

R., u. H. BAYERLE: Hoppe-Seylers Z. **283**, 248 (1948). —  
<sup>9</sup> HURN, M., and F. D. MANN: Amer. J. Clin. Path. **17**, 741  
 (1947). — <sup>10</sup> RIEBEN, W. H.: Beiträge zur Kenntnis der Blut-  
 gerinnung. Basel 1947. — <sup>11</sup> SEEGERS, W. H., E. C. LOO-  
 MIS and J. M. VANDENBELT: Arch. of Biochem. **6**, 85 (1945). —  
<sup>12</sup> WARE, A. G., and W. H. SEEGER: J. of Biol. Chem. **174**,  
 565 (1948). — <sup>13</sup> WARE, A. G., M. M. GUEST and W. H. SEE-  
 GERS: Arch. of Biochem. **13**, 231 (1947). — <sup>14</sup> SEEGERS, W.  
 H., and A. G. WARE: Federat. Proc. **8**, 249 (1949). — <sup>15</sup> SEE-  
 GERS, W. H., K. D. MILLER, E. ANDREWS and R. C. MURPHY:  
 Amer. J. Physiol. **169**, 700 (1952). — <sup>16</sup> WARE, A. G., and

W. H. SEEGER: Amer. J. Clin. Path. **19**, 471 (1949). —  
<sup>17</sup> NICOLA, P. DE: Texas Rep. Biol. a. Med. **11**, 3 (1953). —  
<sup>18</sup> NICOLA, P. DE: Clin. nuova (Roma) **16**, 763 (1953). — <sup>19</sup> ALEX-  
 ANDER, B.: Persönliche Mitteilung. — <sup>20</sup> WARE, A. G., and  
 W. H. SEEGER: J. of Biol. Chem. **172**, 699 (1948). — <sup>21</sup> ASTRUP,  
 T., and S. DARLING: Acta physiol. scand. (Stockh.) **4**, 45  
 (1942). — <sup>22</sup> KLEIN, P. B., and W. H. SEEGER: Blood **5**,  
 742 (1950). — <sup>23</sup> WITTE, S., u. P. DIRNBERGER: Acta haema-  
 tol. (Basel) **9**, 380 (1953). — <sup>24</sup> WITTE, S., u. P. DIRNBERGER:  
 Klin. Wschr. **1952**, 610. — <sup>25</sup> WITTE, S., u. P. DIRNBERGER:  
 Dtsch. Arch. klin. Med. **199**, 492 (1952).

**PAPIERELEKTROPHORETISCHE UNTERSUCHUNGEN VON SCHILDDRÜSENEXTRAKTEN  
 UND SERUM NACH IN VITRO-ZUSATZ VON RADIOJODID, RADIOMANGAN UND RADIOCOBALT  
 SOWIE NACH IN VIVO-GABE VON RADIOJODID\*.**

Von

W. HORST und H. H. SCHUMACHER.

Aus dem Strahleninstitut (Direktor: Prof. Dr. PRÉVÔT) und dem Pathologischen Institut (Direktor: Prof. Dr. KRAUSPE)  
 des Universitätskrankenhauses Hamburg-Eppendorf.

In früheren Untersuchungen konnte gezeigt werden (HORST und RÖSLER<sup>1</sup>), daß das Hormonjod im Serum des Menschen in Bindung an zwei Eiweißfraktionen zirkuliert, nämlich die sog. Inter- $\alpha$ -fraktion (etwa 85%) und die Albumine (etwa 15%). In einigen Fällen fanden sich daneben auch im Bereich der  $\beta$ -Globuline um 10% des organisch gebundenen Radiojods (Abb. 2). Weiter ergab sich, daß eiweißfreies, biosynthetisch gewonnenes, radioaktives Hormonjod (Butanolextrakt vom Serum athyreotischer Kinder) in der gleichen typischen Verteilung gebunden wird (HORST und v. HARNACK<sup>2</sup>). Demnach tritt das Hormonjod eiweißfrei und nicht als Thyreoglobulin oder als Peptid aus der Schilddrüse ins Plasma über und wird dort sekundär an bestimmte Plasmaproteine gebunden (s. auch GROSS und PITT-RIVERS<sup>3</sup>; GROSS, LEBLOND, FRANKLIN und QUASTEL<sup>4</sup>). Weiter konnte durch Untersuchungen mit radioaktivem Thyroxin und Trijodthyronin nachgewiesen werden, daß im Serum auch *freies, also nicht eiweißgebundenes* Thyroxin und Trijodthyronin mit der Inter- $\alpha$ -Fraktion und den Albuminen im Gleichgewicht stehen<sup>16</sup>. Gerade aber das freie, ungebundene Hormonjod ist vermutlich diffusibel und dürfte damit verantwortlich sein für die intracelluläre Hormonjodkonzentration und -wirkung, die somit wiederum von der Konzentration bestimmter hormonjodbindender Serumproteine abhängig ist<sup>13</sup>.

Es war daher von Interesse, die Lokalisation des Thyreoglobulins im typischen Serumpherogramm zu ermitteln, um so festzustellen, wieweit sich das — im Sonderfall auch im Plasma auftretende — Thyreoglobulin im Pherogramm von den das Hormonjod tragenden Eiweißfraktionen des Serums abgrenzen läßt.

Die Schilddrüse kann für Jodide gegenüber dem Serum einen Konzentrationsgradienten von 25:1 bis 500:1 aufrechterhalten (VANDERLAAN und VANDERLAAN<sup>5</sup>). Der Mechanismus ist bisher unbekannt. Zwei Theorien, durch experimentelle Untersuchungen gestützt, werden für die Jodidkonzentrierung der Schilddrüse diskutiert. WYNGAARDEN und Mitarbeiter<sup>6</sup> halten das Vorliegen eines spezifischen, jodidbindenden Proteins in der Schilddrüse für wahrscheinlich. Da jedoch nach TAUROG, CHAIKOFF und FELLER<sup>7</sup> das nach Propylthiouracilbehandlung konzentrierte Jodid durch Dialyse wieder aus der Schild-

drüse entfernt und durch Trichloressigsäure nicht gefällt werden kann — wie es WYNGAARDEN und Mitarbeiter<sup>6</sup> berichten — ist eine enzymatische Jodidkonzentrierung (Ionenpumpe) zu diskutieren (s. bei ROCHE und MICHEL<sup>8</sup>). Die bekannte Wirkung der

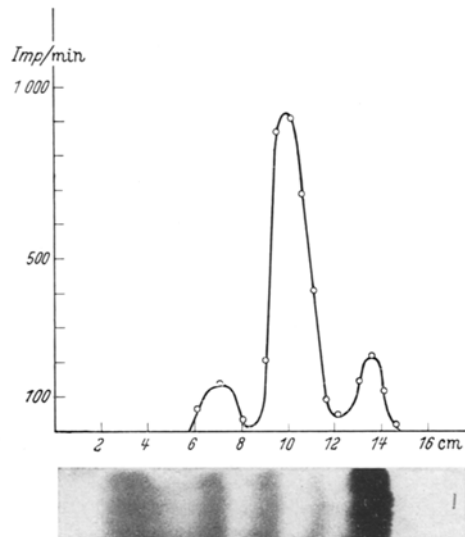


Abb. 1. Hormonjodtransport durch Serumweißkörper. 9,7%  $\beta$ -Globulin-Bereich, 78% Inter- $\alpha$ -Fraktion, 12,3% Albumin-Fraktion. (HORST, W. Aus Verh. der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechsellkrankheiten. 17. Tagg 1953, Stuttgart.)

Thiocyanate könnte als eine Hemmung dieser Enzyme aufgefaßt werden.

Für die Anreicherung von Radiomangan (Mn 52) (BORN, TIMOFÉEFF-RESSOWSKY und WOLF<sup>9</sup>) und Radiocobalt (Co 56, 57) (COMAR und DAVIS<sup>10</sup>) in der Schilddrüse gelten ähnliche Bedingungen. Auch hier wird ein spezifisches Protein als Wirkungsträger diskutiert.

Unsere Untersuchungen sollen ein Beitrag sein zur Lokalisation des Thyreoglobulins im Spektrum der Serumproteine; gleichzeitig sollen sie klären, ob die durch schonende Extraktion gewonnenen Proteine der Schilddrüse Jodidionen (J 131), Manganionen (Mn 52) und Cobaltionen (Co 56, 57) adsorbieren und gegebenenfalls in welchem quantitativen Verhältnis zur Adsorption durch die Serumproteine.

*Material.* Es wurden 9 durch subtotale Thyreoidektomie gewonnene Schilddrüsen des Menschen untersucht. Zum Teil erhielten die Patienten einige Tage vor der Untersuchung

\* Durchgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

radioaktives Jodid (J 131). Zur Kontrolle wurden 4 Kaninchenschilddrüsen mit entsprechendem Ergebnis untersucht.

**Methode.** a) Die *Aufarbeitung der Schilddrüsen* erfolgte in Anlehnung an CAVETT und SELJESKÖG<sup>11</sup> bei 2° C.

Das frisch entnommene, mit Kohlensäure gefrorene Organ wird mit dem doppelten Volumen physiologischer Kochsalzlösung (pH 7,6) versetzt und unter Zusatz von Quarzsand

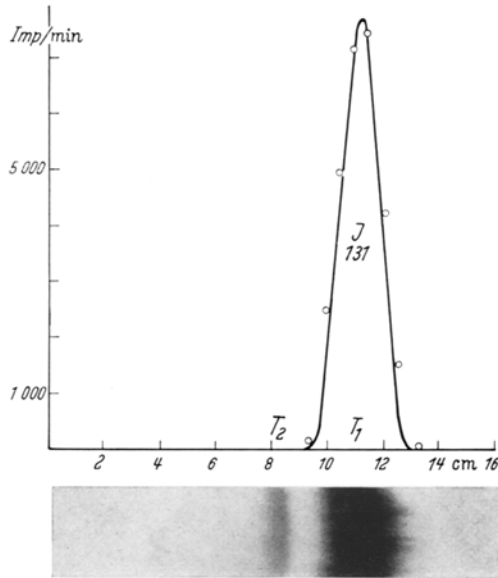


Abb. 2. Typisches Pherogramm eines Schilddrüsenextraktes mit den beiden Fraktionen  $T_1$  und  $T_2$ . Der Jodbestand der Schilddrüse wurde 2 Tage vor der Operation mit J 131 markiert. Das J 131 findet sich nur auf der  $T_1$ -Fraktion, die also das Thyreoglobulin enthält.

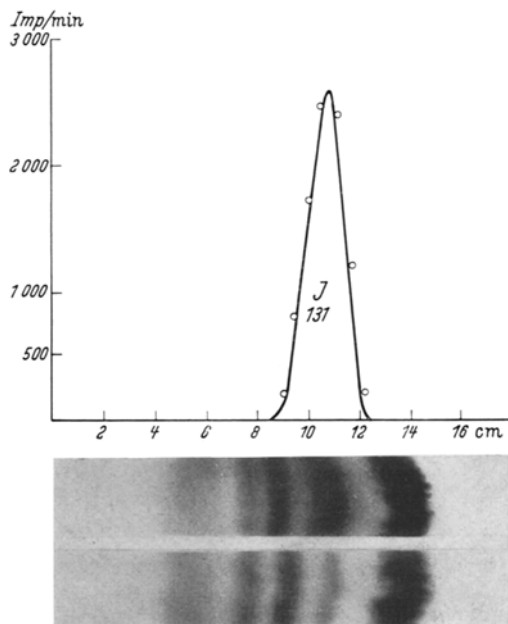


Abb. 3. Das Mischpherogramm des Extraktes aus Abb. 2 mit Humanserum zeigt die  $T_1$ -Fraktion mit ihrer Radioaktivität im Bereich des Globulins von  $\alpha_1$ - einschließlich bis zum  $\alpha_2$ -Globulin. I. Mischpherogramm aus Extrakt und Serum. II. Entsprechendes Serumpherogramm.

15 min lang im Mörser zerrieben; der Mörser steht in einem Kältegemisch, um Reibungswärme abzuleiten. Der flüssige Extrakt wird abgegossen und 30 min bei 15000 Umdrehungen je Minute zentrifugiert. Der unter einem Fetthäutchen verdeckte klargelbliche Überstand wird abpipettiert und unverdünnt zur Elektrophorese verwendet. Sein Eiweißgehalt beträgt nach Analysen mit der photometrischen Biuret-methode 0,5—5%.

b) Die Papierelektrophorese wurde in Anlehnung an GRASSMANN, HANNIG und KNEDEL<sup>12</sup> ausgeführt. In Anwendung kamen ein Michaelispuffer von pH 8,6 und ein Phosphatpuffer von pH 7,6. Die Elektrophorese wurde sowohl kurz-

zeitig (2 Std) als auch langfristig (24 Std) bei typischen Bedingungen (10 V/cm) durchgeführt.

c) Die Messung der Radioaktivität erfolgte bei Ausblendung auf Spaltbreiten von 2—10 mm parallel zu den Eiweißfronten mit einem Geiger-Müller-Zählrohr von 1,8 mg/cm<sup>2</sup> Flächenbelegung. Zusätzlich wurden Autoradiographien hergestellt.

Zur Lokalisation der organischen Jodverbindungen im Pherogramm des Schilddrüsenextraktes erhielten 5 Patienten einige Tage vor der Schilddrüsenentfernung 100  $\mu$ c J 131. Das J 131 liegt dann zum Zeitpunkt der Untersuchung ausschließlich in organischer, an das Thyreoglobulin gebundener Form vor.

Die Adsorptionsversuche wurden wie folgt durchgeführt: Dem Schilddrüsenextrakt wurden Natrium-

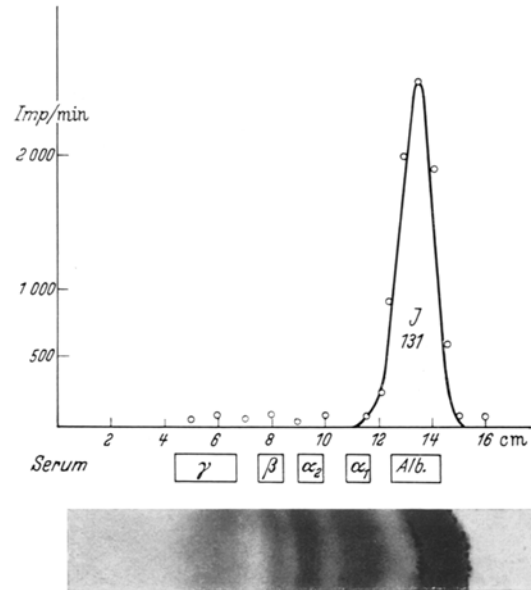


Abb. 4. Mischpherogramm von Schilddrüsenextrakt mit Humanserum und in vitro-Zusatz von Jodid als J 131. Der Schilddrüsenextrakt bindet praktisch kein Jodid, dagegen adsorbieren die Serumalbumine sehr gut nachweisbare Mengen von Radiojodid.

jodid, Manganchlorid bzw. Cobaltchlorid in praktisch trägerfreier Form sowie mit Trägerzusatz (bis 500  $\gamma$ -%) zugesetzt. Nach 10—500 min wurde der Extrakt papierelektrophoretisch getrennt und die Radioaktivität gemessen.

#### Ergebnisse.

1. Im *Schilddrüsenextrakt* lassen sich zwei Bande, beide im Globulinbereich, mit  $T_1$  und  $T_2$  bezeichnet, nachweisen (Abb. 3).

2. Im *Mischpherogramm* mit Humanserum erstreckt sich  $T_1$  von einschließlich  $\alpha_1$  bis zu den  $\alpha_2$ -Globulinen;  $T_2$  entspricht in seiner Wanderungsgeschwindigkeit den  $\beta$ -Globulinen (Abb. 3). Die Konzentration von  $T_2$  ist beim Kaninchen offenbar geringer als beim Menschen.

3. 24 Std und später nach *in vivo-Gabe von Radiojod* läßt sich dieses nur auf den  $T_1$ -Globulinen nachweisen. Diese Bande entspricht also dem jodhaltigen Thyreoglobulin der Schilddrüse (Abb. 2). Während die schmale Bande der hormonjodbindenden Inter- $\alpha$ -Fraktion nur den Raum zwischen beiden  $\alpha$ -Proteinen einnimmt, ist die Bande des jodhaltigen Thyreoglobulins von einschließlich  $\alpha_1$ - bis zu den  $\alpha_2$ -Globulinen ausgedehnt.

Die Inter- $\alpha$ -Fraktion ist extrathyreoidaler Herkunft, denn sie wurde auch bei athyreotischen Kindern

nachgewiesen. Setzt man dem Serum dieser Kinder biosynthetisch gewonnenes Hormonjod zu (Butanol-extrakt, enthaltend Radiothyroxin und Radiotrijodthyronin), so findet man es in typischer Verteilung in der schmalen Bande der Inter- $\alpha$ -Fraktion und auf den Albuminen; dabei steht freies, also nicht protein-gebundenes Hormonjod unter anderem mit der Inter- $\alpha$ -Fraktion im Gleichgewicht (HORST<sup>13</sup>). Tritt aber mit J 131 markiertes Thyreoglobulin im Serum auf — das ist nach hohen therapeutischen Dosen von J 131, offenbar als Folge der intensiven Strahlung, eindeutig bewiesen worden (ROBBINS, RALL und Mitarbeiter<sup>14</sup>) —

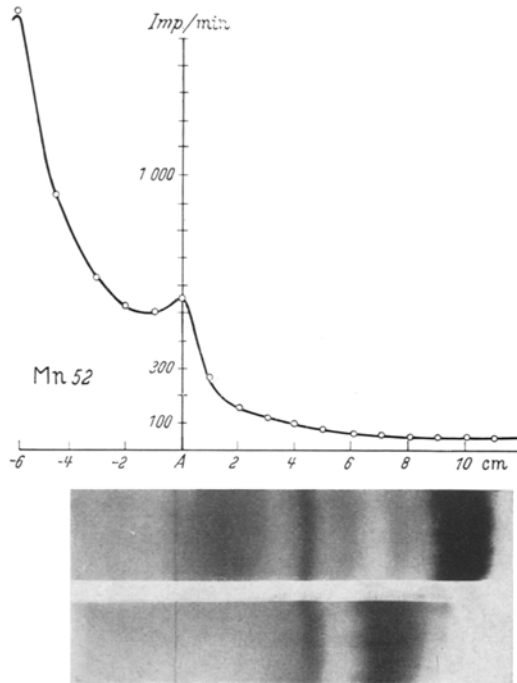


Abb. 5. Schilddrüsenextrakt und Humanserum nach in vitro-Zusatz von Radiomanganchlorid (Mn 52). Das radioaktive Mangan läßt sich fast nur kathodenwärts von der Aufsatzstelle nachweisen, während weder Serum noch Schilddrüsenextrakt nennenswerte Radiomanganmengen adsorbiert haben.

so ist die Radioaktivität demnach auf einer breiten Bande von einschließlich  $\alpha_1$  bis  $\alpha_2$  zu erwarten.

4. Bei *in vitro*-Zusatz von Jodid findet sich keine nennenswerte Bindung an die beiden Globulinfraktionen ( $T_1$  und  $T_2$ ) des Schilddrüsenextraktes; bei gleichzeitiger Anwesenheit von Albumin dagegen eine eindeutige und bekannte Bindung von J 131 an die Albuminfraktion (etwa 0,5—1% bei trägerarmem Radiojodid (Abb. 4).

5. Nach *in vitro*-Zusatz von Radiomanganionen wandern diese bei Elektrophorese kathodenwärts. Über den anodenwärts wandernden Eiweißkörpern, insbesondere der  $T_1$ - und  $T_2$ -Fraktion des Schilddrüsenextraktes, läßt sich praktisch keine Manganradioaktivität nachweisen. Entsprechende Untersuchungen am Menschenserum hatten das gleiche Ergebnis (Abb. 5).

6. Nach *in vitro*-Zusatz von Cobaltionen findet sich eine sehr geringe Aktivität über der  $T_2$ -Globulinbande des Schilddrüsenextraktes (Abb. 6). Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Albuminen werden die Cobaltionen aber praktisch ausschließlich von diesen gebunden; die  $T_2$ -Globuline zeigen dann keinerlei Aktivität, wie das Mischpherogramm der Abb. 7 demonstriert. Bei entsprechenden *in vitro*-Untersuchungen an Menschen-

serum fand sich das Cobalt ebenfalls weitgehend an das Albumin gebunden.

*Zusammenfassung.* 1. Unter den typischen Bedingungen der Elektrophorese bei  $p_H$  7,6 sind die Proteine der Schilddrüse offenbar nicht in der Lage, Jodid-, Mangan- oder Cobaltionen zu binden, oder es besteht eine unter diesen Bedingungen reversible

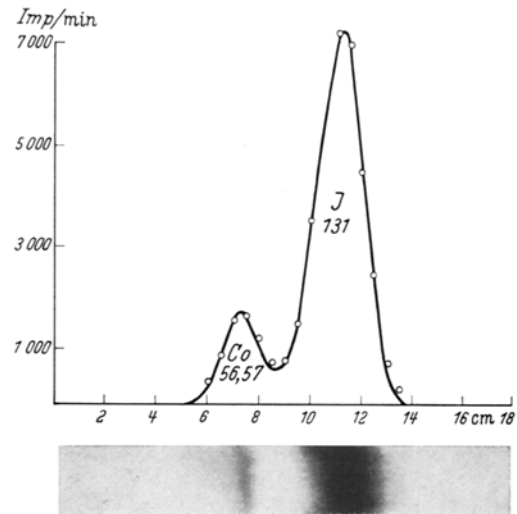


Abb. 6. Schilddrüsenextrakt, dessen  $T_1$ -Fraktion durch in vivo gegebenes J 131 markiert ist, nach Zusatz von Radiocobaltchlorid (Co 56, 57). Eine geringe Menge des Radiocobalts wird von der  $T_2$ -Fraktion adsorbiert.

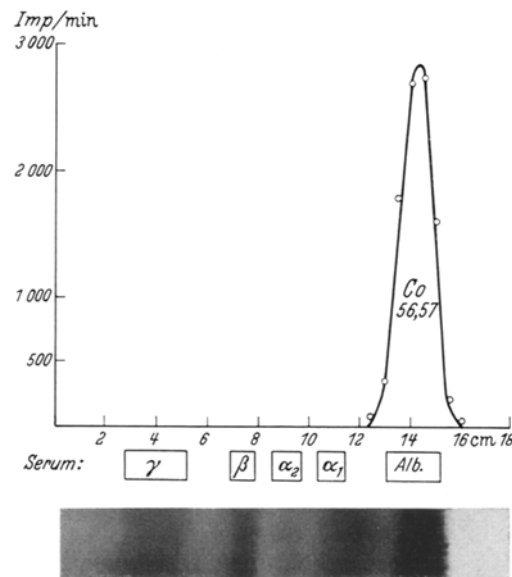


Abb. 7. Mischpherogramm von Humanserum und Schilddrüsenextrakt nach in vivo-Zusatz von Radiocobaltchlorid. Die  $T_2$ -Fraktion des Schilddrüsenextraktes ist bei Anwesenheit von Serumalbumin nicht in der Lage, Cobaltionen zu adsorbieren. Das Serumalbumin adsorbiert dagegen die Cobaltionen unter diesen Bedingungen fast quantitativ.

Bindung. Dagegen zeigt Serumalbumin unter entsprechenden Bedingungen Bindungsfähigkeit für Cobaltionen und Jodidionen.

2. Unsere Ergebnisse stützen nicht die Auffassung, daß die Anreicherung von Jodid-, Mangan- und Cobaltionen in der Schilddrüse durch Adsorption an spezifische Proteine erfolgt. Wahrscheinlich handelt es sich bei der Anreicherung um eine aktive (enzymatische) Zelleistung, die mit Energieverbrauch einhergeht (MEANS<sup>15</sup>).

3. Das Hormonjod des Serums zirkuliert zum großen Teil in Bindung an die sog. Inter- $\alpha$ -Fraktion, die extrathyreoidaler Herkunft ist. Die Bande des

Thyreoglobulins ist wesentlich breiter als die der Inter- $\alpha$ -Fraktion und erstreckt sich bei entsprechenden Elektrophoresebedingungen von den  $\alpha_1$ -Globulinen einschließlich bis zu den  $\alpha_2$ -Globulinen.

4. Demnach muß sich der unter hohen J 131-Dosen als Bestrahlungsfolge manifestierende Thyreoglobulinübertritt ins Serum durch das Auftreten von Radioaktivität, besonders auch im Bereich der  $\alpha_1$ -Globuline, charakterisieren lassen.

Herrn Dr. rer. nat. PASSOW danken wir für die Diskussion der Arbeit und Frl. I. BROSE für die technische Assistenz.

**Literatur.** <sup>1</sup> HORST, W., u. H. RÖSLER: Klin. Wschr. 1953, 13—17. — <sup>2</sup> HORST, W., u. G.-A. v. HARNACK: Dtsch. med. Wschr. 1953, 1259—1262, 1292—1295. — <sup>3</sup> GROSS, J., and R. PITT-RIVERS: Brit. Med. Bull. 8, 136—141 (1952). —

<sup>4</sup> GROSS, J., C. P. LEBLOND, A. E. FRANKLIN and J. H. QUASTEL: Science (Lancaster, Pa.) 1951, 111, 605. — <sup>5</sup> VANDERBLAAN, W. P., and J. E. VANDERLAAN: Endocrinology 4, 403—416 (1947). — <sup>6</sup> WYNGAARDEN, J. B., J. B. STANBURY and CH. H. DU TOIT: J. Clin. Endocrin. 11, 1259—1272 (1951). — <sup>7</sup> TAUROG, A., I. L. CHAIKOFF and D. D. FELLER: J. of Biol. Chem. 171, 189 (1947). — <sup>8</sup> ROCHE, J., and R. MICHEL: Adv. Protein Chem. 6, 253—297 (1951). — <sup>9</sup> BORN, H. J., H. A. TIMOFÉEFF-RESSOWSKY u. P. M. WOLF: Naturwiss. 1943, 246. — <sup>10</sup> COMAR, C. L., and G. K. DAVIS: J. of Biol. Chem. 170, 379 (1947). — <sup>11</sup> CAVETT, J. W., and S. R. SELJESKÖG: J. of Biol. Chem. 100, XXIV (1951). — <sup>12</sup> GRASSMANN, W., K. HANNIG u. KNEDEL: Dtsch. med. Wschr. 1951, 333. — <sup>13</sup> HORST, W.: Verh. der Dtsch. Ges. für Verdauungs- u. Stoffwechselkrk. 17. Tagg, Stuttgart, Sept. 1953 (im Druck). — <sup>14</sup> ROBBINS, J., J. E. RALL, D. W. BECKER and R. W. RAWSON: J. Clin. Endocrin. 12, 856 (1952). — <sup>15</sup> MEANS, J. H.: Bull. Hopkins Hosp. 89, 90—120 (1951). — <sup>16</sup> HORST, W.: Strahlentherapie (im Druck).

## ABAKTERIELLER PROLIFERATIVER DESQUAMATIVKATARRH DER LUNGE BEI MENSCHLICHEN FETEN.

Von

HEINZ FLAMM.

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Wien (Vorstand: Prof. Dr. R. BIELING) und der pathologisch-histologischen Abteilung des Institutes (Prof. Dr. C. CORONINI).

Bei einer bakteriologisch-histologischen Reihenuntersuchung menschlicher Früchte aus der 1. Hälfte der Schwangerschaft fielen 4 von 44 Feten durch ihre übereinstimmenden histologischen Lungenalterationen auf. Alle vier, darunter ein Zwillingsspaar, wurden im 5. Graviditätsmonat abortiert.

Hämatoxylin angefärbte körnige Gebilde verschiedener Größe (Abb. 2).

Außer den Proliferationen kommt es auch zu einer starken Desquamation in Alveolen und Bronchien, so daß manche Lungenbläschen von dichten Zellpröpfen ganz angefüllt sind (Abb. 3). Diese abgestoßenen Zellen haben ein kräftig eosin gefärbtes körnig-scholliges Protoplasma und oft hyperchrome Kerne. Die Zellen zerfallen dann zu einem körnigen, mit den Kern-

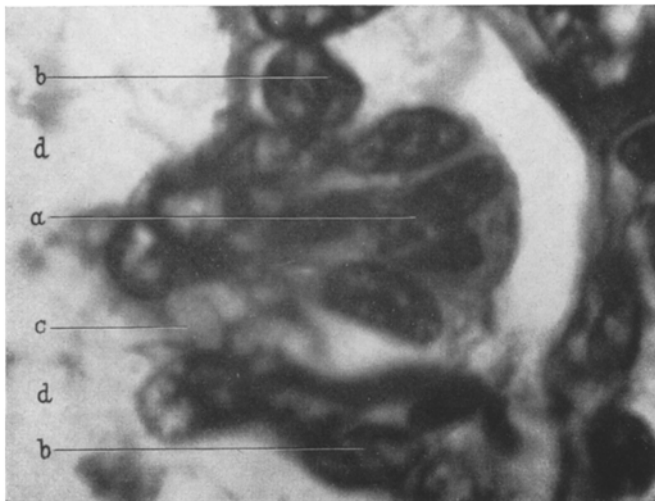


Abb. 1. Alveoläre syncytiale Proliferation mit beginnendem Verlust des deckenden Alveolar-epithels. a Proliferierendes Syncytium, von der Basalmembran abgehoben. b Alveolar-epithel. c Dehiscenz im Alveolarepithel. d Alveolarlichtung. Vergr. 2000:1.

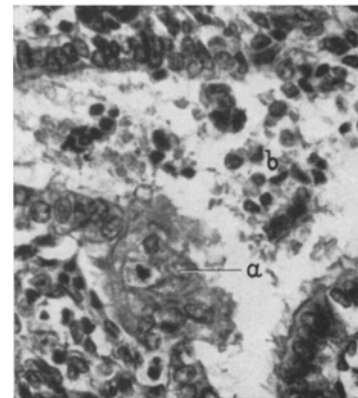


Abb. 2. Proliferationsknospe, die in das Lumen des Bronchus bereits hineinragt. a Proliferationsknospe. b Desquamierte Zellen im Bronchiallumen. Vergr. 450:1.

Dem hellen kubischen Epithel der Alveolen liegen parenchymwärts dunkle syncytiale Zellhaufen an, die manchmal von der Basalmembran abgehoben sind (Abb. 1). Im stark eosin gefärbten Protoplasma dieser Zellen liegen chromatinreiche, teils kugelige, teils ovoide Kerne. Ähnliche Proliferationen mit zumeist ovoideen Kernen finden sich in den Bronchien. Die Proliferationen erreichen die Lichtung der Alveolen bzw. Bronchien durch Auseinanderdrängen der deckenden Epithellage und durch Abstoßung derselben. Dann zeigen sich bereits deutliche Zellgrenzen und eine Verbreiterung des zuerst schmalen Protoplasmasaumes. In den proliferierten Zellen sieht man stellenweise mit

resten untermengten Detritus. Spärlich liegen in den Alveolen große, wie leer aussehende Zellen mit einem pyknotischen Kernrest.

Das Interstitium der Lunge ist mehr oder weniger diffus von Plasm- und Lymphocyten infiltriert (Abb. 4).

Bemerkenswert ist, daß in einer Placenta subchorial eine Thrombarteriitis und eine Rundzelleninfiltration zu finden sind. Zwischen den Rundzellen große Bindegewebszellen mit Fettröpfchen und cytoplasmatischen blaufärbten Einschlüssen.

Die Feten wurden nach der anderenorts angegebenen sterilen Sektionstechnik obduziert. Dabei er-