

Sonderdruck aus: „Folia haematologica, Neue Folge“, 9, 3/4, 1964
Herausgegeben von Prof. Dr. H. Schulten und Prof. Dr. L. Heilmeyer
J. F. Lehmanns Verlag München

Aus der Nuklearmedizinischen Abteilung (Leiter: Priv.-Doz. Dr. K. OEFF) und der
Hämatologischen Abteilung (Leiter: Priv.-Doz. Dr. H. GERHARTZ) der I. Medizinischen
Klinik der Freien Universität Berlin (Direktor: Prof. Dr. H. Frhr. v. KRESS)

Die Verteilung hitzegeschädigter und ^{51}Cr -markierter Erythrozyten bei der Ratte

Von K. E. HAMPEL

Aus der Nuklearmedizinischen Abteilung (Leiter: Priv.-Doz. Dr. K. OEFF) und der Hämatologischen Abteilung (Leiter: Priv.-Doz. Dr. H. GERHARTZ) der I. Medizinischen Klinik der Freien Universität Berlin (Direktor: Prof. Dr. H. Frhr. v. KRESS)

Die Verteilung hitzgeschädigter und ^{51}Cr -markierter Erythrozyten bei der Ratte

Von K. E. HAMPEL

(Mit 2 Abbildungen)

Die Aktivitätsanreicherung in der Milz nach Injektion von thermisch u. a. geschädigten markierten Erythrozyten ist in den letzten Jahren für szintigraphische Darstellungen benutzt worden [5—10, 13, 15, 18—20]. Andererseits sind durch ^{59}Fe - und ^{51}Cr -Markierung normaler Erythrozyten neue Einblicke in die Verhältnisse des Erythrozytenabbaus unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen tierexperimentell und klinisch gewonnen worden [1—2, 4—11, 13, 15, 17—20].

Methodik

Durch die Kombination von Hitzeschädigung und Markierung von Erythrozyten mit der direkten Ermittlung der Organverteilung in Abhängigkeit von Zeit und Dosis bzw. Schweregrad der Hämolyse war es möglich, die Verhältnisse an einem Modell einer akuten Hämolyse bei der Ratte zu studieren.

Für die Untersuchungen wurden 60 Sprague-Dawley-Ratten von 240—320 g verwendet. Die Bearbeitung des mittels Herzpunktion gewonnenen, heparinisierten Spenderblutes erfolgte in silikonierten Glassachen. Die Markierung [16] erfolgte mit $20 \mu\text{C Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ (spez. Aktivität ca. 22,9 mC/mg Cr) pro ml Vollblut 30 Minuten bei Zimmertemperatur und unter schließlichem Zusatz von 5 mg Ascorbinsäure/ml. Nach 15 Minuten wurde bei 2000 UpM 10 Minuten zentrifugiert, das Plasma abgehoben und physiologische Kochsalzlösung bis zur Verdoppelung des ursprünglichen Volumens zugegeben, anschließend abermals zentrifugiert, der Überstand abgehoben und mit frischer Kochsalzlösung auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt. Danach wurde die Erythrozytensuspension im Thermostaten 8 Minuten einer Tempe-

ratur von 50° C ausgesetzt und nach sorgfältiger Durchmischung und Entnahme des Standards den Empfängerratten durch die Schwanzvene injiziert. Die Restaktivität wurde bei der Dosismittlung berücksichtigt. Zu verschiedenen Zeiten nach der Injektion wurde unter Athernarkose der Thorax eröffnet, die rechte Herzkammer punktiert und nach Heparininjektion und maximaler Blutaspiration die kardiale Perfusion mit 150 ml Makrodex vorgenommen. Zunächst wurden dabei 50 ml in die rechte, dann 100 ml in die linke Kammer bei eröffneter Vena cava caudalis injiziert.

Die Gesamtmenge und Aktivität der Durchströmungslüssigkeit wurde bestimmt. Die Messung der Organaktivität erfolgte nach Homogenisierung in konzentrierter Kalilauge im Bohrloch-Szintillationszähler. Sämtliche ermittelten Werte wurden auf % der applizierten Dosis umgerechnet. Das Blutvolumen wurde rechnerisch ermittelt [12].

Ergebnisse

Bei der Versuchsanordnung traten nach Hitzeschädigung keine der von HAM und Mitarbeiter [3] sowie von SCHUBOTHE [14] beobachteten größeren morphologischen Erythrozytenveränderungen sowohl am Ausstrichpräparat als auch bei Phasenkontrastbeobachtung der Suspension auf. Im Ausstrichpräparat waren Erythrozytenschatten häufig. Die nach Hitzeschädigung erneut im Überstand erscheinende Aktivität lag unter 5 %.

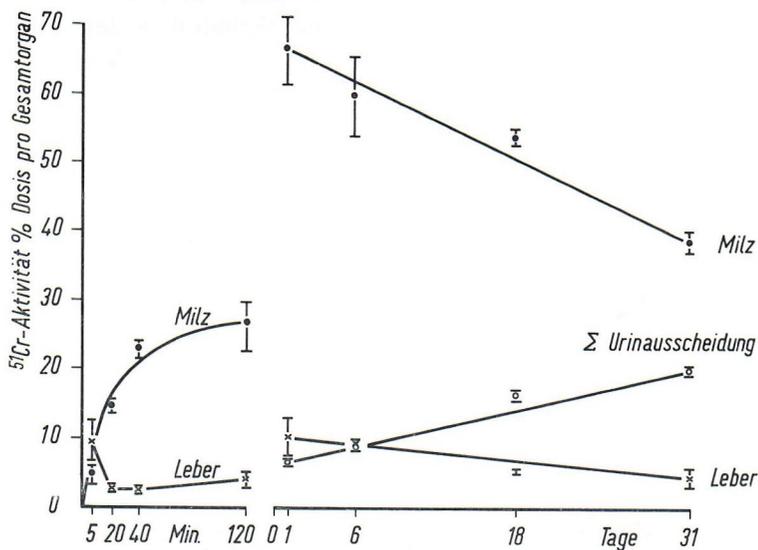


Abb. 1: ⁵¹Cr-Aktivität von Milz, Leber und Urin der Ratte nach Transfusion hitzgeschädigter Erythrozyten.

Die Verteilung der ^{51}Cr -Aktivität in Prozent der applizierten Dosis in zeitlicher Abhängigkeit ist der ersten Abbildung zu entnehmen. Die transfundierte Suspension thermisch geschädigter Erythrozyten entsprach etwa 5% des Blutvolumens der Empfängerratten. Die Abbildung läßt einen raschen exponentiellen Aktivitätsanstieg über der Milz in den ersten Stunden erkennen, wobei das Maximum etwa nach 24 Stunden erreicht wird. Der Aktivitätsabfall hingegen erfolgte annähernd linear mit einer Halbwertszeit von ca. 34 Tagen. Die Leber zeigte einen ebenso allmählichen Anstieg wie Abfall mit signifikanter Überschreitung der Milzaktivität bei den Tieren, die 5 Minuten nach der Injektion getötet worden waren.

Zeit nach Transfusion hitzebeschädigter Erythrozyten	Niere	Herz	Lunge	1,0 g Muskel
5 Min.	0,19	0,07	0,03	0,02
20 "	0,14	0,05	0,5	0,02
40 "	0,09	0,14	0,2	0,02
120 "	0,03	0,04	0,2	0,01
1 Tag	0,4	0,02	0,2	0,02
6 Tage	1,0	0,02	0,1	< 0,01
18 "	2,0	< 0,01	0,01	< 0,01
31 "	2,9	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Tab. 1: ^{51}Cr -Aktivität in %-Dosis pro Gesamtorgan der Ratte.

Von den übrigen untersuchten Organen (Nieren, Herz, Lungen, Muskulatur) ließ, wie die Tabelle ausweist, lediglich die Niere einen deutlichen, zeitabhängigen Aktivitätsanstieg bis auf im Mittel 2,9% der Gesamtdosis nach 31 Tagen erkennen.

Die histologische Untersuchung der Nieren von Tieren, die nach 120 Minuten, 1, 6, 18 und 31 Tagen getötet wurden, ergab keinen morphologischen Hinweis auf das Vorliegen einer Nierenschädigung bzw. für Chromatnephritis.

Eine Dosisabhängigkeit der Aktivitätsverteilung in den Organen (Abb. 2) bei Transfusion hitzebeschädigter Erythrozyten war nicht erkennbar, solange 0,5 bzw. 5% des Blutvolumens den Empfängerratten transfundiert wurden. Bei Steigerung der Dosis auf 25% des Blutvolumens (5 ml Erythrozytensuspension) änderten sich hingegen die Verhältnisse. Auffallend war der konstante Leberanteil der applizierten

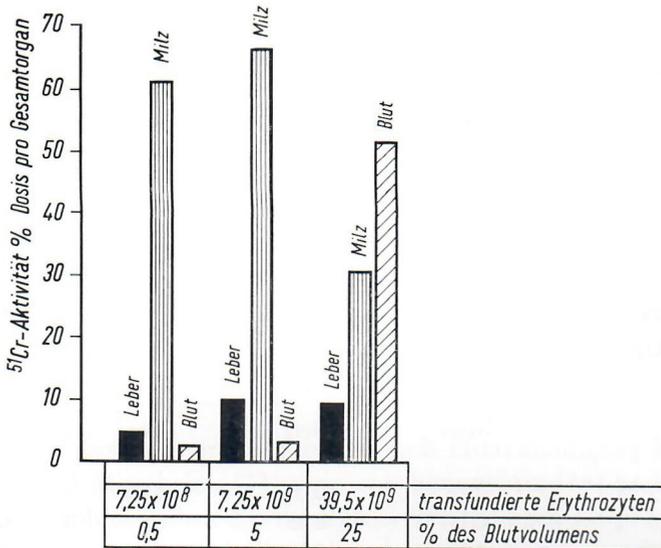


Abb. 2: Dosisabhängigkeit der ^{51}Cr -Verteilung bei der Ratte nach Transfusion hitze-geschädigter Erythrozyten (Tötung nach 24 Std.).

Gesamtdosis, während der Milzanteil deutlich niedriger, die Blutaktivität deutlich höher erschienen.

Dies dürfte dafür sprechen, daß bei unserem Modell einer akuten Hämolyse die Milz für hitze-geschädigte Erythrozyten eine begrenzte Aufnahmefähigkeit aufweist. Bei Überschreitung eines dosisabhängigen Milzlimits, welches bei akuter Hämolyse zwischen 5 und 25% des Blutvolumens liegen muß, ist die Leber offenbar nicht in der Lage, über ihren relativ konstanten Anteil an der Erythrozytenaufnahme hinaus vikariierend für die blockierte Milz einzuspringen.

Wenn auch die Annahme berechtigt erscheint, daß im akuten Hämolysestadium die Aktivitätsverteilung in den Organen etwa der tatsächlich aufgenommenen Erythrozytenmenge entspricht [1, 17], so gilt dies für den weiteren Erythrozytenabbau offenbar nur mit Einschränkung, wie das Beispiel der renalen Aktivitätsanreicherung vermuten läßt.

Literatur

1. EHRENSTEIN, G., und D. LOCKNER, Physiologischer Erythrozytenabbau. *Acta Haemat.* **22** (1959) 129.
2. GIBLETT, E. R., A. G. MOTULSKY, F. CASSERD, B. HOUGHTON, and C. A. FINCH, Studies on the pathogenesis of splenic anemia. *Blood* **11** (1956) 1118.
3. HAM, T. H., S. C. SHEN, E. M. FLEMING, and W. B. CASTLE, Studies on destruction of red blood cells. IV. Thermal injury: Action of heat in causing increased spheroidicity, osmotic and mechanical fragilities and hemolysis of erythrocytes, observations on the mechanisms of destruction of such erythrocytes in dogs and in a patient with a fatal thermal burn. *Blood* **3** (1948) 373.
4. —, R. WEISMAN Jr., C. F. HINZ, Mechanisms of destruction of red cells in certain hemolytic conditions. *Arch. Int. Med.* **98** (Druckfehler!) (1956) 574.
5. JANDL, J. H., M. S. GREENBERG, R. H. YONEMOTO, and W. B. CASTLE, Clinical determination of the sites of red cell sequestration in hemolytical anemias. *J. Clin. Invest.* **35** (1956) 842.
6. —, A. R. JONES, and W. B. CASTLE, The destruction of red cells by antibodies in man. I. Observations on the sequestration and lysis of red cells altered by immune mechanisms. *J. Clin. Invest.* **36** (1957) 1428.
7. JOHNSON, P. M., J. C. HERION, and S. L. MOORING, Scintillation scanning of normal human spleen utilizing sensitized radioactive erythrocytes. *Radiol.* **74** (1960) 99.
8. — — —, Technical considerations in scintillation scanning of human spleen. *Radiol.* **76** (1961) 438.
9. JONES, N. C. H., and L. SZUR, Determination of the sites of red cell destruction using ^{51}Cr -labelled cells. *Brit. J. Haemat.* **3** (1957) 320.
10. —, P. L. MOLLISON, and N. VEALL, Removal of incompatible red cells by the spleen. *Brit. J. Haemat.* **3** (1957) 124.
11. MIESCHER, P., Experimentelle Studien zum Mechanismus der Erythroklasie im normalen Organismus. *Klin. Wschr.* **34** (1956) 129.
12. OEFF, K., und A. König, Das Blutvolumen einiger Rattenorgane und ihre Restblutmenge nach Entbluten bzw. Durchspülung. Bestimmung mit P^{32} -markierten Erythrozyten. *Arch. exp. Path. Pharmacol.* **226** (1955) 98.
13. SCHLOESSER, L. L., D. R. KORST, D. V. CLATANOFF, and R. F. SCHILLING, Radioactivity over the spleen and liver following the transfusion of chromium 51 -labelled erythrocytes in hemolytic anemia. *J. Clin. Invest.* **36** (1957) 1470.
14. SCHUBOTHE, H., Persönliche Mitteilung.
15. SPINELLI-RESSI, F., Lo scintillogramma della milza mediante globuli rossi marcati con ^{51}Cr . *Minerva nucleare* **6** (1962) 266.
16. THOMPSON, J. S., C. W. GURNEY, A. HANEL, E. FORD, and D. HOFSTRA, Survival of transfused blood in rats. *Am. J. Physiol.* **200** (1961) 327.
17. TIZIANELLO, A., I. PANNACCIULLI, E. SALVIDIO and F. AJMAR, A quantitative evaluation of the splenic and hepatic share in normal hemocatheresis. *Acta med. Scand.* **169** (1961) 303.
18. WEINSTEIN, F. M., and E. BEUTLER, The use of Cr^{51} and Fe^{59} in a combined procedure to study erythrocyte production and destruction in normal human

- subjects and in patients with hemolytic or aplastic anemia. *J. Lab. Clin. Med.* 45 (1955) 616.
19. WEISMAN, R., T. H. HURLEY, J. W. HARRIS, and T. H. HAM, Studies of the function of the spleen in the hemolysis of red cells in hereditary spherocytosis and sickle cell disorders. *J. Lab. Clin. Med.* 42 (1953) 965.
 20. YOUNG, L. E., R. F. PLATZER, D. M. ERVIN, and M. J. IZZO, Hereditary spherocytosis: II. Observations on the role of the spleen. *Blood* 6 (1951) 1099.

Anschr. d. Verf.: Dr. K. E. HAMPEL, 1 Berlin-Charlottenburg, I. Med. Klinik der Freien Universität.