

seiner chemischen Erfolge haben sich — für ihn selbst am Rande seiner Tätigkeit — so unmittelbar zum Segen vieler Menschen ausgewirkt, daß er auch durch diese Erfolge „bekannt und berühmt“ geworden ist. Schon sein Phenylhydrazin hat in der Hand von *Knorr* zum Antipyrin, dem seinerzeit wichtigsten Fiebermittel geführt und leistet dem Menschen auch heute noch im Pyramidon und in anderen Pharmaka wertvolle Dienste. In Zusammenhang mit *O. Mehring*, in Anlehnung an seine Purin-Arbeiten, fand *Emil Fischer* das Veronal, das als eins der ersten auch heute noch gebrauchten Schlafmittel in allen Ländern bekannt ist. Der große medizinische und wirtschaftliche Erfolg dieses Mittels war und ist mit ein Ansporn für die Chemotherapie, von der wir bis in unsere Tage so bedeutende Erfolge miterleben dürfen.

Wissenschaftliche Leistungen, die mit Weitblick geplant und durchgeführt, trotzdem in einer sehr sorgfältigen Kleinarbeit ihre Wurzeln hatten, eine unbeirrbare Wahrheitsliebe, die sich vor dem Experiment stets beugte, so verlockend auch die Theorie sein mochte, ein scharfer Verstand und eine künstlerische Intuition im Kleinen wie im Großen zeigten in *Emil Fischer* den großen Chemiker. Sein Blick für andere Probleme der Chemie und der Naturwissenschaften und seine ganze Persönlichkeit machen ihn zu einem der großen deutschen Naturforscher.

Wie *Willstätter* es ausgedrückt hat und wie es alle empfanden, die *Emil Fischer* kannten: „Er war der unerreichte Klassiker, Meister der organisch-chemischen Forschung in analytischer und in synthetischer Richtung, als Persönlichkeit ein fürstlicher Mann“.

## Blutvolumenbestimmung mit radioaktiv markierten hochpolymeren Phosphaten

Von Dr. H. GÖTTE und Dr. M. FRIMMER, Mainz  
Aus dem Max-Planck-Institut für Chemie, Mainz

Die auf Hevesey<sup>1)</sup> zurückgehende Methode der Blutvolumenbestimmung mit radioaktiven Isotopen ist mannigfaltig geändert und verbessert worden. Es wird ein Überblick über die bisherigen Methoden gegeben und gezeigt, wie es mit Hilfe von radio-indizierten Polyphosphaten möglich ist, die Methodik zu erweitern.

Ein definiertes Flüssigkeitsvolumen in einem lebendigen Organismus entzieht sich der direkten Messung. Indirekt läßt es sich jedoch auf folgendem Wege ermitteln: Man injiziert eine bekannte Menge einer leicht nachweisbaren Substanz in bekannter Konzentration und bestimmt nach ihrer gleichmäßigen Verteilung auf das gesamte Volumen ihren Gehalt in einer kleinen Probe. Dann ergibt:

$$\frac{M_i}{M_e} = \frac{V_i + V_x}{V_e}$$

Dabei bedeutet  $M_i$  die injizierte Menge im injizierten Volumen  $V_i$ ,  $V_x$  zu ermittelndes Volumen und  $M_e$  die in dem entnommenen Volumen  $V_e$  enthaltene Menge.

Zur Injektion werden entweder Farbstoffe bzw. leicht nachweisbare Chemikalien verwendet, oder man benutzt die Isotopenmethode. Die Bezeichnungen für die Mengen in der obigen Gleichung werden dann etwa durch die ihnen proportionalen Kolorimeterwerte oder die mit dem Geiger-Müller-Zählrohr bestimmten Aktivitäten ermittelt.

Es gibt im Organismus eine Reihe gegeneinander abgrenzbarer Flüssigkeitsvolumina. So z. B. die Gesamtflüssigkeitsmenge, die sich in intrazelluläre und extrazelluläre unterteilen läßt.

Als Beispiel für eine Bestimmung der Gesamtflüssigkeit des Organismus sei auf eine Arbeit von *N. Pace, L. Kliene, H. K. Schachmann und M. Harfenist*<sup>2)</sup> hingewiesen. Sie bestimmen das Flüssigkeitsvolumen mit Wasser, das mit Tritium markiert ist, bei einem 70,8 kg schweren Menschen zu  $45,9 \text{ l} - 64,7\%$  des Gesamtgewichts. Die gleichmäßige Verteilung des markierten Wassers tritt in 1 bis 2 Stunden ein.

Auch innerhalb der Gesamtblutmengen sind zwei verschiedene Volumina zu unterscheiden, das Plasmavolumen und das Blutzellenvolumen. Ihr Verhältnis läßt sich leicht durch Abzentrifugieren der Blutzellen bestimmen (sog.

Haematokrit). Es muß nicht an allen Stellen der Blutbahn gleich sein. Vielmehr sind in den feinsten Kapillaren Abweichungen zu erwarten.

Zur Bestimmung des Blutvolumens mit Hilfe radioaktiver Isotope lassen sich also entweder die Erythrozyten oder das Plasma markieren und damit die entspr. Volumina bestimmen.

Voraussetzung ist, daß das zur Kennzeichnung verwendete Isotop in der Blutbahn verbleibt. Einmal dürfen die markierten Substanzen die Blutbahn nicht verlassen, zum anderen müssen die zur Markierung verwendeten Atome oder Atomgruppen innerhalb der Meßzeiten an die gekennzeichneten Molekülen gebunden bleiben. Es darf daher kein Austausch mit solchen Verbindungen stattfinden, die in die Gewebsflüssigkeit übergehen.

Für die Markierung der Erythrozyten verwendet man z. B. Radio-Eisen (<sup>59</sup>Fe,  $\beta^-$  0,46 MeV,  $\gamma$  1,3 und 1,1 MeV, Halbwertszeit 45 Tage). Da das im Hämoglobin der Erythrozyten gebundene Eisen so gut wie gar nicht mit angebotenem Eisen austauscht, ist eine Synthese in vitro unmöglich<sup>3)</sup>.

Das Eisen wird in das Hämoglobin im Knochenmark eingebaut; man ist daher auf die Markierung in vivo angewiesen. Man füttert durch Adörässe anämisch gemachte Hunde mit <sup>59</sup>Eisen und erreicht so, daß sehr viel von dem angebotenen Eisen in die Erythrozyten eingebaut wird<sup>4)</sup>. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, daß sich die Isotopenkonzentration im Gesamtblut über Monate nur wenig ändert. Es sind also viele Versuche mit einem Spenderhund möglich. Ebenso ist es möglich an einem Versuchstier nach Infusionen die Veränderung des Blutvolumens über längere Zeiträume zu verfolgen. Nachteilig ist, daß man den Menschen nicht als Spender von durch Biosynthese mit <sup>59</sup>Fe markierten Erythrozyten verwenden kann.

Auch mit Radio-Phosphor (<sup>32</sup>P,  $\beta^-$  17 MeV, Halbwertszeit 14,1 Tage) kann man in vivo markieren, jedoch bietet

<sup>1)</sup> G. Hevesey: Radioactive Indicators. Interscience Publishers, New York [London] 1948.

<sup>2)</sup> N. Pace, L. Kliene, H. K. Schachmann u. M. Harfenist, J. biol. Chemistry 168, 459 [1947].

<sup>3)</sup> P. F. Hahn, W. F. Bale u. Mitarb., Science [New York] 92, 131 [1942]. J. Goverts u. A. Lambrecht, Acta Biol. Belgica 3-4, 109 [1943].

<sup>4)</sup> F. P. Hahn u. Mitarb., J. exp. Medicine 71, 731 [1940].

sich die viel bequemere Methode von *L. Hahn* und *G. Hevesey*<sup>5)</sup> und *G. Hevesey* und *K. Zerahn*<sup>6)</sup> an, die es erlaubt, die Markierung *in vitro* vorzunehmen.

Dazu werden menschliche Erythrozyten in einer isotonischen Lösung 2 h bei 37° mit  $\text{NaH}_3^{32}\text{PO}_4$  behandelt. Sie nehmen etwa 30 % des radioaktiven Phosphors auf. Als Träger für 50  $\mu\text{C}$  Phosphor dienen einige γ Natrium-dihydrogenphosphat in 1,2 cm<sup>3</sup> physiologischer Kochsalzlösung, die mit 15 cm<sup>3</sup> heparinisiertem Blut gemischt werden. Es ist erforderlich, die Mischung zu schütteln, um ein Absetzen der Blutzellen zu vermeiden. 5 cm<sup>3</sup> des so markierten Blutes werden direkt zur Bestimmung injiziert. Nach Durchmischung mißt man die aus Blutproben abzentrifugierten Erythrozyten, deren Aktivität mit denen der markierten verglichen wird.

Ein weiteres Verfahren von *S. J. Gray* und *K. Sterling*<sup>7)</sup> ermöglicht es, entweder die Erythrozyten oder das Plasma mit Radio-Chrom zu markieren ( $^{51}\text{Cr}$ , K, γ 0,3 MeV, Halbwertszeit 28,5 Tage).

Eine Suspension aus Erythrozyten und physiologischer Kochsalzlösung (5 cm<sup>3</sup>) wird mit 68 γ  $\text{Na}_4^{51}\text{CrO}_4$  versetzt. Nach kurzer Zeit sind 80 bis 90 % des Chroms in den Erythrozyten aufgenommen, und zwar in die Globin-Fraktion des Hämoglobins. Werden hingegen  $^{51}\text{CrCl}_3$  und 5 cm<sup>3</sup> Blut *in vitro* gemischt, so gehen 94 bis 99 % in das Plasma und werden dort an die Eiweißkörper gebunden. Ähnliche Resultate ergaben Experimente *in vivo*.

Eine weitere Methode von *K. R. Chrispel*, *B. Porter* und *R. T. Nieset*<sup>8)</sup> benutzt mit Radio-Jod ( $^{131}\text{I}$ , β - 0,595 MeV, γ 0,65; 0,367; 0,08; Halbwertszeit 8 Tage) markiertes Serum von Menschen.

$^{131}\text{I}$ -Jod wird zu einer Lösung von 5 mg Kaliumjodid gegeben, die 1 cm<sup>3</sup> 0,08 n Schwefelsäure und 1 cm<sup>3</sup> 4 proz. Wasserstoffperoxyd enthält. Nach Freisetzen des Jods werden 5 cm<sup>3</sup> 7 proz. Natriumbicarbonat-Lösung zugegeben und 20 cm<sup>3</sup> menschliches Serum. Überschüssiges ionogenes Jod wird durch Dialyse entfernt. Injiziert werden etwa 12  $\mu\text{C}$ . Das Ergebnis der Blutvolumenbestimmung am Menschen verglichen mit Kontrollbestimmungen mit der Farbstoffmethode zeigt Tabelle 1.

Versuchs-person-Nr.	Plasma-Volumen Jod-Albumin	Evans-Blau	Versuchs-person-Nr.	Plasma-Volumen Jod-Albumin	Evans-Blau
	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>		cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>
1	2312	2268	13	2729	2800
2	3128	3465		2690	2750
3	3587	3430		2716	2890
4	3260	3290		3277	3300
5	3292	3030		2321	2120
6	3370	4370	14(Kind)	792	750
7	4440	3000	15	2232	2220
8	2664	3040	16	3194	3050
9	1687	2050	17	2830	2720
10	3228	3100	18	3750	3594
11	3860	3800	19	3214	3120
12	2900	2750	20	2377	2220

Tabelle 1

Vergleichende Plasma-Volumenbestimmungen mit Radio-Jod-Albumin und Evans-Blau T-1824

In allen diesen Arbeiten mißt man die Aktivitäten so, daß die abzentrifugierten Erythrozyten nach gründlichem Waschen auf Aluminiumschälchen eingetrocknet und dann unter ein Geiger-Müller-Zählrohr gebracht werden. Ebenso wird das Plasma nach Eintrocknen gemessen. Das bedeutet, daß die Messung nicht unmittelbar an die Blutentnahme angeschlossen werden kann und sich evtl. Meßfehler nicht gleich zeigen.

Jedes der genannten Verfahren weist Vor- und Nachteile auf. Die Eisen-Markierung *in vivo* scheidet für die Humanmedizin aus. Zur Markierung von Erythrozyten mit radioaktivem Phosphor braucht man einen Spender und sterile Bedingungen. Gleches gilt für die Chrom-

Methode. Am elegantesten ist die Jod-Eiweiß-Markierung, die aber ebenfalls beträchtliche experimentelle Vorbereitungen fordert, besonders wenn das Injektionspräparat steril hergestellt werden soll.

Die kolorimetrischen Verfahren weisen ebenfalls Schwächen auf. So sind wiederholte Bestimmungen in kürzeren Abständen am gleichen Objekt nicht möglich<sup>9)</sup>. Auch sind Vergleichslösungen aus injiziertem Farbstoff und Serum notwendig<sup>10)</sup>.

Da die genannten Methoden beträchtliche Schwächen aufweisen, die hauptsächlich darauf beruhen, daß aus dem lebenden Organismus entnommene Stoffe markiert werden müssen, lag es nahe, nach rein anorganischen Substanzen zu suchen, die im voraus und unabhängig von dem zu untersuchenden Organismus markiert werden können. Eine derartige Stoffklasse fand sich in bestimmten Phosphaten.

### Eigenschaften der verwendeten Polyphosphate und Herstellung der markierten Präparate

Unter den Polyphosphaten sind eine ganze Reihe wasserlöslicher Verbindungen bekannt<sup>11)</sup>, die für die vorliegende Fragestellung in Betracht kamen. So ist u. a. das als *Grahamsches Salz* bekannte Natriumphosphat eine hochmolekulare Verbindung<sup>11)</sup>. Ferner existiert eine zuerst von *Tammann*<sup>12)</sup> beschriebene Verbindung der Zusammensetzung  $\text{KNa}_2(\text{PO}_3)_3$ , die von *O. Lamm* und *H. Malmgren*<sup>13)</sup> eingehender untersucht wurde. Die Lösungen dieser Verbindung in Wasser sind hochviscos. (Eine 0,5 proz. wäßrige Lösung weist die fünffache Viscosität des Lösungsmittels auf.) Diese Viscosität wird durch Zusatz von Elektrolyten herabgesetzt. In 0,3 molarer Natriumrhodanid-Lösung konnten *O. Lamm* und *H. Malmgren* das Molekulargewicht der Substanz aus Sedimentationsmessungen in der Ultrazentrifuge und aus Diffusionsmessungen zu etwa  $1,3 \cdot 10^5$  ermitteln. Das Achsenverhältnis der Makromoleköl wird von ihnen mit 1 : 45 angegeben. Die Verbindung ist aus wäßriger Lösung durch Alkohol, Aceton oder konzentrierte Natriumchlorid-Lösung auszufällen. Sie bildet eine knetbare, kautschukartige Gallerie.

Dialysen der radioaktiv markierten Polyphosphate in wäßriger Lösung einer Konzentration von 200 mg in 20 cm<sup>3</sup> zeigten, daß beide Verbindungen semipermeable Membranen nicht zu durchdringen vermögen. Daher wurde ihr Verhalten im Gefäßsystem von Hunden untersucht.

Herstellung: 1 bis 2 mC  $^{32}\text{P}$  in Form von  $\text{H}^{32}\text{PO}_4$  werden in einen Platintiegel gegeben und dort mit der wäßrigen Lösung von 0,6 g Natrium-dihydrogenphosphat oder Kalium-dihydrogenphosphat vermischt. Nach Eindampfen der Lösung bei 50° im Trockenschrank konnten die am Rande hochgezogenen Salzkrusten mit einem Spatel auf dem Boden des Tiegels vereinigt werden. Der Platintiegel wurde sodann in einem elektrischen Tiegelofen erhitzt.

Zur Gewinnung des *Grahamschen Salzes* mußte das markierte Natrium-dihydrogenphosphat 30 min auf 900° gehalten und der Tiegel dann in Eiswasser abgeschreckt werden. Die erstarrte Schmelze löste sich gut in Wasser und wurde in einen Meßkolben übergeführt.

Zur Darstellung des *Tammannschen Polyphosphates* muß von radioaktivem Kalium-hydrogenphosphat ausgegangen werden, das innerhalb von 25 min auf dunkle Rotglut erhitzt wird. Sobald diese Temperatur erreicht ist, wird der Tiegel entfernt und an der Luft abgekühlt. Der Schmelzkuchen läßt sich leicht entfernen. Er wird gepulvert und gewogen. Anschließend übergießt man das Pulver mit so viel gesättigter Kochsalzlösung, daß auf ein Mol Kaliummetaphosphat zwei Mol Natriumchlorid kommen. Nach etwa 12 h wird die überstehende Flüssigkeit von der gebildeten Gallerie abgegossen und zweimal mit wenigen cm<sup>3</sup> destilliertem Wasser gewaschen. Dann löst man in 30 bis 50 cm<sup>3</sup> destilliertem Wasser unter vorsichtigem Erwärmen im Wasserbad. Aus der

<sup>5)</sup> *L. Hahn* u. *G. Hevesey*, Acta Physiol. Scand. 4, 193 [1942].  
<sup>6)</sup> *G. Hevesey* u. *K. Zerahn*, Acta Physiol. Scand. 4, 376 [1942].

<sup>7)</sup> *S. J. Gray* u. *K. Sterling*, J. Chem. Invest. 29, 1614 [1950].  
<sup>8)</sup> *K. R. Chrispel*, *B. Porter* u. *R. T. Nieset*, J. Chem. Invest. 29, 513–516 [1950].

<sup>9)</sup> *H. Remmer*, Arch. Exper. Path. u. Pharmaz. 209, 421 [1950].  
<sup>10)</sup> *Gibson* u. *Evans*, J. Clin. Invest. 16, 301 [1937].

<sup>11)</sup> *E. Thilo*, diese Ztschr. 63, 508 [1951], 64, 510 [1952].

<sup>12)</sup> *K. Karbe* u. *G. Jander*, Kolloid-Beihefte 54, 2 [1943].

<sup>13)</sup> *O. Lamm* u. *H. Malmgren*, Z. anorg. Chem. 246, 103 [1940].

Lösung wird das Polyphosphat mit 50 cm<sup>3</sup> Alkohol ausgefällt und die Fällung mit 50 proz. Alkohol gewaschen, bis kein Chlor in der Waschlösigkeit mehr nachweisbar ist. Die Substanz wird in einem Meßkolben in destilliertem Wasser gelöst. Durch Eindampfen von 2 cm<sup>3</sup> Lösung bestimmt man den Gehalt.

### Ausführung der Versuche und Messungen

Die Versuche wurden in Pernooton-Narkose ausgeführt: Der Versuchshund bekam in eine freigelegte vena femoralis 2 bis 10 mg mit etwa 10 μC <sup>32</sup>P markiertes Polyphosphat (gelöst in Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung) injiziert. Nach 5 min wurde das erste Mal 1 cm<sup>3</sup> Elut entnommen, und zwar aus der Vene der gegenüberliegenden Seite, um jede Möglichkeit einer Contamination durch aktive Substanz zu vermeiden. Das entnommene Blut konnte nach Vermischen mit 9 cm<sup>3</sup> 3 proz. Natriumeitrat-Lösung unmittelbar gemessen werden.

Gemessen wurde in 10 cm<sup>3</sup> fassenden Flüssigkeitszählrohren, die 10 bis 15 % der im zu messenden Präparat stattfindenden β-Zerfälle registrierten.

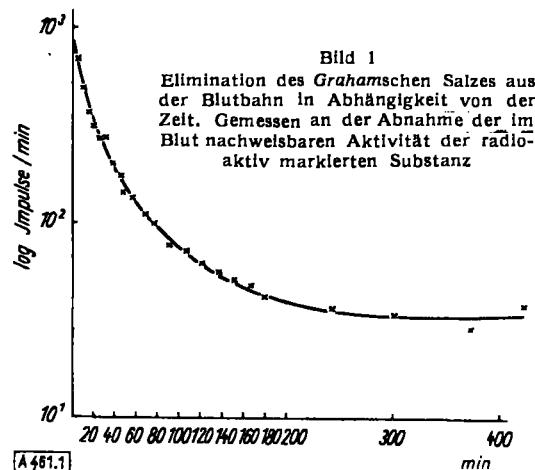
Die Aktivitätsbestimmung der Ausgangssubstanz ist nicht durch direkte Messung der zu injizierenden Menge möglich, da deren Aktivität zu groß ist, um mit einem Zählrohr gemessen zu werden. Die Ausgangslösung ist daher zur Bestimmung der Aktivität auf das 10<sup>-5</sup>-fache zu verdünnen. (Z. B. 1 cm<sup>3</sup> Ausgangslösung verdünnt auf 1000 cm<sup>3</sup>, davon 1 cm<sup>3</sup> auf 100 verdünnt, von denen 10 cm<sup>3</sup> gemessen werden).

Alle zur Injektion und Blutentnahme benutzten Spritzen wurden mit Xylol oder Quecksilber geeicht, um injiziertes und entnommenes Volumen auf 1 % bestimmen zu können.

Injiziert wurde in 10 bis 20 sec. Das Tammannsche Polyphosphat zeigt in rein wässriger Lösung beträchtliche Viscosität. Bei Injektionen derartiger Lösungen treten häufig Änderungen der Atmungs- und Kreislaufverhältnisse beim Versuchstier auf<sup>13</sup>), die bei Präparaten, bestehend aus Lösungen von Polyphosphat, in physiologischer Kochsalzlösung unterblieben. Beide Arten von Lösungen geben jedoch gleiche Resultate in Bezug auf die Blutvolumenbestimmung.

### Ergebnisse und Kontrollbestimmungen

Verfolgt man die Aktivität der entnommenen Blutproben in Abhängigkeit von der Entnahmzeit, so ergibt sich, daß die Substanzen aus dem Blut eliminiert werden. Trägt man die Aktivitätswerte auf die logarithmisch geteilte Achse eines Koordinatenkreuzes auf und auf die metrisch geteilte Abszisse die Zeiten der Blutentnahmen, so ergibt sich für das Grahamsche Salz die in Bild 1 gezeigte Kurve.



Da es unmöglich ist, aus diesem Kurvenverlauf die zur Bestimmung des Blutvolumens nötige Aktivität zu errechnen, scheidet das Grahamsche Salz für das Verfahren aus.

Auch das Tammannsche Polyphosphat wird aus der Blutbahn eliminiert. Jedoch erhält man unter gleichen Versuchsbedingungen bei der graphischen Darstellung anfangs eine gerade Linie, die allmählich in eine Parallele

zur Abszisse umbiegt. Die Geradlinigkeit des Kurvenbeginns bei der halblogarithmischen Darstellung des Aktivitätsverlaufs mit der Zeit läßt erkennen, daß die Elimination des Polyphosphats aus dem Blut einem Exponentengesetz folgt (Bild 2).

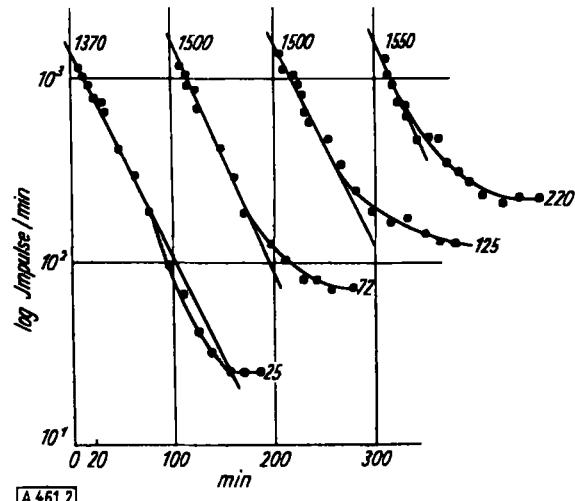


Bild 2

Elimination des Tammannschen Salzes in Abhängigkeit von der Zeit. (Dreimalige Wiederholung des Versuches in Abständen von 3 h)

In beiden Fällen ließ sich zeigen<sup>14)</sup>, daß der überwiegende Teil der hochpolymeren Phosphate in Leber und Milz gespeichert wurde. Der verschiedenartige Verlauf der Eliminationszeit-Kurven läßt darauf schließen, daß Unterschiede in der Teilchengröße und Gestalt sowie der chemischen Reaktionsfähigkeit zwischen Tammannschem und Grahamschem Salz bestehen. Ersteres besteht allem Anschein nach aus gleichgeformten und gleichgroßen Molekülen, wie es aus den Messungen von Lamm und Malmgren<sup>15)</sup> hervorgeht. Diese einander ähnlichen Teilchen werden mit gleichmäßiger Geschwindigkeit aus dem Blut eliminiert, wenn sie in Leber und Milz gelangen, und zwar so, daß stets der gleiche Bruchteil des in der Blutflüssigkeit gelösten Polyphosphats beim Durchgang durch diese Organe in ihnen gespeichert wird.

Anders das Grahamsche Salz. Hier liegen offensichtlich Teilchen entweder verschiedener Größe oder unterschiedlicher Form vor. Für die größten und sperrig gebauten Moleküle, bzw. diejenigen, die ihrer Bauart nach die Möglichkeit haben, durch chemische Bindung oder Adsorption bevorzugt innerhalb des Leber- und Milzgewebes festgehalten zu werden, ist die Eliminationswahrscheinlichkeit am größten. Sie werden daher mit einer größeren Eliminationsgeschwindigkeit aus dem Blut entfernt als Fraktionen kleinerer, gleichmäßiger und chemisch inaktiverer Moleküle. Die Eliminationsgeschwindigkeit für ein solches Gemisch ist daher nicht konstant, und es resultiert Bild 1.

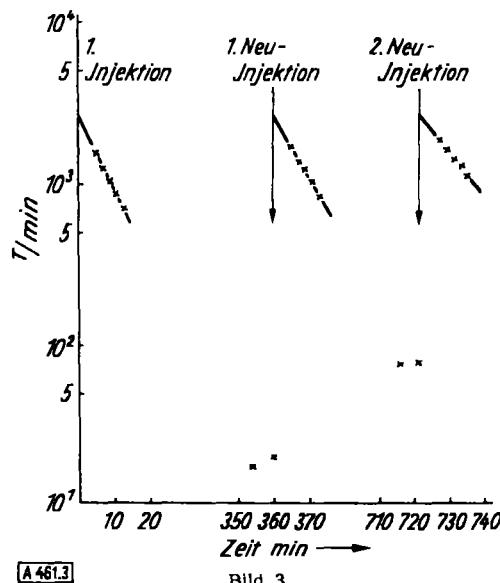
Beim Tammannschen Salz erfolgt diese Elimination hingegen mit konstanter Geschwindigkeit und es resultieren die anfangs geraden Linien des Bildes 2, die es erlauben bei gleichmäßiger Verteilung der aktiven Substanz im Blut die sich zur Zeit 0 ergebende Aktivität durch Extrapolation zu ermitteln. Es ist also möglich, die durch das gesamte Blutvolumen veranlaßte Verdünnung der injizierten Menge festzustellen, ohne daß sich ein gleichbleibender Spiegel des verabfolgten Stoffes im Blut einstellt. Aus der Neigung der geraden Linie läßt sich für das injizierte Polyphosphat eine Halbwertszeit für die Elimination aus der Blutbahn ermitteln. Diese ist bei den einzelnen Tieren verschieden, sie schwankt zwischen 12 und 15 Minuten.

<sup>14)</sup> M. Frimmer u. H. Götte, in Vorbereitung.

Es hat sich durch Dialyseversuche<sup>14)</sup> zeigen lassen, daß die der Parallele zur Abszisse entsprechende Aktivität zumindest teilweise aus bereits abgebautem Polyphosphat herrührt. Dialysiert man nämlich das nach drei Stunden Versuchsdauer dem Versuchstier entnommene Blut, so läßt sich die in ihm vorhandene Aktivität zum Teil auf diesem Wege entfernen. Die unter gleichen Bedingungen untersuchte Ausgangslösung des hochpolymeren Phosphats enthält dagegen keine nennenswerten dialysierbaren Fraktionen. Da die dialysablen Anteile im Blut erst nach der Injektion gebildet werden, muß die ihnen entsprechende Aktivität zur Injektionszeit gleich Null sein, um entsprechend dem im Organismus erfolgenden Abbau langsam anzusteigen. Zu dieser im Blut erscheinenden Aktivität addiert sich diejenige, die den evtl. in geringen Mengen im injizierten Präparat vorhandenen niedermolekularen Anteilen entspricht. Überdies spricht eine Reihe in dieser Richtung gemachter Versuche dafür, daß ein geringer Bruchteil des in der Leber gespeicherten hochmolekularen Anteils sich im Blut mit diesem im Gleichgewicht befindet. Da erstere sicher, letztere möglicherweise nach weiterem Abbau in die Stoffwechselvorgänge einbezogen werden, läßt sich über die jeweilige Höhe dieser Aktivitätsanteile im Blut während der Elimination des hochpolymeren Phosphats nichts aussagen. Sie betragen jedoch stets nur einen geringen Bruchteil der zu Beginn des geradlinigen Kurventeils gemessenen Aktivitäten. Bei der Extrapolation müssen die in den niedermolekularen Anteilen entsprechenden Aktivitäten daher unberücksichtigt bleiben. Man verwendet aus diesem Grunde für die graphische Extrapolation nur die ersten Punkte des Kurvenzuges, solange noch Geradlinigkeit vorliegt, wobei es genügt, sich bei der Messung mit einigen Werten (4 oder 5 nach der Injektion) zu begnügen (Bild 3).

Voraussetzung für die Richtigkeit der Methode ist allerdings vollständige Durchmischung von injiziertem Indikator und vorhandenem Blut in den ersten Minuten nach

bahn Volumina mit hoher Konzentration an injiziertem Stoff neben Volumina niedriger Konzentration bestehen und daß völlige Durchmischung etwa 2–4 min in Anspruch nimmt. Es wäre daher denkbar, daß in der ersten Phase nicht stets der gleiche Bruchteil der im Blut vorhandenen aktiven Substanz in Leber und Milz gespeichert wird. Es würden vor der homogenen Durchmischung also größere Anteile herausfiltriert als später. Damit aber liegen alle



A 461.3

Bild 3

Bestimmung der zur Zeit 0 herrschenden Polyphosphat-Konzentration aus den fünf ersten Meßpunkten durch Extrapolation. Injektionen: je 2 ml Polyphosphat ~ 6,7 mg =  $6,04 \cdot 10^6$  T/min = 0,248 mg Polyphosphat/kg Hund

gemessenen Aktivitäten um diesen unbekannten Bruchteil zu niedrig, einschließlich des durch Extrapolation ermittelten, und die sich aus diesem Wert ergebenden Blutvolumina fallen zu hoch aus. Daher wurde in einzelnen in den Tabellen 2 und 3 angegebenen Fällen mit in vivo mar-

Gewicht	Polyphosphat mg	mg Polyphosphat je kg	Eliminationshalbwertszeit	Blutvol. cm³	% des Körpergewichts	Zahl d. gradlinig liegenden Meßpunkte	zeitliche Dauer des gradlinigen Verlaufs min	entnommene Blutmenge cm³	gespritzte cm³
25,6	9,5	0,37	19	3020	11,8	9	55	19	2
—	—	—	280	3150	12,3	8	>200	12	10
18,2	9,5	0,52	12,5	2080	11,2	7	35	18	2
—	—	—	345	1965	10,8	9	>90	12	10
15	9,38	0,625	11,5	1695	11,3	6	25	22	5
—	—	—	—	1640	10,9	5	>115	14	13
12,5	30,6	2,45	18,5	850	6,8	9	58	16	4
—	—	—	—	870	7	11	>200	11	10
20,5	38,3	1,87	14	1524	7,4	4	22	18	5
—	—	—	—	1542	7,5	8	>160	7	10
14,5	38,3	2,64	34	1660	11,5	16	170	16	5
—	—	—	—	1620	11,2	11	>170	11	10
27	76	2,82	26	2504	9,64	11	40	14	3
—	—	—	—	2402	8,7	8	>180	8	15
12,5	50,8	4,06	16	660	8	4	23	8	2
—	—	—	—	967	8,1	12	>80	14	10

Tabelle 2

Kontrolle der Blutvolumenbestimmung mit markiertem Polyphosphat durch anschließende Bestimmung mit jodierte Eiweiß

der Injektion. Aus Arbeiten von Nylin<sup>15)</sup> ist bekannt, daß beim Menschen die Vermischung in der unmittelbar an den Zeitpunkt der Injektion anschließenden Zeit kontinuierlich ist, d. h. daß anfangs innerhalb der Blut-

<sup>15)</sup> G. Nylin, Amer. Heart. J. 30, 1 [1945]. G. Nylin u. H. Celander, Circulation 1, 76 [1950].

markierten Erythrozyten und in vitro mit Jod markiertem Blutserum Kontrollbestimmungen vorgenommen. Dies geschah nach der Bestimmung des Blutvolumens mit markiertem Polyphosphat, wenn dessen Aktivität auf den konstanten Restwert herabgesunken war. Dieser wurde dann nach Injektion der markierten Erythrozyten oder des

jodierten Eiweißes von der sich nach der Verteilung dieser Substanzen einstellenden Aktivität abgezogen. Die Aktivitätskurven je einer Jod- und Erythrozytenmarkierung im Vergleich zur Aktivitätskurve des Polyphosphats zeigt Bild 4. Tabelle 2 und Tabelle 3 enthalten entsprechende Vergleichswerte von Blutvolumenbestimmungen.

Ebenso läßt sich das Blutvolumen mit den genannten Substanzen bestimmen und im Anschluß daran diese Bestimmung mit Polyphosphat wiederholen. In diesem Fall ist dann die aus dem ersten Versuch herrührende Aktivität von allen im zweiten gemessenen abzuziehen, bevor die graphische Extrapolation vorgenommen wird.

Ahnlich lassen sich mit der Polyphosphat-Methode eine zweite oder auch weitere Volumenbestimmungen vornehmen, wenn vor jeder Neuinjektion die im Blut vorhandenen Aktivitätswerte bestimmt und bei jeder Neumessung berücksichtigt werden (Bilder 2 u. 3; Tab. 4).

Zentrifugiert man das nach der Injektion von markiertem Polyphosphat entnommene und mit Natriumcitrat versetzte Blut, um Plasma und Erythrozyten zu trennen, so findet sich die gesamte Aktivität im Plasma. Die Methode dürfte daher als Verfahren zur Plasmavolumenbestimmung anzusprechen sein.

Gewicht	Polyphosphat mg	mg Polyphosphat je kg	Eliminationshalbwertszeit	Blutvol. cm³	% des Körpergewichts	Zahl d. gradlinig liegenden Meßpunkte	zeitliche Dauer des gradlinigen Verlaufs min	entnommene Blutmengen	gespritzte cm³
15	38,3	2,55	16	985	6,57	4	23	15	5
	—	—	—	890	5,95	12	> 180	—	5
8,9	38,3	4,3	26	615	6,9	5	16	16	5
	—	—	—	627	7,5	12	> 160	—	20
11,7	22,9	1,95	22,9	1140	9,7	13	20	15	3
	—	—	—	1140	9,7	11	> 200	—	30

Tabelle 3  
Kontrolle der Blutvolumenbestimmung mit markiertem Polyphosphat durch anschließende Bestimmung des Blutvolumens mit markierten Erythrozyten

Gewicht	Polyphosphat mg	mg Polyphosphat je kg	Eliminationshalbwertszeit	Blutvol. cm³	% des Körpergewichts	Zahl d. gradlinig liegenden Meßpunkte	zeitliche Dauer des gradlinigen Verlaufs min	entnommene Blutmengen	gespritzte cm³
18,1	9,38	0,52	13	1050	5,8	5	30	19	5
	9,38	0,52	13	940	5,2	15	55	18	5
	37,5	2,08	15	977	5,4	5	15	—	10
25,5	50,2	1,97	28	2320	9,1	10	80	16	2
	50,2	1,97	24,5	2160	8,45	7	70	14	2
	50,2	1,97	28	2220	8,7	7	50	16	2
	50,2	1,97	24	2220	8,7	6	40	16	2
17	43,5	2,56	32	1380	8,13	12	60	20	10
	43,5	2,56	31	1340	8,06	8	40	16	10
	43,5	2,56	28	1280	7,56	7	36	22	10
27	6,7	0,248	7	2370*)	8,76	5	—	5	2
	6,7	0,248	8	2340	8,66	5	—	5	2
	6,7	0,248	12	2320	8,60	5	—	5	2

Tabelle 4  
Aufeinanderfolgende Blutvolumenbestimmungen mit Polyphosphat in Abständen von 3 h bzw. \*) 20 min

Das Verfahren ist möglicherweise auch geeignet, Blutvolumenbestimmungen am Menschen vorzunehmen. Bis-her wurden keine Untersuchungen am Menschen ausgeführt. Um innerhalb der ersten 15 min nach Injektion meßbare Aktivitäten zu bekommen, müssen insgesamt etwa 2  $\mu$ C gespritzt werden. Nimmt man an, daß diese Aktivität ausschließlich in Leber und Milz gespeichert wird, so ergibt sich für diese beiden Organe (etwa 2 kg) bei Verbleib des Polyphosphats zu Beginn eine Strahlendosis von 0,36 Röntgen pro Tag. Die Gesamtdosis beträgt bis zum Zerfall des  $^{32}P$  7 rep. Da jedoch Versuche an Meerschwein-

chen<sup>14)</sup> ergeben haben, daß die mit dem Polyphosphat in die Leber gelangende Aktivität dort innerhalb von 8 Tagen auf einen Wert absinkt, der nur Bruchteile eines Prozents

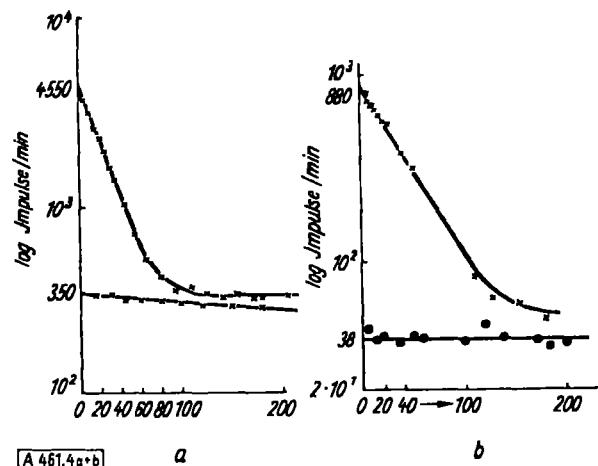


Bild 4

Vergleich der Elimination des Tammanischen Salzes mit der in vivo markierter Erythrozyten (b) und mit der des jodmarkierten Serums (a). (Obere Kurven jeweils Abfall des Polyphosphates)

der insgesamt gespritzten Aktivität entspricht, liegen die Verhältnisse erheblich günstiger.

Um einen möglichst raschen Abbau des gespeicherten Polyphosphats zu erreichen, dürfte es zweckmäßig sein, sehr geringe Mengen dieses Stoffes mit sehr hoher spezifischer Aktivität zu injizieren. Die notwendige Polyphosphat-Menge für Blutvolumenbestimmungen beträgt maximal 0,5–1 mg/kg Körpergewicht. Über die Verträglichkeit des Polyphosphates im menschlichen Organismus müssen noch Erfahrungen gesammelt werden.

Eingegangen am 22. August 1952 [A 461]