

PRO EXPERIMENTIS

**Eine einfache analytische Methode zur Bestimmung des Verhältnisses von Mutter- und Tochtersubstanz in radioaktiven Präparaten**

Bei der Durchführung biologischer Untersuchungen mit Radioisotopen, deren Folgekörper ebenfalls radioaktiv sind, kann unter Umständen die Frage interessieren, ob das radioaktive Gleichgewicht zwischen Mutter- und Tochtersubstanz im Organismus bzw. in einem bestimmten Organ gestört ist<sup>1</sup>. Bei der üblichen Lösung dieser Aufgabe werden Messungen des betreffenden Präparats zu verschiedenen Zeitpunkten vorgenommen und die Messwerte graphisch ausgeglichen; die Aktivitäten der Mutter- und Tochtersubstanz können durch Extrapolation sowohl des ersten als auch linearen Abschnitts der Ausgleichskurve nach  $t = 0$  getrennt bestimmt werden. Hierbei ist erforderlich, dass ein mindestens 6 HWZ der Tochtersubstanz entsprechender Zeitraum mit einer grösseren Zahl von Messpunkten belegt wird, und zwar vor allem im Bereich kleiner  $t$ -Werte. Gerade dies ist aber in der Regel wegen der bei Aufarbeitung und Herstellung der Proben unvermeidbaren Zeitverluste nicht durchführbar, von der grundsätzlichen Ungenauigkeit der graphischen Extrapolation ganz abgesehen. Im folgenden wird eine rechnerische Lösung entwickelt, welche die Vorteile aufweist, dass man mit weniger Messwerten auskommt, die Einstellung des radioaktiven Gleichgewichts nicht abgewartet zu werden braucht, und bei der die erwähnten Zeitverluste eine untergeordnete Rolle spielen. Ausserdem gestattet sie, die auch bei dieser Methode unvermeidbare Ungenauigkeit durch Berechnung der Standardfehler abzuschätzen.

Ein Präparat enthalte Mutter- und Tochtersubstanz zur Zeit  $t = 0$  in den Aktivitäten (Imp./min)  $A_{M0}$  und  $A_{T0}$ . Die zur Zeit  $t$  gemessene Aktivität des Präparats ist

$$A_t = c A_{M0} \exp(-\lambda_M t) + A_{T0} \exp(-\lambda_T t) + \frac{\lambda_T}{\lambda_T - \lambda_M} A_{M0} [\exp(-\lambda_M t) - \exp(-\lambda_T t)]. \quad (1)$$

Die sogenannte relative Zähleffektivität  $c$  ist das Verhältnis der Zählausebeuten für Mutter- und Tochtersubstanz und für die jeweilige Zählordnung empirisch zu bestimmen. Setzt man der übersichtlicheren Schreibweise wegen

$$\begin{aligned} y &= A_t & x_1 &= \exp(-\lambda_M t) \\ a &= A_{M0} & x_2 &= \exp(-\lambda_T t) \\ b &= A_{T0} & z &= \lambda_T / (\lambda_T - \lambda_M), \end{aligned}$$

so erhält man nach Umformen für (1)

$$y = a(c+z)x_1 + (b-az)x_2, \quad (2)$$

das heisst eine sogenannte multiple Regressionsgleichung, in der beide Konstanten  $a(c+z)$  und  $b-az$ , damit auch die gesuchten Grössen  $A_{M0}$  und  $A_{T0}$  mit den Methoden der Regressionsanalyse<sup>2</sup> bestimmt werden können.

Zunächst erfolgt die Berechnung von

$$\left. \begin{aligned} \Sigma (x_1 - \bar{x}_1)^2 &= \Sigma x_1^2 - (\Sigma x_1)^2/n \\ \Sigma (x_2 - \bar{x}_2)^2 &= \Sigma x_2^2 - (\Sigma x_2)^2/n \\ \Sigma (x_1 - \bar{x}_1)(x_2 - \bar{x}_2) &= \Sigma x_1 x_2 - \Sigma x_1 \Sigma x_2/n \\ \Sigma (x_1 - \bar{x}_1)(y - \bar{y}) &= \Sigma x_1 y - \Sigma x_1 \Sigma y/n \\ \Sigma (x_2 - \bar{x}_2)(y - \bar{y}) &= \Sigma x_2 y - \Sigma x_2 \Sigma y/n \end{aligned} \right\}, \quad (3)$$

wobei durch  $n$  die Zahl der Messpunkte, die nicht kleiner als 4 sein soll und zeitlich so angeordnet, dass für  $\exp(-\lambda_T t)$  der Bereich 0 bis 1 annähernd gleichmässig belegt ist, und durch  $\bar{x}_1, \bar{x}_2, \bar{y}$  die entsprechenden arithmetischen Mittel bezeichnet sind. Die nach (3) berechneten Werte werden in die Gleichungen (4) mit 2 Unbekannten eingesetzt.

$$\left. \begin{aligned} a(c+z) \Sigma (x_1 - \bar{x}_1)^2 + (b-az) \Sigma (x_1 - \bar{x}_1)(x_2 - \bar{x}_2) &= \Sigma (x_1 - \bar{x}_1)(y - \bar{y}) \\ a(c+z) \Sigma (x_1 - \bar{x}_1)(x_2 - \bar{x}_2) + (b-az) \Sigma (x_2 - \bar{x}_2)^2 &= \Sigma (x_2 - \bar{x}_2)(y - \bar{y}) \end{aligned} \right\} \quad (4)$$

Die Auflösung von (4) erfolgt zweckmässigerweise mit Hilfe der inversen Matrix-Methode<sup>2</sup>, da dies die Berechnung der Standardfehler von  $a(c+z)$  und  $b-az$  wesentlich erleichtert. In der inversen Matrix

$$\begin{bmatrix} v_{11} & v_{12} \\ v_{21} & v_{22} \end{bmatrix}$$

erhält man die Werte für  $v_{11}$  und  $v_{12}$ , indem man die in (4) rechts stehenden Grössen durch 1 und 0 ersetzt und nach  $a(c+z)$  und  $b-az$  auflöst.  $v_{21}$  und  $v_{22}$  erhält man in analoger Weise durch Einsetzen von 0 und 1 in (4). Es wird dann

$$\begin{aligned} a(c+z) &= v_{11} \Sigma (x_1 - \bar{x}_1)(y - \bar{y}) + v_{12} \Sigma (x_2 - \bar{x}_2)(y - \bar{y}) \\ b-az &= v_{21} \Sigma (x_1 - \bar{x}_1)(y - \bar{y}) + v_{22} \Sigma (x_2 - \bar{x}_2)(y - \bar{y}) \end{aligned} \quad (5)$$

und die Standardfehler

$$\left. \begin{aligned} s_{a(c+z)} &= \sqrt{v_{11} s^2} \\ s_{b-az} &= \sqrt{v_{22} s^2} \end{aligned} \right\}, \quad (6)$$

wobei

$$s^2 = [\Sigma y^2 - (\Sigma y)^2/n - a(c+z) \Sigma (x_1 - \bar{x}_1)(y - \bar{y}) - (b-az) \Sigma (x_2 - \bar{x}_2)(y - \bar{y})] / (n-3) \quad (7)$$

ist.

*Beispiel:* Für ein  $\text{Ba}^{140}\text{-La}^{140}$ -Präparat liegen folgende Messwerte vor:

$t$ (Tage)	$x_1$ [ $\exp(-\lambda_M t)$ ]	$x_2$ [ $\exp(-\lambda_T t)$ ]	$y$ ( $A_t$ )
1	0,947	0,660	1871
2	0,897	0,435	2134
4	0,805	0,190	2296
6	0,722	0,082	2227
10	0,582	0,016	1889
Summe	3,953	1,383	10417

Die Berechnung nach (3) ergibt

$$\begin{aligned} \Sigma (x_1 - \bar{x}_1)^2 &= 0,947^2 + 0,897^2 + \dots + 0,582^2 - 3,953^2/5 \\ &= 0,084209. \\ \Sigma (x_2 - \bar{x}_2)^2 &= 0,660^2 + 0,435^2 + \dots + 0,016^2 - 1,383^2/5 \\ &= 0,285367. \\ \Sigma (x_1 - \bar{x}_1)(x_2 - \bar{x}_2) &= 0,947 \cdot 0,660 + 0,897 \cdot 0,435 + \dots \\ &\quad \dots + 0,582 \cdot 0,016 - 3,953 \cdot 1,383/5 \\ &= 0,143281. \end{aligned}$$

<sup>1</sup> J. S. ARNOLD, B. J. STORER und M. A. VAN DILLA, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 90, 260 (1955). – M. A. VAN DILLA, B. J. STORER und J. S. ARNOLD, Amer. J. Roentg. 77, 503 (1957). – P. M. WOLF, H. J. BORN und A. CATSCH, Strahlenther. 73, 509 (1943).

<sup>2</sup> H. M. QUENOUILLE, Associated Measurements (London 1952).

$$\begin{aligned}\Sigma (x_1 - \bar{x}_1) (y - \bar{y}) &= 0,947 \cdot 1871 + 0,897 \cdot 2134 + \dots \\ &\dots + 0,582 \cdot 1889 - 3,953 \cdot 10417/5 \\ &= 5,927. \\ \Sigma (x_2 - \bar{x}_2) (y - \bar{y}) &= 0,660 \cdot 1871 + 0,435 \cdot 2134 + \dots \\ &\dots + 0,016 \cdot 1889 - 1,383 \cdot 10417/5 \\ &= -69,114.\end{aligned}$$

Die entsprechenden Werte werden eingesetzt

$$\begin{aligned}0,084209 a(c+z) + 0,143281 (b-az) &= 1 \text{ bzw. } 0; \\ 0,143281 a(c+z) + 0,285367 (b-az) &= 0 \text{ bzw. } 1;\end{aligned}$$

nach Auflösen der 2 Sätze von je 2 Gleichungen erhält man die inverse Matrix

$$\begin{bmatrix} 81,5104 & -40,9259 \\ -40,9259 & 24,0529 \end{bmatrix}.$$

Nach (5) sind dann

$$\begin{aligned}a(c+z) &= 81,5104 \cdot 5,927 + (-40,9259) \cdot (-69,114) = 3309; \\ b-az &= (-40,9259) 5,927 + 24,0529 (-69,114) = -1905.\end{aligned}$$

Für die Berechnung der Standardfehler sind nach (7)

$$s^2 = [1871^2 + \dots + 1889^2 - 10417^2/5 - 3309 \cdot 5,927 - (-1905) \cdot (-69,114)]/2 = 5,5$$

und nach (6)

$$\begin{aligned}s_{a(c+z)} &= \sqrt{81,5104 \cdot 5,5} = 21,2; \\ s_{(b-az)} &= \sqrt{24,0529 \cdot 5,5} = 11,5.\end{aligned}$$

Da  $\lambda_M = 0,0542$  und  $\lambda_T = 0,416$  sind, ist  $z = 1,15$ ;  $c$  wurde für die gegebene Zählordnung zu 0,5 bestimmt, das heisst, bei gleichen absoluten Aktivitäten wird zweimal soviel  $\text{La}^{140}$  wie  $\text{Ba}^{140}$  gezählt.

Durch Einsetzen dieser Werte erhält man

$$\begin{aligned}a(0,5+1,15) &= 3309 \pm 21,2 \\ a = A_{M0} &= 2005 \pm 13\end{aligned}$$

und

$$\begin{aligned}b - 2005 \cdot 1,15 &= -1905 \pm 11,5 \\ b = A_{T0} &= 401 \pm 12.\end{aligned}$$

Es liegt somit für  $\text{La}^{140}$  ein Unterschuss von rund 80% vor.

Ist  $\lambda_T \gg \lambda_M$ , so werden

$$\lambda_T/(\lambda_T - \lambda_M) \approx 1 \quad \text{und} \quad \exp(-\lambda_M t) \approx 1$$

und (2) vereinfacht sich zu

$$y = a(1+c) + (b-a)x_2. \quad (8)$$

Es sind hierbei

$$a = \frac{\bar{y} - \bar{x}_2 \Sigma (x_2 - \bar{x}_2) (y - \bar{y}) / \Sigma (x_2 - \bar{x}_2)^2}{1+c}; \quad (9)$$

$$b = a + \Sigma (x_2 - \bar{x}_2) (y - \bar{y}) / \Sigma (x_2 - \bar{x}_2)^2. \quad (10)$$

Kann die Strahlung der Muttersubstanz mit Hilfe entsprechender Folien vollkommen unterdrückt werden, so dass  $c = 0$  wird, und ist  $\lambda_T \gg \lambda_M$ , so ergibt sich für (2) eine weitere Vereinfachung zu

$$y = a + (b-a)x_2. \quad (11)$$

$b$  berechnet sich nach (10) und  $a$  nach

$$a = \bar{y} - \bar{x}_2 \Sigma (x_2 - \bar{x}_2) (y - \bar{y}) / \Sigma (x_2 - \bar{x}_2)^2. \quad (12)$$

Für die Differenz  $|b-a|$  in (8) und (11) berechnet sich der Standardfehler nach

$$s_{b-a} = \sqrt{\left[ \frac{\Sigma y^2 - (\Sigma y)^2/n - \frac{[\Sigma (x_2 - \bar{x}_2) (y - \bar{y})]^2}{\Sigma (x_2 - \bar{x}_2)^2}}{\Sigma (x_2 - \bar{x}_2)^2} \right] / (n-2)} \quad (13)$$

Der Standardfehler von  $a$  und damit auch  $b$  ist dadurch gegeben, dass man für  $y$  in (9) und (12) den Standardfehler berechnet, der gleich der Wurzel aus dem Zähler im Wurzelausdruck (13) ist.

A. CATSCH

*Institut für Strahlenbiologie an der Reaktor-Station Karlsruhe, 11. Juni 1958.*

#### Summary

A simple and time saving numerical method is described permitting the rapid determination of mother to daughter ratios in biological specimens containing radionuclides.

## Informations - Informationen - Informazioni - Notes

### COGITATIONES

#### An Hypothesis to Explain the Relation Between the Synthesis and Release of Animal Viruses from Infected Cells and the Lipid Content of the Viruses

Infectious particles of animal viruses are released from their host cells by one of two mechanisms—continuous release of small amounts of virus over a long period of time or the burst-like release of a large number of particles. The viruses released by the continuous process are all sensitive to ether, whereas those released in a burst are resistant to ether and other lipid solvents. The available relevant data are listed in the Table for virulent viruses.

The continuous release process has been most carefully analyzed for the myxoviruses. They are released from their host cells a few minutes after they become infectious, although they may remain on the external surface of the

cell for some time before being released into the surrounding medium<sup>1</sup>. This has been confirmed by several electron microscopic studies<sup>2</sup>. Similar studies have been made with the equine encephalitis viruses. Western equine encephalitis is continuously released directly into the medium without remaining on the cell surface<sup>3</sup>.

Herpes simplex is released by a continuous process<sup>4</sup>. Although this has not been corroborated by electron microscopy<sup>5</sup>, the closely related Herpes B virus has been

<sup>1</sup> H. J. F. CAIRNS, J. Immunol. 71, 38 (1953). – R. M. FRANKLIN, manuscript in preparation. – H. RUBIN, R. M. FRANKLIN, and M. BALUDA, Virology 3, 587 (1957).

<sup>2</sup> C. MORGAN, H. M. ROSE, and D. H. MOORE, J. exp. Med. 104, 171 (1956). – G. HOTZ and W. SCHÄFER, Z. Naturf. 10b, 1 (1955). – F. B. BANG, Fed. Proc. 14, 619 (1955).

<sup>3</sup> H. RUBIN, M. BALUDA, and J. E. HOTCHIN, J. exp. Med. 101, 205 (1955).

<sup>4</sup> P. WILDY, Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 32, 605 (1954). – A. S. KAPLAN, Virology 4, 435 (1957).

<sup>5</sup> C. M. MORGAN, S. A. ELLISON, H. M. ROSE, and D. H. MOORE, J. exp. Med. 100, 195 (1954).