

Summary

Extractions of muscle proteins of dystrophic, vitamin-E deficient rabbits show that in advanced dystrophy the actomyosin content of the extract (ionic strength = 0.11) is considerably reduced. The myosin content is even more reduced and may completely disappear from the extract. Actin, on the other hand, does not seem to be quantitatively effected by the dystrophy. The possible interrelationship between these results and the ATP content of the dystrophic muscles is briefly discussed.

Über Stoffwechselversuche mit radioaktivem Calcium

Im Verlauf von Stoffwechseluntersuchungen zum Karies-Fluor- und zum Rachitisproblem¹ mit Hilfe des radioaktiven Calciumisotops Ca⁴⁵ sind wir zu einigen allgemeineren Ergebnissen gelangt, deren kurze Mitteilung uns hier gerechtfertigt erscheint. Zunächst bedingte die lange Versuchsdauer von 250 Tagen eine ständige Kontrolle der Radioaktivität unserer Präparate, wobei eine neue Bestimmung der Halbwertszeit des Ca⁴⁵ möglich wurde. Es werden hierfür in der Literatur heute noch zwei Werte angegeben, ein älterer von $T = 180$ Tagen (besonders in amerikanischen Veröffentlichungen) und ein neuerer von $T = 152$ Tagen. Unsere Bestimmungen ergeben als Mittelwert $T = 152 \pm 1,5$ Tage, das heißt genau den neueren, von SOLOMON und GLENHEIM² angegebenen Wert. Weiter erfordert die relativ energiearme β -Strahlung des Ca⁴⁵ von $E_0 = 0,254$ MeV eine Absorptionskorrektur für Ca-Präparate endlicher Dicke, die nach der vereinfachten, aber bei weitem genügenden Formel

$$I_{(0)} = I_{(x)} \frac{\mu x}{1 - e^{-\mu x}}$$

durchgeführt werden kann, worin $I_{(0)}$ die Strahlintensität eines Präparats bestimmter Aktivität bei unendlich dünner Schicht, $I_{(x)}$ die Strahlung dieses Präparates bei der Schichtdicke x , und μ den Masseschwächungskoeffizienten der Strahlung bedeuten. Dabei wird für β -Strahlen μ allgemein in cm^2/mg und x in mg/cm^2 gemessen. Die Bestimmung von μ für Ca⁴⁵ in verschiedenen Materialien mit geringer Kernladungszahl ergab, daß die Schwächung der β -Strahlung bei Messung durch ein Zählrohr mit einer Wandstärke von $2 \text{ mg}/\text{cm}^2$ sehr annähernd exponentiell verläuft, mit $\mu = 0,107 \pm 0,002 \text{ cm}^2/\text{mg}$, in sehr guter Übereinstimmung mit dem Wert von 0,105, der kürzlich von COMAR, HANSARD, PLUMLEE und BARRENTINE³ angegeben worden ist. Die Dickekorrektur macht bei $x = 1 \text{ mg}/\text{cm}^2$ somit ca. 5% des Meßwertes aus.

Das in unseren Versuchen verwendete Ca⁴⁵-Präparat bestand in einer sogenannten «Irradiation Unit» von 16 g CaCO₃, die nach Berechnung aus dem «Pilefaktor» eine spezifische Aktivität von 0,333 mc/g (Millicurie) Ca-Element, entsprechend 2,12 mc Ca⁴⁵ für das Gesamtpräparat, aufwies. Eine eigene Aktivitätsmessung (nach der Methode des festen Raumwinkels) ergab eine Gesamtaktivität von 2,04 mc. Das CaCO₃ wurde in Ca-«Laktobionat» Ca(C₁₂H₂₁O₁₂)₂ übergeführt⁴. Es wurden insgesamt

¹ T. GORDONOFF und W. MINDER, Helv. physiol. acta 9C, 24 (1951); Int. Z. Vitaminforsch. 23, 16 (1951).

² A. K. SOLOMON und L. E. GLENHEIM, Phys. Rev. 73, 415 (1948).

³ C. L. COMAR, S. L. HANSARD, M. P. PLUMLEE und B. T. BARRENTINE, Nucleonics 8, 19 (1951).

⁴ Die hierzu notwendige Laktobionsäure sowie die Methodik zur Überführung wurden uns in sehr verdankenswerter Weise von den Herren Prof. A. STOLL und Dr. JUCKER, Basel, zur Verfügung gestellt.

1070 cm³ einer Ca-Laktobionatlösung erhalten, die zu Beginn der Tierversuche total 5,61 mg Ca mit 1,87 μ c (Mikrocurie) Ca⁴⁵ im cm³ enthielt. Diese spezifische Radioaktivität ist für Stoffwechselversuche an Rattenknochen in ihrer Größenordnung gerade ausgezeichnet geeignet, wenn die erhaltenen Knochenpräparate (extrahiertes CaO oder CaCl₂) ein Gewicht von etwa 10 mg aufweisen.

In Übereinstimmung mit früheren Autoren¹, die teilweise mit Sr und Ra gearbeitet haben, wurde gefunden, daß der weitaus größte Teil des vom Tierorganismus aufgenommenen Ca im Knochensystem gespeichert wird, wobei nach ca. 20 Tagen (bei täglicher Ca-Zufuhr) ein Gleichgewicht zwischen aufgenommener und wieder ausgeschiedener Ca-Menge vorhanden ist. Die Aufnahme kann angenähert formuliert werden durch die Funktion:

$$\frac{dM}{dt} = a - b M; \quad M = \frac{a}{b} (1 - e^{-bt}),$$

welche bei größeren Zeiten einem konstanten Grenzwert $M = a/b$ zustrebt. Dieser liegt bei unseren Versuchen für den Incisivus bei etwa 0,6%, beim Molar bei etwa 0,3%, bei der Epiphyse bei etwa 0,8% und bei der Diaphyse bei etwa 0,5% Ca-Element.

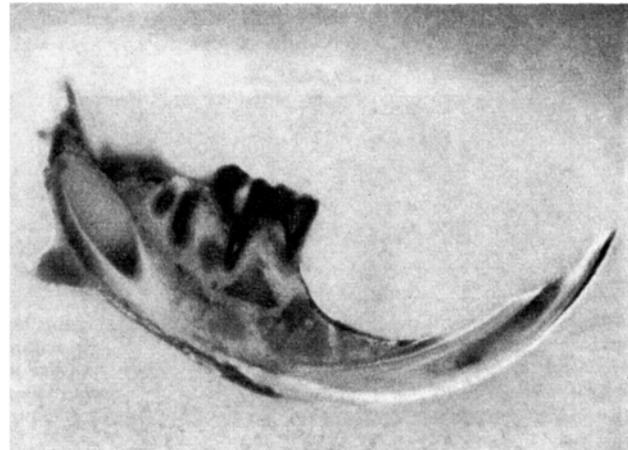


Abb. 1. - Autoradiographie eines angeschliffenen Rattenkiefers auf feinstkörnigem Film nach Verfütterung von Ca⁴⁵. Exposition 30 Tage. Positivkopie, helle Zonen: starke Ca⁴⁵-Ablagerung. Anreicherung besonders in den äußeren Schichten des Incisivus (zonare Struktur) und im Innern der Molaren.

Innerhalb der Knochen und Zähne lagert sich das zugefügte Ca in verschiedenen Zonen in verschiedenen Konzentrationen ab, wie neben dem Verhältnis Epiphyse:Diaphyse sehr schön durch die Autoradiographie eines angeschliffenen Rattenkiefers (Abb. 1) nach 20-tägiger Ca-Eingabe gezeigt wird.

Tabelle I
Ca-Gehalt einiger Knochen in Prozent nach Trocknung

	Incisivus	Molar	Epiphyse	Diaphyse
Maximum . . .	29,4	28,7	19,7	24,8
Minimum . . .	27,5	26,6	14,2	18,3
Mittel . . .	28,5	27,5	16,8	20,2

¹ W. CAMPBELL und D. M. GREENBERG, Proc. nat. Acad. Sci. Amer. 26, 176 (1940). - D. M. GREENBERG, Z. biol. Chem. 157, 99 (1945). - W. P. NORRIS und W. KISIELESKI, Cold Spring Harbour Symposia 13, 164 (1948).

Über den Ca-Gehalt der Zähne und Röhrenknochen in Prozent geben die Werte der Tabelle I Auskunft (13 Analysen).

In der Tabelle I sind auch Bestimmungen an ganz jungen Tieren enthalten, bei denen der Ca-Gehalt der Röhrenknochen deutlich geringer ist als bei ältern. Unsere Analysen decken sich sehr gut mit denen von COMAR und Mitarbeitern, welche für den Incisivus 27,6% und für den Femur 19,1% angegeben haben. Es mag von Interesse sein, mit den obigen Zahlen den Ca-Gehalt des Hydroxylapatites $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ zu vergleichen. Dieser beträgt 39,84 %. Der ungeglühte Knochen enthält offenbar noch sehr beträchtliche Mengen organischer Substanzen und Wasser.

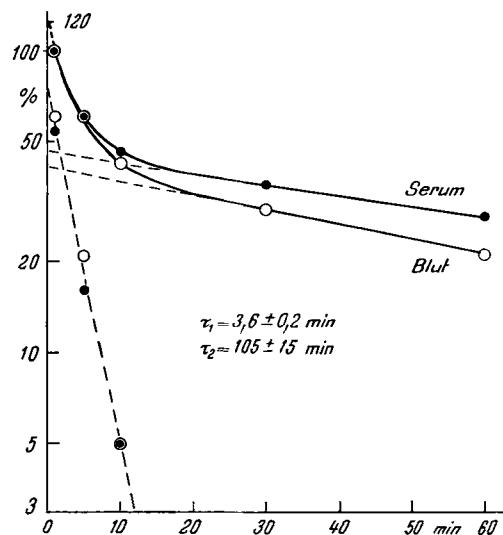


Abb. 2. – Ca^{45} -Gehalt der Proteine des Blutes bzw. Blutserums bei verschiedenen Zeiten nach intravenöser Injektion von Ca^{45} -Laktobionat. Ordinate: Prozente des Ca^{45} -Gehaltes nach Injektion in logarithmischer Darstellung (1 min = 100%). Zusammensetzung der Konzentrationskurve aus zwei Geraden verschiedener Neigung.

Über den Ca-Ersatz in Prozent des Gesamt-Ca-Gehaltes der Knochen nach 10- bis 25-tägiger Eingabe von je einem Tropfen unserer Lösung, bzw. nach Laktation durch entsprechend behandelte Muttertiere orientieren die Mittelwerte der Tabelle II.

Tabelle II

Prozentsatz des durch zugeführtes Ca in den Zähnen und Knochen ersetzen Ca

	Incisivus	Molar	Epi-physis	Dia-physis	Incisivus: Molar	Epiph.: Diaph.:
Alte Tiere . .	0,65	0,29	0,77	0,47	2,24	1,63
Junge, durch Laktation ernährte Tiere	0,57	0,53	0,50	0,50	1,08	1,00
Rachitis . . .	0,18	0,075	0,23	0,13	2,40	1,77

Eine Rachitisdiät setzt den Ca-Ersatz durchgehend auf weniger als die Hälfte herab, wobei die relativen Verhältnisse zwischen den untersuchten Knochen aber nicht geändert werden. Bei ganz jungen Tieren, bei denen die Ca-Zufuhr durch Muttermilch erfolgte, ist der Ca-Ersatz, soweit er hier geprüft wurde, überall fast genau derselbe.

Zur Untersuchung der Probleme des Ca-Transportes¹ wurde die Ca-Laktobionatlösung Kaninchen injiziert und zu verschiedenen Zeiten zwischen 1 und 60 min dem Tier am anderen Ohr Blut entnommen. Dabei fand sich ein sehr rascher Abfall der radioaktiven Ca-Konzentration im Blut und Serum bis zu etwa 10 min nach der Injektion, der sich von hier an dann wesentlich verlangsamte. Es war naheliegend, anzunehmen, daß der steile Abfall dem noch ungebundenen Ca^{45} entsprechen würde. Es wurde deshalb ohne Änderung des pH das Serumeiweiß mit Alkohol in der Wärme ausgefällt und das Filtrat auf Ca^{45} untersucht. Die Filtrate sind schon nach einer Minute praktisch Ca^{45} -frei, das heißt, schon nach dieser sehr kurzen Zeit ist praktisch das gesamte injizierte Ca an Protein gebunden. Es mag in diesem Zusammenhang interessant erscheinen, daß bei Fällung mit Trichloressigsäure etwa 50 % des Ca^{45} im Filtrat vorhanden sind. Die Abbildung 2 stellt demnach die in den Proteinen des Blutes und des Serums vorhandene Ca^{45} -Konzentration dar. Die mittlere Konzentrationskurve zwischen Blut und Serum (semilogarithmische Darstellung) läßt sich genau durch die Summe von zwei Exponentialfunktionen darstellen (zwei Geraden in Abb. 2):

$$C(t) = C_0 (0,64 \cdot e^{-0,28 t} + 0,36 e^{-0,0095 t}),$$

wenn die Zeit t in Minuten gemessen wird. Die mittlere Zeit, während der etwa zwei Drittel des (als Laktobionat) injizierten Ca^{45} in den Proteinen bleibt, beträgt nur 3,6 min, für das restliche Drittel 105 \pm 15 min. Die Blutzellen sind praktisch Ca^{45} -frei. Die kleinen Unterschiede der Messungen zwischen Blut und Serum sind wohl ohne Bedeutung.

Die Versuche werden fortgesetzt, um die Ca-Bindung an die einzelnen Eiweißfraktionen aufzuklären. Herrn Prof. H. NITSCHMANN sind wir für sehr wertvolle Ratschläge zu großem Dank verpflichtet.

W. MINDER und T. GORDONOFF

Radium-Institut Bern, den 20. Oktober 1951.

Summary

Ca-metabolism is investigated in the teeth and bones of rats by means of the radioactive isotope Ca^{45} . Rates of Ca-content and -turnover are given and a new determination of the halflife of Ca^{45} is made. Even 1 min. after injection, all the Ca is bound to blood-proteins from whence it is extracted by the body at different velocities which can be determined.

¹ E. ROTHLIN, Vjschr. naturf. Ges. Zürich 90, 195 (1945). – E. ROTHLIN und R. BIRCHER, Odonto-Stomatologie 2, 167 (1949).

Response of the Pancreas to Chronic Injury

In the course of investigations conducted for several years into the different means of inducing parenchymatosus lesions in different organs, it could be established that the pancreas is extremely susceptible to all kinds of injury exerted on the organism. The histological picture arising in consequence of deficiency diets or poisoning with chlorinated hydrocarbons was invariably a cystic degeneration associated with fibrosis of the excretory system. The lesion closely resembling the well-known picture of cystic fibrosis was exactly similar to those found in humans suffering from uremia¹, or infants de-

¹ A. H. BAGGENSTOSS, Amer. J. Path. 24, 1003 (1948).