

Über die Anwendung von radioaktiven Indikatoren

Vortrag, gehalten anlässlich der 2. Tagung der Nobelpreisträger in Lindau a. B. am 24. Juni 1952

Von G. VON HEVESY, Stockholm

Einleitung

Unterschiede in den Eigenschaften der einzelnen Atom- und Molekülarten bilden die Grundlage der chemischen Forschung. Bis vor wenigen Jahrzehnten hat die Vorgeschichte der Atome und Moleküle, mit denen er operiert, den Chemiker kaum interessiert. Ob der Alkohol, wenn er nur rein war, durch Gärung oder Synthese entstanden ist, oder seine Kohlensäure aus einem Carbonat durch Einwirkung von Mineralsäuren oder aus einem Naturgemisch hergestellt wurde, war ohne Belang für ihn. Die Entwicklung der letzten Jahrzehnte zeigte jedoch, daß die Verfolgung der Vorgeschichte der Atome und Moleküle von sehr großem Interesse sein kann.

Wie das ja oft der Fall ist, traten auch hier Probleme erst in den Vordergrund, nachdem Methoden zu ihrer Lösung gefunden worden waren.

Durch Entwicklung der Methode der radioaktiven Indikatoren wurde es möglich, Atome und auch Moleküle zu kennzeichnen und ihren Weg im Laufe der chemischen Reaktion wie auch im Tierkörper oder in der Pflanze zu verfolgen. Es konnte nunmehr festgestellt werden, welcher Molekülart diese Atome, die eine bestimmte Stelle in einem organischen Molekül einnehmen, zu früheren Zeitpunkten angehörten, zu welchen Zeitpunkten und in welcher Form diese Atome (Moleküle), die im Urin auftreten, dem Organismus einverleibt worden sind, ob die Phosphoratom einer Pflanze aus dem Nährboden oder dem diesem zugesetzten Kunstdünger herrühren, und dergleichen.

Durch die Eröffnung dieser Möglichkeiten wurde das historische Interesse des Chemikers an der Vorgeschichte seiner Atome und Moleküle geweckt.

Messung der Selbstdiffusion

Der berühmte schottische Physiker MAXWELL stand in den siebziger Jahren des letzten Jahrhunderts vor der Aufgabe, die spontane Vermischungsgeschwindigkeit von Sauerstoff und Stickstoff, d. h. die Diffusionsgeschwindigkeit von Sauerstoff in Stickstoff, zu berechnen. Um die Rechenaufgabe zu erleichtern, machte er die Annahme, daß sowohl die Maße wie der Durchmesser der Sauerstoff- und Stickstoffmoleküle identisch seien. Das vereinfachte Problem war jetzt, die spontane Vermischungsgeschwindigkeit der Sauerstoffmoleküle, die «Selbstdiffusion», im Sauerstoff zu berechnen. Für MAXWELL war der Begriff der Selbstdiffusion lediglich eine Rechen-

größe. Nach der Einführung der Methode der radioaktiven Indikatoren wurde man jedoch darauf aufmerksam, daß die Messung der Selbstdiffusionsgeschwindigkeit, die nunmehr möglich wurde, ein großes Interesse bietet. An gasförmigen Substanzen ausgeführte Selbstdiffusionsversuche haben zwar keine Aufklärungen von wesentlicher Bedeutung gebracht, da die Geschwindigkeit, mit der ein Sauerstoffisotop in ein anderes diffundiert, nicht sehr verschieden ist von der Geschwindigkeit, mit der Sauerstoff in Stickstoff diffundiert. Dasselbe gilt für die Untersuchung der Diffusion im flüssigen Zustand, die Selbstdiffusion im Wasser, deren Messung jetzt dadurch ermöglicht wurde, daß man die Diffusionsgeschwindigkeit von verdünntem schwerem Wasser in gewöhnlichem Wasser maß; sie unterscheidet sich nicht wesentlich von der des Wasserstoffperoxyds in Wasser, die ja seit langem bekannt ist. Die Verfolgung der Selbstdiffusion in festen Körpern hat jedoch wesentlich dazu beigetragen, unsere Erkenntnisse des festen Zustandes, die im Laufe der letzten Jahrzehnte außerordentlich große Fortschritte gemacht haben, zu erweitern. Die Atome eines festen Körpers sind um so stärker an ihre Plätze verankert, je regelmäßiger sie angeordnet sind. Löst man im festen Blei kleine Mengen eines Mischkristall bildenden Elementes, z. B. Thallium, auf, so werden sie eine wesentlich größere Beweglichkeit aufweisen als die Bleiatome in festem Blei. Die Messung der Selbstdiffusionsgeschwindigkeit im festen Zustand läßt sich deshalb durch eine Messung der Diffusionsgeschwindigkeit der Atome eines nahe beschlehteten Elementes nicht ersetzen. Mit GROH haben wir bereits während des Ersten Weltkrieges Versuche angestellt, die die Messung der Selbstdiffusionsgeschwindigkeit in festem Blei durch Verfolgung der Eindringungsgeschwindigkeit des Bleiisotopes Radium D in Blei bezweckten. Zu genauen Werten dieser Größe führten jedoch erst Versuche, die wir mit SEITH in Freiburg (1928) ausgeführt haben. Radioaktive Atome, die energiereiche Partikel abgeben, erleiden einen Rückstoß ebenso wie ein Gewehr nach abgegebenem Schusse. Die radioaktiven Rückstoßprodukte sind positiv geladen und können an einer negativen Oberfläche aufgefangen werden. Ihr Nachweis ist, da sie radioaktiv sind, äußerst einfach. Kondensiert man Atome eines radioaktiven Bleiisotopes an einer Bleioberfläche, so gibt die zunächst positiv geladene Fläche Rückstoßteilchen ab, die an einer negativ geladenen Fläche aufgefangen werden können. Findet jedoch ein

Platzwechsel der an der Oberfläche angebrachten radioaktiven Bleiatome mit den darunterliegenden nichtradioaktiven statt, also eine Selbstdiffusion von Blei, und werden die radioaktiven Atome in eine Tiefe von nur wenigen hundert Atomschichten gebracht, so vermögen die Rückstoßteile das Metall nicht mehr zu verlassen, da ja ihre Reichweite äußerst kurz ist. Das Auffangen von Rückstoßteilchen an der negativ aufgeladenen benachbarten Fläche gelingt nicht mehr. Aus der Abnahme der Rückstoßausbeute mit der Zeit konnten wir die Selbstdiffusionsgeschwindigkeit berechnen. Diese Untersuchungen umfaßten auch die Messung der Selbstdiffusionsgeschwindigkeit in festen Bleisalzen, wie z. B. in festem Bleichlorid. In den darauffolgenden Jahren haben SEITZ und auch andere Forscher unsere Kenntnisse über den festen Zustand durch Selbstdiffusionsuntersuchungen wesentlich erweitert, wie das u. a. aus den Vorträgen der in diesem Monate in Göttingen stattgefundenen internationalen Tagung über die Reaktionsfähigkeit der festen Körper hervorging. Diese Vorträge zeigen deutlich, daß die Messung der Selbstdiffusionsgeschwindigkeit eine der wichtigsten Methoden der Erforschung der Reaktionsfähigkeit fester Körper bildet.

Die ersten Anwendungen

Die Anwendung des radioaktiven Bleies als Indikator in der Ermittlung der Selbstdiffusionsgeschwindigkeit in Blei war eine der frühen Anwendungen der radioaktiven Indikatoren. Ihre erste Anwendung war die Bestimmung der Löslichkeit von Bleisulfid und anderen schwerlöslichen Salzen. Wir haben zu Beginn von 1913 mit PANETH einer kleinen bekannten Menge von Bleinitrat eine unsichtbare Menge von Radium D bekannter Aktivität, das aus einst Radiumemanation enthaltenden Glasröhren genommen wurde, zugesetzt und das nunmehr markierte Blei als Sulfid gefällt. Nach erfolgter Sättigung des Wassers mit Bleisulfid wurde das Filtrat eingedampft, dessen Radioaktivität gemessen, woraus sich unmittelbar die Löslichkeit des Sulfids in Wasser ergab. Dieser Bestimmung folgten zahlreiche Untersuchungen auf dem Gebiete der Elektrochemie; unter diesen der Nachweis, daß das NERNSTsche Gesetz der Abhängigkeit des Elektrodenpotentials von der Ionenkonzentration auch bei äußerst weitgehender Verdünnung anwendbar ist. Einige Jahre später erfolgte u. a. PANETHs Nachweis der Existenz des flüchtigen Blei- und Wismutwasserstoffs wie auch der der Existenz freier Radikale, eine Entdeckung von großer Tragweite.

Anwendung in der analytischen Chemie

Die erste Anwendung radioaktiver Indikatoren in der analytischen Chemie erfolgte erst wesentlich später. Ende der zwanziger Jahre waren wir am Freiburger Physikalisch-Chemischen Institut mit der Ermittlung der Häufigkeit der Elemente beschäftigt. Prof. SCHNEIDERHÖHN stellte uns freundlicherweise seine äußerst reichhaltige

Gesteinssammlung zur Verfügung, und unter anderem sollte der Bleigehalt von Gesteinsproben bestimmt werden. Es handelte sich um einen sehr geringen Bleigehalt. Um uns zu vergewissern, daß wir diesen quantitativ erfaßt hatten, führten wir mit HOBBI eine Analysenkontrolle mit radioaktivem Blei als Indikator durch. Wir setzten der Schmelze der zu untersuchenden Gesteine eine unwägbare Menge Radium D von bekannter Radioaktivität zu, fällten nach Zusatz von Silbernitrat das vorhandene Silber und Blei als Sulfid, schieden das letztgenannte Element als Superoxyd anodisch ab und bestimmten dessen Gewicht und Radioaktivität. Im Falle einer quantitativen Erfassung des gesamten in dem Gestein vorhandenen Bleies sollten wir die gesamte zugesetzte Radioaktivität an der Anode vorfinden. Sollte nur die Hälfte vorhanden sein, so hatten wir die Bleianalyse nur mit einer 50prozentigen Ausbeute ausgeführt. Wie aus den Zahlen der Tab. I hervorgeht, war unsere Isolierung des Bleigehaltes der Basaltprobe eine quantitative, nicht dagegen die der Granitproben, wo wir, wie es die radioaktive Kontrolle anzeigte, nur 53% des vorhandenen Bleies erfaßt hatten und entsprechend dem festgestellten Bleigehalt mit 0,53 zu dividieren hatten, um zum Werte des Bleigehaltes des Gesteines zu gelangen. Die Durchführung dieser Analysenkontrolle ist äußerst einfach und führt zu völlig zuverlässigen Ergebnissen.

Eine Variation der geschilderten Analysenkontrolle ist die Zugabe von z. B. 10 mg markiertem Blei, das eine Radioaktivität von 1000 relativen Einheiten aufweist, zur Schmelze und, nachdem eine gleichmäßige Vermischung des zugesetzten Bleies mit der Schmelze erfolgt ist, die Isolierung von z. B. 1 mg Blei. Wenn dieses mg 100 relative Aktivitätseinheiten aufweist, so erhielt die Schmelze keine nachweisbaren Bleimengen. Sollte dagegen z. B. je 1 mg Blei im Gestein und in der Schmelze vorhanden gewesen sein, so hätte diese Bleimenge eine «Verdünnung» der zugesetzten Radioaktivität bewirkt, und das isolierte mg Blei sollte nur eine Radioaktivität von 91 Einheiten aufweisen.

Diese Methode der «Isotopenverdünnung» ist zum Nachweis der sehr geringen Bleimengen, die in den Gesteinen vorhanden sind, wenig geeignet. Sie fand jedoch eine weitgehende Anwendung in den quantitativen Analysen von Mischungen organischer Substanzen. Sie wurde zuerst zur Bestimmung des Leucingehaltes von Hämoglobin von USSING (1939) bzw. zur Bestimmung der Organe der Ratte von SCHOENHEIMER und Mitarbeitern (1939) angewandt, die der eine unbekannte Leucinmenge enthaltenden Lösung schweren Wasserstoff enthaltendes Leucin, «Deuterioleucin», von bekanntem Deuteriumgehalt zusetzten und aus dem verminderten Deuteriumgehalt der isolierten Leucinfraction auf die Menge der in der Hämoglobinlösung bzw. in den Organlösungen ursprünglich vorhandenen Leucinmenge schließen konnten. Tab. 2 zeigt die Ergebnisse der Bestimmung des Palmitinsäuregehaltes des aus dem Ratten-

Tab. 1. Bestimmung des Bleigehalts von Gesteinen mit Hilfe von radioaktivem Blei (Radium D) als Indikator

Gesteinsart	Anzahl der Einzelgesteine in der Mischung	Einwaage g	Anodisch gefundene Bleimenge, g Metall je g Gestein	Kolorimetrische Kontrolle der Bleimenge	Wiedergefundene Radioaktivität des zugesetzten Indikators in %	Bleigehalt des Gesteins, korrigiert auf Grund des Indikatorbefundes
Dunit						
Jackson Co., North Carolina . . .	1	34,6180	$32 \cdot 10^{-6}$	$30 \cdot 10^{-6}$	71	$42 \cdot 10^{-6}$
Lherzolit						
Baltimore, Maryland.	1	24,6817	$15 \cdot 10^{-6}$	$13 \cdot 10^{-6}$	69	$19 \cdot 10^{-6}$
Granite						
(sehr verschiedener Herkunft) . . .	58	48,0611	$18 \cdot 10^{-6}$	$16 \cdot 10^{-6}$	53	$30 \cdot 10^{-6}$
Basalt						
Giant's Causeway	1	28,0984	$4 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	100	$4 \cdot 10^{-6}$
Kimberlit						
Dutoitspan-Bergwerk	1	33,0458	$12 \cdot 10^{-6}$	$11 \cdot 10^{-6}$	69	$16 \cdot 10^{-6}$
Amphibolit						
Wesselton-Bergwerk, Südafrika . . .	1	28,9050	$10 \cdot 10^{-6}$	$11 \cdot 10^{-6}$	73	$15 \cdot 10^{-6}$
Shonkinit	2	32,3218	$8 \cdot 10^{-6}$	$7 \cdot 10^{-6}$	70	$10 \cdot 10^{-6}$
Kaliumgranite und Kaliumsyenite . . .	24	35,6243	$12 \cdot 10^{-6}$	$12 \cdot 10^{-6}$	86	$14 \cdot 10^{-6}$
Essexite und ähnliche Gesteine . . .	40	32,6559	$7 \cdot 10^{-6}$	$8 \cdot 10^{-6}$	80	$10 \cdot 10^{-6}$
Natriumgranite und Natriumsyenite . .	26	33,1848	$9 \cdot 10^{-6}$	$8 \cdot 10^{-6}$	73	$11 \cdot 10^{-6}$
Gabbros und ähnliche Gesteine . . .	67	33,6322	$4 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	80	$5 \cdot 10^{-6}$

körper isolierten Fettsäuregemisches, die von RITTERBERG und FOSTER durchgeführt worden ist.

Tab. 2. Bestimmung des Palmitinsäuregehaltes des aus dem Rattenkörper isolierten Fettsäuregemisches mit Hilfe der Isotopverdünnungsmethode

Gewicht der untersuchten Proben	Zugesetzte g Deuterio-palmitinsäure (D-Gehalt 21,5 %)	Deuteriumgehalt der isolierten ca. 200 mg Palmitinsäure in %	Berechneter prozentualer Palmitinsäuregehalt des Fettsäuregemisches
14,641	0,2163	1,28	23,4
14,135	0,1757	1,18	22,9

Es sind zahlreiche Modifikationen dieser Methode, der in der organischen Analyse eine große Bedeutung zukommt, vorgeschlagen worden.

Vor etwa fünfzehn Jahren wandte sich Prof. ROLLA mit dem Wunsche an uns, wir möchten auf röntgenspektroskopischem Wege ermitteln, wie viel Europium in den verschiedenen Gadoliniumproben, die er bei der Darstellung von Kilogrammen der seltenen Erde Gadolinium in Florenz erhalten hatte, noch vorhanden sei. Wir versuchten mit HILDE LEVI die Frage mit Hilfe einer radioaktiven Methode zu beantworten und bestrahlten zu diesem Zwecke die Gadoliniumoxydproben mit langsamen Neutronen, die ein Gemisch von Radium und Beryllium aussendet. Ist im Gadolinium Europium vorhanden, so absorbiert ein geringer Bruchteil der Europiumkerne je ein Neutron, und die Masse des Euro-

piumatoms steigt von 152 auf 153. Nun ist das entstandene Europium 153 radioaktiv; es zerfällt mit einer Halbwertszeit von 9,2 Stunden unter Aussendung von β -Strahlen, die leicht quantitativ nachgewiesen werden können. Die erzwungene Aktivität der bestrahlten Gadoliniumprobe bildet ein quantitatives Maß des Europiumgehaltes des Präparates. Aus Tab. 3 ist die erzwungene Radioaktivität einiger der untersuchten Gadoliniumoxydproben ersichtlich, wie auch die einer 2prozentigen «Standardprobe», die wir durch Zumischung von reinem Eu_2O_3 zu reinem Gd_2O_3 erhalten haben. Es ist aus der Tabelle ersichtlich, daß die beste untersuchte Probe 0,40% Eu enthält.

Tab. 3. Bestimmung des Europiumgehaltes von Gadoliniumoxydproben mit Hilfe der durch Neutronenbestrahlung erzeugten Radioaktivität des Europiums

Probe	Aktivität Stöße in der Minute	Prozentualer Europiumgehalt
Standardprobe	125	2,0
Analysenprobe 1	60	0,80
Analysenprobe 2	60	0,80
Analysenprobe 3	30	0,48
Analysenprobe 4	25	0,40

Diese Methode der chemischen Analyse auf Grund der in der Probe *in situ* erzwungenen Radioaktivität hat in den letzten Jahren eine weitgehende Anwendung gefunden. Während uns als Neutronquelle nur ein Gemisch von 600 mg Radium mit einigen Gramm von Beryllium zur Verfügung stand, kann heute die Aktivierung von

Analysenproben im Uranreaktor erfolgen, der einen Neutronenstrom von damals ungeahnter Intensität ausstrahlt. Man kann sich kaum eine einfachere Analysenmethode vorstellen, die ermöglicht, eine Analyse auszuführen, ohne von der Erzeugung einer verschwindend geringen Menge eines radioaktiven Isotops, das nach einiger Zeit wieder verschwindet, irgendwelche Änderungen an der Probe vorzunehmen.

Der schwere Wasserstoff als Indikator

Die Entdeckung des Deuteriums durch UREY im Jahre 1932 öffnete neue Wege zur Anwendung von stabilen seltenen Isotopen als Indikatoren. Es war jetzt möglich, Wasser sowie wasserstoffhaltige Moleküle durch Einführung von Deuterium in das Molekül zu markieren. Unmittelbar nach UREYS Entdeckung konnten wir dank der Unterstützung, die er uns zukommen ließ, die Wechselwirkung der Wassermoleküle des Goldfisches mit denen des Wassers, in welchem die Fische eingebracht waren, untersuchen. Wir beobachteten (1933) im Laufe von weniger als einer Stunde einen nahezu quantitativen Austausch der Wassermoleküle der lebenden Fische mit denen des umgebenden Wassers. Wir haben dann mit HOFER unsere Aufmerksamkeit auf die Lebensdauer der Wassermoleküle im menschlichen Organismus und zur Bestimmung ihres totalen Wassergehaltes mit schwerem Wasser als Indikator gelenkt, wobei uns Wasser, das nur $\frac{1}{2}\%$ schweres Wasser enthielt, zur Verfügung stand. Die mittlere Lebensdauer der Wassermoleküle in der Versuchsperson wurde mit 13,5 Tagen bestimmt. (Neuerdings, 1951, fanden PINSON und ANDERSON in zahlreichen untersuchten Fällen zwischen 9 und 14 Tagen liegende Werte.) Aus diesem verhältnismäßig kurzen Verweilen der Wassermoleküle im Organismus kann man folgern, daß, obwohl der Körper eines Erwachsenen Menschen ca. 10^{27} Wassermoleküle enthält, kein einziges dieser Moleküle mehr aus dem Mutterleib herrührt.

Wenn wir dem Organismus z. B. 100 ml 10% schweres Wasser enthaltendes Wasser zuführen und nach wenigen Stunden, nachdem sich ein Verteilungsgleichgewicht des zugeführten Wassers eingestellt hat, im aus dem Blute oder dem Urin hergestellten Wasser 0,02% schweres Wasser feststellen, so können wir aus diesen Angaben schließen, daß 50 Liter Körperwasser an der Verdünnung des zugeführten markierten Wassers teilnahmen, und daß der Körper demzufolge 50 Liter Wasser enthält. Diese Zahl ist mit etwa 2% zu vermindern, da etwa 2% des Deuteriumgehaltes des zugeführten Wassers im Körper in organische Verbindungen eintritt, wodurch ein um 2% zu großer Wassergehalt vorgetäuscht wird. Wir fanden in unseren im Jahre 1933 ausgeführten Untersuchungen, daß der Wassergehalt unserer Versuchsperson 63% ihres Gewichtes ausmachte.

In den allerletzten Jahren ist hyperschweres Wasser, das das radioaktive Wasserstoffisotop Tritium enthält, zugänglich geworden, und in Berkeley haben JOHN LAWRENCE und seine Kollegen zahlreiche Wassergehalts-

bestimmungen am Menschen ausgeführt, in denen radioaktives Wasser zur Verwendung kam. Sie stellten für den prozentualen Wassergehalt des normalen Menschen einen Durchschnittswert von $58,9 \pm 3,7$ seines Gewichtes fest. Während bei Anwendung von schwerem Wasser der Deuteriumgehalt der Proben mit Hilfe von Dichtemessungen des sorgfältig gereinigten Wassers oder mit Hilfe des Massenspektrographen bestimmt wird, entwickelt man zwecks Bestimmung des Tritiumgehaltes Wasserstoffgas aus dem Wasser und bestimmt dessen Radioaktivität. Obwohl die Dichtemessungen mit großer Genauigkeit ausgeführt werden können, erspart man sich beim Arbeiten mit Tritium die sorgfältige Reinigung des Wassers. Auch gehören die radioaktiven Messungen zu den allereinfachsten. Wenn wir die Wahl haben, die Markierungen mit Hilfe eines stabilen oder radioaktiven Indikators vorzunehmen, werden wir meistens dem radioaktiven Indikator den Vorrang geben. In den ersten mit Deuterium als Indikator ausgeführten Untersuchungen fanden wir Andeutungen eines Einbaues von Deuterium in organische Verbindungen. Wenige Jahre später (1935) haben SCHOENHEIMER und RITTERBERG in ihren klassischen und außerordentlich bedeutungsvollen Untersuchungen Fettstoffe und andere Bestandteile aus dem Tierkörper, dem schweres Wasser zugeführt worden war, isoliert. Sie konnten aus der Einbaugeschwindigkeit des Deuteriums in diese Verbindungen, die in vielen Fällen unerwartet rasch erfolgte, die Erneuerungsgeschwindigkeit der Molekülart berechnen. Eine gleichfalls unerwartet rasche Erneuerung von Skelettbestandteilen ergaben die Versuche, die wir gleichzeitig (1935) mit radioaktivem Phosphor als Indikator ausgeführt haben.

Für die Anwendung der seltenen Isotope als Indikatoren der Elemente war die Entdeckung der künstlichen Radioaktivität durch JOLIOU und FRAU JOLIOU-CURIE, die inzwischen (1934) erfolgt ist, von noch größerer Bedeutung als die äußerst bedeutsame Entdeckung des schweren Wasserstoffs und die der partiellen Trennung der Stickstoff- und Sauerstoffisotope, die wir gleichfalls UREY verdanken. Die Entdeckung der künstlichen Radioaktivität veranlaßte uns, unsere Aufmerksamkeit vom schweren Wasserstoff auf die künstlich darstellbaren radioaktiven Stoffe als Indikatoren zu lenken. Wir haben uns, sehr bald nach der Entdeckung der künstlichen Radioaktivität, Versuche vorgenommen, Präparate von radioaktivem Phosphor herzustellen und den radioaktiven Phosphor (^{32}P) als Indikator zunächst bei der Verfolgung der im Knochengestüt vor sich gehenden Vorgänge zu verwenden. Nicht allein die biologische Bedeutung des Phosphors hat uns veranlaßt, diesem Element den Vorrang zu geben, sondern es schien uns hoffnungsvoll zu sein, ziemlich starke Phosphorpräparate mit Hilfe des uns zur Verfügung stehenden Radiums herzustellen zu können. Mischungen von Radium und des leichten Berylliums senden Neutronen aus, die z. B. von Schwefel- (^{32}S -) Kernen aufgefangen werden und die letzteren unter Aussendung eines Protons in Kerne des ^{32}P

umwandeln. Der dem Schwefel aufgezwungene Phosphorcharakter klingt mit der bequemen Halbwertzeit von zwei Wochen ab, und die ausgesandte β -Strahlung ist leicht meßbar mit Hilfe des GEIGER-MÜLLER-Rohrs. Von besonderer Bedeutung war für uns die leichte Trennbarkeit des hergestellten ^{32}P vom Schwefel. Wir brachten unsere Radium-Beryllium-Präparate für eine bis zwei Wochen in die Mitte eines Kolbens, der 10 Liter CS_2 enthält. Das Schütteln des bestrahlten Schwefelkohlenstoffes mit verdünnter Säure, ja mit Wasser, führte zur Extraktion des größten Teiles des erzeugten ^{32}P .

Nachweis der Erneuerung des Skelettes mit der Hilfe von radioaktivem Phosphor als Indikator

Die erste Anwendung einer künstlich radioaktiven Substanz als Indikator war die des Radiophosphors zwecks Untersuchung (1935), ob und mit welcher Geschwindigkeit eine Erneuerung der mineralischen Bestandteile des Skelettes vor sich gehe. Die Blutflüssigkeit eines Kaninchens enthält etwa 10 mg Phosphat. Führen wir dem Blutplasma radioaktives Phosphat von verschwindend kleinem Gewicht zu, das z. B. im GEIGER-Zähler 10000 Stöße in der Minute erzeugt (Aktivität = 10000), so hat 1 mg des zugeführten Phosphats eine Aktivität («spezifische Aktivität») von 1000 Einheiten. Isolieren wir nach kurzer Zeit das Phosphat aus dem mineralischen Teil des Skelettes, und zeigt 1 mg Skelettphosphat eine Aktivität von einer Einheit, dann können wir folgern, daß 1/1000 Teil des Skelettphosphats durch Blutplasmaphosphat ersetzt worden ist. In diesem raschen Platzwechsel bzw. Erneuerungsprozeß nimmt nur ein geringer Teil des mineralischen Skelettphosphats teil.

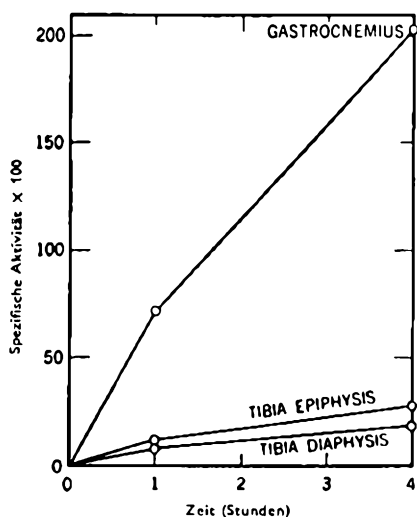


Abb. 1. Aufnahme des dem Frosche injizierten radioaktiven Phosphats durch den Gastrocnemius-Muskel und den weichen (epiphysischen) und harten (diaphysischen) Tibia-Knochen des Frosches bei 22°C

Abb. 1 zeigt den Bruchteil des Phosphats, der im Frosch-Tibia im Laufe von wenigen Stunden durch Plasmaphosphat ersetzt worden ist. Er ist in diesem kaltblütigen

Tiere besonders gering. Weil das gleichfalls langsame Eindringen des Phosphats in den Gastrocnemius-Muskel des Frosches nahezu linear fortschreitet, ist das nur in geringem Maße der Fall für das Eindringen in die mineralischen Skeletteile. Verfolgt man jedoch die Wechselwirkung zwischen dem Phosphat, der Blutflüssigkeit und den Knochen durch Wochen hindurch, so zeigt sich, daß eine zweite, langsame Wechselwirkung zwischen Plasmaphosphat und Knochenphosphat einsetzt, in welcher ein wesentlich größerer Teil des Knochenmaterials teilnimmt als im erstgenannten, raschen Effekt.

Wenn wir durch Verfütterung oder Injektion radioaktives Phosphat dem Kreislaufe zuführen, so dringt ein großer Teil des radioaktiven Phosphats bald in die verschiedenen Organe ein, während nicht radioaktives Phosphat aus den Organen in den Kreislauf eintritt. Eine Folge dieser Erscheinung ist eine rasche Abnahme der Aktivität des Plasmaphosphats, also eine wesentliche Änderung der Empfindlichkeit des radioaktiven Indikators. Während zu Beginn 1000 radioaktive Einheiten 1 mg Phosphat anzeigten, zeigten jetzt z. B. 10 radioaktive Einheiten 1 mg Phosphat an. Auf diese Änderung der Empfindlichkeit des radioaktiven Indikators mit der Zeit muß man stets Rücksicht nehmen. In speziellen Fällen kann man diese Veränderung dadurch vermeiden, daß man durch wiederholte Injektion (oder angepaßte Verfütterung) die Aktivität der Blutflüssigkeit auf konstantem Niveau hält. Wir haben solche Versuche mit erwachsenen Kaninchen, denen fünfzig Tage lang täglich oftmals wiederholt eine passende Menge radioaktives Phosphat injiziert wurde, ausgeführt. Ein Vergleich der Aktivität von 1 mg Knochenphosphat mit dem von 1 mg Plasmaphosphat nach verschiedenen Zeiten liefert Aufklärungen über den Bruchteil des mineralischen Knochenphosphats, das im Laufe des Versuches erneuert worden ist. Die Ergebnisse sowohl für weiche wie harte Knochen (Epiphysis bzw. Diaphysis)

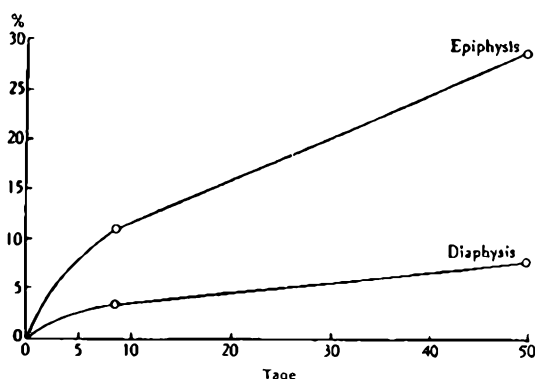


Abb. 2. Prozentuale Erneuerung des Phosphatgehalts der mineralischen Bestandteile der weichen und harten Knochen eines erwachsenen Kaninchens. Der radioaktive Phosphatgehalt (^{32}P) der Blutflüssigkeit wurde durch wiederholte Injektionen auf einem konstanten Niveau gehalten

sind aus Abb. 2 zu ersehen. Im Laufe von fünfzig Tagen wurde 30% des weichen Knochenmaterials (Femurs), aber nur 7% des harten Femurs des erwachsenen Ka-

ninchens erneuert, und eine weitere Erneuerung erfolgte nur sehr langsam. Diese Beobachtungen machen es sehr wahrscheinlich, daß ein wesentlicher Teil der mineralischen Skeletteile des erwachsenen Menschen nicht erneuert wird, im Gegensatz zu fast allen anderen Bausteinen, deren Erneuerung mit Hilfe von radioaktivem Phosphor, Kohlenstoff und anderen radioaktiven und stabilen Isotopindikatoren nachgewiesen werden kann.

Führt man dagegen einem wachsenden Organismus radioaktives Phosphat zu, so wird das gesamte neugebildete Knochengestüt solches enthalten.

Seit den oben erwähnten ersten Ansätzen sind zahlreiche Untersuchungen ausgeführt worden, in denen die Erneuerung der Skeletteile mit Hilfe von radioaktivem Phosphor, Calcium usw. als Indikator untersucht wurde. Da wir sehr wesentliche Unterschiede in der Erneuerungsgeschwindigkeit der Diaphyse und der Epiphyse finden, und es zahlreiche Übergänge zwischen diesen zwei extremen Knochentypen gibt, ist zu erwarten, daß der ^{32}P -Gehalt des Knochengestütes von Stelle zu Stelle variiert. Diese weitgehende Inhomogenität demonstrierte neuerdings ZETTERSTRÖM (1952) durch Isolierung von mineralischen Fraktionen aus dem Skelett des Kaninchens, dem zu einem früheren Zeitpunkte Radiophosphat zugeführt wurde. Die von ihm mit Essigsäure oder Ammoniumsulfat extrahierten Fraktionen zeigten alle eine ganz verschiedene spezifische Aktivität, also einen verschiedenen Gehalt an ersetzttem Phosphat.

Die Inhomogenität des ^{32}P -Einbaues ins Knochengestüt konnte auch mit Hilfe von Autoradiogrammen illustriert werden. In der Regel bestimmen wir die Radioaktivität einer Fraktion dadurch, daß wir die Probe unter dem Zählrohr anbringen und die Zahl der registrierten Stöße feststellen. Wenn wir dem Tier radioaktives Phosphat verabreichen, das 10^6 Stöße in der Minute im GEIGER-Rohr hervorbringt und das Knochenpräparat 100 Stöße in der Minute aufweist, so folgt daraus, daß $1/10000$ des dem Tiere zugeführten ^{32}P im Präparat vorhanden ist. Der photographische Nachweis der radioaktiven Substanzen ist zwar zur quantitativen Bestimmung des Gehaltes an einer radioaktiven Substanz weniger geeignet als das GEIGER-Rohr und ähnliche Instrumente, doch kommt der photographischen Methode eine große Bedeutung bei der Lokalisierung der aktiven Stellen in histologischen Präparaten zu. Man legt den erhaltenen Schnitt des radioaktiven Materials für einen angemessenen Zeitraum auf eine photographische Platte oder baut ihn in die photographische Emulsion ein und entwickelt dann die Platte. Abb. 3, die einer Arbeit von LEBLOND (1950) entnommen ist, zeigt die photographische Aufnahme und daneben auch ein Autoradiogramm des Unterkiefers einer wachsenden Ratte, dem zwei Stunden vorher ^{32}P verabreicht wurde. Die kräftigste Ablagerung des radioaktiven Phosphors ist auf der inneren Seite des Dentins des Incisors ersichtlich. Eine ziemlich ausgeprägte Ablagerung weist

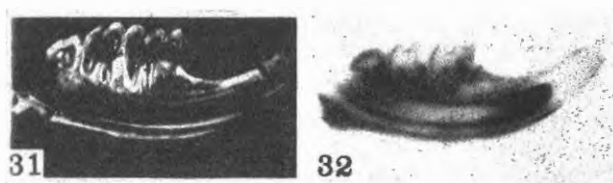


Abb. 3. Autoradiogramm des Incisors (Vorzahns) der Ratte

auch die innere Seite des Dentins des Molars auf. Die Zahnschmelze hat dagegen nur eine minimale Menge des ^{32}P eingelagert. Ein Blick auf dieses Autoradiogramm liefert demnach wertvolle Aufklärungen.

Zum Vergleich möchte ich auch einige Resultate von der Untersuchung der Einlagerung des ^{32}P in den Incisor der Ratte zeigen, die von uns nach der üblichen Methode gewonnen worden sind (Abb. 4). Der Zahn

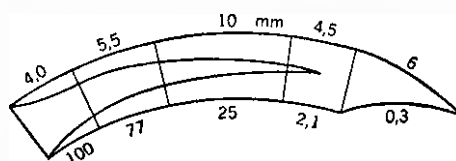


Abb. 4. Verteilung des vor drei Tagen der Ratte verabreichten ^{32}P in den verschiedenen Teilen des Incisors der Ratte

wurde in Teile geschnitten, und die Radioaktivität der einzelnen Teile dann mit Zählrohr gemessen. Man sieht in der Abbildung die Verteilung von ^{32}P . Noch weit von der Pulpa entfernt ist eine Einlagerung eines deutlich nachweisbaren Bruchteils des drei Tage vorher der Ratte zugeführten markierten Phosphats ersichtlich.

Wenn man zu Beginn des Versuches dem Tier ^{32}P zuführt, so bilden sich erst aus dem stark aktiven Plasma stark aktive Kristallschichten der apatitähnlichen Knochensubstanz. Inzwischen nimmt die Aktivität des Plasmas ab, und die stark aktiven Kristallschichten können jetzt nur durch minder aktive Schichten bedeckt werden, die die stark aktiven Schichten oder Kristalliten am Wiederauflösen bis zu einem gewissen Grad schützen können. Auf ähnliche Weise wird im Falle einer Bleivergiftung aus relativ stark bleihaltigem Plasma Blei, das Calcium isomorph vertreten kann, in den Knochenapatit eingebaut. Auf diese relativ hoch bleihaltige Schicht können andere schützende Schichten gelagert werden. So hält sich das Blei sehr lange im Skelett und wird nur langsam abgegangen – ein Tatbestand, der für eine etwaige chronische Bleivergiftung mitverantwortlich sein kann.

Die Erneuerungsgeschwindigkeit der Moleküle organischer Phosphorverbindungen

Die ersten Untersuchungen über die Erneuerung der phosphorhaltigen Kohlehydrate wurden kurz nach der erwähnten Untersuchung über die Verjüngungsgeschwindigkeit des Skelettes in gemeinsamer Arbeit mit Prof. PARNAS (1936) unternommen. Wir konnten die sehr rasche Erneuerungsgeschwindigkeit des labilen Phos-

phats der Adenosintri-phosphorsäure, der Kreatinphosphorsäure und anderer «labiler» Phosphorverbindungen der Muskulatur nachweisen. Unsere Kenntnisse auf diesem Gebiete sind in den verflochtenen sechzehn Jahren außerordentlich erweitert worden, und das radioaktive Phosphat erwies sich in den Händen zahlreicher Forscher als ein wichtiges Hilfsmittel bei Studium des Kohlehydratumsatzes. Es liegen viele Hunderte von Abhandlungen vor, in denen über die Anwendung von ^{32}P in Untersuchungen des Stoffwechsels von Kohlehydraten, phosphorhaltigen Fettstoffen, Nucleinsäuren und anderen Verbindungen berichtet wird. Die Anwendung von ^{32}P bei der Untersuchung des Umsatzes der Phospholipide erfolgte kurz nach dem Kohlehydratstoffwechsel, die Anwendung von ^{32}P zwecks Untersuchung des Nucleinsäureumsatzes einige Jahre später (1940). Die Umsatzgeschwindigkeit variiert von Verbindung zu Verbindung und von Organ zu Organ. Während man eine 50prozentige Erneuerung des labilen Phosphats der Muskeladenosintri-phosphorsäure in 20 Sekunden feststellen konnte, erfordert eine entsprechende Erneuerung der Lecithinmoleküle der Leber, in welchem Organ die Erneuerung dieser Molekülart am raschesten erfolgt, mehrere Stunden und die der Desoxyribosenucleinsäure, auch in rasch wachsendem Gewebe, sogar mehrere Tage.

Erfolgt die Bildung eines Organismus in einem ^{32}P enthaltendem Medium, so wird der gesamte Organismus aus markierten Molekülen aufgebaut. Alle Moleküle einer erwachsenen Maus durch dauernde Zuführung von ^{32}P zu markieren, gelingt nicht, da, wie bereits erwähnt, ein großer Teil des Skelettphosphors im Laufe des Lebens nicht erneuert wird. Die Mäusegeneration dagegen, die von einer Mutter abstammt, der ^{32}P zugeführt wurde, enthält durchwegs markierte Moleküle. Ein bedeutender Teil (etwa 60%, wie es Tab. 4 zeigt) der bei der Geburt enthaltenen ^{32}P -Atome wird im Laufe des Lebens der Maus im Urin und Faeces ausgeschieden und durch die Aufnahme von inaktivem Phosphor aus der Nahrung kompensiert.

Tab. 4. Retention des der Mutter am 9. Februar injizierten ^{32}P durch die am 16. Februar geborenen Mäuse

Nr. der neugeborenen Maus	Getötet	Radioaktivität von 1 mg Körper P	Gewicht in g
1	24.2.	100	2,8
2	5.3.	90	6,9
3	19.3.	70	13,0
4	2.4.	57	15,0
5	16.4.	53	20,0
6	18.5.	51	16,0
7	7.6.	39	22,0

Gesamtverlust während 103 Tagen = 61,0 %

Der Bruchteil des ^{32}P -Gehaltes der Mutter der zweiten Generation, die auf dritte Generation übergeht – da die erste Generation, wie bereits erwähnt, nicht völlig mar-

kiert werden kann, kommt sie bei diesen Berechnungen nicht in Betracht – ist $\frac{1}{2}\%$. Da sich dieser Übergangszentsatz von Generation zu Generation wiederholt, läßt sich leicht berechnen, daß von den $4 \cdot 10^{21}$ Phosphor-Atomen, die in der ersten Mäusegeneration vorhanden waren, in der elften Generation kein einziges mehr vorhanden ist. Eine schöne Illustration der Tatsache, daß die Erbanlagen nicht auf einer atomaren oder molekularen Gemeinschaft mit dem Vorfahren beruhen, sondern auf der Fähigkeit, Atome oder Moleküle auf bestimmte gemeinsame Art zu gruppieren. Die Erforschung des Mechanismus dieser Gruppierung ist eine der wichtigsten zukünftigen Aufgaben der Biochemie.

Anwendung der radioaktiven Indikatoren zum Studium des Eingriffs in physiologische Geschehnisse

Die Erneuerungsgeschwindigkeit der Moleküle, die die Bausteine des Organismus bilden, variiert nicht nur von Organ zu Organ, sondern kann auch in verschiedenen Teilen der Zelle verschieden sein. Die Erneuerungsgeschwindigkeit der Phosphatidmoleküle der Zellkerne ist z. B. etwas langsamer im JENSEN-Sarkom und wesentlich langsamer in der Leber als die Phosphatide des Cytoplasmas. Besonders große Unterschiede findet man in der Erneuerungsgeschwindigkeit der Ribosenucleinsäure. Die geringen in Zellkernen vorhandenen Ribosenucleinsäuremoleküle werden wesentlich rascher umgesetzt als die viel zahlreicheren des Cytoplasmas. Ferner muß man in Betracht ziehen, daß die Erneuerungsgeschwindigkeit einer Molekülart von Tier zu Tier recht stark variieren kann. Immerhin bleiben die Variationen innerhalb bestimmten Grenzen, und werden sie übertreten, so kann man daraus folgen, daß ein Eingriff in die physiologischen Geschehnisse stattgefunden hat. Radioaktive Indikatoren haben sich zum Nachweis eines solchen Eingriffs nützlich erwiesen, wie z. B. zum Studium der biochemischen Änderungen, die Röntgen- oder andere ionisierende Strahlen im Gewebe hervorrufen. FORSSBERG und der Vortragende bestrahlten eine große Zahl Mäuse mit einer letalen Dosis von Röntgenstrahlen. Daraufhin wurde den Mäusen radioaktives Phosphat injiziert und die Tiere fünfzehn Minuten später getötet. Die gleiche Zahl von Kontrollen, d. h. von nicht bestrahlten Tieren (insgesamt 200), wurde auf dieselbe Weise behandelt. Die Untersuchung der Radioaktivität der trockenen Leber zeigte für jede untersuchte Gruppe eine wesentlich größere ^{32}P -Aufnahme durch die Leber der bestrahlten Maus als durch die der Kontrollen, und diese Zunahme beschränkte sich durchaus nicht auf anorganisches Phosphat, das in den Leberzellen vorhanden ist. Auch die Aufnahme des ^{32}P durch das organisch gebundene Phosphat war größer in der Leber bestrahlter Tiere.

Es ist von verschiedenen Forschern (NIMS 1949; ROSS und ELY 1951, LOURAU 1952) festgestellt worden, daß Bestrahlung von hungernden Ratten bzw. Mäusen mit

massiven Röntgenstrahlendosen zu einer Erhöhung des Glykogengehaltes der Leber führt. Da in die Bildung von Glykogen Phosphorylierungsprozesse eingehen, liegt es auf der Hand, den festgestellten erhöhten Phosphatumsatz in der Leber der bestrahlten Tiere mit der erhöhten Glykogenbildung in der Leber solcher Tiere in Verbindung zu bringen.

Die Anwendung von radioaktivem Phosphor als Indikator brachte außer den bereits erwähnten auch andere Aufklärungen über die Beeinflussung biochemischer Vorgänge durch die ionisierende Strahlung. Wir fanden vor mehreren Jahren (1942) mit HANS VON EULER, daß der Zufuhr von ^{32}P einer Ratte das baldige Auftreten von radioaktivem Phosphor in der Desoxyribosenucleinsäurefraktion (neben anderen phosphathaltigen Fraktionen) das JENSEN-Sarkom der Ratte folgt. Bestrahlt man das Sarkom mit einigen hundert Röntgeneinheiten, so wird der Einbau von ^{32}P in die Desoxyribosenucleinsäurefraktion stark vermindert. Bestrahlung verhindert demnach ganz beträchtlich die Bildung neuer Desoxyribosemoleküle, dieser wichtigen Bausteine der Zellkerne, ohne deren Vermehrung eine weitere Zellteilung nicht möglich ist. Dieses Ergebnis ist von vielen Seiten bestätigt und erweitert worden. Bei der Ausführung solcher Versuche vergleichen wir nicht die Radioaktivität der Nucleinsäurefraktion des bestrahlten und unbestrahlten Sarkoms. Ein Unterschied in diesen könnte ja auch davon herrühren, daß die Bestrahlung die Phosphatpermeabilität beeinflußt wird und dadurch weniger ^{32}P in die Zellen des bestrahlten Sarkoms gelangt als in die der Kontrolle. Wir vergleichen das Verhältnis der Aktivität von 1 mg Nucleinsäure P und 1 mg anorganischem zellularem P der bestrahlten und unbestrahlten Sarkome und basieren unsere Schlüsse auf den Unterschied in diesen Relationen.

Der Vortragende konnte auch eine starke Verminderung des Einbaues von ^{14}C -Atomen in die Purinkörper der Desoxyribosenucleinsäure von Leberzellkernen nachweisen, die die Bestrahlung des Tieres bewirkte. Bei diesen Versuchen wurde Natriumacetat den Ratten injiziert, das in der Carboxylgruppe ^{14}C enthält – die einzige mit ^{14}C markierte Ausgangssubstanz, die damals zur Verfügung stand. Seither ist u. a. mit ^{14}C markiertes Glycin zugänglich geworden, das eine unvergleichlich besser geeignete Vorgangssubstanz des Purinkohlenstoffs bildet als Acetat. Nach Injektion von markiertem Glycin konnte man gleichfalls (ABRAHMS, 1950) zu stark verminderten Einbau von ^{14}C in die Purine der Desoxyribosenucleinsäure in Leber und Darmschleimhaut der bestrahlten Ratte nachweisen.

Die leichte Zugänglichkeit von ^{14}C in den letzten Jahren und die Möglichkeit, mit ^{14}C markierte Glucose, Bernsteinsäure, Fettsäuren, Aminosäuren und andere Verbindungen in biochemischen Studien anwenden zu können, bedeutet einen außerordentlich großen Fortschritt. Man darf wohl ^{14}C als den radioaktiven Indikator bezeichnen, dem die größte Bedeutung zukommt, ob-

zwar die Wichtigkeit des radioaktiven Phosphors nicht allzuviel hinter der des radioaktiven Kohlenstoffs zurückbleibt. Bevor ich auf eine Besprechung weiterer Anwendungen des ^{14}C eingehe, möchte ich einige Worte über die Anwendung von ^{32}P in botanischen bzw. landwirtschaftlichen Studien sagen.

Anwendung des Radiophosphors in botanischen Untersuchungen

In der ersten in Kopenhagen (1936) ausgeführten botanischen Untersuchung, in der radioaktives Phosphat verwendet wurde, setzte man der Nährlösung bekannten Phosphatgehaltes radioaktives Phosphat von verschwindend kleinen Mengen zu und untersuchte nach einigen Tagen den Phosphorgehalt und die Radioaktivität einzelner Teile der Pflanze. Aus den erhaltenen Zahlen ergab sich, wie aus Tab. 5 ersichtlich ist, das Verhältnis des

Tab. 5. Aufnahme von markiertem Phosphat aus der Nährlösung durch Bohnen

Versuchszeit Tage	Gewicht der Asche mg	Gesamt- gewicht des P mg	«Radio- aktives» P mg	«Radioaktives» P Total P
3,8	Stengel	53,8	2,05	0,806
	Blatt	32,9	1,12	0,358
7,0	Stengel	44,0	1,39	0,878
	Blatt	33,0	1,16	0,528
13,8	Stengel	136,5	5,74	4,21
	Blatt	52,9	1,95	1,31
21,0	Stengel	157,9	5,45	4,31
	Erstes Blatt	34,3	0,903	0,64
	Zweites Blatt	197,6	7,17	5,01

aus der z. B. von einem Blatte aus der Nährlösung aufgenommenen und des insgesamt vorhandenen Phosphors. In den letzten Jahren wurden zahlreiche ähnliche Versuche gemacht, die u. a. den Zweck verfolgten, zu ermitteln, welcher Anteil des in der Pflanze vorhandenen Phosphors, dem Boden und welcher Anteil dem zugeführten Kunstdünger entstammt. Solche Versuche bezwecken u. a. auch die Bestimmung, welche Phosphorverbindung sich als Kunstdünger am besten eignet und welcher Zeitpunkt des Jahres der günstigste sei zur Kunstdüngung der verschiedenen Felder.

Einige der bei kanadischen Untersuchungen erhaltenen Resultate zeigt Abb. 5 (DION 1950). Man sieht, daß der Anteil des Düngerphosphors am Gesamtphosphor des Weizens bis zu 60% ausmachen kann, ferner, daß Gerste mehr Düngerphosphat aufnimmt als Weizen. Ein interessantes Resultat ist, daß der Anteil des Düngerphosphors in den früheren Wachstumsperioden wesentlich größer ist als in den späteren. Das ist wahrscheinlich dem Umstand zuzuschreiben, daß mit dem Wachstum eine stärkere Ausbildung des Wurzelsystems Hand in Hand geht, wodurch der Bodenphosphor ein immer

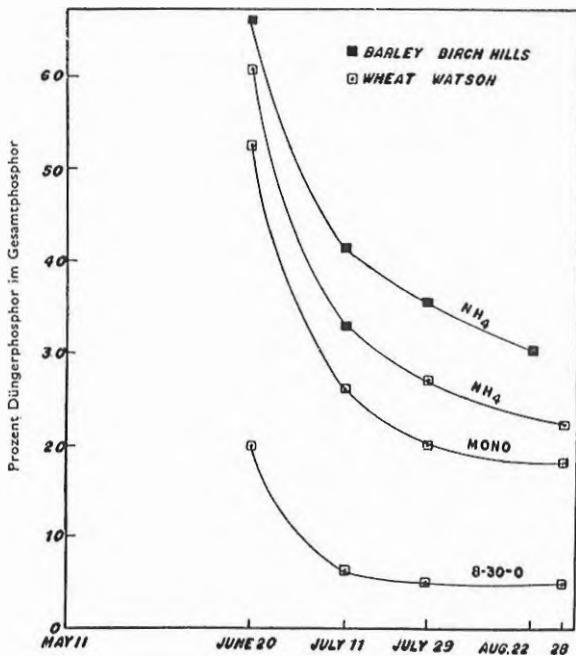


Abb. 5. Anteil des Kunstdüngerphosphats und des Bodenphosphats an dem von der Gerste bzw. dem Weizen aufgenommenen Phosphat. Der Phosphor des Kunstdüngers war mit ³²P radioaktiv injiziert

erfolgreicherer Konkurrent des Düngersphosphors wird. Von den untersuchten Verbindungen zeigte sich Monoammoniumphosphat als die geeignetste Düngersubstanz.

Einige Anwendungen des ¹⁴C

Die Anwendung von radioaktiven Indikatoren führte zu zahlreichen neuen Erkenntnissen, von denen wir einige besprochen haben. In den meisten Fällen diente sie jedoch dazu, auf anderen Wegen gewonnene Erkenntnisse zu vertiefen, eine in Nebel gehüllte Landschaft sichtbar zu machen, womöglich in allen ihren Einzelheiten.

Die Umwandlung eines Teils des dem Körper zugeführten Zuckers in Fett ist eine altbekannte Tatsache, aber wie weit der Leber in dieser Umwandlung eine den Vorgang beherrschende Rolle zukommt, darüber waren die Ansichten geteilt. Die Frage fand eine eindeutige

Beantwortung durch Verfolgung des Schicksals der mit ¹⁴C markierten Glucose im Körper von Ratten oder Mäusen, zu deren Nahrung ¹⁴C enthaltende Glucose beigegeben wurde. Die Ergebnisse dieser von CHAIKOFF in Berkeley ausgeführten Versuche, dem wir auch zahlreiche andere wichtige Anwendungen von radioaktiven Indikatoren verdanken, sind aus Tab. 6 ersichtlich. Nach 24 Stunden findet man 1-2% des Kohlenstoffs der verfütterten Glucose in den Fettsäuren der Leber, 8-15% in den anderen Organen, insgesamt findet man 10-16% des Glucosekohlenstoffs als Fettkohlenstoff wieder. Da ein Teil des gebildeten markierten Fettes im Laufe des Versuchs verbrannt wird, stellt diese Zahl die untere Grenze der in Fett umgewandelten Glucosemenge dar. Weit aus der größte Teil des Kohlenstoffs der der Ratte verfütterten Glucose erscheint, wie das die letzte Kolonne der Tabelle zeigt, in der Kohlensäure, die im Laufe der ersten 24 Stunden des Versuchs ausgeatmet worden ist. Sehr instruktive Aufklärungen bekommt man beim Vergleich der Radioaktivität der aus den verschiedenen Organen extrahierten Fettsäuren. 1 mg der aus der Leber extrahierten Fettsäuren, wie es Tab. 7

Tab. 7. ¹⁴C-Gehalt (relative Zahlen) von je 1 mg aus verschiedenen Organen von Mäusen extrahierte Fettsäuren. Den Mäusen wurde 24 Stunden vorher markierte Glucose verfüttert

«Spezifische Aktivität» der Fettsäuren in	Maus 1	Maus 2	Maus 3	Maus 4	Maus 5	Maus 6	Maus 7
der Leber	185	400	363	112	114	154	353
den übrigen Eingeweiden . . .				44	48		
den übrigen Organen	27	61	61	20	20	92	81

zeigt, enthält wesentlich mehr radioaktiven Kohlenstoff als die aus der Darmschleimhaut oder aus dem von Leber und Darm befreiten Körper extrahierten. Aus diesen Aktivitätszahlen geht klar hervor, daß die Umwandlung der Glucose in Fett wohl nicht allein, doch weit am intensivsten, in der Leber vor sich geht.

Sehr schön ließen sich mit Hilfe der radioaktiven Glucose die Wirkungen des Insulins auf den Stoffwechsel

Tab. 6. Umsatz der verfütterten, mit ¹⁴C markierten Glucose im Mäusekörper

Maus Nr.	Gewicht g	Von der Maus isolierte Fettsäuren mg	Versuchsdauer Stunden	Verfütterte ¹⁴ C-Glucose pro Minute	Prozentualer Anteil des verfütterten ¹⁴ C, gefunden als			Verfütterte Glucose mg	In Fettsäure umgewandelte verfütterte Glucose mg	In CO ₂ umgewandelte verfütterte Glucose mg	Prozentualer Anteil an CO ₂ und an Fettsäuren in der verfütterten Glucose	
					ausgeatmete CO ₂	Fettsäuren						
						der Leber	anderer Organe					Total
1 ♂	20	2640	24	0,853 · 10 ⁻⁶	70,5	1,5	8,3	9,8	1790	175	1260	80
2 ♂	18	1770	24	1,250 · 10 ⁻⁶	61,5	1,7	8,4	10,1	1810	182	1110	72
3 ♂	19	1950	24	1,163 · 10 ⁻⁶	61,8	1,8	10,0	11,8	2210	265	1360	74
4 ♀	20	3096	24	0,455 · 10 ⁻⁶	67,6	1,9	12,9	15,4				82
5 ♀	25	4117	24	0,650 · 10 ⁻⁶	61,5	1,9	12,3	14,5				75
6 ♂	20	2110	48	1,534 · 10 ⁻⁶	75,8	0,2	12,6	12,8	3480	446	2640	89
7 ♂	23	2860	48	1,520 · 10 ⁻⁶	84,5	1,4	14,8	16,2	4210	680	3560	101

demonstrieren. Inkubiert man Leberschnitte einer an Diabetes leidenden Ratte in einem WARBURG-Gefäß und setzt der RINGER-Lösung des Gefäßes markierte Glucose zu, so ist nach der Versuchszeit von drei Stunden kein ^{14}C in den Fettsäuren der Leberschnitte nachweisbar. Behandelt man dagegen die zuckerkranken Ratten, bevor sie getötet worden sind, einige Tage lang mit Insulin, wie es die Zahlen der Tab. 8 zeigen, so finden wir mehrere

Tab. 8. Einbau von ^{14}C in verschiedene Fraktionen der Leberschnitte diabetischer, nicht behandelter und Tage vorher mit Insulin behandelter Ratten. Der RINGER-Bicarbonatlösung, in der die Schnitte für drei Stunden angebracht waren, wurde vorher markierte Glucose zugesetzt

Vorbehandlung mit Insulin	Leberschnitte			Mittlere Glucosekonzentration mg/%	Prozentualer Anteil von ^{14}C -Glucose pro g Leber, erscheint als	
	Naßgewicht	Fettsäuren %	Kohlhydrate total %		CO ₂	Fettsäuren
keiner	1016	3,5	2,6	392	1,1	0,0
4	1030	4,9	3,0	392	12,4	4,9
5	995	3,3	6,1	392	9,0	4,4
keiner	991	2,4	3,0	366	0,9	0,0
1	1016	2,3	12,8	366	4,6	1,9
2	994	3,2	7,8	366	7,3	3,6
3	989	7,0	5,1	366	9,2	5,0

Prozente des radioaktiven Kohlenstoffs in den extrahierten Fettsäuren.

Auch die Verbrennung der markierten Glucose zu Kohlensäure ist ganz gering in den Leberschnitten diabetischer Tiere. Werden die Leberschnitte vorher mit Insulin behandelten Tieren entnommen, so steigt die Bildung radioaktiver Kohlensäure auf das Zehnfache.

Daß in Zuckerkranken die Umwandlung von Kohlenhydraten in Fett mehr oder weniger verhindert wird und Insulin viele Symptome der Zuckerkrankheit aufhebt, sind schon lange bekannte Tatsachen. Die beschriebenen, von CHAIKOFF ausgeführten Versuche bringen jedoch zahlenmäßige Belege über die Wirkung des Insulins.

Klinische Bestimmungsmethoden

Eine wichtige Anwendungsgruppe der radioaktiven Indikatoren umfaßt ihre Benutzung in Bestimmungen, die für die Physiologie oder für die klinische Diagnostik von Interesse sind. Ich erwähnte bereits die Anwendung von schwerem Wasser zur Bestimmung des Wassergehaltes der Körper. Die Bestimmung des Blutgehaltes des Körpers erfolgt oft derart, daß man einen Farbstoff in die Blutbahn injiziert und aus der Verdünnung, die der Farbstoff erleidet, die Menge der Blutflüssigkeit, die im Körper vorhanden ist, berechnet. Aus dieser Größe und der Hämatokritzahl berechnet man dann die Blutmenge des Körpers. Es ist oft von Interesse, die Menge der Blutkörperchen, die im Körper vorhanden ist, un-

mittelbar zu bestimmen. Das gelingt durch Einführung eines radioaktiven Indikators in die roten Blutkörperchen und durch Bestimmung der «Verdünnung» ihrer Radioaktivität, die nach Injektionen der markierten Blutkörperchen in den Kreislauf erfolgt.

Vor etwa fünfzehn Jahren untersuchten wir mit ATEN das Verhalten des einer Blutprobe zugesetzten radioaktiven Phosphats. Es zeigte sich, daß – während das Eindringen des ^{32}P in die Blutkörperchen recht langsam erfolgt – das ^{32}P , sobald es in die Blutkörperchen gelangt ist, sehr rasch in die vorhandenen «labilen» organischen Phosphorverbindungen eingebaut wird. Diese Beobachtung erklärt sich dadurch, daß in den Blutkörperchen Glykolyse und andere enzymatische Vorgänge vor sich gehen, im Laufe deren u. a. die labilen Phosphatgruppen der Adenosintriphosphorsäure als Phosphatdonatoren abgespalten werden. Beim raschen Wiederaufbau dieser Moleküle tritt dann, falls radioaktives Phosphat vorhanden ist, dieses mit derselben Wahrscheinlichkeit wie das nichtradioaktive in die neu aufgebauten Adenosin triphosphorsäuremoleküle ein. Im Gegensatz zum Blutplasma ist in den Blutkörperchen eine ganz beträchtliche Menge an labilen Phosphaten vorhanden, und während die Blutflüssigkeit nach Zusatz von radioaktivem Phosphat praktisch allein anorganisches Phosphat ^{32}P enthält, verteilt sich in den Blutkörperchen das ^{32}P auch auf die wesentlich größeren Mengen von vorhandenen labilen organischen Phosphorverbindungen. So wirken die roten Blutkörperchen wie eine Art Mausefalle, in die die ^{32}P -Atome in diesen kurzen *in-vitro*-Versuchen wesentlich leichter hinein- als herausgelangen. Diese Beobachtung veranlaßte uns, die roten Blutkörperchen *in vitro* mit ^{32}P zu markieren und sie dann zur Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge zu verwen-

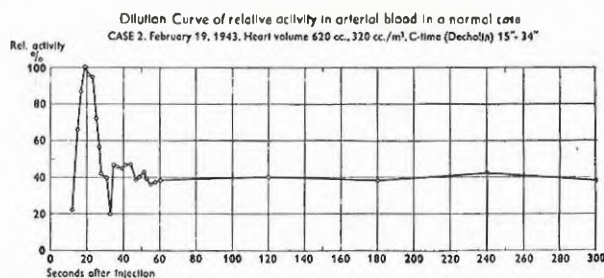


Abb. 6. a) Vermischungsgeschwindigkeit des in die Arterie injizierten, mit ^{32}P markierten Blutes mit dem zirkulierenden Blute eines normalen Menschen

den. Man entnimmt einem Menschen z. B. 2 ml Blut, inkubiert diese Menge nach Zusatz von radioaktivem Phosphat z. B. eine Stunde lang bei 37°. Dann reinjiziert man die Blutkörperchen der einen 1-ml-Probe der Versuchsperson, während die Blutkörperchen des anderen ml als Vergleichseinheit dienen. Nach zehn Minuten z. B., nachdem eine Vermischung des injizierten und zirkulierenden Blutes erfolgt ist, entnimmt man eine Blutprobe. Erzeugt sie 200 Stöße in der Minute im Zählrohr, während die Vergleichseinheit 600 000 Stöße in der Minute

erzeugt, so folgt daraus, daß in der Versuchsperson drei Liter Blutkörperchen vorhanden sind. ³²P-markierte Blutkörperchen finden auch Anwendung bei Bestimmung der Vermischungsgeschwindigkeit des injizierten und zirkulierenden Blutes. Abb. 6a und b, die einer Abhandlung von NYLIN entnommen sind, zeigen den großen Unterschied in der Vermischungsgeschwindigkeit des Blutes im Kreislauf eines gesunden und eines an Herzerweiterung leidenden Menschen.

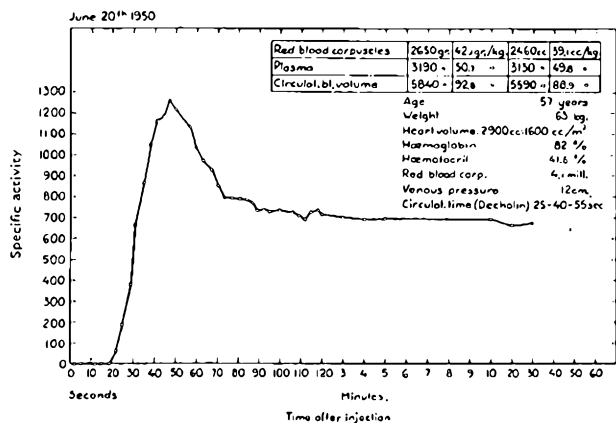


Abb. 6. b) Dasselbe im Falle eines an Herzerweiterung leidenden Menschen

Die Markierung der Blutkörperchen mit ³²P ist keine permanente. Doch ist der Verlust der Markierung durch die Blutkörperchen während der Zeit, die eine Bestimmung der Blutkörperchenmenge erfordert, nur gering.

Eine permanente Markierung der roten Blutkörperchen läßt sich mit Hilfe von radioaktivem Eisen erreichen, das bis zu ihrem Lebensende (110 Tage) in den Blutkörperchen verbleibt. Eine *in-vitro*-Markierung von Blutkörperchen mit radioaktivem Eisen ist jedoch nicht möglich. Um solche Blutkörperchen zu erhalten, muß man einem Menschen radioaktives Eisen zuführen. Bei der Bildung neuer Blutkörperchen erhalten sie dann ihre Markierung. Da man, um mit Eisen markierte Blutkörperchen zu erhalten, stets einen Blutdonor benötigt, kommt die Anwendung von mit radioaktivem Eisen markierten Blutkörperchen für klinische Zwecke kaum in Betracht. Radioaktives Kalium ⁴²K zeigte sich dagegen als durchaus brauchbar zur Markierung von roten Blutkörperchen *in vitro*.

Der Kaliumgehalt roter Blutkörperchen ist etwa 20mal größer als der von Blutplasma gleichen Gewichtes. Wandern ⁴²K-Ionen vom Plasma, dem sie zugesetzt worden sind, in die Blutkörperchen und kehren sie nach einiger Zeit wieder ins Plasma zurück, um dann später wieder auszuwandern, so ist die Verweilzeit der ⁴²K-Ionen aus dem erwähnten Grunde in den Blutkörperchen wesent-

lich höher als im Plasma. Die Blutkörperchen dienen als eine Art Mäusefalle für das *in vitro* in kurz dauerndem Versuche zugesetzte ⁴²K. Sie verlieren im Laufe einer Stunde nur etwa 3% ihres ⁴²K-Gehaltes. Abb. 7, die

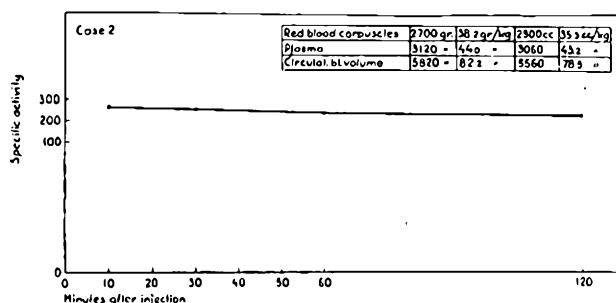


Abb. 7. Berechnung der Blutkörperchenmenge eines Menschen aus der Verminderung der Radioaktivität der injizierten, mit ⁴²K markierten roten Blutkörperchen inolge Vermischung mit der zirkulierenden Blutmenge

einer gemeinsam mit NYLIN verfaßten Abhandlung entnommen ist, zeigt das Ergebnis einer Blutmengenbestimmung mit Hilfe von ⁴²K markierten roten Blutkörperchen.

In der allerletzten Zeit gingen wir dazu über, eine natürliche radioaktive Substanz ThB zum Markieren der roten Blutkörperchen zu verwenden. Setzt man einer Blutprobe das Bleisotop ThB zu, so sammelt sich bis zu 99% ThB in den Blutkörperchen an und bleibt darin besser verankert als ³²P oder ⁴²K. Während in den letztgenannten Fällen beträchtliche Aktivitäten im Plasma verbleiben und diese deshalb durch Zentrifugieren von den Erythrocyten getrennt werden müssen, befindet sich im Plasma nach ThB-Aktivierung nur eine unbedeutende Menge an der aktiven Substanz. ThB hat eine Halbwertszeit von nur 10,6 Stunden und verbleibt deshalb in den Patienten nur während einer kürzeren Zeit, was gleichfalls Vorteile mit sich bringt. Im Besitze eines nach OTTO HAHN dargestellten Radiothorpräparates, das leicht zu erhalten ist, gewinnt man mit ThB markiertes Blut am einfachsten, wenn man Sauerstoff durch das Radiothor enthaltende Gefäß streifen läßt und ihn dann durch die Blutprobe leitet. Ein Teil des mitgeführten Thorons (Thoriumemanation) zerfällt im Blut unter der Bildung von ThB.

Ich habe mich in meinem Vortrage darauf beschränken müssen, wenige Beispiele einzelner Anwendungsgruppen der radioaktiven Indikatoren zu bringen. Durch die leichte Zugänglichkeit von radioaktiven Materialien hat die Methode im Laufe der letzten Jahre eine immer steigende Anwendung gefunden und wird vermutlich in der Zukunft eine noch wesentlich weitgehendere finden.