einem gleichen Volum gesättigter Hydrogencarbonat-Lösung geschüttelt, wobei sich die Lösung braun färbte. Darauf wurde so oft mit 1-proz. Hydrogencarbonat-Lösung ausgeschüttelt, bis die wäßrige Phase farblos blieb. Aus den vereinigten wäßrigen Extrakten wurden die DNP-Aminosäuren durch Ansäuern abermals in Essigsäureäthylester übergeführt und mit Hydrogencarbonat-Lösungen ausgeschüttelt, wie oben angegeben. Dieser Vorgang wurde dreimal ausgeführt, um störende Reaktionsprodukte zu entfernen. Nach Sublimation des DNP-OH im Vakuum wurde ein Volum, welches 20 bis

30 mg Protein entsprach, auf Papier aufgetragen und wie oben entwickelt.

Die wäßrige Phase (1), die etwa vorhandenes DNP-Arginin und DNP-Histidin enthält, wurde, wie angegeben, mit Butanol-Essigsäureäthylester (1:1) ausgeschüttelt, und die organische Phase mit wenig HCl gewaschen. Die Entwicklung erfolgte zweidimensional mit den angegebenen Lösungsmitteln.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sind wir für ihre großzügige Unterstützung zu Dank verpflichtet.

¹³¹I-Serumproteine und Schilddrüse*

Von ANGELO D'ADDABBO** und EKKEHARD KALLEE

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen (Direktor: Prof. H. BENNHOLD)

(Z. Naturforschg. **14b**, 240—245 [1959]; eingegangen am 31. Dezember 1958)

As shown in experiments on the half life of radioiodinated serum in rabbits, trace-iodinated serum proteins are not directly desiodinated by the organism in the presence of excessive diiodotyrosine, iodide, or thyroxine. The half life of ¹³¹I-Serum proteins depends on the hormonal action of the thyroid rather than on a direct desiodination of ¹³¹I-proteins.

Bei einem einzigartigen Fall von Analbuminämie¹⁻⁴ hatten wir erhebliche Unterschiede zwischen den Halbwertszeiten (= HWZ) von natürlichen und ¹³¹I-Albuminen (RISA^(R), Abbott) festgestellt^{3, 5}. Auch von anderen Autoren waren Diskrepanzen zwischen in vivo markierten ¹⁴C- bzw. ³⁵S-Proteinen und in vitro radiojodierten Proteinen beobachtet worden^{6, 7, 9-15}.

Diese Befunde ließen vermuten, daß Jod oder jodhaltige Aminosäuren aus dem Proteinverband diskriminatorisch abgelöst werden könnten^{7, 8, 14}, wobei möglicherweise die Schilddrüse eine Rolle gespielt hätte⁷. Es galt nun zu klären, ob die Jodaffinität

der Schilddrüse direkt die Desjodierung von ¹³¹I-Proteinen bewirkt oder ob die Protein-HWZ lediglich von der Hormonproduktion der Schilddrüse abhängt. Wären Enzymsysteme der Schilddrüse oder anderer Organe in der Lage, Jod in erheblichem Umfange aus den Dijodtyrosyl (= DJT)- oder Jodhistidyl-Gruppen^{16, 17} jodierter Proteine mit oder ohne vorherige Desaminierung¹⁸ abzufangen, so müßte nach einer Absättigung dieser Enzymsysteme mit nicht-radioaktivem Jodid oder DJT die HWZ von ¹³¹I-Proteinen meßbar ansteigen. Das gleiche müßte eintreten bei einer hypophysären Ruhigstellung der Schilddrüse durch Thyroxin (= Tx)-Medikation,

* Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Gewährung einer Sachbeihilfe.

** Von der Med. Univ. Klinik Bari (Direktor: Prof. V. CHINI) an die hiesige Klinik beurlaubt.

¹ H. BENNHOLD, H. PETERS u. E. ROTH, Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **60**, 630 [1954].

² H. BENNHOLD, Regensburger Jb. ärztl. Fortbild. **IV**, 72 [1954/55].

³ H. BENNHOLD, Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **62**, 657 [1956].

⁴ H. BENNHOLD u. Mitarbb., in Vorbereitung.

⁵ H. BENNHOLD u. E. KALLEE, J. clin. Invest. **38**, Mai 1959, im Druck.

⁶ L. R. MELCHER u. S. P. MASOUREDIS, J. Immunology **67**, 393 [1951].

⁷ W. FRIEDBERG u. H. WALKER, Fed. Proc. **14**, 214 [1955], zit. n. J. S. GARVEY u. D. H. CAMPBELL, J. Immunology **76**, 36 [1956].

⁸ A. S. McFARLANE (Übersicht, Progr. Biophysics **7**, 115 [1957].

⁹ S. H. ARMSTRONG, K. McLEOD, G. WOLTER u. G. KUKRAL, J. Lab. clin. Med. **43**, 918 [1954].

¹¹ S. H. ARMSTRONG, jr., D. BRONSKY u. J. HERSHMAN, J. Lab. clin. Med. **46**, 857 [1955].

¹² W. VOLWILER, P. D. GOLDSWORTHY, M. D. McMARTIN, P. A. WOOD, I. R. MACKAY u. K. FREMONT-SMITH, J. clin. Invest. **34**, 1126 [1955].

¹³ F. HAUROWITZ, persönl. Mitteilg. (1958).

¹⁴ S. P. MASOUREDIS u. M. L. BEECKMANS, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **89**, 398 [1955].

¹⁵ S. MARGEN u. H. TARVER, Ann. N. Y. Acad. Sci. **70**, 49 [1957].

⁸ E. E. POCHIN, Diskussionsbemerkung zu E. KALLEE, Radioisotope Conference, Vol. I, 330, Butterworth Publ., London 1954.

¹⁶ W. L. HUGHES u. R. STRAESSLE, J. Amer. chem. Soc. **72**, 452 [1950].

¹⁷ R. MICHELL, II^e Congrès Internat. Biochim. (Paris) **1952**, 75 (Übersicht).

¹⁸ W. TONG, A. TAUROG u. I. L. CHAIKOFF, J. biol. Chemistry **207**, 59 [1954].

oder erst recht nach Thyreoidektomie bei gleichzeitiger Verabreichung von Tx.

Wir untersuchten daher die HWZ von ^{131}J -markiertem Kaninchenserum bei Kaninchen, deren ^{131}J -Umsatz an verschiedenen Stellen blockiert oder deren Gesamtstoffwechsel durch Tx beschleunigt bzw. durch Thyreoidektomie verlangsamt wurde.

V Versuchsergebnisse

Um größere Blutverluste und daraus resultierende Fehler zu vermeiden, haben wir in der vorliegenden Arbeit auf die Untersuchung des während der ersten 5 Tage nach der Injektion von ^{131}J -Serumproteinen auftretenden raschen Initialschwundes verzichtet. Die HWZ wurde aus der zwischen dem 5. und 23. Tage nach der Injektion resultierenden Geraden berechnet.

1. Kontrollen

SCHULTZE¹⁹ hat die von verschiedenen Autoren an Kaninchen ermittelten HWZ von ^{35}S -, ^{14}C - und ^{131}J -Albuminen zusammengestellt; diese HWZ lagen zwischen 7,1 und 10,0 Tagen. Die von uns gefundene mittlere Serum-HWZ von $7,7 \pm 1,9$ Tagen (Abb. 1 u. 2, Tab. 1) stimmt mit diesen Werten annähernd überein. Da die Radioaktivitäten der Globulinfractionen bei der Jodierung von Gesamtserum nur einen verhältnismäßig kleinen Anteil (20 bis 30%) ausmachen und die HWZ der Globuline größenordnungsmäßig nicht stark verschieden sind, fällt deren Mitbestimmung nicht erheblich ins Gewicht. Überdies haben wir für unsere Versuche immer das gleiche Stammserum (Abb. 3) verwendet (gesammeltes Serum von ca. 20 Spenderkaninchen) und unter gleichbleibenden Bedingungen jodiert.

2. Mit Dijodtyrosin oder Jodid behandelte normale Kaninchen

In jodierten Proteinen liegt das Jod überwiegend in Form von DJT- und Jodhistidin-Molekülen vor¹⁶. Nach der Verabreichung von ^{131}J -Proteinen läßt sich im Urin radioaktives DJT nachweisen²⁰. Es wäre nun denkbar, daß irgendein Organ, wie z. B. Schilddrüse, Leber oder Niere, eine hochgradige Affinität

zu DJT besäße, die zu einer selektiven Abspaltung von DJT-Molekülen ohne vorhergehenden Proteinabbau führen könnte. Dann müßte nach einer exzessiven Absättigung des affinen Systems mit nicht-radioaktivem DJT die Protein-HWZ ansteigen.

Abb. 1. Schwundkurven von ^{131}J -Kaninchenserum. Obere Kurven und rechte Ordinate: Kontroll-Kaninchen ohne (a) und mit (b) KJ-Blockade der Schilddrüse. Untere Kurven und linke Ordinate: Tx-behandelte Kaninchen mit (c) und ohne (d) gleichzeitige KJ-Blockade der Schilddrüse. Ordinate: Die Serum-Radioaktivität 1 Stde. nach der Injektion ist willkürlich = 100% gesetzt. Der Übersichtlichkeit halber sind die einzelnen Meßpunkte durch vertikale Balken ersetzt, welche die mittlere quadratische Abweichung vom arithmetischen Mittelwert angeben. HWZ und statistische Werte s. Tab. 1.

$$\begin{array}{c} \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{array} = a, \quad \begin{array}{c} \text{---} \\ | \\ \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{array} = b \text{ oder } c, \quad \begin{array}{c} \text{---} \\ | \\ \text{---} \\ | \\ \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{array} = d.$$

Ebenso müßte die HWZ merkbar ansteigen, wenn hohe Jodid-Dosen die Desjodierung von ^{131}J -Proteinen erheblich beeinträchtigen könnten. Schon CAMPBELL und Mitarbb.²¹ hatten in orientierenden Versuchen keine Veränderung der HWZ unter der Verfütterung von Träger-Jodid bei Ratten gefunden. Auch wir konnten weder unter einer DJT- noch unter einer KJ- oder NaJ-Behandlung eine echte Abweichung der HWZ von den Normalwerten nachweisen (Abb. 1 und Tab. 1).

¹⁹ B. SCHULTZE, Biochem. Z. **329**, 144 [1957].

²⁰ F. J. DIXON, G. J. DAMMIN u. S. C. BURKANTZ, Fed. Proc. **9**, 380 [1950].

²¹ R. M. CAMPBELL, D. P. CUTHBERTSON, C. M. E. MATTHEWS u. A. S. McFARLANE, J. appl. Rad. Isotopes **1**, 66 [1956].

Behandlungsart	Anzahl	HWZ $\pm \sigma$ [Tage]	Differenz der HWZ gegenüber Kontrollen [%]	Regressions- koeffizient	Signifikanz ($\frac{m_1 - m_2}{\sigma_{\text{Diff}}}$)	Erforderlich für Signifikanz
Kontrollen	20	7,7 $\pm$ 1,9	$\emptyset$	- 3,5	$\emptyset$	$\emptyset$
KJ	18	8,3 $\pm$ 1,6	+ 7,8	- 3,4	1,05	3,22
Thyreoidektomierte, gesamt, davon:	21	13,1 $\pm$ 2,9	+ 70,1	- 2,7	7,14	3,20
1.—4. Woche nach Operation,	13	12,5 $\pm$ 2,8	+ 62,3	- 2,8	5,47	3,25
8.—12. Woche nach Operation	8	14,2 $\pm$ 2,8	+ 84,4	- 2,5	5,96	3,30
Thyreoidektomierte + Thyroxin	6	5,8 $\pm$ 1,1	- 24,6	- 4,5	gegenüber Kontrollen: 3,03 gegenüber Thyreoid- ektomierten: 9,01	3,34 3,33
Thyroxin	16	4,7 $\pm$ 0,9	- 39,9	- 5,7	6,23	3,23
Thyroxin + KJ	16	5,1 $\pm$ 1,7	- 33,7	- 5,1	gegenüber Kontrollen: 4,26 gegenüber Thyroxin: 0,82	3,23 3,27
Dijodtyrosin	11	7,3 $\pm$ 1,7	- 5,2	- 3,6	0,58	3,27
Thyreotropes Hormon	20	7,1 $\pm$ 1,7	- 7,8	- 3,8	1,12	3,21

Tab. 1. Einfluß von Thyreoidektomie, einigen jodhaltigen Verbindungen und thyreotropem Hormon auf die Harlbwertzeit von ^{131}J -Kaninchenserum.

3. Thyreoidektomierte Kaninchen (Abb. 2 und Tab. 1)

Das klinische Bild des Myxödems pflegt erst viele Wochen nach der radikalen Thyreoidektomie aufzutreten. Infolgedessen hätte man annehmen sollen, daß auch die Verlangsamung des Proteinstoffwechsels erst nach einer mehrwöchigen Latenzperiode aufträte. In den unmittelbar nach der Operation folgenden Tagen und Wochen hätte demnach eine Verlängerung der HWZ auf das Fehlen eines jodabfängenden Mechanismus zurückgeführt werden können. Wir haben wohl eine Verlängerung der HWZ beobachtet. Diese Verlängerung ist aber nicht auf den Ausfall der Jodfalle zurückzuführen, sondern auf einen Mangel an Schilddrüsenhormon und dadurch bedingten verlangsamten Eiweißumsatz, da sich nach Verabreichung von Tx die HWZ bei den gleichen Tieren sofort wieder verkürzt (Abb. 2).

Bei 13 Kaninchen wurde die HWZ von ^{131}J -Serum vom 3. postoperativen Tage an bestimmt. Circa

8 Wochen nach der Thyreoidektomie wurde die Bestimmung der HWZ bei 8 von diesen 13 Kaninchen wiederholt.

Schon in der ersten Bestimmungsperiode war die HWZ deutlich verlängert. Der postoperative Ausfall von Schilddrüsenhormonen macht sich also bereits unmittelbar nach der Thyreoidektomie bemerkbar, und zwar zu einer Zeit, wo sonstige Zeichen des Myxödems noch nicht manifest werden, da der Organismus noch über Hormonreste verfügt.

Erst in der zweiten Bestimmungsperiode, wenn also die Hormonreste endgültig aufgebraucht sind und typische Myxödemsymptome (veränderter Hautturgor, struppiges Fell mit Haarausfall, Apathie, Verkalkung*, Leberschädigung usw.) sichtbar werden, steigt die HWZ noch weiter an (Tab. 1).

Wäre die extrem verlängerte HWZ ausschließlich auf einen reversiblen myxödematösen Organschaden

* Die Gefäßverkalkung kann teilweise auch auf die postoperativ notwendige, prophylaktische A.T. 10-Behandlung zurückzuführen sein.

(vor allem der Leber) zurückzuführen, dann dürfte sich die myxödematöse HWZ durch Tx-Behandlung nicht sofort normalisieren oder gar auf subnormale Werte beschleunigen lassen, da die Restitution der geschädigten Organe einige Wochen dauert. Allerdings fanden wir bei den myxödematösen Kaninchen unter der Tx-Medikation keine ganz so kurzen Halb-

drüse. Wäre die HWZ ^{131}J -markierter Serumproteine nicht von der Stoffwechselwirkung des Tx abhängig, sondern hauptsächlich von einer direkten, desjodierenden Funktion der Schilddrüse, so müßte unter einer Tx-Medikation die HWZ von ^{131}J -Serum ansteigen oder wenigstens unverändert bleiben. In unseren Versuchen fanden wir das Gegenteil: Die HWZ fiel rapide ab (Abb. 2). Daran änderte auch eine zusätzliche Blockade mit hohen Dosen KJ nichts (Abb. 1).

Abb. 2. Schwund von ^{131}J -Kaninchenserum aus der Blutbahn von unbehandelten (a) und Tx-behandelten (b) Kontrollkaninchen, thyreoidektomierten Kaninchen ohne (c) und mit (d) Tx-Behandlung. Erläuterung der Ordinate und der vertikalen Balken s. Abb. 1, HWZ usw. s. Tab. 1.

wertszeiten wie bei den nicht-operierten Tx-Kaninchen. Diese Differenz läßt sich entweder durch eine unzureichende Tx-Dosierung erklären oder durch eine unvollständige Wiederherstellung der myxödematös geschädigten Organe, insbesondere der viel Protein abbauenden Leber. Vielleicht spielt auch der Mangel an Trijodthyronin²² oder anderen Hormonen eine Rolle.

Jedenfalls geht aus unserer Versuchsanordnung klar hervor, daß die nach einer Schilddrüsen-Exstirpation beobachtete Verlängerung der HWZ von ^{131}J -Proteinen nicht auf einen Verlust der Jodfalle zurückzuführen ist, sondern lediglich auf einen Hormonmangel.

4. Thyroxin

Tx und viele andere jodhaltige Substanzen beeinträchtigen die Radiojodspeicherung der Schild-

5. Thyreotropes Hormon (= TSH)

Um die Schilddrüsentätigkeit der Kaninchen anzuregen und damit die Jodavidität zu erhöhen, behandelten wir eine Reihe von Versuchstieren mit TSH. Selbst durch sehr hohe TSH-Dosen (bis zu 500 M.E. jeden 2. Tag) konnte die HWZ nicht verkürzt werden (Tab. 1). Bei Kaninchen ist TSH offenbar unwirksam²³.

Diskussion

Von vornherein war die Wahrscheinlichkeit einer direkten Desjodierung von ^{131}J -Proteinen in der Schilddrüse ohne vorhergehenden Abbau¹⁷ gering¹⁴, da die Schilddrüse in 24 Std. nur etwa 5% der injizierten Protein-Radioaktivität aufnimmt²⁴ und weil das Jod im Proteinmolekül in Form einer echten chemischen Verbindung vorliegt. Auch in unseren Versuchen wurde die HWZ ^{131}J -markierter Serumproteine erwartungsgemäß von der Jodavidität der Schilddrüse *nicht* beeinflusst.

Mit den derzeitigen physikalisch-chemischen und immunologischen Methoden konnten bisher keine Anzeichen einer Denaturierung von jodierten Proteinen mit weniger als 1% Jodgehalt nachgewiesen werden^{25, 26}. Dagegen haben BERSON und Mitarbb.²⁷ erstmals die HWZ verschieden stark jodierter ^{131}J -Serumproteine beim Menschen untersucht und dabei gefunden, daß durch übermäßige Jodierung die biologische HWZ verkürzt wird. Nach unseren Versuchen ist dies jedoch nicht auf eine Labilität überschüssiger, locker gebundener Jodatome oder DJT-Moleküle im Proteinverband zurückzuführen, sondern auf einen beschleunigten Schwund von Pro-

²² F. L. IBER, K. NASSAU, I. C. PLOUGH, F. M. BERGER, W. H. MERONEY u. K. FREMONT-SMITH, J. clin. Invest. **37**, 1442 [1958].

²³ Lit. bei P. TALA, Acta Endocrinol., Suppl. **IX**, 5 [1952].

²⁴ J. P. STORAASLI, H. KRIEGER, H. L. FRIEDEL u. W. D. HOLDEN, Surgery Gynecol. Obstetr. **91**, 458 [1950].

²⁵ G. E. FRANCIS, W. MULLIGAN u. A. WORMALL, Biochem. J. **60**, 363 [1955].

²⁶ F. J. DIXON, S. C. BUKANTZ u. G. J. DAMMIN, Science [Washington] **113**, 274 [1951].

²⁷ S. A. BERSON, R. S. YALOW, S. S. SCHREIBER u. J. POST, J. clin. Invest. **32**, 746 [1953].

teinen, die bei der Jodierung vermutlich verändert (denaturiert) werden^{0,27}. Deshalb möchten wir annehmen, daß die Diskrepanz zwischen der HWZ eines nicht-markierten und eines radio-jodierten Albumins (RISA^(R)) bei einem Falle von Analbuminämie⁵ auf einer Ablagerung denaturierter Proteine in Organzellen beruht. Eine derartige Denaturierung kann vor allem mit der von McFARLANE angegebenen „jet“-Jodierung verhindert werden²⁸; die wahre HWZ von Albuminen läßt sich also bei Anwendung dieser Methode bestimmen, wie wir in gemeinsamen Untersuchungen mit McFARLANE und seinen Mitarbeitern MATTHEWS und FREEMAN einwandfrei festgestellt haben^{5,29}.

Da die Verabreichung von nicht-radioaktivem Jodid oder von Lugolscher Lösung²² keinen Einfluß auf die HWZ ausübt, ist diese Sicherheitsmaßnahme³⁰ bei Untersuchungen der HWZ spurenjodierter Proteine überflüssig. Jodid muß nur appliziert werden, wenn in Bilanzuntersuchungen²¹ die renale Ausscheidung exakt gemessen werden soll.

Zweifellos wird nach dem Abbau von ¹³¹I-Proteinen ein Teil des freigesetzten Jods in Jodhormone eingebaut, die zusammen mit den noch intakten ¹³¹I-Proteinen in der Blutbahn kreisen. Der Anteil der gleichzeitig mitbestimmten Abbau- und Umbauprodukte²⁵ ist jedoch im Vergleich zur Radioaktivität der nicht-abgebauten ¹³¹I-Proteine gering.

Seit den Untersuchungen von HADDEN (1882)³¹, v. MÜLLER³² und MENDEL³³ ist bekannt, daß die Schilddrüse die Stickstoffbilanz beeinflusst. Neuerdings sind Verschiebungen der papierelektrophoretischen Serumprotein-Fractionen beschrieben worden^{34–36}; nach einer Ausschaltung der Rattenschilddrüse steigen hauptsächlich die β - und γ -Globuline relativ und absolut stark an, während das Albumin nur relativ abnimmt. Tx hingegen verursacht einen raschen Abbau vor allem der Albumine. Das bedeutet, daß unter dem Einfluß von Tx der Abbau von Albumin größer ist als die Neusynthese. Umgekehrt wird beim Myxödem die Albumin-Synthese stärker gebremst als der Abbau. Dadurch entsteht bei beiden konträren Krankheiten ein relativer Albuminverlust.

Die von KLEINSORG und Mitarbb. beobachtete Eiweißvermehrung ließ sich bei der hypothyreoten Ratte erst nach 9 Wochen nachweisen³⁴. Die Autoren bringen dies in Zusammenhang mit der fehlenden Tx-Wirkung, einer auftretenden Leberschädigung, oder einer Funktionsänderung der Nebennieren-Rinde. Wir fanden schon *unmittelbar* nach der Thyreoidektomie eine Verlängerung der HWZ von ¹³¹I-Serumproteinen. Wurde die HWZ jedoch einige Wochen später bei den gleichen Kaninchen bestimmt, so war sie stärker verlängert als anfangs. Dieser Befund spricht für die Annahme der o. g. Verfasser³⁴, daß bei monatelang bestehendem Myxödem eine sekundäre Organschädigung den Protein-stoffwechsel zusätzlich verlangsamt.

Methoden

1. Proteinmarkierung. Es wurden jeweils 2 ml Kaninchenserum mit 2–3 mC ¹³¹I₂, das ca. 28 μ g

Fraktion	Radioaktivitäts-Anteil in % der Gesamt-Radioaktivität des Serums	Protein-Anteil in % der gesamten Serum-Proteine	Relativer Jodierungsgrad, auf Albumin = 100% bezogen* [%]
Serum	100	100	—
Albumin	75,2 $\pm$ 6,8	59,5 $\pm$ 5,6	100
α -Globuline	7,0 $\pm$ 2,1	12,8 $\pm$ 3,5	43
β -Globuline	6,7 $\pm$ 2,1	13,6 $\pm$ 2,1	39
γ -Globuline	11,1 $\pm$ 2,9	14,0 $\pm$ 5,1	63

Tab. 2. Verteilung der Radioaktivitäten und Jodierungsgrade auf die Serumfraktionen.

* Der „relative Jodierungsgrad“ einer Fraktion in einem Proteingemisch errechnet sich aus dem Verhältnis der spezifischen Radioaktivität dieser Fraktion zur spezifischen Radioaktivität einer anderen Fraktion. Im vorliegenden Falle wurde die spezifische Radioaktivität der Serumglobuline in prozentuale Beziehung gesetzt zur spezifischen Radioaktivität des Albumins:

$$\frac{\text{spezif. Radioaktivität des Globulins}}{\text{spezif. Radioaktivität des Albumins}}, \text{ z. B. für } \gamma\text{-Globulin:}$$

$$\frac{11,1}{14,0} : \frac{75,2}{59,5} \cdot 100 = 62,7 \approx 63 \text{ Prozent.}$$

Der relative Jodierungsgrad vermittelt einen Anhaltspunkt über die ungefähre Jodaffinität einer Proteinfraction.

²⁸ A. S. McFARLANE, Biochem. J. **62**, 135 [1956].

²⁹ T. FREEMAN, C. M. E. MATTHEWS, A. S. McFARLANE, H. BENNHOLD u. E. KALLEE, Nature [London] **183**, 606 [1959].

³⁰ S. A. BERSON u. R. S. YALOW, Fed. Proc. **16**, 13 [1957].

³¹ HADDEN, zit. n. S. C. WERNER, The Thyroid, P. B. Hoeber Inc., New York 1955.

³² F. v. MÜLLER, Dtsch. Arch. klin. Med. **51**, 335 [1893].

³³ E. MENDEL, Dtsch. med. Wschr. **19**, 25 [1893].

³⁴ H. KLEINSORG, H.-L. KRÜSKEMPER u. C. LOPEZ-CALLEJA, Acta endocrinol. **19**, 157 [1955], dort auch weitere Literatur.

³⁵ B. A. LAMBERG u. R. GRÄSBECK, Acta endocrinol. **19**, 91 [1955].

³⁶ R. GREENE, D. C. MORGAN u. R. BIRD, J. clin. Endocrinol. **18**, 99 [1958].

³⁷ H. H. BANKS, A. M. SELIGMAN u. J. FINE, J. clin. Invest. **28**, 548 [1949].

Zeitpunkt	Hämoglobin [g/100 ml]	Erythrozyten [Mill./ μl]	Retikulozyten [‰]
vor der ersten Blut- entnahme	$14,1 \pm 0,56$	$5,5 \pm 0,41$	49 ± 5
5 Tage nach der letzten Blutentn. (nach ins- gesamt 4 Wochen)	$11,8 \pm 0,94$	$4,3 \pm 0,34$	98 ± 26

Tab. 3. Durch Entnahme von 5-mal je 10 cm^3 Blut innerhalb 3 Wochen verursachte Anämie bei 20 Kaninchen. Sonstige Werte, wie Plasmavolumen, Proteingehalt, papierelektrophoretische Fraktionen, Färbe-Index, Serum-Eisen und Lebendgewicht waren nur innerhalb der Fehlerbreite verändert und sind deshalb nicht mit aufgeführt.

Trägerjodid enthält, in CCl_4 nach BANKS, SELIGMAN und FINE in alkalischem Milieu³⁷ jodiert. Die gesamten Serumproteine enthielten bei einer Ausbeute von 10 bis 15% weniger als 0,004% Jod und $1,5\text{--}3,5\text{ }\mu\text{C}/\text{mg}$ Protein. Etwa 60–80% der Protein-Radioaktivität war in der Albuminfraktion enthalten (Tab. 2, Abb. 3). Das Albumin enthielt weniger als 0,01% Jod, und die spezifische Radioaktivität betrug weniger als $10\text{ }\mu\text{C}/\text{mg}$ Protein.

Die radiojodierten Seren wurden mindestens 2 Tage lang gegen 4–6 Portionen von je 1 l Tyrode -Lösung unter Rühren ausdialysiert. Die erste Portion enthielt 0,01% Träger-KJ und diente 12 Stdn. zur Dialyse. Nach Beendigung der gesamten Dialysen war in den Seren papierelektrophoretisch keine Spur anorganischen Jodids nachzuweisen, d. h. weniger als 0,1% der Protein-Radioaktivität. Zuletzt wurde das ^{131}J -Serum mit 10–25 ml nicht-radioaktivem Kaninchenserum verdünnt.

2. Tierversuche. Wir verwendeten ♀ und ♂, ca. einjährige Kaninchen, die gewöhnliches Saison-Futter erhielten. Bei Versuchsbeginn wogen die Tiere ca. 3 kg.

Jedem Kaninchen wurden 20–25 μC ^{131}J -Serum intravenös injiziert. 60 Min. nach dieser Injektion wurden ca. 2 ml Blut entnommen; die Radioaktivität des hieraus gewonnenen Serums diente als Ausgangswert = 100%. Danach wurden jeden 5. Tag je 10 ml Blut entnommen. Die Blutentnahmen verursachten die in Tab. 3 aufgeführten Veränderungen.

Sicherheitshalber bestimmten wir für jede neue ^{131}J -Serum-Charge die HWZ an einer Reihe von Kontrolltieren.

a) *Jodid-behandelte Kaninchen.* Die Tiere dieser Gruppe erhielten 4 Tage vor der Injektion von ^{131}J -Serum und am Injektionstage je 10 mg NaJ- oder KJ-Lösung intramuskulär injiziert, danach durchschnittlich jeden 4. Tag die gleiche Menge.

b) *Thyreoidektomierte Kaninchen.* 3–7 Tage vor der Injektion von ^{131}J -Serum wurden die Kaninchen radikal thyreoidektomiert*. Die Operations-Mortalität betrug ca. 50 Prozent. 10 Tage nach der Operation erhielten die Tiere jeden 2. Tag 2,5 mg A.T. 10^(R) (Bayer, Leverkusen) per os, manche auch noch postoperativ 2–3-mal die gleiche Menge. Bei zahlreichen verendeten Kanin-

Abb. 3. Typisches Elektrophorese-Diagramm eines ^{131}J -markierten Kaninchenserums. a=radio-papierchromatographische Kurve. b=Autoradiogramm, c=mit Amidoschwarz 10 B gefärbter, zu a und b gehörender Streifen. Spezif. Radioaktivitäten der einzelnen Fraktionen s. Tab. 2.

chen war wohl eine Verkalkung der Gefäße, aber keine Kalzinose der Nieren festzustellen.

c) *Thyroxin.* 8 Tiere dieser Gruppe erhielten jeden 2. Tag je 0,5 mg DL-Thyroxin (Hoffmann-LaRoche, Grenzach), 8 weitere Tiere jeden 3. Tag 1,0 mg intramuskulär injiziert, vom 3. Tage vor der Injektion von ^{131}J -Serum an beginnend.

2-mal 8 weitere Kaninchen erhielten je 10 mg KJ zusammen mit Tx injiziert.

6 thyreoidektomierte Kaninchen erhielten ebenfalls jeden 3. Tag 1,0 mg Tx, 6 Tage vor der Injektion von ^{131}J -Serum an beginnend.

d) *TSH.* 5 Kaninchen erhielten jeden 3. Tag je 50 Meerschweinchen-Einheiten „Pretiron“^(R) (Schering, Berlin) intramuskulär, 10 Tiere je 250 M.E., ebenfalls jeden 3. Tag, und 5 Tiere 500 M.E. jeden 2. Tag. Die TSH-Behandlung begann 6 Tage vor der Injektion von ^{131}J -Serum. Am Ende der Behandlung ließ sich histologisch keine Zunahme des Schilddrüsen-Epithels oder -Kolloids nachweisen**.

e) *Dijodtyrosin.* Jedes Kaninchen dieser Reihe erhielt täglich 10 mg DJT subkutan, das in $n/100\text{-NaOH}$ gelöst und mit Essigsäure auf $\text{pH } 7,6\text{--}8,4$ neutralisiert worden war. Diese Behandlung begann 2 Tage vor der Injektion von ^{131}J -Serum.

** Herrn Dr. W. HEINZEL (Pathol. Inst. der Univ. Tübingen) danken wir für die histologische Begutachtung und Beratung. Fr. RODENWALDT, Fr. STREITZ und Frau TAPPE assistierten bei den Versuchen.

* Wir möchten an dieser Stelle Herrn Dr. U. ROSSI (Chir. Univ. Klinik, Tübingen) für die Einführung in die Operationstechnik bestens danken.