radiation-induced inactivating agents, *Identität strahleninduzierter Inaktivatoren* 225
- immediate effect of radiation on skin, *Sofortwirkung von Strahlung auf die Haut* 386
- reactions of cells, *Sofortreaktionen von Zellen* 286 ff., 385 ff.
- immunological factors, *immunologische Faktoren* 367
- injury, *immunologische Schädigung* 356
- impact ionization, *Stoßionisation* 55
- implantable tumours, *Impftumoren* 293
- “impulse function”, „*Impulsfunktion*“ 284
- impulse-interval ratio, *Impuls-Pausenverhältnis* 292, 293, 297, 328
- “inactivation cross section”, *Inaktivierungsquerschnitt* 9
- of enzymes in aqueous solutions, *Inaktivierung von Enzymen in wäßrigen Lösungen* 219 ff., 247
- increase of effectiveness by fractioning, *Wirkungssteigerung bei Fraktionierung* 271
- indigo carmine, *Indigocarmin* 167
- indirect action, boundary value of, *Grenzwert, indirekte Wirkung* 150
- — on DNA, *indirekte Wirkung auf DNS* 203, 204
- — on polymers, *indirekte Wirkung an Polymeren* 194 ff.
- — on protein, *indirekte Wirkung auf Protein* 196 ff.
- — theory, *indirekte Wirkung, Theorie* 12 ff.
- radiation effect, *indirekte Strahlenwirkung* 2, 16, 27, 109, 153 ff., 242, 262
- individuals, *Individuen* 573 ff.
- indoleacetic acid, *Indolessigsäure* 368, 388, 389
- indole, *Indol* 168
- indoxy-sulphate, *Indoxylsulfat* 401
- inelastic collision, *inelastischer Stoß* 67, 68
- inert gases, *träge Gase* 22 ff.
- information theory, *Informationstheorie* 432
- infra-red, *Infrarot* 563 ff.
- inhibition of DNA synthesis and content of NAD (DPN), relationship between, *Hemmung der DNS-Synthese, Beziehung zum NAD(DPN)-Gehalt* 428 ff.
- of growth in higher organisms, *Wachstumshemmung bei höheren Organismen* 255 ff., 358
- of synthesis of DNA, *Hemmung der DNS-Synthese* 357, 373 ff., 408 ff.
- of salivary secretion, *Hemmung der Speichelsekretion* 405
- inhibitors, destruction of, *Inhibitoren-Destruktion* 387 ff.
- initial effects, *Initialwirkungen* 359
- inosine phosphorylases, *Inosin-Phosphorylasen* 425
- insects, *Insekten* 292
- insects, adult, *Insekten, ausgewachsene* 526
- INT 369
- intensity, *Intensität* 533 ff.
- interference by hydrogen peroxide, *Störung durch Wasserstoffsuperoxyd* 225
- microscopy, *Interferenzmikroskopie* 379
- interferometry, *Interferometrie* 379
- intermediate ferment, *Zwischenferment* 230
- intermembranous space, *Zwischenmembranraum* 402
- interphase 489 ff., 547 ff., 586 ff.
- death, *Interphasentod* 372
- nucleus, *Interphasen-Kern* 490
- , prolonged, *Interphase, verlängerte* 526 ff., 547 ff.
- interrelation between direct and indirect mode of action of radiation, *Wechselbeziehungen zwischen direkter und indirekter Strahlenwirkung* 20
- interval, length of, *Pausendauer* 290
- intervals, irradiation-free, *Intervalle, bestrahlungsfreie* 276, 293
- intestinal crypt cells of the mouse, *Darmkryptenzellen der Maus* 410
- mucosa, *Darmschleimhaut* 299, 369, 371, 396
- radiation death, *intestinaler Strahlentod* 299
- intestine, *Darm* 254, 255, 299, 369, 371, 375
- invertase 214
- in vitro irradiation, *in vitro-Bestrahlung* 364 ff.
- iodine, *Jod* 29, 142 ff.
- , splitting-off of, *Jodabspaltung* 145
- iodo-acetate, *Jodoazetat* 33
- iodouracil, *Jodurazil* 448
- iodotyrosine, *Jodtyrosin* 51
- ion bond, electrovalent, *Ionenbindung, elektrovalente* 111
- —, heteropolar, *Ionenbindung, heteropolare* 111
- chemistry, *Ionenchemie* 74
- density on chemical changes, influence of, *Ionendichte, Einfluß auf chemische Veränderungen* 226
- — effects in mutation, *Ionendichte und Mutation* 540 ff.
- dose, *Ionendosis* 43
- pair, energy for production of one, *Arbeit zur Erzeugung eines Ionenpaares* 41
- ion-molecular reaction, *Ionen-Molekularreaktion* 139
- ion-radical reaction, *Ionen-Radikalreaktion* 139
- “ionic yield”, *Ionen-Ausbeute* 19, 20, 43, 244 ff.
- ionization, *Ionisation* 2
- density, *Ionisationsdichte* 6, 21
- I. Q. of children, *I.Q. von Kindern* 582
- iron ion, *Eisen-Ion* 50
- metabolism, *Eisenstoffwechsel* 392 ff.
- sulfate, oxidation of by radiation, *Eisen-sulfat, Strahlenoxydation* 78 ff., 246 ff.
- irradiation, duration of, *Bestrahlungszeit* 279
- of the lumbar and pelvic region for “sciatic” neuralgia, *Bestrahlung der Lenden- und Beckenregion wegen ischialgiformer Beschwerden* 597
- irreversible radiation effect, *irreversible Strahlenwirkung* 281 ff., 321
- ischaemia, *Ischämie* 356
- isobutane, *Isobutan* 124 ff.
- isobutene, *Isobuten* 127
- isochromatid aberrations, *Isochromatid-Aberrationen* 542
- breaks, *Isochromatid-Brüche* 534 ff.
- deletion, *Isochromatid-Auslöschung* 558

- isocitric dehydrogenase, *Isozitrone Säure-Dehydrogenase* 217
- isoelectric point, *isoelektrischer Punkt* 216
- isoleucine, *Isoleucin* 54
- isopropyl benzene, *Isopropylbenzol* 141  
(isopropylnoradrenaline)-hydrochloride,  
(*Isopropylnoradrenalin*)-Hydrochlorid 398
- isoproterenol 398
- isotope proof methods, *Isotopennachweisverfahren* 79, 80
- isotopic effects of hydrogen, *Isotopieeffekte des Wasserstoffs* 76
- Jensen rat sarcoma, *Jensen-Sarkom der Ratte* 357, 397, 416
- jodoform 144
- K** 12 *Escherichia coli* 532
- ketones, *Ketone* 147
- kidney, *Niere* 401, 402, 419
- kidney cells, mammalian, *Nierenzellen, Säuger* 419, 444
- kinases, *Kinasen* 424 ff.
- kinetics of radiation effect, *Kinetik der Strahlenwirkung* 278 ff.
- Kleinfelter's syndrome, *Kleinfelter-Syndrom* 604
- kynurenic acid, *Kynuren-Säure* 395, 400
- kynureninase 395
- kynurenine, *Kynurenin* 395
- labilization of deoxyribonucleoproteins,  
*Labilisierung von Desoxyribonucleoproteinen* 381 ff.
- lactate dehydrogenase, *Laktatdehydrogenase* 390
- lactic acid, *Milchsäure* 161, 395, 439
- dehydrogenase, *Milchsäure-Dehydrogenase* 217, 429
- Landschutz ascites tumour cells, *Landschutz-Aszites-Tumorzellen* 423, 424
- large chromosomes, *große Chromosomen* 544 ff.
- late biochemical effects, *biochemische Spätwirkungen* 360
- effects, RBE for, *Späteffekte, RBW für* 258, 259
- latent period, *Latenzperiode* 287, 301, 305, 308, 313, 382, 385, 405
- radiolesions, *latente Strahlenschäden* 360, 528
- Laurence-Moon-Biedl-syndrome, *Laurence-Moon-Biedl-Syndrom* 603
- L-cells, *L-Zellen* 434
- $1^{14}\text{C}$ -glycine,  *$1^{14}\text{C}$ -Glycin* 433
- $1^{14}\text{C}$ -ribose,  *$1^{14}\text{C}$ -Ribose* 429
- $\text{LD}_{50}$  305 ff.
- $\text{LD}_{50/10}$  255
- $\text{LD}_{50/30}$  256, 393
- leech, *Blutegel* 288, 405
- leptotene stage, *Leptoten-Stadium* 494
- LET 84 ff., 211, 238 ff., 318, 333, 540 ff.
- lethal chromosome, *Letalchromosom* 12, 574 ff.
- , dominant, *Letaldominante* 411, 574 ff., 590
- dose, *Letaldosis* 255 ff.
- effects in higher organisms, *Letaleffekte bei höheren Organismen* 255 ff., 361
- —, photoreversal of, *Letaleffekte, Photo-Umkehrung* 567 ff.
- lethal equivalent, *Letal-Äquivalent* 613 ff.
- factors, *Letalfaktoren* 249 ff.
- mutation, probability of inducing a recessive, *rezessive Letalmutation, Wahrscheinlichkeit der Induktion* 598
- lethals, autosomal, *Letalmutanten, autosomale* 596
- , recessive, *Letalmutanten, rezessive* 529 ff., 577 ff.
- lethality, *Letalität* 21
- of totally irradiated animals, *Letalität total bestrahlter Tiere* 298
- leucine, *Leucin* 436
- leukemia, *Leukämie* 312 ff., 398 ff., 587 ff.
- in atomic bomb survivors, incidence of, *Leukämierate bei Atombombenopfern* 588
- following exposure to ionizing radiation, frequency of, *Leukämierate nach Bestrahlung* 535, 588, 610
- after foetal irradiation, incidence of, *Leukämierate nach Fetalbestrahlung* 589
- in patients treated with Roentgen rays for ankylosing spondylitis, incidence of, *Leukämierate von Patienten nach Behandlung mit Röntgenstrahlen wegen M. Bechterew* 588
- leukemogenic effect, *leukämogene Wirkung* 312, 313, 587 ff.
- leukocytes, *Leukocyten* 297 ff., 356, 367 ff.
- , increase in the organic acid-soluble phosphorus content of, *Leukocyten, Anstieg des organischen säurelöslichen Phosphorgehalts* 439
- Lieberkühn, crypts of, *Lieberkühnsche Krypten* 299, 361
- life-span, heritable effects to, *Lebensspanne, vererbliche Effekte* 593, 594, 615
- , shortening of, *Lebensverkürzung* 297, 312 ff.
- Lilium 489, 544
- linear accelerator, *Linearbeschleuniger* 359
- energy transfer; *linearer Energietransfer* 84 ff., 211, 238 ff.
- reponse, *lineare Reaktion* 529 ff., 592
- “Linkage” 495 ff.
- , *Bindung* 491 ff.
- lipids, *Lipide* 439
- liquid air temperature, irradiation at, *flüssige Luft, Bestrahlung bei Temperatur von* 563
- littoral cells, *Uferzellen* 423
- liver, *Leber* 360, 371, 387 ff., 401, 422 ff.
- locusts, neuroblasts of, *Heuschrecken-Neuroblasten* 291, 361, 386, 431, 432, 522, 574
- “long time dose”, „*Langzeitdosis*“ 273
- long-time fractionated irradiation, *langzeitig fraktionierte Bestrahlung* 323 ff.
- irradiation, *Langzeitbestrahlung* 323 ff.
- loosely ionizing radiation, *locker ionisierende Strahlung* 275, 295, 314
- low-dose irradiation, *Schwachbestrahlung* 303
- low frequency alternating current conductivity, decrease of, *Niederfrequenz-Wechselstromleitfähigkeit, Abnahme* 386
- L-P 59 strain mouse cells in culture,  
*L-P 59 Mäusestamm, Zellkultur* 411
- L-serine, *L-Serin* 18

- lungs, *Lunge* 303  
 —, fibrosis of the, *Lungenfibrose* 263  
*Luzula purpurea* 548ff.  
 lymphatic system, *lymphatisches System* 296ff.  
 lymphocytes, *Lymphocyten* 356, 360ff., 418, 528, 529  
 lymphocytic leukemia, *Leukämie, Lymphocytäre* 365  
 lymphoma of mouse, *Lymphom der Maus* 312, 319, 374  
 lymphosarcoma, *Lymphosarkom* 372, 427  
 —  $L_1$ , *Lymphosarkom  $L_1$*  31  
 lysine decarboxylase, *Lysin-Decarboxylase* 432  
 lysogenic bacteria, *lysogene Bakterien* 532ff.  
 lysozyme, *Lysozym* 202
- “macromolecular lesion”, „*Makromolekulare Schädigung*“ 367, 384ff., 431, 434, 448, 449  
 macromolecules, different types of radiation damages produced in, *Makromoleküle, verschiedene Arten der strahleninduzierten Veränderungen* 184ff.  
 —, influence of external factors on radiation effects in, *Makromoleküle, Einfluß äußerer Faktoren auf die Strahlenwirkung in* 185ff.  
 — as the site for initial chemical lesion, *Makromoleküle als Sitz initialer chemischer Veränderungen* 183ff., 384  
 macronucleus, *Makronukleus* 545  
 magnesium deficiency, *Magnesiummangel* 571  
 — ion, *Magnesium-Ion* 383, 423, 443  
 magnetic centers, long-lived, *magnetische Zentren, langlebige* 31, 407  
 main chain scission, *Hauptkettenbruch* 184, 191  
 — — scission of DNA, *Hauptkettenbruch in DNS* 203, 207  
 maize seeds, *Maissamen* 408, 502, 509, 560  
 maleic hydrazine, *Maleinhydrazid* 569  
 malformations, *Mißbildungen* 309ff., 594ff.  
 malignant cells, *maligne Zellen* 412, 414  
 — tumours, *maligne Tumoren* 313, 322ff., 362, 380, 429, 436  
 maltose 168  
 mammalian cells, *Säugerzellen* 365  
 — — in artificial culture, *Zellkultur von Säugerzellen* 586  
 mammary adeno-carcinoma  $C_3H$ , *Adenocarcinom  $C_3H$  der Mamma* 31  
 — carcinoma, *Mammacarcinom* 31, 334, 339, 340  
 — — of mouse, *Mammacarcinom der Maus* 320, 411  
 manganous chloride, *Manganchlorid* 571  
 manic-depressive psychoses, *manisch-depressive Psychosen* 605  
 mannitol, *Mannit* 370  
 manometry, *Manometrie* 48  
 mass attenuation coefficients, *Massenschwächungskoeffizienten* 46  
 — scatter coefficients, *Massenstreuoeffizienten* 46  
 — spectrometry, *Massenspektrometrie* 55ff., 107, 121ff.  
 — stopping power, *Massenbremsvermögen* 45  
 mast cells, *Mastzellen* 406
- matrix of connective tissues, *Matrix des Bindegewebes* 385, 386  
 Mausebergewebe 283, 296ff.  
 mean cell volume, *mittleres Zellvolumen* 409  
 — excitation potential, „*mittleres Anregungspotential*“ 46  
 “— melt temperature”, „*mittlere Schmelztemperatur*“ 447  
 mechanical stresses on chromosomes during irradiation, *mechanische Beanspruchung von Chromosomen während der Bestrahlung* 565  
 medium dose rate, „*mittlere Dosisleistung*“ 273, 276, 314, 332  
 — — —, optimal, *mittlere Dosisleistung, optimale* 312  
 — survival time, *mittlere Überlebenszeit* 305ff.  
 megacolon 602  
 meiosis 493ff.  
 meiotic division, „*Reduktionsteilung*“ 493ff.  
 melanin 185  
 melanoblastoma, *Melanoblastom* 319  
 melanophores, *Melanophoren* 395  
 melanoplus 571  
 menadiol 370  
 menadione, *Menadion* 370  
 mercaptans, *Merkaptane* 149  
 mercaptoethanol, *Merkaptoäthanol* 448  
 meristem, bean root, *Meristem der Bohnenwurzel* 373, 410, 419  
 mesoxalic acid, *Mesoxalsäure* 159, 160  
 messenger RNA, *Messenger-RNS* 363, 376ff., 425, 432, 435ff.  
 metabolic inhibitors, *Stoffwechsellhemmer* 365  
 “— DNA”, „*metabolische DNS*“ 419, 420  
 metabolism, *Stoffwechsel* 272, 305, 318, 329  
 metaphase 291, 489ff., 516ff.  
 methaemoglobin 390ff.  
 methane, *Methan* 122, 134ff., 153  
 methanol 55, 146, 153, 157, 158  
 methionine- $^{35}S$ , *Methionin- $^{35}S$*  394  
 methotrexate, *Methotrexat* 365  
 methyl alcohol, *Methylalkohol* 146  
 — butane, *Methylbutan* 129ff.  
 — cyclohexane, *Methylcyclohexan* 139ff.  
 — hexane, *Methylhexan* 129  
 — pentane, *Methylpentan* 129ff.  
 methylene blue, *Methylenblau* 50, 165ff., 223  
 methyl-green staining, *Methylgrün-Färbung* 438  
 methylmalonic acid semialdehyde, *Methylmalonsäure-Semialdehyd* 399  
 metionic reaction, *metionische Reaktion* 28  
 M. Hodgkin 338, 389, 398  
 Michaelis constant, change of, *Michaeliskonstante, Änderung* 228  
 microbeam experiments, *Mikrostrahl-Experimente* 543  
 — irradiation of nucleolus, *Mikrostrahlbestrahlung des Nucleolus* 437, 509  
 — of ultraviolet radiation, *Ultraviolett-Strahlung, Mikrostrahl* 422  
 Micrococcus radiodurans 366  
 microinterferometry, scanning, *Mikrointerferometrie, Abtast-* 436

- "micronecroses", „Mikronekrosen“ 380  
 micronucleus, *Mikronukleus* 545  
 microphotometry, *Mikrophotometrie* 436  
 microphthalmos 603  
 microsomes, *Mikrosomen* 376  
 microsome-like particles in the nucleus,  
   *mikrosomenähnliche Partikel im Nukleus* 390  
 microwave spectroscopy, *Mikrowellenspektroskopie* 29 ff., 52 ff., 247  
 migration volume, „*Migrationsvolumen*“ 262  
 mimosa, *Mimosa* 289  
 — pudica 289  
 minimum exposure time, *Mindestexpositionszeit* 287  
 miscarriage, *Fehlgeburt* 614  
 mitochondria, *Mitochondrien* 368 ff., 401 ff., 429, 525  
 —, isolated, *Mitochondrien, isolierte* 370  
 mitochondrial phosphorylation, *mitochondriale Phosphorylierung* 368 ff.  
 mite, *Milbe* 548  
 mitosis, abnormal, *Mitose, abnorme* 586  
 —, disturbances of, *Mitosestörungen* 290  
 —, maximum of, *Mitosemaximum* 319  
 mitosis-stimulating activity of serum, *mitosestimulierende Aktivität des Serums* 441  
 mitotic cycle, *Mitosezyklus* 373, 547 ff.  
 — index, *mitotischer Index* 297  
 — inhibition, *Mitosehemmung* 290 ff., 359, 367, 394, 412, 422, 431 ff.  
 —, secondary changes to, *Mitosehemmung, sekundäre Veränderungen* 432  
 "mixed disulphide hypothesis", „*gemischte Disulfid-Hypothese*“ 218, 219  
 MnCl<sub>2</sub> 571  
 modifying agents, *modifizierende Faktoren* 565 ff.  
 molecular bond, model of, *Molekülbindung, Modelldarstellung* 111 ff.  
 —, organic, *Molekülbindung, organische* 110 ff.  
 — cellular metabolism, *molekulare celluläre Umsätze* 282  
 — orbital, *Molekularorbital* 116 ff.  
 — products, *Molekularprodukte* 73, 102 ff.  
 — stimulation, *Molekularanregung* 68  
 — weight, decrease in, *Molekulargewicht, Abfall* 446  
 — — distribution, *Molekulargewicht, Verteilung* 447  
 — yield, *Molekularproduktausbeute* 102 ff.  
 Mongolian idiocy, *Mongolismus* 603 ff.  
 monkey, *Affe* 303, 419  
 monocetylphosphate, *Monocetylphosphat* 406  
 Mormoniella 536, 540, 543  
 mouse ascites-tumour, *Mäuse-Aszites-Tumor* 22 ff., 363, 417 ff., 427 ff.  
 mucopolysaccharides, *Mucopolysaccharide* 385, 402, 408  
 mucosa, *Schleimhaut* 299, 329, 332, 335 ff.  
 —, reaction of, and tumour regression, *Schleimhautreaktion und Tumorrückbildung* 336 ff.  
 multiple bonds, *Mehrfachbindungen* 63  
 — hit processes, *Mehrtreffervorgänge* 278, 529 ff.  
 multirange curves, *Mehrbereichskurven* 280  
 multi-target curves, *Mehrtrefferkurven* 280  
 mung bean seedling, *Mungbohnenkeimling* 388  
 murine leukemia, *Nagerleukämie* 366  
 muscle, contraction of, *Muskelkontraktur* 288  
 —, striated, *Muskel, gestreifter* 405  
 mussels, *Muscheln* 286  
 mustard gas, *Senfgas* 569 ff.  
 mutagenic activity of chemical carcinogens,  
   *mutagene Aktivität von chemischen Carcinogenen* 572, 573  
 — effect of neutrons, *mutagene Wirkung von Neutronen* 250  
 — — of 31 MeV photons, *mutagene Wirkung von 31 MeV Photonen* 250  
 — —, photoreversal of, *mutagene Wirkung, Photo-Umkehrung* 567 ff.  
 — —, reversal of Roentgen ray induced, *mutagener Effekt von Röntgenstrahlen, Umkehr* 563 ff.  
 mutagenicity, *Mutagenität* 572 ff.  
 mutant allele, *Allel-Mutante* 492, 501  
 mutated gene, nature of, *mutiertes Gen, Natur* 500  
 mutational origin of radiation-resistant clones of *E. coli*, *Mutationsursprung strahlenresistenter Klone von E. coli* 552  
 mutation, *Mutation* 249 ff., 499 ff.  
 —, benefit versus detriment, *Mutation, Vorteile — Nachteile* 583  
 —, chemically induced, *Mutation, chemisch-induzierte* 511  
 —, induced, as compared with natural, *Mutation, Vergleich induzierter mit natürlichen* 583, 584  
 —, deleterious, *Mutation, deletäre* 577 ff.  
 —, determination of "length" of, *Mutation, Bestimmung der „Länge“* 506  
 — to growth factor independence, *Mutation zu Wachstumsfaktor-Unabhängigkeit* 560  
 —, irreversible, *Mutation, irreversible* 502 ff.  
 —, rate of, *Mutationsrate* 315 ff., 579 ff.  
 —, — doubling dose, *Mutation, Verdoppelungsdosis* 579 ff.  
 — — in mice, induced, *Mutationsrate, induzierte, bei Mäusen* 591 ff.  
 —, natural, *Mutationsrate, natürliche* 580, 610  
 —, recessive, *Mutation, rezessive* 591 ff.  
 —, recessive-lethal, *Mutation, rezessiv-letale* 316, 499, 577 ff.  
 —, reversible, *Mutation, reversible* 502 ff., 593  
 — to streptomycin independence, *Mutation zu Streptomycin-Unabhängigkeit* 560  
 — versus selection, *Mutation oder Selektion* 607 ff.  
 mutations, linear relationship between numbers of — and dose, *Mutationsanzahl und Dosis, lineares Verhältnis* 530 ff.  
 — to radioresistance, *Mutation zu erhöhter Strahlenresistenz* 550 ff.  
 —, sex linked, *Mutationen, geschlechtsgebundene* 579 ff.  
 — with slight effect, *Mutationen mit geringer Wirkung* 578

- mutations of somatic cells, *Mutationen somatischer Zellen* 594, 599  
 — at specific loci in mouse spermatogonia by chronic and acute irradiation, *Mutationen an bestimmten Orten in Mäusespermatogonien bei chronischer bzw. akuter Bestrahlung* 539, 591 ff.  
 muton 501  
 mycosis fungoides 338  
 myeloic leukemia, *myeloische Leukämie* 312  
 Myleran 569  
 myopia, *Myopie* 603  
 myosin 216  
 myxosarcoma, *Myxosarkom* 32  
  
 N<sub>2</sub> 558 ff.  
 NAD (DPN) 368 ff., 428 ff.  
 NAD-kinase, *NAD-Kinase* 429 ff.  
 NAD-pyrophosphorylase, *NAD-Pyrophosphorylase* 425, 429, 431  
 — (TPN) 429  
 NADase 429 ff.  
 NADH<sub>2</sub> 429, 431  
 —, phosphorylated derivative of, *NADH<sub>2</sub>, phosphoryliertes Derivat von* 431  
 NADPH<sub>2</sub> (TPNH) 370  
 Nagasaki offspring, *Nagasaki-Nachkommen* 597, 610  
 NA<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 386  
 natural background radiation, *natürliche Strahlung* 588  
 — mutation rates in man, *natürliche Mutationsrate, Mensch* 610  
 — radio-protecting substances, *natürliche Strahlenschutzstoffe* 396  
 nausea, *Übelkeit* 396  
 Nebularine 569  
 neonatal death, *Neugeborenen-Tod* 595, 514  
 nephrosclerosis, *Nephrosklerose* 314  
 nerve cells, *Nervenzellen* 289  
 nervemuscle preparations, *Nerven-Muskel-Präparate* 405  
 nervous system, *Nervensystem* 302 ff., 408  
 netting, „*Vernetzung*“ 135  
 neuroblasts, embryonic, *Neuroblasten, embryonale* 291, 361, 386, 431, 574  
 neurofibromatosis 602  
 Neurospora crassa 504 ff., 526 ff., 572 ff.  
 neutrons, *Neutronen* 21, 48, 295, 304, 314, 315, 367, 419 ff., 540 ff.  
 —, thermal, *Neutronen, thermische* 238, 366  
 newt, *Wassermolch* 543  
<sup>15</sup>N-glycine, *<sup>15</sup>N-Glycin* 436  
 NH<sub>3</sub>-formation, *NH<sub>3</sub>-Bildung* 54  
 nicotinamide, *Nicotinamid* 429 ff.  
 — mononucleotide, *Nicotinamid-Mononukleotid* 429  
 nicotinic acid, *Nicotinsäure* 431  
 Nitella 289  
 nitric oxide, *Stickstoffoxyd* 22 ff., 30, 48  
 nitrobenzene, *Nitrobenzol* 154  
 nitrogen, content of, *Stickstoffgehalt* 409  
 — monoxide, *Stickoxydul* 48  
 — mustard, *Stickstoff-Senf* 569  
 nitrogen-containing compounds, *stickstoffhaltige Verbindungen* 149, 150, 161 ff.  
  
 NO 22 ff.  
 n-octadecylamine, *n-Oktadecylamin* 406  
 non-chromosomal genes, *nicht-chromosomale Gene* 492 ff., 525 ff.  
 nonconductor, *Nichtleiter* 247  
 non-dividing cells, *Zellen, sich nicht teilende* 526 ff.  
 non-histone proteins, *Nicht-Histon-Proteine* 382  
 non-linear response, *nicht-lineare Reaktion* 536 ff.  
 non-protein sulphhydryl level, *Nicht-Protein-Sulphydrylspiegel* 363  
 non-SH groups in protein molecule, *Nicht-SH-Gruppen im Eiweißmolekül* 219  
 nonspecific cholinesterase, *unspezifische Cholinesterase* 392  
 noradrenaline, *Noradrenalin* 396  
 nor-leucine, *Norleucin* 53 ff.  
 nor-valine, *Norvalin* 53 ff.  
 normal human cells, *menschliche Normalzellen* 365  
 n-RNA, *n-RNS* 376 ff., 441  
 nuclear albumin, *Kernalbumin* 382  
 — ATP, *Kern-ATP* 371 ff.  
 — energy accidents, *Kernenergie-Unfälle* 308, 397, 597  
 — globulin, *Kernglobulin* 382  
 — membrane, *Kernmembran* 402, 408, 490  
 — phosphorylation, *Kernphosphorylierung* 371, 372  
 — —, inhibition of, *nukleare Phosphorylierung, Hemmung* 418  
 — protein synthesis, *Kerneiweißsynthese* 379 ff., 433  
 nucleic acid metabolism, *Nukleinsäurestoffwechsel* 372 ff.  
 — acids, *Nukleinsäuren* 31, 203 ff., 372 ff., 407  
 nucleohistones, *Nukleohistone* 363, 444  
 nucleolides, *Nukleolide* 513  
 nucleolus 402, 408, 428, 432, 435 ff.  
 nucleoprotein complex, artificial, *Nukleoproteinkomplex, künstlicher* 355, 446, 447  
 — macromolecule, stage of assembly, *Nukleoprotein-Makromolekül, Aufbaustadium* 432  
 nucleoproteins, *Nukleoproteine* 203 ff., 380 ff., 408 ff.  
 —, cellular, *Nukleoproteine, zelluläre* 206  
 —, rigidity of, *Nukleoproteine, starre* 209  
 nucleoside phosphorylation, *Nukleosid-Phosphorylierung* 418  
 — triphosphate, *Nukleosid-Triphosphat* 435  
 nucleosides, *Nukleoside* 440  
 nucleotides, *Nukleotide* 440  
 nystagmus 602  
  
 O.A.S.P. 367, 368  
 octanes, *Oktane* 129 ff.  
 Oenothera 581  
 OH-radicals, *OH-Radikale* 13, 223 ff., 243 ff., 557  
 omegatron mass spectrometer, *Omegatron-massenspektrometer* 122  
 onion, *Zwiebel* 405, 419, 519  
 oocytes, *Oocyten* 590 ff.

- optical rotation measurements, *optische Drehmessungen* 216
- orbital 116ff.
- organic acid-soluble phosphorus content of leukocytes and erythrocytes, *organischer säurelöslicher Phosphorgehalt von Leukocyten und Erythrocyten* 367, 368
- halogene compounds, *organische Halogenverbindungen* 142ff.
- phosphates, *organische Phosphate* 367ff.
- solutions, *organische Lösungen* 150
- syntheses, *organische Synthesen* 170, 171
- organogenesis, *Organogenese* 309
- organs, weights of, *Organgewichte* 307
- orotic acid, *Orotsäure* 415
- orthoquinones, *Orthochinone* 440
- Osgood leukaemia, *Osgood-Leukämie* 364
- osteitis deformans 602
- osteosarcoma, *Osteosarkom* 319
- ostetropic nuclides, *ostetropen Nuclide* 313
- ovary, *Ovar* 301, 302
- , mouse, *Ovar, Maus* 402
- “overlapping factor”, *Überlappungsfaktor* 8
- oxalic acid, *Oxalsäure* 159ff.
- oxidation of ferrous sulphate solution, *Oxydation von Eisensulfatlösung* 15
- by radiation, simple, *Strahlenoxydation, einfache* 92ff.
- oxidative inactivation of enzymes, *oxydative Inaktivierung von Enzymen* 223ff.
- phosphorylation, *oxydative Phosphorylierung* 368ff.
- oxygen of air in irradiated solutions, *Luftsauerstoff in bestrahlten Lösungen* 85, 86
- oxygen, *Sauerstoff* 23, 24, 31, 32, 74ff., 186, 271, 282, 318, 329, 356, 405, 408, 418, 420, 431, 508, 546ff.
- , clinical application, *Sauerstoff, klinische Anwendung* 31, 32
- compounds, *sauerstoffhaltige Verbindungen* 145ff., 157ff.
- effect, *Sauerstoffeffekt* 14, 20ff., 202ff., 245ff., 260, 295
- — with alpha irradiation of Vicia, *Sauerstoffeffekt mit Alpha-Strahlung auf Vicia* 557ff.
- — on chromosome aberrations, *Sauerstoffeffekt auf Chromosomenaberrationen* 21ff., 253, 508, 570ff.
- — in Crepis seeds, *Sauerstoffeffekt in Crepis-Samen* 561
- — with different qualities of radiation, *Sauerstoffeffekt mit verschiedenen Strahlenqualitäten* 558
- —, negative, *Sauerstoffeffekt, negativer* 385
- — on proteins, *Sauerstoffeffekt auf Proteine* 198
- — with Roentgen irradiation of Vicia, *Sauerstoffeffekt mit Roentgenbestrahlung von Vicia* 557
- enhancement ratio, *Sauerstoff-Verstärkungsverhältnis* 433
- , post-irradiation treatment with, *Sauerstoffnachbehandlung nach Bestrahlung* 561ff.
- oxygen influence on radiation chemistry of water, *Sauerstoff, Einfluß auf die Strahlenchemie des Wassers* 74ff., 223
- , dissolved molecular, influence on radiosensitivity, *Sauerstoff, gelöster molekularer, Einfluß auf Strahlenempfindlichkeit* 23, 341
- tension, *Sauerstoffspannung* 31, 32, 322
- tissue tension, *Sauerstoffgewebsdruck* 32
- oxyhaemoglobin 392
- <sup>32</sup>P 357ff., 367, 372ff., 400, 409ff., 429
- pace-maker of metabolism, *Schrittmacher des Metabolismus* 229
- pachytene stage, *Pachyten-Stadium* 494, 498
- pancreas, *Pankreas* 371
- papain 225
- activation, *Papain-Aktivierung* 216
- para-aminobenzoic acid, *Para-Aminobenzol-säure* 501
- paraffins, *Paraffine* 134ff., 170, 188
- , gaseous, *Paraffine, gasförmige* 134ff.
- , higher, *Paraffine, höhere* 135ff.
- paramagnetic absorption of resonance, *paramagnetische Resonanzabsorption* 51ff.
- centers, *paramagnetische Zentren* 51ff., 247, 407
- resonance, *paramagnetische Resonanz* 10, 51ff., 77
- Paramecia aurelia 316
- Paramecium 316, 525ff., 544ff.
- parents, exposure of, effects on the sex ratio of offspring, *Elternbestrahlung, Wirkung auf das Geschlechtsverhältnis der Nachkommen* 596ff.
- particle “tracks”, *Teilchenspuren* 2, 3
- Pauli's exclusion principle, *Ausschlußprinzip von PAULI* 116
- Pauling's formula, *Paulingsche Formel* 120
- Pediculoides 548
- Pediculopsis 548
- pentane, *Pentan* 135ff.
- pepsin 214ff.
- pepsinogen 215
- peptide link, *Peptid-Glied* 219
- peripheral nerves, *periphere Nerven* 302, 405
- permeability, disturbances of, *Permeabilitätsstörungen* 274, 386
- permissible exposures, problems of, *zulässige Strahlenbelastung, Probleme* 616
- peroxide organic radicals, *Peroxyradikale, organische* 24
- pH, influence of, *pH, Einfluß* 197, 221
- measuring, *pH-Messung* 50, 51, 221
- phage, mutation of, *Phagenmutation* 249
- resistance, *Phagenresistenz* 512ff.
- pharynx, tumours of, *Pharynxstumoren* 333, 337
- phase effect, *Phaseneffekt* 27, 28
- phenazine methosulphate, *Phenazinmethosulfat* 370
- phenol groups in pepsin and pepsinogen, *Phenolgruppen in Pepsin und Pepsinogen* 215
- red, *Phenolrot* 167
- phenoltrichloroacetic acid, *Phenoltrichloroessigsäure* 381

- phenotype, *Phänotypus* 492
- phenylalanine, *Phenylalanin* 376, 398, 436
- phenylketonuria, *Phenylketonurie* 574, 603, 610
- phocomelia, *Phokomelie* 602
- phosgene, *Phosgen* 144, 156
- , electric, *Phosgen, elektrisches* 404
- phosphates, labile, *Phosphate, labile* 371
- phosphoglyceraldehyde dehydrogenase, *Phosphoglyzeraldehyddehydrogenase* 216ff.
- phosphorylation, *Phosphorylierung* 368ff., 418
- , uncoupling of oxidative, *Phosphorylierung, oxydative, Entkopplung* 440
- photometric measurements, *photometrische Messungen* 79
- photoreceptor 288
- photo reversal, *Photo-Umkehrung* 509ff., 566ff.
- Phycomyces Blakesleeanus* 368, 395
- Physarum polycephalum* 427
- physical time factor, „*physikalischer Zeitfaktor*“ 272, 275
- physico-chemical properties of proteins, *physikalisch-chemische Eigenschaften von Proteinen* 200
- physiological radiation-induced kinetics, *physiologische, strahleninduzierte Kinetik* 273
- physostigmine, *Physostigmin* 396
- $\pi$ -bond,  *$\pi$ -Bindung* 118ff.
- pigmentation, *Pigmentierung* 332
- Pisum sativum* 251, 540
- plant cells, *Pflanzenzellen* 289
- seeds, *Pflanzensamen* 271
- plasma iron concentration, *Plasmaeisenkonzentration* 393, 394
- — turnover, *Plasmaeisenumsatz* 393
- peptidase, *Plasma-Peptidase* 389
- plasmagene, *Plasmagen* 492
- Plasmocid 398
- platelet fraction, *Blättchen-Fraktion* 394
- platelets, *Blutplättchen* 297
- Pneumococcus* 513, 559
- p-nitrophenol, *p-Nitrophenol* 29
- p-nitroso- $\alpha$ -naphthol 29
- point mutation, *Punktmutation* 249ff., 274, 315ff., 367, 499ff.
- polarography, *Polarographie* 363
- polaron 14, 243
- pollen mother cells, *Pollenmutterzelle* 494ff.
- tube division, *Pollenschlauchteilung* 542
- polyacrylic acid, *Polyacrylsäure* 194
- polyadenylic acid, *Polyadenylsäure* 446
- polycythaemic mice, *polycythämische Mäuse* 394
- polydactyly, *Polydaktylie* 602
- polyethylene, *Polyäthylen* 186, 193ff.
- polygene, *Polygen* 581
- polyisobutylene, *Polyisobutylen* 28, 190ff.
- polymer 28ff.
- “polymerism”, „*Polymerisat*“ 133, 138ff., 152, 164, 185ff.
- polymethylacrylate, *Polymethylacrylat* 186ff.
- polymethylmethacrylate, *Polymethylmethacrylat* 28, 192ff.
- polymorphism, balanced, *Polymorphismus, ausgeglichener* 608
- polynucleotide fraction, *Polynukleotid-Fraktion* 444
- polypeptide, *Polypeptid* 397
- polyploidy, *Polyploidie* 362, 363, 523, 544ff.
- Polypodium aureum* 525
- polysaccharides, *Polysaccharide* 210, 385, 402
- polysome, *Polysom* 435
- polystyrene, *Polystyren* 193, 194
- polythene, *Polythen* 193
- polyuridylic acid, *Polyuridylsäure* 446
- polyvinyl chloride, *Polyvinylchlorid* 432
- pyrrolidone, *Polyvinylpyrrolidon* 29, 191ff.
- populations, *Populationen* 573ff., 584ff.
- porphyria, *Porphyrie* 603
- Portulaca* 509
- position effect, *Positionseffekt* 506
- “— — rearrangements”, „*Positionseffekt-Rearrangements*“ 500
- post-mitotic irradiation, *postmitotische Bestrahlung* 586
- postmitotic phase, *postmitotische Phase* 411
- potassium, *Kalium* 371ff.
- loss, *Kaliumverlust* 372
- potential, alteration of, *Potentialänderung* 303
- potentiating radiation effect, *potenzierende Strahlenwirkung* 230
- P/O ratio, *P/O-Verhältnis* 369
- precipitation, *Präzipitation* 215
- premitotic irradiation, *prämitotische Bestrahlung* 586
- non-synthetic phase, *prämitotische Nicht-Synthesephase* 411ff.
- preoperative irradiation of tumour, *präoperative Tumorbestrahlung* 322
- preprophase, *Präprophase* 412, 432
- inhibition, *Prä-Prophasenhemmung* 360, 431
- preservation by irradiation, *Strahlenkonservierung* 165
- presynthetic period, *Präsynthese-Stadium* 426
- primary breakage, *primärer Bruch* 22
- ionizations, „*Primärionisationen*“ 239
- lesion, *Primärschädigung* 9
- physical act, *Primärvorgang, physikalischer* 2
- — steps, *primäre physikalische Schritte* 2ff.
- products, uncharged, *Primärprodukte, ungeladene* 132
- —, ionized, in hydrous systems, *Primärprodukte, ionisierte, in wäßrigen Systemen* 107
- radical yields, *primäre Radikalausbeuten* 101
- reactions, *Primärreaktionen* 132
- “— time factor”, „*primärer Zeitfaktor*“ 276, 285, 297, 306
- “primer” DNA, „*Elementar-DNS*“ 423, 426ff. 447
- primordial oocytes, *Primordialoocyten* 361
- principal quantum number, *Hauptquantenzahl* 110
- proflavine, *Proflavin* 570
- proliferation, inhibition of the capacity for, *Proliferationsfähigkeit, Hemmung* 361, 364, 408ff.
- , loss of capacity for, *Proliferationsfähigkeit, Verlust* 448

- proline, *Prolin* 163, 201, 398  
 propane, *Propan* 134ff.  
 prophase 291, 489ff.  
 propionic acid, *Propionsäure* 161  
 propyl alcohol, *Propylalkohol* 146  
 — ion, *Propylion* 131  
 prosthetic group, *prothetische Gruppe* 216  
 protamine, *Protamin* 208  
 protease activity, *Proteaseaktivität* 228, 229  
 protection by added substances, *Schutzwirkung durch Zugabe von anderen Stoffen* 186ff., 208ff.  
 — against crosslinking, *Schutz gegen cross-linking* 188, 189  
 — effect, *Schutzwirkung* 16ff., 97, 142, 165, 247, 385  
 — — as analytical tool, *Schutzwirkung als analytisches Hilfsmittel* 18, 19  
 — — in polymers in aqueous solution, *Schutzwirkung in wäßriger Lösung*, *Polymere* 29  
 — — in solid polymers, *Schutzwirkung in festen Polymeren* 29  
 — by energy transfer, *Schutz durch Energieübertragung* 189  
 — of enzymes, *Schutz von Enzymen* 203  
 — by mixed disulphide formation, *Schutzwirkung durch gemischte Disulfidbildung* 218, 219  
 protectives, *Schutzstoffe* 165, 188, 261, 385, 565  
 protein, acidic, *Protein, saures* 446  
 — molecules, unfolded, *Proteinmoleküle, entfaltete* 215ff.  
 —, precipitation of, *Eiweißfällung* 215  
 — synthesis, *Proteinsynthese* 318, 376, 386, 389, 430ff.  
 — —, relationship between DNA and RNA, *Proteinsynthese, Beziehung zwischen DNS und RNS* 432ff.  
 proteins, *Proteine* 31, 49, 215, 318, 376, 386, 389, 407, 430ff.  
 —, coagulation of, *Eiweißkoagulation* 215  
 —, denaturation of, *Eiweißdenaturierung* 215ff.  
 —, irradiation with Roentgen rays of, *Röntgen-Bestrahlung von Proteinen* 198, 199  
 proton effect to chromosome groups, *Protonenwirkung auf Chromosomengruppen* 543  
 protons, *Protonen* 240, 543  
 —, LET, *Protonen, LET* 240  
 protozoan motility, *Protozoen-Bewegung* 526  
 protracted irradiation, *protrahierte Bestrahlung* 281, 293, 296, 299ff., 306ff.  
 protracted-fractionated irradiation, *protrahiert-fraktionierte Bestrahlung* 281, 296, 323  
 protraction, *Protrahierung* 256, 257, 272, 322ff.  
 —, factor of, *Protrahierungsfaktor* 323ff.  
 —, increase of effectiveness by, *Protrahierung, Wirkungssteigerung* 272  
 — and RBE, *Protrahierung und RBW* 256, 257  
 Prunus 581  
 pseudo-cholinesterase 392  
 Pseudomonas 366  
 psoriasis 605  
 Pteris longifolia 252  
 pulse radiolysis, *Puls-Radiolyse* 14  
 purine derivatives, *Purin-Derivate* 569ff.  
 — independence, *Purinunabhängigkeit* 22  
 Puromycin 365, 412  
 pyknosis, *Pyknose* 443  
 pyridine nucleotides, *Pyridinnukleotide* 370  
 pyridoxal-5-phosphate, *Pyridoxal-5-phosphat* 396  
 pyrimidine 204ff., 570  
 pyronin staining, *Pyronin-Färbung* 438  
 pyruvate, *Pyruvat* 371  
 qualities of radiation, efficiency of different, in inducing chromosome and chromatid aberrations, *Strahlenqualität, Wirksamkeit verschiedener bei der Induktion von Chromosomen- und Chromatidaberrationen* 540ff.  
 — — — efficiency of different inducing mutations, *Strahlenqualität, Wirksamkeit verschiedener bei der Induktion von Mutationen* 540ff.  
 quantitative assessments of genetic hazards, *quantitative Abschätzung des genetischen Wagnisses* 599ff.  
 quantum yields for ultra-violet inactivation of enzymes, *Quantenausbeute für Ultraviolett-inaktivierung von Enzymen* 215  
 quinine sulfate, *Chininsulfat* 167  
 quinones, *Chinone* 33, 440  
 R<sub>1</sub> 411  
 R<sub>2</sub> 411  
 rabbit, intestine of, *Kaninchendarm* 287, 288  
 — eye, lens of, *Kaninchenaugenlinse* 254  
 — serum, antinative, *Kaninchenserum, antinatives* 215, 216, 228  
 “rad” 44, 237  
 radiation cancer, *Strahlenkrebs* 259, 311ff.  
 — chemistry of anorganic hydrous systems, *Strahlenchemie anorganischer wäßriger Systeme* 57ff.  
 — —, definition, *Strahlenchemie, Begriff* 40ff.  
 — — of hydrous solutions of simple organic compounds, *Strahlenchemie wäßriger Lösungen einfacher organischer Stoffe* 152ff.  
 — — of simple organic compounds, *Strahlenchemie einfacher organischer Verbindungen* 109ff.  
 — — of water, aqueous solutions and simple organic compounds, *Strahlenchemie des Wassers, wäßriger Lösungen und einfacher organischer Verbindungen* 39ff., 109ff.  
 — damages, late, *Strahlenspät Schäden* 311ff., 339  
 — — of skin, late, *Strahlenspät Schäden der Haut* 332  
 — dosimetry, *Strahlendosimetrie* 44ff., 78  
 — effect during prolonged interphase, *Strahlenwirkung während der verlängerten Interphase* 526ff.  
 — — on genetic materials, *Strahlenwirkung auf genetisches Material* 49ff.  
 — — on metabolic processes in relation to radiosensitivity, *Strahlenwirkung auf Stoffwechselprozesse in Beziehung zur Strahlenempfindlichkeit* 359ff.

- radiation effect in nucleic acids, *Strahlenwirkung auf Nucleinsäuren* 203ff.
- — in polymers, *Strahlenwirkung auf Polymere* 28, 29
- — on protein, *Strahlenwirkung auf Eiweiß* 215ff.
- — — structures, *Strahlenwirkung auf Eiweißstruktur* 196ff.
- — on single cells, *Strahlenwirkung auf Einzelzellen* 364
- — on tissue metabolism, *Strahlenwirkungen auf Gewebstoffwechsel* 355ff.
- — on tumour metabolism, *Strahlenwirkung auf Tumorstoffwechsel* 355ff.
- erythema, *Strahlenerythem* 258, 262
- genetic risk, calculation, *strahlen genetisches Risiko, Berechnung* 609ff.
- — — based on the prevalence of hereditary disease, *strahlen genetisches Risiko, Berechnung auf der Basis der Zunahme erblicher Krankheiten* 611, 612
- — — — on total "genetic death", *strahlen genetisches Risiko, Berechnungen auf der Basis des totalen „genetischen Todes“* 612, 613
- — — — on consanguineous marriage data, *strahlen genetisches Risiko, Berechnungen basierend auf Angaben aus Blutsverwandten-Ehen* 613ff.
- genetics, *Strahlen-genetik* 315ff., 487ff. 590ff.
- pathology, *Strahlenpathologie* 296ff.
- protection, basic standards, *Strahlenschutz, Grundnormen* 264
- quality, dependance of biologic radiation effects on, *Strahlenqualität, Abhängigkeit biologischer Strahlenwirkungen* 248ff.
- —, dependance of physical and chemical radiation effects on, *Strahlenqualität, Abhängigkeit physikalischer und chemischer Strahlenwirkungen* 242ff., 556ff.
- —, influence on radiation effect, *Strahlenqualität, Einfluß auf die Strahlenwirkung* 236ff., 540ff.
- —, influence on radical yield, *Strahlenqualität, Einfluß auf Reaktionsausbeute* 103
- reactions during gaseous phase, *Strahlenreaktionen in der Gasphase* 121ff.
- resistance, *Strahlenresistenz* 299, 320, 362, 525, 543ff.
- response in relation to dose and its distribution in time and space, *Strahlenreaktion in Abhängigkeit von Dosis, und ihre zeitliche und räumliche Verteilung* 529ff.
- sensibility of embryonic states, *Strahlenempfindlichkeit von Embryonalstadien* 310
- — and time factor, *Strahlenempfindlichkeit und Zeitfaktor* 298ff.
- —, influence of water content on, *Strahlenempfindlichkeit, Einfluß des Wassergehaltes* 24ff.
- — of enzymes, *Strahlenempfindlichkeit von Enzymen* 11
- radiation-chemical dosimetric reaction, *strahlenchemische Dosimeterreaktion* 78ff., 246
- oxidation in hydrous solutions, *strahlenchemische Oxidation in wäßrigen Lösungen* 92ff.
- primary reactions of water, *strahlenchemische Primärreaktionen des Wassers* 65ff.
- reactions in conventional systems, *strahlenchemische Reaktionen in konventionellen Systemen* 132ff.
- —, time factor, *strahlenchemische Reaktionen, Zeitfaktor* 282
- yield, *strahlenchemische Ausbeute* 42, 43
- radiation-induced chromosome breaks, *strahleninduzierte Chromosomenbrüche* 21, 250ff., 487ff., 497ff.
- embryonic malformations, *strahleninduzierte embryonale Mißbildungen* 397
- genetic changes, human studies, *strahleninduzierte genetische Veränderungen, Studien am Menschen* 594ff.
- radical ions, *Radikal-Ionen* 13, 65ff., 132, 138
- "traps", „*Radikalfänger*“ 166, 170, 243ff.
- yield, *Radikalausbeute* 102ff., 195, 248
- , formation of, *Radikalbildung* 65, 69, 73ff.
- radicals, formation of, consecutive reactions, *Radikalbildung, Folgereaktionen* 69, 70, 73, 149
- , free, *Radikale, freie* 13, 113, 243ff., 274ff., 407
- in grass seeds, free, *Radikale, freie, in Gräsern* 30
- , lifetime of, *Radikale, Lebensdauer* 31
- , number of, *Radikalzahl* 195
- , "trapped", *Radikale, „eingefangene“* 27, 107, 185, 208ff.
- radioactive nuclides, incorporated, *radioaktive Nuclide, inkorporierte* 313
- radiochemistry, *Radiochemie* 41
- radiocurability, *Radiokurabilität* 438
- radiogenic cataract, *Strahlenkatarakt* 217, 313, 314, 360
- radioisotope proof method, *Radioisotopen-nachweis* 51
- radiolysis of deuterated alcohol, *Radiolyse von deuteriertem Alkohol* 146
- of water, *Radiolyse von Wasser* 26, 65ff.
- radiomimetic chemicals, *radiomimetische Chemikalien* 569ff.
- effects, *radiomimetische Wirkungen* 567ff.
- radionasty, „*Radionastie*“ 289
- radionecroses, *Radionekrosen* 32
- radiophosphorus, *Radiophosphor* 357ff.
- radioprotective substances, *Strahlenschutzstoffe* 165, 188, 261, 385ff., 395ff., 427
- radioresistance of cytoplasm, relative, *Strahlenresistenz von Cytoplasma, relative* 543ff.
- with higher degree of polyploidy, *Strahlenresistenz bei höherem Poliploidie-Grad* 544ff.
- of individual human tumours, *Strahlenresistenz individueller menschlicher Tumoren* 438
- radioresistant cells, *strahlenresistente Zellen* 444
- (S<sub>2</sub>) component, *strahlenresistente Komponente* S<sub>2</sub> 417

- radiosensibility of micro-organisms, *Strahlenempfindlichkeit von Mikroorganismen* 251 ff.
- of organs and tissues, *Strahlenempfindlichkeit von Organen und Geweben* 253 ff., 298 ff., 371
- , phasic changes of, *Strahlenempfindlichkeit, phasenförmige Änderung* 272
- radiosensitive ( $S_1$ ) component, *strahlenempfindliche Komponente  $S_1$*  417
- radiosensitivity of cells, *Strahlenempfindlichkeit von Zellen* 211, 290
- of chromosomes to induction of breakage, *Strahlenempfindlichkeit von Chromosomen für die Induktion von Brüchen* 547 ff.
- of cytoplasm, *Strahlenempfindlichkeit des Cytoplasmas* 543 ff.
- and degree of poliploidy, *Strahlenempfindlichkeit und Poliploidie-Grad* 544 ff.
- , difference between maximum and minimum, *Strahlenempfindlichkeit, Unterschied zwischen maximaler und minimaler* 547
- of growing mammalian bone, *Strahlenempfindlichkeit wachsender Säuger-Knochen* 32
- influence of dissolved molecular oxygen on, *Strahlenempfindlichkeit, Einfluß gelösten molekularen Sauerstoffs* 23
- , natural variations in, *Strahlenempfindlichkeit, natürliche Variationen* 544 ff.
- and nucleic acid content, *Strahlenempfindlichkeit und Nukleinsäuregehalt* 366
- of the nucleus, *Strahlenempfindlichkeit des Zellkerns* 543 ff.
- and oxygen tension, *Strahlenempfindlichkeit und Sauerstoffspannung* 31 ff., 259
- “radiosensitization”, „*Radiosensitisation*“ 435, 440
- radiotherapy of malignant tumours, *Strahlentherapie maligner Tumoren* 320, 322 ff., 333 ff., 399, 401, 405
- Radium 322
- , beta-radiation of, *Radium, Betastrahlung* 292
- ram testis, *Widderhoden* 300
- random scission of polynucleotide strands, *zufällige Spaltung von Polynukleotid-Strängen* 447
- “rare gas configuration”, „*Edelgaskonfiguration*“ 110
- rat brain, *Rattenhirn* 391
- corneal epithelium, *Rattencornealepithel* 360
- hepatocytes, *Rattenhepatocyten* 415
- kidney, *Rattenniere* 391
- thymus, *Rattenthymus*, 373, 391, 446
- rat-liver nuclei, *Rattenleberkerne* 376
- rate doubling dose for mutations, *Verdopplungsdosis für Mutationen* 579 ff.
- RBW, RBE 211, 236 ff., 360, 375, 393, 420 ff.
- of alpha-particles, *RBW von Alpha-Teilchen* 420 ff.
- o for inhibition of uptake of precursors into DNA, *RBW von Alpha-Teilchen für die Aufnahmehemmung von Vorstufen in die DNS* 422
- of cellular radiation effects, *RBW bei cellulären Strahlenwirkungen* 295 ff.
- RBW dependance from dose and dose rate, *RBW, Abhängigkeit von Dosis und Dosisleistung* 259, 260
- and dose rate, *RBW und Dosisleistung* 256 ff.
- of fast neutrons, *RBW schneller Neutronen* 256, 315, 375, 420 ff.
- and fractioning, *RBW und Fraktionierung* 256 ff.
- as a function of ion density, *RBW als Funktion der Ionendichte* 540 ff.
- in inducing mutations, *RBW für Mutationsinduktion* 540 ff.
- for inhibition of DNA synthesis, *RBW für die Hemmung der DNS-synthese* 420 ff.
- of polonium alpha-particles, *RBW von Polonium-Alpha-Teilchen* 421
- of radon alpha-particles, *RBW von Radon-Alpha-Teilchen* 421
- and time factor, *RBW und Zeitfaktor* 295 ff., 314, 319, 333
- for tumour regression, *RBW für Tumorregression* 263
- of ultrahard roentgen radiation, *RBW, ultraharte Röntgenstrahlung* 256, 420 ff.
- values for lethal effects, *RBW-Werte für Letaleffekte* 241, 393
- reaction, heat of, *Reaktionswärme* 114
- unit, *Reaktionseinheit* 41
- reactor radiations, *Reaktorstrahlungen* 48
- “reactivity”, „*Reaktivität*“ 293
- recessive allele, *rezessives Allel* 492, 610
- lethal mutation, *rezessive Letalmutation* 499, 577 ff.
- mutant genes, *rezessiv-mutierende Gene* 578 ff.
- mutation, *rezessive Mutation* 591 ff.
- “visible” mutations, *rezessive „sichtbare“ Mutationen* 499
- recombination processes, *Rekombinationsvorgänge* 279, 282, 500 ff.
- recon 501
- recovery, *Erholung* 272, 276 ff., 283 ff., 384, 434, 444, 449
- , cellular, *Erholung, celluläre* 292 ff., 331
- factor of skin, *Erholungsfaktor der Haut* 331 ff.
- “function”, „*Erholungsfunktion*“ 284
- , halfvalue times of, *Erholung, Halbwertszeiten* 305
- from initial damage, *Erholung von der initialen Schädigung* 449
- from mitotic inhibition, *Erholung von der Mitosehemmung* 361, 432
- from mutations in mice, *Erholung von Mutationen bei Mäusen* 593
- , intracellular, *Erholungsvorgänge, intracelluläre* 290 ff.
- after point mutations, *Erholung bei Punktmutationen* 316, 317
- processes, slow, *Erholungsprozesse, langsame* 276 ff.
- after total body irradiation, *Erholung bei Totalbestrahlung* 305 ff.
- reduced lipoates, *reduzierte Lipoate* 424
- reduction of  $^{59}\text{Fe}$ -incorporation, *Reduktion der  $^{59}\text{Fe}$ -Inkorporation* 393

- reduction, mechanism of, *Reduktionsmechanismus* 100
- of the primary antibody response, *Verminderung der primären Antikörperreaktion* 356, 358
- by radiation, simple, *Strahlenreduktion, einfache* 96 ff.
- —, yield in simple hydrous electrolytic solutions, *Strahlenreduktion, Ausbeute in einfachen wäßrigen Elektrolytlösungen* 99
- reactions, *Reduktionsreaktionen* 223
- reflex-like responses of lower animals to ionizing radiation, *reflex-ähnliche Reaktionen niederer Tiere auf ionisierende Strahlen* 405
- regeneration, *Regeneration* 296 ff., 309
- registrations of births, marriages and deaths, *Registrierung von Geburten, Eheschließungen und Todesfällen* 616
- regulation of cell production, mechanism of, *Regulationsmechanismen der Zellproduktion* 297
- relative biological effectiveness (RBE), *relative biologische Wirksamkeit (RBW)* 211, 236 ff., 295 ff., 375, 393, 420 ff.
- effectiveness of radium-gamma-rays and fast neutrons, *relative Wirksamkeit von Radium-Gammastrahlen und schnellen Neutronen* 406
- repair of genetic damage, postirradiative, *Wiederherstellung genetischer Schäden nach Bestrahlung* 566 ff.
- , instantaneous, *Wiederherstellung, sofortige* 187, 210
- reparation processes, *Reparationsvorgänge* 272, 299, 309, 527
- reproductive integrity, loss of, *Reproduktionsfähigkeit, Verlust der unversehrten* 364, 413, 448
- performance, *Reproduktionsablauf* 594
- residual chromosomal protein, *Residualchromosomenprotein* 385
- damage, *Restschaden* 311, 314
- —, *Residualschäden* 311, 314
- “— protein”, „*Residualprotein*“ 382 ff., 442
- resonance band, microstructure of paramagnetic, *Resonanzbande, paramagnetische Feinstruktur* 52
- energy, *Resonanzenergie* 119
- hybrid, *Resonanzhybrid* 120
- respiration, *Atmung* 357, 369 ff., 430
- respiratory chain, *Atmungskette* 370
- restitution, *Restitution* 187, 210, 282, 309, 497 ff., 518 ff., 562 ff.
- rest potential of cell, *Ruhepotential der Zelle* 289
- reticulocytes, *Reticulocyten* 297, 381, 387, 395
- retina of frog, *Froschretina* 286, 586
- retinoblastoma, *Retinoblastom* 602, 607, 610
- retrogression of malignant tumours, *Rückbildung maligner Tumoren* 373
- reversible radiation effect, *reversible Strahlenwirkung* 281 ff.
- rheobasis, *Rheobase* 287
- Rhesus incompatibility, *Rhesus-Unverträglichkeit* 606
- Rhodnius 586
- prolixus 527 ff.
- Rhodopseudomonas spheroides 433
- riboflavin 49, 169, 392
- ribonuclease 202, 220, 380, 387 ff., 409, 438
- ribonucleic acid (s. RNS, RNA), *Ribonukleinsäure*
- —, content of, *Ribonukleinsäuregehalt* 409, 513
- ribonucleoproteins, *Ribonukleoproteine* 376, 380 ff., 437 ff.
- ribonucleotide reductase system, *Ribonukleotid-Reduktase-System* 424
- ribosome, *Ribosom* 377 ff., 435
- Rickettsia, *Rickettsien* 525
- ring-X-chromosome, *Ring-X-Chromosom* 250, 559
- RNA I fraction, *RNS-I-Fraktion* 377
- II fraction, *RNS-II-Fraktion* 377 ff.
- concentration, *RNS-Konzentration* 421
- , cytoplasmic, *RNS, cytoplasmatische* 437
- , high molecular weight, *RNS mit hohem Molekulargewicht* 379
- , microsomal, *RNS, mikrosomale* 378
- , nuclear, *RNS, nukleare* 376 ff., 427, 433, 437
- , nucleolar, *RNS, nukleolare* 376 ff.
- polymerase, *RNS-Polymerase* 433, 435, 447
- (rRNA), ribosomal, *RNS, ribosomale* 377
- synthesis, *RNS-Synthese* 355, 372, 409, 417, 422, 425 ff.
- , total nuclear, *RNS, Gesamtkern* 425
- , uncontrolled synthesis of, *RNS-Synthese, unkontrollierte* 436
- RNA-DNA complexes, *RNS-DNS-Komplexe* 379
- RNAase, *RNSase* 384, 390
- RNP 376, 380 ff., 437
- Röntgen (R) 44, 540
- „Röntgenphosphän“ 286
- roentgen erythema, *Röntgenerythem* 263
- radiation and heat, comparison of effects, *Röntgenstrahlenwirkung und Hitze, Vergleich der Wirkung* 526 ff.
- Roentgen-rays, hard, *Röntgenstrahlen, harte* 21
- , LET, *Röntgenstrahlen, LET* 240, 242
- , soft, *Röntgenstrahlen, weiche* 21, 437
- round cell sarcoma, *Rundzellensarkom* 319
- rRNA, *rRNS* 377 ff.
- S<sub>0</sub> 375, 417
- S<sub>1</sub> 417 ff.
- Saccharum 546
- salicylate, *Salizylat* 427
- salivary gland cells of Drosophila, *Speicheldrüsenzellen der Drosophila* 445, 491, 515
- secretion, *Speichelsekretion* 405
- sarcoma, *Sarkom* 319 ff.
- 378, *Sarkom 378 31*
- sarcomagene effect, *sarkomogene Wirkung* 313
- saturated aliphatic hydrocarbons, *gesättigte aliphatische Kohlenwasserstoffe* 133 ff., 153 ff.
- saturation effect, *Sättigungseffekt* 248, 252
- method, *Sättigungsmethode* 324, 330
- S-β-aminoethylisothiuronium bromide hydrobromide, *S-β-Aminoäthylisothiuroniumbromid-hydrobromid* 384
- schizophrenia, *Schizophrenie* 605
- Schizosaccharomyces 503

- Schrödinger's equation, *Schrödinger-Gleichung* 115
- Schwarzschild's law, *Schwarzschild'sches Gesetz* 271, 285, 324
- Sciara 517
- Scilla 523
- scorpion, *Skorpion* 548
- sea-urchin, *Seeigel* 287, 290
- egg, cleavage delay in, *Seeigelei, Teilungsverzögerung* 543
- secondary biological processes, *sekundäre biologische Prozesse* 359 ff.
- “—” electron, *Sekundärelektron* 2
- sectorials, *Segmente* 511 ff.
- sedimentation coefficient distribution, *Sedimentationskoeffizient, Verteilung* 447
- segregation, *Segregation* 496 ff.
- semiconductor, *Halbleiter* 247
- seminal vesicle, *Samenblase* 420
- seminoma, *Seminom* 361
- semisterile offspring, *halbsterile Nachkommen-schaft* 576
- “sensitive” spot, „empfindlicher“ *Punkt* 6
- sensitization, *Steigerung der Empfindlichkeit* 32, 33, 223 ff., 356, 364 ff., 435, 440
- serine, free, *Serin, freies* 401
- serotonine, *Serotonin* 187, 210, 385 ff., 395 ff.
- 17-hydroxycorticosteroids, *17-Hydroxycorticosteroide* 401
- in plasma, *17-Hydroxycorticosteroide im Plasma* 389
- 17-ketosteroids, *17-Ketosteroide* 401
- sex determination, *Geschlechtsbestimmung* 496 ff.
- ratio, changes in, *Geschlechtsverhältnis, Veränderungen* 594 ff.
- — male/total, *Geschlechtsverhältnis männlich/gesamt* 596 ff.
- sex-linked mutations, *geschlechtsgebundene Mutationen* 579 ff.
- traits, *geschlechtsgebundene Erbanlagen* 603 ff.
- sexual development, defects of, *Geschlechtsentwicklung, Defekte* 604
- SH compounds, *SH-Verbindungen* 216 ff.
- enzymes, *SH-Enzyme* 216 ff., 246
- groups, *SH-Gruppen* 50, 215, 363
- SH-protective agent, *SH-Schutzsubstanz* 188 ff.
- sheep, *Schaf* 305
- Shigella flexneri 22, 259
- “short time dose”, „Kurzzeitdosis“ 273
- — fractionated irradiation, *kurzzeitig fraktionierte Bestrahlung* 323 ff.
- — irradiation, „Kurzzeitbestrahlung“ 323
- epidermitis sicca 325
- sickle cell anaemia, *Sichelzell-Anämie* 606
- $\sigma$ -bond,  $\sigma$ -*Bindung* 118, 122 ff., 152 ff.
- sigmoid-shaped dose effect curve, *sigmoide Dosiswirkungskurve* 281
- simultaneous reaction, *Simultanreaktion* 230 ff.
- “single breaks”, „einfache Brüche“ 203
- gene traits, *Ein-Gen-Erbanlagen* 601 ff.
- “— hit”, „Eintreffer“ 441, 446, 535
- — chromosome and chromatid aberrations, *Eintreffer-Chromosomen- und Chromatid-Aberrationen* 534 ff.
- reaction, *einfache Reaktion* 230
- single-hit effect, *Ein-Trefferwirkung* 519 ff.
- “single-hit theory”, *Eintreffertheorie* 3, 4, 278
- single-target hit curve, *Eintrefferkurve* 280
- skeletal growth, disturbances of, *Wachstumsstörungen des Skelettsystems* 310 ff.
- system, *Skelettsystem* 310, 311
- skin, erythema of, *Hauterythem* 258, 262, 322 ff.
- , studies of time factor of, *Haut, Zeitfaktorstudien* 271 ff., 307, 324 ff.
- , subtle changes in the texture of, *Haut, feine Änderungen im Gefüge* 386
- tumours, *Hauttumoren* 311
- small chromosomes, *kleine Chromosomen* 544
- intestine, *Dünndarm* 255, 299, 405, 408, 415
- —, atrophy of, *Dünndarmatrophie* 255
- —, epithelium of, *Dünndarmepithel* 299
- —, muscle of mammalian, *Dünndarmmuskel, Säuger-* 405
- <sup>35</sup>S-methionine, <sup>35</sup>S-*Methionin* 436
- snail, *Schnecke* 286, 405
- sodium, *Natrium* 372
- acetate, *Natriumazetat* 187
- citrate, *Natriumzitat* 427
- cyanide, *Natriumcyanid* 187, 565
- formate, *Natriumformat* 19, 137
- hyposulphate, *Natriumhyposulfat* 565
- loss, *Natriumverlust* 372
- oxalate, *Natriumoxalat* 19
- propionate, *Natriumpropionat* 187
- propylate, *Natriumpropylat* 187
- thiosulphate, *Natriumthiosulfat* 386
- xylene sulphonate, *Natriumxylylsulfonat* 444
- sodium-[1-<sup>14</sup>C]-pyruvate, *Natrium-[1-<sup>14</sup>C]-Pyruvat* 399
- sodium-[3-<sup>14</sup>C]-pyruvate, *Natrium-[3-<sup>14</sup>C]-Pyruvate* 399
- Solanum lycopersicum 251, 540
- solubility of protein, loss of, *Löslichkeit von Eiweiß, Verlust* 215
- somatic cell cultures, *somatische Zellen, Kultur* 599
- cells, *Körperzellen* 586 ff.
- crossing over, *somatischer Faktorenaustausch* 496 ff.
- mutation, *somatische Mutation* 315, 318, 532 ff.
- sonic vibrations, *Schallvibrationen* 565
- sorbitol, *Sorbit* 168
- S-period, *S-Periode* 373 ff.
- spermatids, *Spermatide* 249, 590
- spermatocyte, *Spermatocyt* 316, 590
- spermatogonium, *Spermatogonie* 316, 361, 532, 580, 591 ff.
- spermatoid, ripe, *Spermien, reife* 249
- spermheads, *Samenzellköpfe* 209
- S-phase, *S-Phase* 410 ff., 418
- S<sub>2</sub>-phase, *S<sub>2</sub>-Phase* 374, 417
- sphere dosimeter, *Kugeldosimeter* 81
- spin quantum number, *Spinquantenzahl* 110
- saturation, *Spinabsättigung* 60
- spina bifida 605
- —, formation of, *Spina bifida-Bildung* 309
- spinal cord, *Rückenmark* 303 ff.

- spindle, *Spindel* 489ff.  
 — cell tumour, mammary, *Spindelzelltumor der Mamma* 31  
 — effects, *Spindelwirkungen* 523  
*Spirogyra* 548ff.  
*Spirgyra crassa* 549  
 spleen, *Milz*, 254, 255, 297, 361, 362, 369, 371ff., 402, 415, 445  
 —, myeloid leukaemia, *Milz bei myeloischer Leukämie* 371, 372  
*Spongopora* 548  
 spontaneous mutation, *Spontanmutation* 506ff.  
 — tumours of the mouse, *Spontanumoren der Maus* 379  
 squamous cell carcinoma, *Plattenepithelcarcinom* 326, 334, 338ff.  
<sup>90</sup>Sr 313, 333, 589  
 starvation, *Nahrungsmangel* 566  
 Staudinger's rule, *Staudingersche Regel* 48, 49  
*Steatococcus tuberculatus* 549ff.  
 sterility, *Sterilität* 300ff., 576ff.  
 —, women treated for, *Sterilität, behandelte Frauen* 595, 597  
 stillbirth, *Totgeburt* 594ff.  
 strabismus, *Strabismus* 605  
 strain L mouse fibroblasts, *L-Mäusestamm-Fibroblasten* 411  
 Strandquist presentation, modified, *Strandquist-Darstellung, modifizierte* 325, 326, 331  
 — straight line, *Strandquist-Gerade* 285ff., 303, 311, 320, 321, 324ff.  
*Streptomyces* 507, 509, 537, 548, 559ff., 567ff.  
 streptomycin resistance, *Streptomycinresistenz* 22, 507, 512ff.  
 stress, *Stress* 388, 396, 400  
 Strontium-90 313, 333, 589  
 struma maligna 335  
 styrene, *Styran* 282  
 sub-lethal damage, *Subletalschaden* 365  
 substance P, *P-Substanz*  
 succinate-INT reductase, *Succinat-INT-Reductase* 369  
 succinic acid, *Bernsteinsäure* 161  
 — —, *Succinsäure* 399, 427  
 — dehydrogenase, *Succinodehydrogenase* 370  
 succinoxidase, *Succinoxidase* 216  
 sugarcane, *Zuckerrohr* 546  
 sulphur-containing compounds, *schwefelhaltige Verbindungen* 149, 150, 164, 165, 203  
 "summation poison", „*Summationsgift*“ 274  
 supervolt therapy, *Supervolttherapie* 263  
 suppressor mutations, *Suppressor-Mutationen* 505  
 surface denaturation, *Oberflächendenaturierung* 222  
 — films of enzymes, *Oberflächen-Enzymfilme* 221  
 survival curve, exponential, *Überlebenskurve, exponentielle* 4, 6, 551  
 — —, sigmoid-shape, *Überlebenskurve, s-förmige* 4ff.  
 susceptibility, *Suszeptibilität* 51ff.  
 symmetrical exchanges, *symmetrischer Austausch* 517ff.  
 synchronous cultures, *Synchronkulturen* 411  
 — division, *Synchronteilung* 427  
 — mitosis, *synchrone Mitose* 374  
 syndactyly, *Syndaktylie* 602  
 Synkavit 32, 33, 370, 379, 396, 431  
 synovial fluid, *Synovia-Flüssigkeit* 210  
 synthesis-inhibiting drugs, *synthesehemmende Medikamente* 565  
 synthetic phase, *Synthese-Phase* 410ff.  
 tadpole, *Kaulquappe* 586  
 tar carcinoma 2146, *Teerkarzinom* 2146, 31  
 — sarcoma 173, *Teersarkom* 173, 31  
 target-hit theory, *Treffertheorie* 1, 3, 33, 261, 262, 274ff., 315ff., 508ff.  
 target sizes, dertermination of, *Zielgröße, Bestimmung* 7  
 — —, estimate of, *Zielgröße, Schätzung* 6ff.  
 "— volume", „*Treffervolumen*“ 228, 261  
 tataric acid, *Weinsäure* 159ff.  
 tatronic acid, *Tatronsäure* 159, 160  
 taurine, *Taurin* 397, 398  
 —, free and combined, *Taurin, freies und kombiniertes* 398  
 taurinuria, *Taurinurie* 397ff.  
 T1 bacteriophage, *T1-Bakteriophage* 25, 26, 248, 507  
 T2 bacteriophage, *T2-Bakteriophage* 402  
 T4 bacteriophage, *T4-Bakteriophage* 502ff., 570  
 t-butyl benzene, *t-Butylbenzol* 141  
 T7-Coliphage 447  
 teleangiectasiae, *Teleangiektasien* 332  
 telophase, *Telophase* 489ff.  
 temperature, dependance of, *Temperaturabhängigkeit* 318, 563ff.  
 — — of radiochemical processes, *Temperaturabhängigkeit strahlenchemischer Prozesse* 186  
 — effect of radiation reaction, *Temperatur-effekt der Strahlenreaktion* 83  
 testes, *Hoden* 254, 255, 271, 296, 299ff., 329  
 —, atrophy of mouse, RBE, *Hodenatrophie der Maus, RBW* 254  
 Tetrahymena 544  
 tetraploid 489, 546  
 tetrazolium salts, *Tetrazoliumsalze* 370, 511  
 thalassaemia, *Thalassämie* 608  
 thermally denaturated DNA, *thermisch denaturiertes DNS* 423  
 thermoluminescence in ice, *Thermolumineszenz von Eis* 77  
 thiamine, *Thiamin* 49  
 thionic compounds, *Thiole* 164  
 Thioredoxin 424  
 thiourea, *Thioharnstoff* 19, 29, 187, 192, 208  
 37% -dose, *37% -Dosis* 4, 7, 364ff.  
 3-hydroxykynurenine, *3-Hydroxykynurenin* 395  
 threonine, *Threonin* 398  
 threshold value, *Schwellenwert* 274  
 — — of dose, *Schwellenwert der Dosis* 315, 532  
 — — — rate, *Schwellenwert der Dosisleistung* 286, 288, 303, 314, 332  
 thymic lymphomatosis, *Thymus-Lymphomatose* 587ff.

- thymidine, *Thymidin* 415  
 — kinase, *Thymidinkinase* 424 ff.  
 — phosphorylase, *Thymidin-Phosphorylase* 425  
 — triphosphate, *Thymidintriphosphat* 415, 423 ff.  
 thymidine-2-<sup>14</sup>C, *Thymidin-2-<sup>14</sup>C* 375, 409 ff.  
 thymidylate kinase, *Thymidylat-Kinase* 426  
 — synthetase, *Thymidylat-Synthetase* 424, 425  
 thymidylic acid, *Thymidylsäure* 415, 423  
 — kinase, *Thymidyl-Kinase* 426  
 thymine, *Thymin* 398, 408, 416, 433, 513  
 — to BAIBA, conversion of, *Thymin-umwandlung in BAIBA* 399  
 thymocytes, *Thymocyten* 369 ff., 429  
 thymonucleic acid, *Thymonucleinsäure* 49  
 thymus, *Thymus* 254, 255, 298, 359, 371 ff., 416, 436, 442 ff.  
 Tillina 544  
 time curves, *Zeitkurven* 262  
 — factor, *Zeitfaktor* 271 ff.  
 — — in animal tumours, studies of, *Zeitfaktorstudien an Tiertumoren* 319 ff.  
 — —, definition of, *Zeitfaktor, Definition* 273  
 — — of fractioning, *Zeitfaktor bei Fraktionierung* 329 ff.  
 — —, mathematical model, *Zeitfaktor im mathematischen Modell* 279 ff.  
 — —, prerequisites for, *Zeitfaktor, Voraussetzungen für das Zustandekommen* 274 ff.  
 — — of skin, *Zeitfaktor der Haut* 296, 325 ff.  
 — — in tumours, clinical studies of, *Zeitfaktor, klinische Beobachtungen an Tumoren* 334 ff.  
 “— saturation effect”, „*Sättigungseffekt, zeitlicher*“ 274, 538  
 time-intensity factor, *Zeit-Intensitätsfaktor* 5  
 time-lapse photographs, *Langzeitaufnahmen* 379  
*Tipula oleracea* 420  
 tissue culture, *Gewebekultur* 271, 290, 293  
 — transplantation studies, *Gewebetransplantationsstudien* 362  
 tissues, radiation effects in, *gewebliche Strahlenwirkungen* 295 ff.  
 titration, *Titration* 49, 50, 79  
 Tityus 548  
 tobacco mosaic virus, *Tabakmosaikvirus* 10, 11, 28, 513  
 toe anomalies, *Zehenanomalien* 602  
 tolerance dose, *Toleranzdosis* 327, 337  
 toluene, *Toluol* 139 ff.  
 tooth anomalies, *Zahnanomalien* 602  
 total body irradiation, changes of various matters during, *Ganzbestrahlung, Veränderung von verschiedenen Stoffen bei* 47  
 — — — and recovery, *Ganzkörperbestrahlung und Erholung* 304 ff.  
 — corticoids, *Gesamtcorticoide* 401  
 — dry mass, *Gesamtrockenmasse* 436  
 — irradiation time, *Gesamtbestrahlungszeit* 271, 276, 321, 330, 334 ff.  
 trace effect, *Spureneffekt* 87  
*Tradescantia* 21, 253, 290, 317, 362, 410, 489, 514, 516 ff., 541 ff., 568 ff.  
 traits due to gross chromosomal aberrations, *Erbanlagen, bedingt durch grobe Chromosomenaberrationen* 604 ff.  
 transaminase activities of serum, *Transaminasenaktivitäten des Serums* 389  
 “transfer enzyme”, „*Transfer-Enzym*“ 435  
 — RNA (tRNA), *Überträger-RNS* 376 ff., 435 ff.  
 “transforming principle” 559  
 translocation, *Translokation* 250, 604  
 — heterozygotes, *Translokations-Heterozygote* 575 ff.  
 treffer theory, *Treffertheorie* 1, 3, 33, 261, 262, 274 ff., 315 ff., 508 ff.  
 triaryl methane compounds, *Triarylmethanverbindungen* 167  
 tricarboxylic acid cycle, *Tricarboxylsäure-Zyklus* 399  
 trichlor ethane, *Trichloräthan* 143  
 tri-ethylene melamine, *Triäthylenmelamin* 429  
 trigger mechanism for the onset of DNA synthesis, *Auslösungsmechanismus für den Beginn der DNS-Synthese* 413  
 Trillium erectum 489, 494 ff., 523, 547 ff.  
 triphasic curve, *triphaseische Kurve* 374, 375, 417  
 triploid, *Triploid* 489, 493, 575 ff.  
 “trisomy”, „*Trisomie*“ 604  
 tritiated cytidine, *tritiiertes Cytidin* 437  
 — deoxycytidylic acid, *tritiierte Desoxycytidylsäure* 426  
 — thymidine, *tritiiertes Thymidin* 398, 409 ff.  
 — — autoradiography, *tritiiertes Thymidin* 379, 416 ff.  
 Triturus 543  
 tRNA, *tRNS* 376 ff., 435 ff.  
 trophocytes, *Trophocyten* 440  
 trypsin, *Trypsin* 202, 214, 228, 231, 384  
 —, crystalline, *Trypsin, kristallines* 219, 220  
 tryptamine, *Tryptamin* 395 ff.  
 tryptophan, *Tryptophan* 168, 508, 522  
 tryptophane metabolism, *Tryptophanstoffwechsel* 395  
 tryptophane-auxin enzyme of animal tissue, *Tryptophan-Auxin-Enzyme von Tiergewebe* 388, 389  
 TTP 424  
 tulpic microspores, *Tulpen-Mikrosporen* 519  
 tumour bed, *Tumorbett* 31, 340  
 — cells, *Tumorzellen* 374, 416 ff.  
 — —, non-dividing, *Tumorzellen, sich-nicht-teilende* 412  
 — induction, *Tumor-Induktion* 587 ff.  
 tumours, non-epithelial, *Tumoren, nicht-epitheliale* 312  
 —, radioresistant, *Tumoren, strahlenresistente* 553 ff.  
 —, transplantable, *Tumoren, transplantable* 254, 255, 540  
 tung oil, *Tungöl* 282  
 Turner's syndrome, *Turner-Syndrom* 604  
 twins, *Zwillinge* 595  
 two-break aberrations, *Zwei-Bruchaberrationen* 562  
 two-hit-curve, *Zwei-Treffer-Kurve* 5  
 two-hit effect, *Zwei-Trefferwirkung* 519 ff., 536 ff.  
 — rearrangements, *Zwei-Treffer-Rückbildungen* 536 ff.  
 2-aminoethanol, *2-Aminoäthanol* 401  
 2,4-Dinitrophenol 365

- 2-methyl-1,4-naphthaquinol bis (disodium phosphate), *2-Methyl-1,4-Naphthalchinol-bis-Dinatriumphosphat* 370, 379, 396, 431
- 2-p-iodophenyl-3-p-nitrophenyl-5-phenyl-monotetrazolium chloride, *2-p-Jodphenyl-3-p-Nitrophenyl-5-Phenyl-Monotetrazolium-chlorid* 369
- tyramine, *Tyramin* 187, 208
- tyrosine, *Tyrosin* 49, 201
- ubiquinone-cytochrome b-region, *Ubichinon-Cytochrom-b-Region* 370
- ubiquinones, *Ubichinone* 370
- ultra-fractionated irradiation, *ultrafraktionierte Bestrahlung* 259, 275, 292, 297, 327ff., 421
- ultraviolet absorption, *Ultraviolett-Absorption* 434, 436, 438
- fluorescence analysis, *Ultraviolett-fluoreszenzanalyse* 49, 505
- light, *ultraviolettes Licht* 366, 407, 563ff.
- , irradiation of proteins with, *Ultraviolettbestrahlung von Eiweiß* 215
- photomicrographic methods, *ultraviolett-mikrophotographische Methoden* 357, 380, 434, 438
- post-treatment, *Ultraviolett-Nachbehandlung* 564
- radiation on *E. coli*, *Ultraviolettbestrahlung von E. coli* 439, 507
- reversal, *Ultraviolett-Umkehrung* 567ff.
- UMP 424
- uncertainty principle, *Unbestimmtheitsrelation* 68, 116
- unharmonic oscillator, *anharmonischer Oszillator* 111ff.
- units of matter, *Stoffeinheiten* 43
- unmasking of SH and S-S groups, *Demaskierung von SH- und S-S-Gruppen* 216
- unsaturated hydrocarbons, *ungesättigte Kohlenwasserstoffe* 123ff., 138, 139, 147, 153ff.
- uracil, *Urazil* 522
- urea, *Harnstoff* 19, 187, 397
- urease, *Urease* 215, 225
- urethane, chromosomal breaks and rearrangements produced by, *Urethan, Chromosomenbrüche und -Rearrangements nach* 569
- uric acid, *Harnsäure* 357ff., 397
- uridine diphosphate, *Uridin-diphosphat* 396
- monophosphate content, *Uridinmonophosphatgehalt* 378
- phosphorylases, *Uridin-Phosphorylasen* 425
- triphosphate- $\alpha$ - $^{32}\text{P}$ , *Uridintriphosphat- $\alpha$ - $^{32}\text{P}$*  433
- uridylic acid, *Uridylsäure* 424
- urinary aminoethanol, *Harn-Aminoäthanol* 401
- deoxyribonuclease, *Harn-Desoxyribonuklease* 400
- diastase, *Urin-Diastase* 397
- excretion, *Urinausscheidung* 395ff.
- of metabolites, *Urinausscheidung von Metaboliten* 397ff.
- of 17-ketosteroids, *Urinausscheidung von 17-Ketosteroiden* 401
- taurine excretion, *Urinausscheidung von Taurin* 397
- Urodele 290, 291
- uterus, *Uterus* 303
- UV-induced carcinoma, *UV-Krebs* 313
- vacuoles, formation of, *Vakuolenbildung* 402
- van der Waal's powers, *van der Waalsche Kräfte* 67
- van't Hoff exponential law, *van't Hoff'sches Exponentialgesetz* 106
- vegetative nervous system, *vegetatives Nervensystem* 302ff.
- Versine 571
- Vicia faba 21ff., 251, 252, 257, 291, 356, 366, 373, 375, 410, 412, 414, 419, 489, 516, 540, 556ff.
- virus, mutation of, *Virusmutation* 249
- viruses, *Viren* 248, 261, 510ff.
- viscometry, *Viskositätsmessung* 48, 49
- viscosity, *Viskosität* 48, 49, 63, 383ff., 442ff.
- of extracted DNA, decrease in, *Viskositätsverminderung der extrahierten DNS* 383ff., 447
- of single-stranded DNA, *Viskosität einsträngiger DNS* 447
- , specific, *Viskosität, spezifische* 448
- of two-stranded native DNA, *Viskosität nativer doppelsträngiger DNS* 448
- visual function, *Sehfunktion* 404, 405
- vital records, *Lebensunterlagen* 616
- statistics, *Lebensstatistiken* 616
- vitamines, *Vitamine* 168ff.
- Vitamin K 369
- Walker rat carcinoma, *Walker-Carcinom der Ratte* 437, 442
- water content of the brain, *Wassergehalt des Gehirns* 386
- , influence on DNA-changes, *Wassergehalt, Einfluß auf DNS-Veränderungen* 206
- as modifying factor of radiation sensitivity, *Wassergehalt als modifizierender Faktor der Strahlenempfindlichkeit* 24ff., 409
- of spleen, *Wassergehalt der Milz* 386
- of thymus, *Wassergehalt des Thymus* 386
- , fission of, *Wasserspaltung* 65ff.
- , mass spectrometry of, *Wasser, Massenspektrometrie* 66
- molecule, scheme of structure, *Wassermolekül, Aufbauschema* 59
- , nature of active products of, *Wasserprodukte, Natur der aktiven* 84, 85, 223
- , radicals of, *Wasserradikale* 65ff., 83ff., 183, 223ff.
- Watson-Crick model, *Watson-Crick-Modell* 513ff.
- wave mechanics, *Wellenmechanik* 115ff.
- wheat germs, *Weizenkeime* 407
- seeds, *Weizensamen* 407
- white blood picture, *weißes Blutbild* 254
- whole body irradiation, *Ganzkörperbestrahlung* 304ff., 392ff., 398, 429, 441, 445
- Wilson-chamber, *Wilsonkammer* 2, 3, 8
- wood oil, *Holzöl* 282
- wool fibres, *Wollfasern* 201, 202
- worms, *Würmer* 286
- xanthine, *Xanthin* 397
- xanthozol, *Xanthozol* 119

- xanthurenic acid, *Xanthurensäure* 395, 400  
 X-chromosome, *X-Chromosom* 491 ff., 529 ff.,  
 579, 596, 598  
 —, "hot", *X-Chromosom*, „heißes“ 412  
 "X/n" ratio, „X/n“-Verhältnis 420
- Y-chromosome, *Y-Chromosom* 496 ff., 596  
 yeast, *Hefe* 21, 499, 578 ff., 615  
 — autolysate, *Hefen-Autolysat* 386  
 — cells, *Hefezellen* 26, 27  
 —, crystalline, *Hefe, kristalline* 216, 431  
 —, diploid, *Hefe, diploide* 252, 545, 578  
 —, haploid, *Hefe, haploide* 252, 535, 578  
 — hexokinase, *Hefe-Hexokinase* 225  
 yield in *Drosophila* mutations, *Ausbeute an Drosophila-Mutationen* 531 ff., 565  
 — of "inductions" in lysogenic bacteria, *Ausbeute an „Induktionen“ in lysogenen Bakterien* 532 ff.  
 — of irradiation of chlor hydrocarbons, *Ausbeute bei Bestrahlung von Chlorkohlenwasserstoffen* 151
- yield of isochromatid breaks, *Ausbeute an Isochromatid-Brüchen* 534 ff.  
 — of reaction products, *Ausbeute von Reaktionsprodukten* 98 ff., 124 ff., 219 ff.  
 — of recessive lethals, *Ausbeute an rezessiven Lethalmutanten* 531 ff.  
 — of somatic mutations, *Ausbeute an somatischen Mutationen* 532
- yield-concentration dependence, *Ausbeute-Konzentration-Abhängigkeit* 17, 18, 220  
 yield-dose relationship, *Ausbeute-Dosis-Beziehung* 3, 15 ff., 219
- Yoshida ascites tumour, *Yoshida-Aszitestumor* 409, 429  
 — sarcoma of rats, *Yoshida-Sarkom der Ratte* 253
- ζ-potential of colloids, *ζ-Potential von Kolloiden* 406, 407
- zygotene stage, *Zygoten-Stadium* 494, 576