

approach urinary concentrations. As renal lymph flow is presumably low (in 7 experiments we measured 0.010; S.D. = 0.008 ml/min in the cannulated major renal lymphatic and it can be estimated as being not more than 0.1 ml/min in all the lymphatics of both kidneys) the major part of PAH transported by the thoracic duct therefore does not originate from the kidneys. Consequently 'renal lymphatic clearance' is even much lower than 'thoracic duct clearance' of PAH. It can be safely concluded that no significant error in the calculation of renal plasma flow by the *p*-amino-hyppuric acid method is due to the transport of the substance by the renal lymphatics.

Zusammenfassung. Bei der Bestimmung der renalen Plasmaströmung mit der Paraaminohyppursäuremethode

wird vorausgesetzt, dass dieser Stoff nicht durch die Lymphgefäße aus der Niere abtransportiert wird. Die Kontrolle der PAH-Konzentration im D. thoracicus während der intravenösen Infusion ergab, dass sie die Plasmakonzentration nicht signifikant überschreitet, so dass die «lymphatische PAH-Clearance» gegenüber der renalen Clearance vernachlässigt werden kann.

G. SZABÓ, M. PAPP, and S. MAGYAR

1st Department of Medicine, University Medical School, Department of Pathological Physiology, Institute of Experimental Medical Research, Budapest (Hungary), September 11, 1961.

Methaemoglobinbildung durch Röntgenstrahlen in normalen und katalasefreien Erythrocyten des Menschen

Die Bildungsrate von Methaemoglobin in Suspensionen bestrahlter Erythrocyten als Funktion des Katalasegehaltes ist kürzlich von WARBURG et al.¹ untersucht worden. Sie ist hoch in katalasearmen Entenerythrocyten, relativ gering in den H_2O_2 rasch zerlegenden Rattenerythrocyten. Die Verfügbarkeit von praktisch katalasefreiem Menschenblut («Akatalasie»²) bietet Gelegenheit, die Rolle des Enzymes Katalase als Schutz vor dem bei der Bestrahlung gebildeten H_2O_2 am Beispiel der Methaemoglobinbildung zu studieren.

Es wurden je 6 ml einer Erythrocytensuspension (in phosphatgepufferter 0,95% NaCl-Lösung), enthaltend 0,14–0,17 mg Haemoglobin/ml in zylindrischen Glasgefäßen ($d = 38$ mm) unter identischen Versuchsbedingungen mit einer 250 kV-Röntgenröhre bestrahlt. Anschliessend wurden die Erythrocyten zentrifugiert, das Sediment in H_2O dest. aufgenommen und das Methaemo-

globin im Haemolysat nach der Methode von FLEISCH³ gemessen. Wie aus Figur 1 ersichtlich, ist die Bildungsrate für Methaemoglobin in den 3 verglichenen Blutproben sehr verschieden. Während bei einer Dosis bis zu 20000 r die Methaemoglobinbildung in den intakten Erythrocyten eines normalen Menschen (= N) nur gering ist, wird bei den beiden Akatalasie-Fällen V und B ein vielfaches dieser Menge gebildet. Dabei steht der zwischen V und B zu beobachtende Unterschied in Einklang mit der im Falle B ca. $2\frac{1}{2}$ -mal höheren Rest-Aktivität hinsichtlich H_2O_2 -Spaltung (vgl. Tabelle in ²).

Für die Beurteilung dieses unterschiedlichen Verhaltens dürfte der Befund von Interesse sein, dass die Methaemoglobin-Reductase, gleich wie die Aktivität einer Reihe

¹ O. WARBURG, W. SCHIRÖDER und H. W. GATTUNG, Z. Naturforsch. 15b, 163 (1960).

² H. AEBI, J. P. HEINIGER, R. BÜTLER und A. HÄSSIG, Exper. 17, 466 (1961).

³ H. FLEISCH, Helv. physiol. Acta 17, 318 (1959).

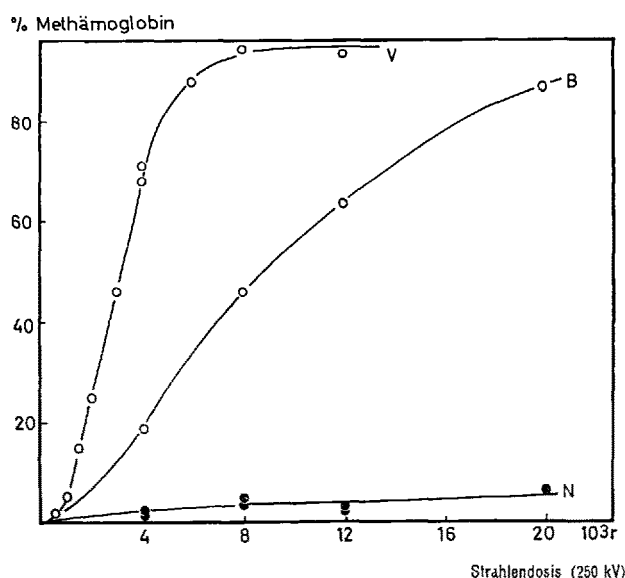


Fig. 1. Methaemoglobinbildung in bestrahlten Erythrocyten des Menschen. N normal, V und B Fälle von Akatalasie. Konzentration der Erythrocytensuspensionen: N 0,165, B 0,183, V 0,163 mg Hgb/ml.

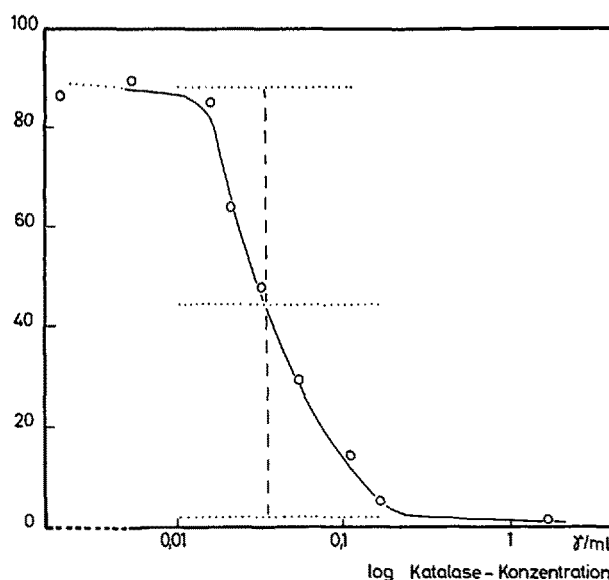


Fig. 2. Einfluss eines Katalase-Zusatzes auf die strahleninduzierte Methaemoglobinbildung in menschlichen Erythrocyten. Akatalasie-blut (Fall V); Konzentration der Erythrocytensuspension 0,22 mg Hgb/ml. Strahlendosis 6000 r (250 kV).

weiterer Erythrocytenenzyme, bei diesen Akatalasie-Fällen durchwegs normal ist.

Um Aufschluss über die Wirkung eines Katalase-Zusatzes auf die Methaemoglobinbildung in den intakten Erythrocyten zu erhalten, wurden einzelne Proben einer vom Fall V stammenden Erythrocytensuspension vor der Bestrahlung mit steigenden Enzymmengen (krist. Leberkatalase «Boehringer») versetzt. Aus der Figur 2 geht hervor, dass bereits kleine Mengen Katalase in der Aussenlösung genügen, um die Methaemoglobinbildung auf «normale Werte» herabzusetzen. Dazu genügen unter den hier gewählten Versuchsbedingungen bereits 0,1 γ Katalase pro ml. Dies entspricht 5–10% der im normalen Menschenblut vorhandenen Katalase-Aktivität, sofern dieselbe Verdünnung und gleichmässige Verteilung der Aktivität angenommen wird. Ein Eindringen signifikanter Katalasemengen in die roten Blutzellen erscheint wenig wahrscheinlich. Es liegt somit die Annahme nahe, dass H_2O_2 – das für die Methaemoglobinbildung verantwortliche Bestrahlungsprodukt – zum überwiegenden Teil im suspendierenden Medium (= 99,95% des Volumens!) gebildet wird und dann in die roten Blutzellen hineinpenetriert. Im gleichen Sinne spricht der Befund, dass bei Variation der Erythrocytenkonzentration die Absolutmenge an gebildetem Methaemoglobin innerhalb eines bestimmten

Bereichs praktisch konstant bleibt. Diese Bestrahlungsversuche stellen die Bestätigung einer von WARBURG geäusserten Vermutung dar (vgl. ¹, Fussnote 3 auf p. 164). Sie sind geeignet, über den Wirkungsbereich von strahlengebildetem H_2O_2 in biologischen Objekten eine konkrete Vorstellung zu geben ⁴.

Summary. Methaemoglobin-formation in irradiated human red cells largely depends on catalase activity in either phase of the system. The formation rate is low in normal, but high in acatalatic cells. The latter rate can be lowered to normal by adding 0.1 γ /ml catalase to the suspending medium.

H. AEBI, J. P. HEINIGER und HEDI SUTER

Medizinisch-chemisches Institut der Universität Bern (Schweiz), 28. Dezember 1961.

⁴ Ausgeführt mit Unterstützung durch die Kommission für Atomwissenschaft des Schweizerischen Nationalfonds für wissenschaftliche Forschung. Herrn Prof. A. ZUPPINGER, Röntgeninstitut der Universität Bern, danken wir für die Durchführung der Bestrahlungen und den Herren Dr. med. J. Roggo (Riddes) und U. P. VERAGUT (Chur) für die Überlassung der Akatalasie-Blutproben.

Untersuchungen an Ionenaustauschmodellen zum Verständnis der Physiologie biogener Amine.

Austauschgleichgewichte zwischen Natrium und Aminen an einem Ionenaustauscher mit $R-P \begin{smallmatrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OH} \end{smallmatrix}$ als aktiven Zentren

Bei unseren bisherigen Untersuchungen an synthetischen Ionenaustauschern haben wir Austauschvorgänge an Schwefelsäuregruppen oder Carboxylgruppen tragenden Harzen verfolgt, um gewisse Aufschlüsse über mögliche Reaktionen an verwandten biogenen Strukturen zu erhalten. Die Ionenaustauscher dienten als Modell für saure Polysaccharide, wobei Dowex mit seinen Schwefelsäuregruppen als Beispiel für Mucopolysaccharide, das heisst vor allem für Depotstrukturen, gedacht war, während andererseits Amberlite mit seinen Carboxylgruppen Hinweise über Reaktionen an neuraminsäurehaltigen Kohlehydrat-Eiweiss-Komplexen geben sollte, wie sie etwa an Zellwänden oder Rezeptorstrukturen denkbar sind ^{1–3}. Unter den biogenen Aminen scheint besonders Histamin mit solchen biogenen, als Ionenaustauscher fungierenden sauren Polysacchariden in enge Wechselbeziehung zu treten. So ist bekannt, dass Histamin – und bei gewissen Tierspezies auch Serotonin – mit Heparin in den Mastzellen vergesellschaftet vorkommt, wobei auf eine salzartige Bindung zwischen beiden Ionen geschlossen wird ⁴. Andererseits lässt sich in den Mastzellen neben Heparin auch Adenosintriphosphat (ATP) in relativ grosser Menge nachweisen ⁵. SANYAL und WEST ⁶ konnten feststellen, dass Heparin und Histamin *in vitro* eine stabile Bindung eingehen, die sie «histamine-heparin-complex» nennen. In Gegenwart von ATP stellten sie eine vermehrte Bindung von Histamin an Heparin fest und schlossen daraus, dass ATP in den Mastzellen möglicherweise zur Bildung der Granula beitrage. Nach den Untersuchungen verschiedener Autoren sind auch Katecholamine oder Serotonin in gewissen Zellstrukturen mit ATP vergesellschaftet ^{7–14}. Histamin vermag *in vitro* auch mit den kom-

plexeren Glycerinphosphatiden wie Lecithin oder Cephalin einen «Phosphatidkomplex» zu bilden ¹⁵. Die Wechselbeziehung zwischen Histamin und höheren Phosphorsäureestern wurde von HIRT und BERCHTOLD ¹⁶ mit biophysikalischen Methoden (Tensiometer) eingehend untersucht. So vermag Histamin und bis zu einem gewissen Grade auch Priscoll die Grenzflächenspannung eines Lecithin- oder eines Cetylphosphorsäurefilms an der Grenzfläche zwischen Chloroform und wässriger Pufferlösung deutlich zu vermindern, wobei dieser Effekt des Histamins nur bei primären Phosphorsäureestern zu beobachten ist.

Im Zusammenhang mit unserer Problemstellung erscheinen auch die Untersuchungen von SCHAUER und EDER ¹⁷ bedeutungsvoll. Ausgehend von der Beobachtung, dass in den Mastzellen neben anderen Fermenten eine starke Aktivität von Phosphatasen und Polyphosphatasen

¹ K. KÜTTNER, Dissertation Bern (Schweiz) 1961.

² K. KÜTTNER, H. MAJER, G. HUBER und R. JAGUES, *Exper.* **17**, 371 (1961).

³ K. KÜTTNER, G. HUBER und R. JAGUES, *Exper.* **17**, 495 (1961).

⁴ J. F. RILEY, *The Mast Cells* (E. & S. Livingstone Ltd., Edinburgh und London 1959).

⁵ A. SCHAUER und M. EDER, *Beitr. pathol. Anat.* **124**, 251 (1961).

⁶ R. K. SANYAL und G. B. WEST, *J. Pharm. Pharmacol.* **11**, 548 (1959).

⁷ H. BLASCHKO, P. HAGEN und A. D. WELCH, *J. Physiol.* **129**, 27 (1955).

⁸ H. BLASCHKO, G. V. R. BORN, A. D'IORIO und N. R. EADE, *J. Physiol.* **133**, 548 (1956).

⁹ G. V. R. BORN, *J. Physiol.* **133**, 61 P. (1956).

¹⁰ G. V. R. BORN und R. E. GILSON, *J. Physiol.* **137**, 82 P. (1957).

¹¹ G. V. R. BORN, G. I. C. INGRAM und R. S. STACEY, *Brit. J. Pharmacol.* **13**, 62 (1958).

¹² S. M. KIRPEKAR, G. A. J. GOODLAD und J. J. LENIS, *Biochem. Pharmacol.* **1**, 232 (1958).

¹³ W. H. PRUSOFF, *Brit. J. Pharmacol.* **15**, 520 (1960).

¹⁴ H. J. SCHÜMANN, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* **233**, 237 (1958).

¹⁵ K. M. LINDAHL, *Acta physiol. Scand.* **35**, 146 (1955).

¹⁶ R. HIRT und R. BERCHTOLD, *Arzneimittelforschung* **2**, 453 (1952).

¹⁷ A. SCHAUER und M. EDER, *Klin. Wschr.* **39**, 76 (1961).