

where $n_E = p [E] N_0 / \mu_E$ and $n_s = [S] N_0 / \mu_s$ are the concentrations of the active sites, respectively the substrate molecules in a unit of volume; μ_E and μ_s , the molecular weights of the enzyme and the substrate; $[E]$ and $[S]$, their weight concentrations; N_0 , the Avogadro number, and p the number of active sites in an enzyme molecule.

The Michaelis-Menten constant (K_m) can be determined from the inferences drawn of the theory set up for the enzyme-substrate reaction of the type of equation (1).

By measuring the relative viscosity $\eta_{rel} = \eta / \eta_0$, depending upon the reaction time (t) under optimal conditions ($pH = 4.5$; $25^\circ C$) by means of the equation^{5,6}

$$\mu_s = \frac{a}{\sqrt{n (\sqrt{\eta_{rel}} - 1)}} \quad (2)$$

is determined the molecular weight μ_s of the substrate degraded (Na-CMC) under the catalytic effect of the enzyme Cx-cellulase (obtained from Aspergillus oryzae). In this dependence $K = 0.00158$ and $a = 0.43$ [2], and $n = 8$ ⁷.

The values of μ_s determined in this manner are substituted in the equation [1]

$$\mu_s - \mu_{s\infty} = (\mu_{s0} - \mu_{s\infty}) e^{-k[E]t} \quad (3)$$

which describes the beginning of the enzymic reaction (when $K_m \mu_s \gg [S]$), and the equation [3]

$$\frac{1}{\mu_s - \mu_{s\infty}} = \frac{1}{\mu_{s0} - \mu_{s\infty}} + \frac{k^* [E]}{[S]} t \quad (4)$$

describing the end of the enzymic reaction (when $K_m \mu_s \ll [S]$) in which μ_{s0} and $\mu_{s\infty}$ are the initial and the final molecular weights of the substrate degraded, and

$$k = \frac{p k_{+1} k_{+2} N_0}{(k_{-1} + k_{+2}) \mu_E} \quad k^* = \frac{p k_{+2}}{\mu_E} \quad (5)$$

the 2 constants characterizing the enzymic reaction. In equation (5) k_{+1} , k_{-1} and k_{+2} are the constants defined in equation (1).

From the ratio of the constants in equation (5) can be determined the Michaelis-Menten constant (K_m),

$$K_m = \frac{k^*}{k} = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{N_0 k_{+1}} \quad (6)$$

in molar concentration (mmol/ml).

In the Figure are illustrated the inferences of the theory suggested for the determination of the Michaelis-Menten constant viscometrically. For different molecular weights (μ_{s0}) and substrate concentrations $[S]$ and with different enzyme concentrations $[E]$ in the indicated reaction (1), it will have a value of

$$K_m = \frac{k^*}{k} = 3.6 \times 10^{-5} \text{ mmol/ml} \pm 5.5\% .$$

Zusammenfassung. In Übereinstimmung mit der neu entwickelten viskosimetrischen Methode wurde die Michaelis-Menten-Konstante $K_m = 3.6 \times 10^{-5} \text{ mmol/ml}$ der Hydrolysenreaktion der Natriumcarboxymethylcellulose unter der katalytischen Mitwirkung von Cx-Cellulasen-Enzymen bestimmt.

M. TSCHETKAROV and D. KOLEFF

Faculty of Physics of the University,
Sofia 26, and Biochemical Research Laboratory,
Bulgarian Academy of Sciences,
Sofia (Bulgaria), 16 September 1968.

⁵ R. HOUWINK, J. prakt. Chem. 157, 15 (1940).

⁶ F. BAKER, J. chem. Soc. 163, 1653 (1913).

⁷ K. HESS and W. PHILIPPOFF, Ber. dt. chem. Ges. 70, 639 (1937).

La place de la scintiphotographie dans les études physiopathologiques

Nombre d'études physiopathologiques par les radio-traceurs gagnent en facilité d'interprétation lorsque la localisation et la distribution corporelle du traceur peuvent être connues à tout moment chez l'animal vivant. Nous présentons ici quelques exemples typiques de l'utilisation d'une scinticaméra dans des investigations portant sur des problèmes de distribution de traceurs dans diverses situations physiologiques ou pathologiques.

Considérations générales. La scinticaméra d'ANGER¹ est essentiellement constituée d'un cristal d'iodure de sodium activé au thallium, d'un diamètre de 11 pouces et d'une épaisseur d'un demi-pouce, couplé à une matrice hexagonale de 19 phototubes. Les scintillations produites dans le cristal sont analysées au double point de vue de l'énergie et de la localisation des photons absorbés. Les impulsions sont visualisées sous forme de points lumineux sur l'écran d'un oscilloscope. Les images instantanées ainsi engendrées sont intégrées pendant un temps pré-déterminé en exposant pendant cette période un film photographique. Le document obtenu est une scintiphotographie.

La sensibilité d'un tel système est très élevée. En fait, on l'a estimée au triple de celle qu'on obtient avec un collimateur focalisant. Le temps nécessaire à la visualisation d'une source radioactive distribuée dans l'espace

est en conséquence réduit à environ 10% de celui qui est exigé par le système à balayage².

La résolution théorique est pratiquement la même que celle des systèmes à balayage. Le raccourcissement du temps de l'examen permet toutefois souvent d'éliminer des causes extrinsèques de perte de résolution, telles que les mouvements respiratoires. La résolution réelle du système peut ainsi être estimée à 1,5 fois celle des systèmes à balayage².

Résultats. (1) Passage transcapillaire des traceurs. Aussi longtemps que la distribution d'un traceur reste purement vasculaire, l'aspect scintigraphique est une reproduction fidèle de l'irrigation sanguine de l'organisme: celui-ci est donc visualisé dans sa totalité avec, en surimpression, l'image du cœur et des gros vaisseaux. Cette image disparaît peu à peu dans la mesure où le traceur franchit la paroi capillaire pour entrer dans l'espace interstitiel. A titre d'exemple, nous avons groupé à la Figure 1 une séquence de scintigraphies réalisées chez le rat après une

¹ H. O. ANGER, Nucleonics 21, 56 (1963).

² A. GOTTSCHALK, Am. J. Roentg. 97, 860 (1966).

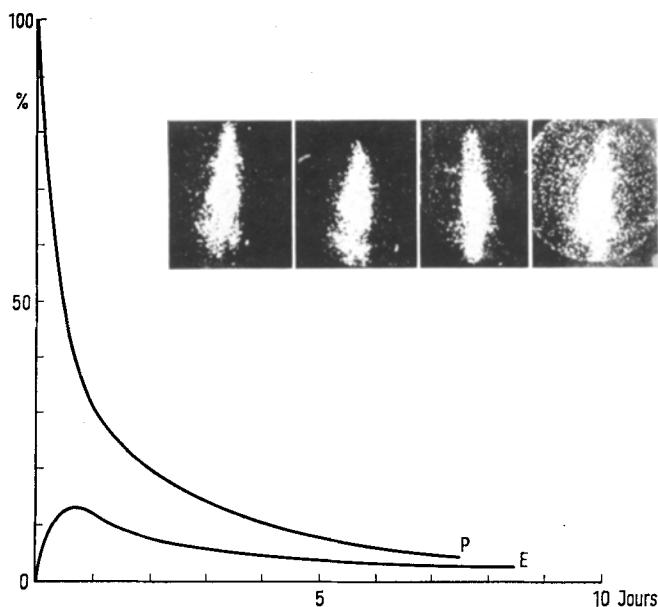


Fig. 1. Après injection de sérum-albumine-I¹³¹, évolution de l'aspect scintigraphique. Les 3 segments de la courbe d'activité plasmatique correspondent à l'équilibration de l'albumine injectée avec l'albumine intravasculaire et avec l'albumine des compartiments extravasculaires. Parallèlement, on remarque la disparition progressive de l'image du cœur et des gros vaisseaux et l'homogénéisation de l'activité dans l'organisme. P, activité plasmatique; E, activité extravasculaire.

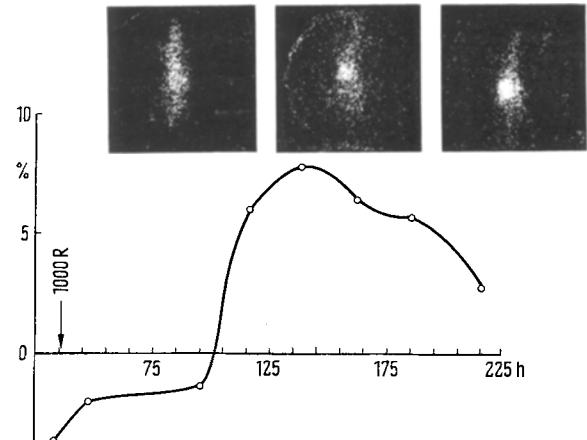


Fig. 2. Après injection de sérum-albumine-I¹³¹ et irradiation de l'abdomen (RX 250 kV, 25 mA, filtre 0,25 mm Cu + 0,25 mm Al, 2000 R), la radioactivité corporelle, suivie au cours du temps, montre un excès relatif par rapport à l'évolution observée chez le rat normal. La comparaison avec les scintigraphies montre que cet excès correspond à une rétention de la radioactivité, principalement dans la lumière gastrique.

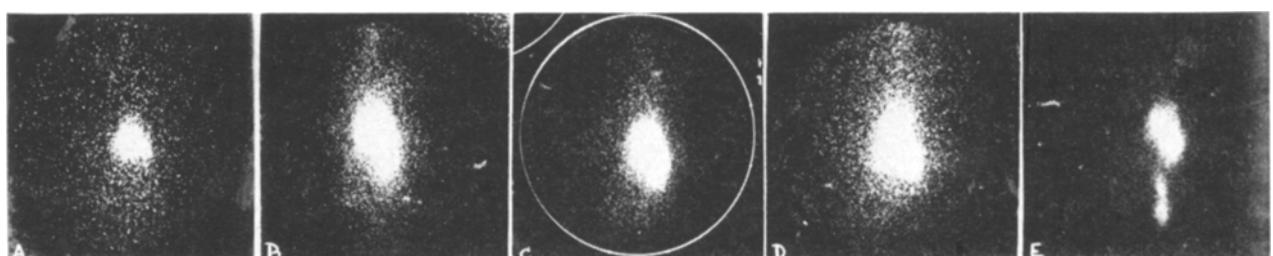


Fig. 3. Injection de Rose-Bengale-I¹³¹. (A) 5 min, image du foie. (B) 25 min, passage dans le duodénum. (C) 65 min, passage dans les anses grèles. (D) 6 h, la majeure partie de l'activité se trouve dans l'iléon. (E) 15 h, image du colon et passage dans le rectum.

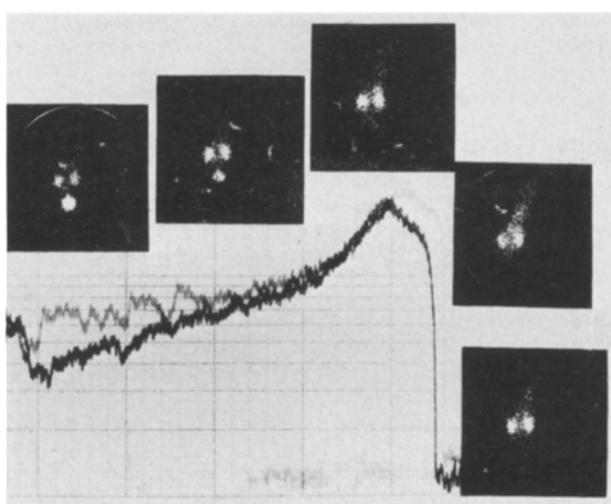


Fig. 4. Superposition de l'enregistrement graphique du rénogramme isotopique et de l'aspect scintiphotographique aux différents temps.

injection de sérum-albumine homologue marquée à l'iode 131. Dans tous les cas de perturbation de la répartition topographique d'un métabolite, une scintigraphie réalisée à l'aide d'un traceur de ce métabolite permet de localiser et de visualiser l'anomalie. A la Figure 2, nous avons présenté une scintigraphie réalisée 4 jours après injection de sérum-albumine-I 131 homologue et 3 jours après irradiation abdominale à dose létale. La gastro-pathie exsudative induite par l'irradiation est nettement visible.

(2) Captation d'un traceur par un organe. La Figure 3 groupe une séquence de scintiphotographies réalisées après l'injection i.v. de rose bengale marqué à l'iode 131. On reconnaît sans peine la succession des phases du métabolisme de ce colorant.

(3) Epuration rénale des traceurs. La Figure 4 superpose l'aspect scintiphotographique de l'élimination rénale de l'hippuran-I 131 et l'aspect obtenu chez le même animal par enregistrement externe de la radioactivité rénale. La détermination des paramètres couramment utilisés pour l'interprétation du rénogramme (parallélisme de l'excrétion des deux reins, temps d'apparition de la radioactivité

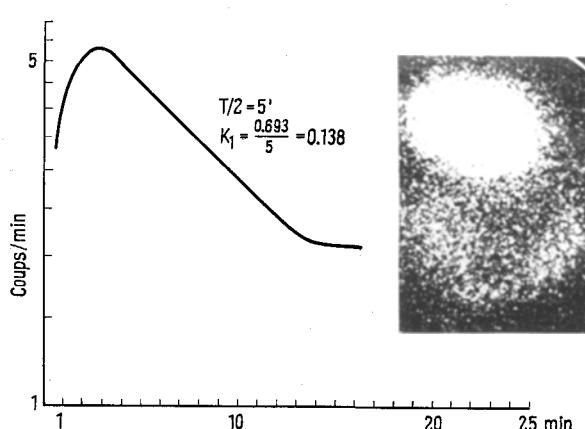


Fig. 5. Enregistrement graphique de la radioactivité après injection i.v. d'Au-198 colloidal. La forme de la courbe au niveau de l'hépatome évoque une activité d'origine surtout vasculaire sans grande captation active. La scintiphoto prise à la fin de l'enregistrement montre que l'hépatome n'a capté le traceur qu'à sa périphérie.

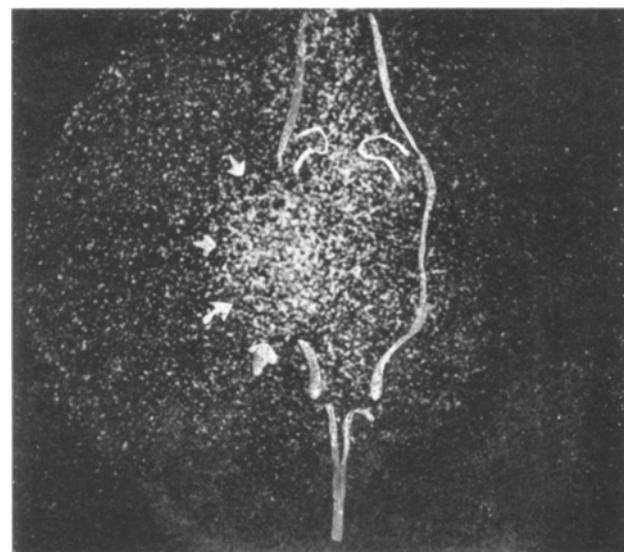


Fig. 6. Scintigraphie prise 4 jours après injection de Selenométhionine-Se-75. Le rat est porteur d'un hépatome greffé.



Fig. 7. Essai de divers traceurs chez un rat porteur de leucosarcome greffé. (1) 2 jours après injection de Selenométhionine-Se-75. (2) 6 h après injection de I_{131} -fibrinogène humain. (3) 10 min après injection de I_{131} -albumine homologue. (4) 36 h après injection de I_{131} -albumine homologue. (5) 10 min après injection de pertechnétate-Tc-99m. (6) 5 h après injection de pertechnétate-Tc-99m. (7) 25 min après injection de néohydride-Hg-203.

dans la vessie, moment de l'activité rénale maximale) n'offre pas de difficulté, et les problèmes inhérents à la nécessité d'une localisation externe des reins chez un petit animal sont supprimés.

(4) Visualisation des tumeurs. Il est fréquemment d'un grand intérêt en cancérologie expérimentale d'être capable de reconnaître la présence de tumeurs internes chez l'animal sans sacrifier celui-ci et avec un degré de certitude que la palpation manuelle ne peut conférer. La méthode scintigraphique peut se révéler utile en ce domaine. Le choix du traceur, le temps entre l'injection et l'examen scintigraphique, la position de l'animal pendant l'examen, demandent dans chaque cas une étude particulière. A la Figure 5, nous avons superposé la scintigraphie et l'enregistrement de la radioactivité de la région hépatique chez un rat porteur d'un hépatome et injecté d'or 198 sous forme colloïdale; l'absence de phagocytose du colloïde par le tissu tumoral, suggérée par l'enregistrement externe, est bien mise en évidence par la scintiphoto. A la Figure 6, c'est un marquage positif de la tumeur qui a été cette fois effectué, au moyen de selenométhionine-Se 75 chez un rat chez lequel un hépatome a été greffé 3 semaines plus tôt.

A la Figure 7, nous avons représenté les aspects scintigraphiques obtenus au moyen de divers traceurs chez un rat porteur de leucosarcome greffé. Comme on peut le voir, c'est la sérum-albumine homologue et le pertechnétate qui délimitent le plus nettement la tumeur.

Conclusions. Les expériences dont il est fait état ici sont pour la plupart à un stade préliminaire et nous ne

nous étendrons pas sur leur signification. Nous croyons qu'au point de vue technique, certaines conclusions sont possibles à partir de notre expérience de l'utilisation de la scinticamera dans des recherches physiopathologiques: la distribution d'une substance dans l'organisme peut être visualisée à tout moment par ce procédé, sans nécessiter le sacrifice de l'animal. Comme il devient en même temps possible de répéter l'examen à des intervalles très courts, le nombre d'animaux nécessaires dans une recherche particulière peut être considérablement diminué. D'autre part, en permettant de déterminer le moment d'apparition d'un processus pathologique, tel que le développement d'une tumeur ou la fuite des protéines plasmatiques au niveau de l'estomac, la scintigraphie constitue un critère de sélection des animaux d'expérience qui peut en certaines circonstances assurer un gain de temps précieux.

Summary. Scintillation camera allows several metabolic investigations to be carried out routinely in the course of physiopathological studies. Examples are presented, including experimental tumour visualization, liver uptake of tracers, visualization of the isotope renogram, and distribution of labelled albumin with an illustration of the disturbances produced by lethal irradiation.

A. BOUCKAERT, D. JOVANOVIC et E. ROYER

Laboratoire de Radiobiologie, Institut du Cancer,
Université de Louvain (Belgique),
27 septembre 1968.