

Sonderdruck

140/6

1970

Strahlentherapie

**Archiv für klinische
und experimentelle Radiologie**

Esteraseaktivität und Proteingehalt von Plasma und Erythrozyten ganzkörperbestrahlter Ratten

Günter Valet, Gerhard Ruhenstroth-Bauer

Aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie, München (Direktor: Prof. Dr. A. *Butenandt*)



URBAN & SCHWARZENBERG
MÜNCHEN - BERLIN - WIEN

Alle Rechte, auch die des Nachdrucks, der photomechanischen Wiedergabe und der Übersetzung, vorbehalten

© Urban & Schwarzenberg, München-Berlin-Wien 1970

Esteraseaktivität und Proteingehalt von Plasma und Erythrozyten ganzkörperbestrahlter Ratten

Günter Valet, Gerhard Ruhenstroth-Bauer

Aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie, München (Direktor: Prof. Dr. A. Butenandt)

Wie wir an der strahlensensiblen Milz und der strahlenresistenten Leber von Ratten zeigen konnten [24, 25], sind Esteraseaktivitäts- und Proteinbefunde unter Berücksichtigung der morphologischen Veränderungen auf die Einzelzellen übertragbar. Es sollte jetzt geklärt werden, ob die durch den Gewebsabbau frei werdenden Proteine und Enzyme einen Einfluß auf die Plasma- und Erythrozytenesteraseaktivität haben.

Methodik

Versuchstiere und Bestrahlungsbedingungen waren die gleichen wie bei den früheren Versuchen [24, 25]. Je Versuch wurden zehn Ratten verwendet. Es wurde mit 500 R röntgenganzkörperbestrahlt. Die Tiere wurden in Äthernarkose durch Einstich in die Bauchorta bis zum Atemstillstand entblutet. Das Blut wurde durch vorheriges Spülen der Spritze mit Vetren (Promonta, Hamburg) ungerinnbar gemacht. 0,3 ml Blut wurden je Ratte zur Bestimmung von Hämatokrit und Erythrozytenzahl/mm³ abgezweigt. Der Rest wurde gepoolt und im Eisbad aufbewahrt. Der Hämatokrit wurde durch fünf Minuten dauernde Zentrifugation der Blute in Yankee-Mikrohämatokritröhrchen (Clay-Adams, New York) mit einer Hawksley-Hämatokritzentrifuge bei 12 000 g bestimmt. Die Erythrozytenzählung erfolgte mit einem Coulter-A-Partikelzählgerät in einer Verdünnung 1 : 50 000 mit einer 100- μ -Kapillare bei Verstärkung 8 und einer Schwelle 6 in 0,9% NaCl-Lösung. Zur Gewinnung der Erythrozyten wurden 10 ml Blut 10 min bei 3200 g zentrifugiert, das Plasma abgesaugt und die Erythrozyten zweimal mit 0,9% NaCl-Lösung Überschuß gewaschen und zentrifugiert. 1 Teil gepackte Erythrozyten wurden mit 9 Teilen Aqua dest. hämolysiert. Die Packung wurde auf den Mikrohämatokritwert bezogen. Die Hämolysate und das verbliebene Blut wurden eine Stunde bei 165 000 g zentrifugiert. Proteinbestimmung und Esteraseaktivitätsmessung mit p-Nitrophenolacetat wurden, wie früher beschrieben, durchgeführt [24–26]. Das Antikoagulans Vetren hatte in den angewandten Konzentrationen keinen Einfluß auf die Esteraseaktivität des Plasmas. Die Aktivität ist im folgenden in internationalen Enzymeinheiten (U) angegeben, wobei 1 U dem Umsatz von 1 μ Mol Sub-

strat/min bei 30° C entspricht. In einem gesonderten Versuch wurde das Plasmavolumen von Ratten mit J¹³¹-markiertem Humanalbumin (Amersham IB 17 P) bestimmt. Durch eine vorhergehende Rattenpassage wurde der Gehalt des J¹³¹-Albumins an freiem Jod unter 1% herabgesetzt. Die Plasmavolumenbestimmung erfolgte durch Injektion von 0,1 ml dieses Plasmas mit einer Aktivität von etwa 0,4 μ C (0,1 ml Hamilton-Spritze) in die Schenkelvene der in Äthernarkose befindlichen Ratte. Nach einer Mischungszeit von zehn Minuten wurde das Blut aus der Bauchorta bis zum Atemstillstand entnommen. Nach Anfertigen eines Mikrohämatokrits wurde es zehn Minuten bei 3200 g zentrifugiert. Vom überstehenden Plasma wurden 0,1 ml auf ein Meßplättchen in 25 Punkten aufgetragen. Je Tier wurden zwei Proben hergestellt. Die Proben wurden bei 40 bis 60° C auf einer Heizplatte getrocknet und anschließend in einem Picker-Magnachanger 320 mit Spectroscaler III A und einem 2-Zoll-Gasdurchflußdetektor Nr. 610201 mit 2- π -Geometrie (Picker-Nuclear) gemessen. Als Zählgas wurde 99,5% Methan (Tega-Linde, München-Lohhof) verwendet. Die Zählbeute betrug zwischen 40 und 45%. Je Probe wurden mindestens 10 000 Impulse gezählt. Das Plasmavolumen wurde aus dem Verhältnis der Aktivität im Referenz zur Aktivität im untersuchten Plasma berechnet. Das Blutvolumen wurde aus dem Plasmavolumen nach folgender Vorschrift berechnet:

$$\text{Blutvolumen} = \frac{\text{Plasmavolumen} \times 100}{100 - \text{Hämatokritwert} (\%)}$$

Für den Hämatokrit wurde der um 12% verminderte Mikrohämatokrit, entsprechend der Korrektur für eingeschlossenes Plasma und Körperhämatokrit, verwendet [2, 8, 10, 11, 13, 15, 21]. Die statistische Auswertung der Versuche wurde wie früher durchgeführt [26]. In den Tabellen sind Mittelwert und Standardabweichungen der Mittelwerte angegeben. Signifikanz wurde für ein $2P < 0,05$ angenommen und ist im folgenden durch Kursivdruck angedeutet.

Besprechung

Zur Auswertung standen folgende Meßwerte zur Verfügung: 1. Blutvolumen (ml/Tier). 2. Hämatokrit (Vol.-%). 3. Plasmaproteinkon-

Tabelle 1. Ergebnisse.

T	Atemstillstand- blutvolumen		Hämatokrit		Erythrozyten- zahl/mm ³		Plasmaprotein- konzentration		Proteinkonzentra- tion der Ery- throzytenextrakte	
	n	(ml)	n	(%)	n	(×10 ⁶)	n	(mg/ml)	n	(mg/ml)
0	7	3,63 ± 0,20	55	38,8 ± 0,3	55	5,88 ± 0,07	18	66,3 ± 1,3	10	30,7 ± 0,6
1	6	3,24 ± 0,32	23	38,2 ± 0,3	23	5,64 ± 0,06	7	64,0 ± 2,7	4	32,0 ± 1,7
2	7	3,05 ± 0,26	20	39,3 ± 0,5	20	6,06 ± 0,10	7	65,1 ± 1,8	5	32,2 ± 1,1
3	5	2,92 ± 0,17	15	38,2 ± 0,5	15	5,58 ± 0,07	12	64,7 ± 1,4	4	30,2 ± 1,2
4	—	—	—	—	—	—	2	64,0 ± 2,0	—	—
6	6	3,03 ± 0,10	10	35,9 ± 0,5	15	5,37 ± 0,08	8	59,2 ± 2,3	4	32,2 ± 1,2
9	5	3,12 ± 0,11	10	26,5 ± 0,7	10	3,89 ± 0,10	9	60,6 ± 1,3	4	29,0 ± 0,6
18	5	3,33 ± 0,17	9	20,8 ± 0,7	9	2,99 ± 0,02	3	69,0 ± 3,5	6	31,0 ± 1,7

Tabelle 2. Vergleich J¹³¹-Blutvolumen mit Atemstillstandsblutvolumen.

T	n	Ausgangsgewicht (g)	Endgewicht (g)	J ¹³¹ -Blutvolumen		Atemstillstandsblutvolumen	
				(ml)	(%)	(ml)	(%)
0	3	125 ± 8	—	8,80 ± 0,07	100	3,63 ± 0,15	100
3	3	125 ± 8	124 ± 3	7,38 ± 0,47	84	2,87 ± 0,03	79

Tabelle 3. Plasmaesteraseaktivität. Meßtemperatur 30° C. Aktivität in 10⁻² U/mg Protein.

T	n	pH						
		5,0	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	8,5
0	9	0,56 ± 0,04	0,81 ± 0,05	0,87 ± 0,05	1,05 ± 0,04	1,21 ± 0,09	1,10 ± 0,10	1,18 ± 0,09
1	2	0,56 ± 0,05	0,82 ± 0,05	0,89 ± 0,06	1,01 ± 0,07	1,42 ± 0,07	1,23 ± 0,06	1,37 ± 0,05
2	2	0,61 ± 0,03	0,92 ± 0,06	0,87 ± 0,05	1,06 ± 0,03	1,34 ± 0,10	1,27 ± 0,09	1,38 ± 0,07
3	6	0,58 ± 0,02	0,95 ± 0,04	0,95 ± 0,03	1,14 ± 0,02	1,39 ± 0,04	1,35 ± 0,03	1,51 ± 0,04
4	2	0,74 ± 0,03	1,03 ± 0,08	0,93 ± 0,05	1,14 ± 0,04	1,29 ± 0,08	—	—
6	3	0,44 ± 0,11	0,87 ± 0,05	0,85 ± 0,05	1,01 ± 0,05	1,13 ± 0,14	1,08 ± 0,04	1,14 ± 0,18
9	4	0,40 ± 0,05	0,69 ± 0,05	0,66 ± 0,06	0,76 ± 0,07	0,79 ± 0,06	0,84 ± 0,09	0,87 ± 0,05
18	3	0,34 ± 0,05	0,56 ± 0,09	0,50 ± 0,07	0,73 ± 0,05	0,85 ± 0,03	0,84 ± 0,04	0,93 ± 0,03

Tabelle 4. Erythrozytenesteraseaktivität.

T	n	pH						
		5,0	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	8,5
0	4	0,17 ± 0,02	0,42 ± 0,04	0,84 ± 0,03	1,11 ± 0,04	1,30 ± 0,03	1,58 ± 0,05	1,50 ± 0,04
1	4	0,16 ± 0,03	0,37 ± 0,05	0,76 ± 0,05	1,00 ± 0,06	1,32 ± 0,02	1,51 ± 0,12	1,55 ± 0,08
2	4	0,16 ± 0,02	0,34 ± 0,02	0,61 ± 0,04	0,85 ± 0,03	1,04 ± 0,05	1,29 ± 0,03	1,37 ± 0,08
3	4	0,14 ± 0,02	0,37 ± 0,03	0,65 ± 0,08	0,93 ± 0,08	1,17 ± 0,09	1,34 ± 0,05	1,46 ± 0,07
6	4	0,13 ± 0,01	0,33 ± 0,02	0,48 ± 0,02	0,81 ± 0,05	1,02 ± 0,03	1,24 ± 0,10	1,26 ± 0,13
9	4	0,13 ± 0,01	0,37 ± 0,02	0,56 ± 0,01	0,78 ± 0,04	1,10 ± 0,01	1,28 ± 0,05	1,38 ± 0,05
18	4	0,14 ± 0,01	0,34 ± 0,02	0,61 ± 0,04	0,91 ± 0,03	0,99 ± 0,08	1,25 ± 0,09	1,22 ± 0,08

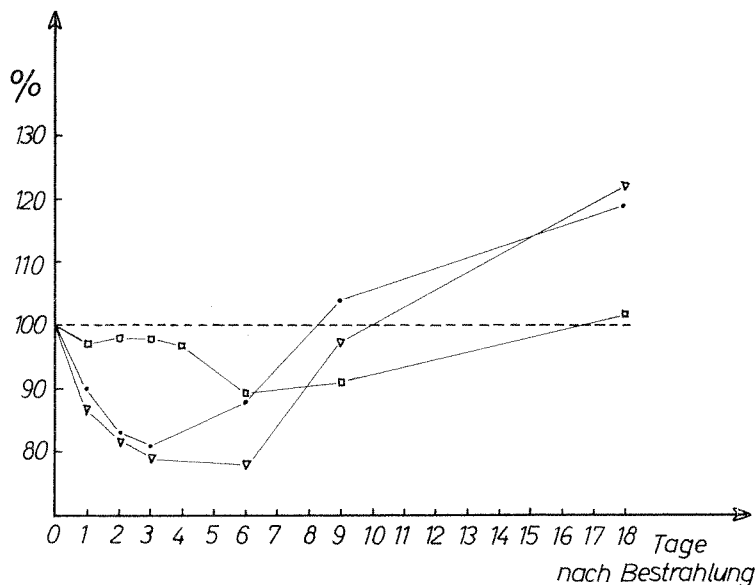


Abb. 1. Plasmavolumen (·-·), Gesamtplasma-protein (▽-▽) und Plasmaproteinkonzentration (□-□) von Ratten nach 500 R Ganzkörperbestrahlung.

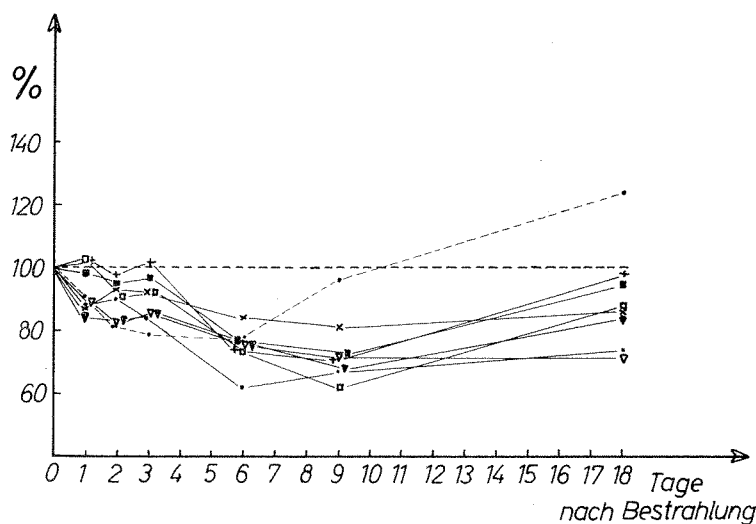


Abb. 2. Gesamtplasmaesterasegehalt pH 5.0 (·-·), 6.0 (×-×), 6.5 (▽-▽), 7.0 (▼-▼), 7.5 (□-□), 8.0 (■-■), 8.5 (+-+) und Gesamtplasma-protein (·-·) von Ratten nach 500 R Ganzkörperbestrahlung.

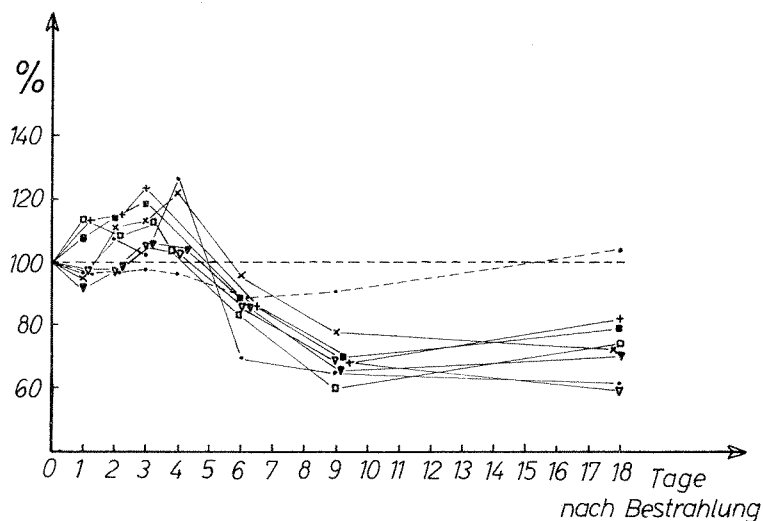


Abb. 3. Plasmaesterasekonzentration pH 5.0 (·-·), 6.0 (×-×), 6.5 (▽-▽), 7.0 (▼-▼), 7.5 (□-□), 8.0 (■-■), 8.5 (+-+) und Plasmaproteinkonzentration (·-·) von Ratten nach 500 R Ganzkörperbestrahlung.

zentration (mg/ml). 4. Plasmaesteraseaktivität (U/mg Protein).

Daraus wurden folgende Größen berechnet: 5. Plasmavolumen (ml/Tier). 6. Gesamtplasma-

protein (mg Protein/Tier). 7. Esteraseaktivität/Gesamtplasma (U/Gesamtplasma). 8. Esteraseaktivität/ml Plasma (U/ml Plasma).

Da bei den Versuchen nicht das Gesamtblut-

volumen, sondern nur das Blutvolumen bis zum Atemstillstand bestimmt wurde, fußen die Berechnungen auf der Annahme, daß die Änderungen des Atemstillstandblutvolumens den Änderungen des Gesamtblutvolumens entsprechen. Zur Prüfung dieser Annahme wurden die Veränderungen des Atemstillstandblutvolumens mit den J^{131} -Albumin-Blutvolumenänderungen verglichen. Die gute Übereinstimmung der mit beiden Methoden ermittelten Blutvolumenänderungen am dritten Tag nach Bestrahlung lassen die Verwendung des einfacher zu bestimmenden Atemstillstandblutvolumens als Maß für Veränderungen des Gesamtblutvolumens sinnvoll erscheinen, zumal von anderen Untersuchern [22] bei Ratten nach Ganzkörperbestrahlung ganz ähnliche Veränderungen des Gesamtblutvolumens beschrieben wurden.

Abbildung 1 zeigt, daß nach Bestrahlung Proteinverluste auftreten, die mit einer Abnahme des Gesamtplasmaproteins und des Plasmavolumens verbunden sind. Die Plasmaproteinkonzentration bleibt zunächst unverändert und sinkt erst nach dem vierten Tag etwas ab. Bei der Wiederherstellung der Ausgangswerte erreicht zuerst das Plasmavolumen, dann das Gesamtplasmaprotein und zuletzt die Plasmaproteinkonzentration die Ausgangswerte. Die Plasmaproteinkonzentration wird am längsten aufrechterhalten, braucht aber auch am längsten zur Wiederherstellung.

Die Esteraseaktivität/Gesamtplasma ist vom ersten bis 18. Tag bei allen pH-Werten unter den Ausgangswert erniedrigt (Abb. 2). Ihre Abnahme vom dritten bis neunten Tag bei zunehmendem Gesamtplasmaprotein deutet auf das vermehrte Auftreten nicht esterasetiver Proteine in der Blutbahn hin. Die Esterase-

aktivität/ml Plasma nimmt vom ersten bis dritten Tag über die Ausgangswerte zu (Abb. 3), während die Esteraseaktivität/Gesamtplasma absinkt. Es kommt also zu einer Anreicherung der Esteraseaktivität im Plasma. Als Erklärung ist der vermehrte Verlust von nicht esterasetivem Protein anzusehen, der mit einer Abnahme des Gesamtplasmaproteins (Abb. 1) verbunden ist.

Erythrozyten

Zur Auswertung standen folgende Meßwerte zur Verfügung: 1. Hämatokrit (Vol.-%). 2. Erythrozytenzahl/mm³ Blut. 3. Proteinkonzentration der Erythrozytenhämolysate (mg Protein/ml). 4. Esteraseaktivität der Eryhämolysate (U/mg Protein).

Daraus wurden folgende Größen berechnet: 5. mittleres Erythrozytenvolumen (μ^3). 6. Erythrozytenproteingehalt (mg Protein/Erythrozyt). 7. Erythrozytenproteinkonzentration (mg Protein/ml Erythrozyten). 8. Erythrozytenesterasegehalt (U/Erythrozyt). 9. Erythrozytenesterasekonzentration (U/ml Erythrozyten).

In Analogie zum Zellproteingehalt und der Zellproteinkonzentration sprechen wir vom Zellesterasegehalt und der Zellesterasekonzentration, obwohl nur Esteraseaktivitäten gemessen wurden. Volumen, Proteingehalt und Proteinkonzentration der Erythrozyten sind im Gegensatz zu den entsprechenden Größen im Plasma während des gesamten Versuchszeitraums nicht merklich verändert (Abb. 4). Bezüglich der Esteraseaktivität zeigen die Erythrozyten für alle pH-Werte vom ersten bis 18. Tag nach Bestrahlung eine zunehmende Esteraseverarmung (Abb. 5 u. 6).

Tabelle 5. M = Milz, L = Leber, P = Plasma, E = Erythrozyten; ○ = unverändert, + = Zunahme, - = Abnahme.

Tage nach Bestr.	Zell- bzw. Plasmavolumen				Zell- bzw. Gesamtplasmaproteingehalt				Zell- bzw. Plasma-protein-konzentration				Zell- bzw. Gesamtplasma-esterasegehalt				Zell- bzw. Plasmaesterasekonzentration											
	M		L		P		E		M		L		P		E		M		L		P		E					
	M	L	P	E	M	L	P	E	M	L	P	E	M	L	P	E	M	L	P	E	M	L	P	E				
0	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
1	○	-	-	○	○	-	-	○	○	○	○	○	+	+	-	○	○	○	-	○	+	+	+	○	+	+	+	○
2	-	-	-	○	-	-	-	○	○	○	○	○	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-
3	-	-	-	○	-	-	-	○	○	○	○	○	○	○	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-
6	-	○	-	○	-	-	-	○	-	-	-	○	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
9	○	+	○	○	-	-	-	○	-	-	-	○	+	○	-	-	-	○	-	-	+	○	-	-	-	○	-	-
18		+	+	○		○	+	○		-	○	○		○	-	-		○	-	-		○	-	-		○	-	-

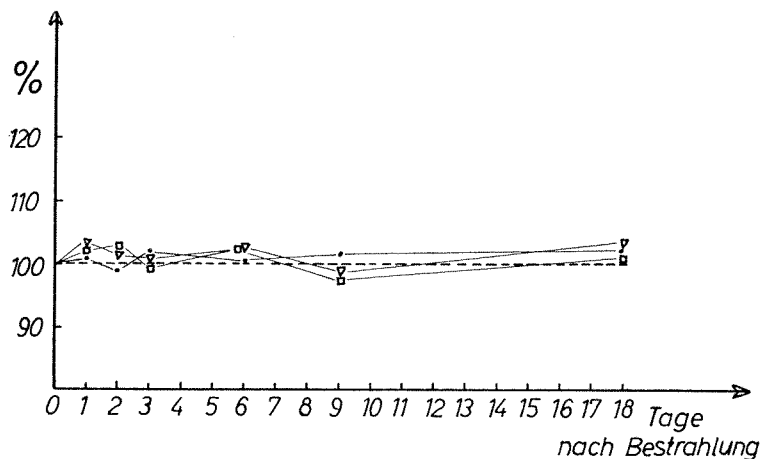


Abb. 4. Volumen (·-·), Zellproteingehalt (▽-▽) und Zellproteinkonzentration (□-□) von Erythrozyten bei 500 R ganzkörperbestrahlten Ratten.

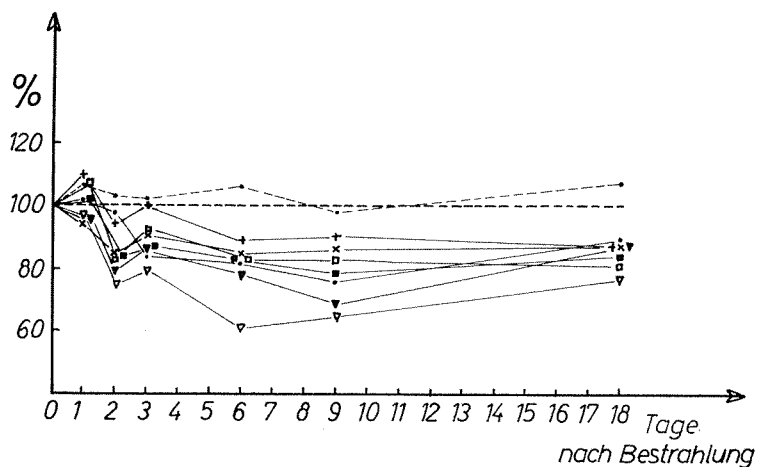


Abb. 5. Zellesterasegehalt pH 5.0 (·-·), 6.0 (×-×), 6.5 (▽-▽), 7.0 (▼-▼), 7.5 (□-□), 8.0 (■-■), 8.5 (+-+) und Zellproteingehalt (·-·) von Erythrozyten bei 500 R ganzkörperbestrahlten Ratten.

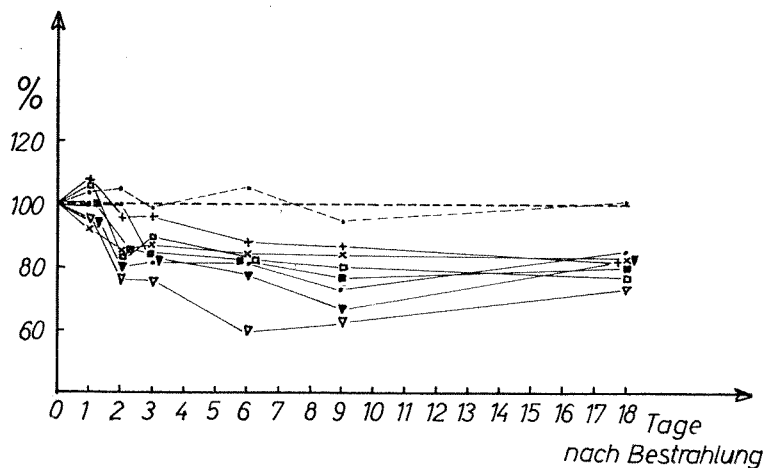


Abb. 6. Zellesterasekonzentration pH 5.0 (·-·), 6.0 (×-×), 6.5 (▽-▽), 7.0 (▼-▼), 7.5 (□-□), (■-■), 8.5 (+-+) und Zellproteinkonzentration (·-·) von Erythrozyten bei 500 R ganzkörperbestrahlten Ratten.

Vergleicht man die Erythrozytenbefunde mit denen im Plasma sowie in den Milz- und Leberzellen [24, 25], so ergeben sich Unterschiede (Tab. 5):

1. Das Erythrozytenvolumen ändert sich nach Bestrahlung nicht merklich.
2. In den Erythrozyten kommt es zu keiner meßbaren Proteinverarmung.

3. In den Erythrozyten ist keine Esterasekonzentrierung festzustellen.

Übereinstimmung besteht lediglich darin, daß der Erythrozytenesterasegehalt wie der Milz- und Leberzellesterasegehalt und die Gesamtplasmaesteraseaktivität nach Bestrahlung abnehmen. Die Ursache für diese Veränderungen im Erythrozyten liegt möglicherweise zum Teil

in einer Veränderung der Erythrozytenpopulation. Diese überaltert nach Bestrahlung durch einen zeitweisen Reifungs- und Ausschwemmungsstop im Knochenmark [1, 4, 7, 9, 12, 18, 19, 23]. Da die mittlere Erythrozytenlebensdauer bei der Ratte mit 45 bis 70 Tagen angegeben wird [3, 14] tritt die Überalterung des Erythrozytenbestandes verhältnismäßig schnell in Erscheinung. Die Mehrzahl der Enzymaktivitäten ist in älteren Erythrozyten geringer als in jüngeren [5, 16, 17, 20], so daß die gefundene Abnahme der Enzymaktivitäten zu einem Teil natürlichen Alterungsvorgängen zugeschrieben werden kann. Es ist aber nicht auszuschließen, daß die Bestrahlung auch Enzymverluste oder eine Konzentrationsänderung von Enzymaktivierungs- oder Inaktivierungstoffen bewirkt. Anzeichen für eine Enzymaktivierung im kreisenden Erythrozyten werden neuerdings für

die Glukose-6-Phosphatdehydrogenase nach kurzzeitigen Somatotropingaben bei menschlichen Hypophysenzwergen beschrieben [6]: Der Enzymanstieg in den Erythrozyten erfolgt deutlich vor der Ausschüttung enzymreicher Retikulozyten.

Der Vergleich zeigt, daß sich die Erythrozyten anders als die in ihren Strahlenreaktionen weitgehend übereinstimmenden Milz- und Leberzellen sowie das Plasma verhalten. Vor allem fällt ihre mangelnde Reaktionsfähigkeit auf, die den anderen von uns untersuchten Systemen nach Bestrahlung gemeinsam war.

Dem Leibniz-Rechenzentrum der Bayerischen Akademie der Wissenschaften sei für die Überlassung von Rechenzeit gedankt. — Die Programmierung verdanken wir Herrn Referendar der Mathematik *Hans-Wolfgang Valet*.

Zusammenfassung

1. Es wurden die Esteraseaktivität zwischen pH 5,0 und 8,5, der Proteingehalt sowie das Volumen von Plasma und Erythrozyten von mit 500 R ganzkörperbestrahlten Ratten (LD 38/30) vom 1. bis 18. Tag nach Bestrahlung untersucht.
2. Gesamtplasma, Gesamtplasmaproteingehalt, Plasmaproteinkonzentration und Gesamtplasmaesterasegehalt sinken nach Bestrahlung ab, während die Plasmaesterasekonzentration infolge stärkeren Verlustes nicht esterasetaktiver Proteine zeitweise über den Ausgangswert ansteigt.
3. Volumen, Proteingehalt und Proteinkonzentration der Erythrozyten sind im Versuchszeitraum nicht meßbar verändert. Esterasegehalt und Esterasekonzentration sinken zunehmend auf unternormale Werte ab. Der Erythrozyt zeigt, verglichen mit dem Plasma sowie Milz- und Leberzellen, keine augenscheinliche Reaktion auf die Bestrahlung.

Summary

1. The following items of 500 R total-body irradiated rats (LD 38/30) were examined from day 1 to 18 after irradiation: Esterase activity between pH 5.0 to 8.5, protein content, volume of plasma and of erythrocytes.
2. Total plasma, total plasma-protein-content, plasma-protein-concentration, and total plasma-esterase-content decrease after irradiation, whereas the plasma-esterase-concentration temporarily increases beyond the initial values, owing to a more significant loss of non-esterase-active proteins.
3. Volume, protein content, and protein concentration of the erythrocytes have altered, during the period of experiments, in a non-measurable manner. Esterase content and esterase concentration continuously decrease to subnormal values. The erythrocyte manifests no obvious reaction to irradiation, if compared to the plasma and to the cells of spleen and liver.

Résumé

1. On a mesuré, entre le premier et le 18ième jour après une irradiation totale de 500 R (LD 38/30), le volume plasmatique et globulaire, l'activité des estérases (entre pH 5,0 et 8,5), et le taux des protéines.
2. Le volume plasmatique, le taux et la concentration des protéines plasmatiques, ainsi que le taux des estérases plasmatiques diminuent après une irradiation, tandis que la

concentration plasmatique des estérases augmente par suite d'une perte essentielle des protéines sans activité estérasique.

3. Le volume, le taux et la concentration des protéines des érythrocytes ne sont pas modifiés durant cette période d'observation. Les estérases diminuent progressivement à des valeurs subnormales. L'érythrocyte ne donne pas de réaction évidente après irradiation, comparé avec le plasma, les cellules de la rate et du foie.

Schrifttum

- [1] Baum, S. J., D. J. Kimeldorf: Effect of Dose Rate on Iron Incorporation into Newly Formed Erythrocytes of Rats Exposed to Gamma Radiation. *Amer. J. Physiol.* 190 (1957), 13.
- [2] Boroviczeny, Ch. G. de: On the Standardization of Packed Cell Volume Determination. Standardization in Haematology III. Xth Congr. Europ. Soc. Haematol., p. 83. S. Karger, Basel 1966.
- [3] Belcher, E. H., E. B. Harriss: Studies on the Red Cell Life Span in the Rat. *J. Physiol.* 146 (1959), 217.
- [4] Bloom, M. A.: Bone Marrow. In: Bloom, W.: Histopathology of Irradiation from External and Internal Sources, p. 162. McGraw-Hill-Book Corp., New York 1947.
- [5] Blum, K. U.: Enzymopathologie der Blutzellen. *Blut* 8 (1962), 239.
- [6] Butenandt, O.: The Influence of Human Growth Hormone on Enzymes in the Blood of Hypopituitary Patients. *Acta paediat. scand.* 58 (1969), 660.
- [7] Carsten, A. L., Th. Noonan: Hematological Effects of Partial Body and Whole Body X-Irradiation in the Rat. *Radiat. Res.* 22 (1964), 136.
- [8] Chaplin, H., P. L. Mollison, H. Vetter: The Body/Venous Hematocrit Ratio: Its Constancy over a Wide Hematocrit Range. *J. clin. Invest.* 32 (1953), 1309.
- [9] Cottier, H.: Knochenmark. In: Zuppinger, A.: Handbuch der medizinischen Radiologie. Band II/2, S. 85. Springer, Berlin 1966.
- [10] Ebaugh, F. G., P. Levine, C. P. Emerson: The Amount of Trapped Plasma in the Red Cell Mass of the Hematocrit Tube. *J. Lab. clin. Med.* 46 (1955), 409.
- [11] Everett, N. B., B. Simmons, E. P. Lasher: Distribution of Blood of Rats Determined by Nitrogen Freezing. *Circulat. Res.* 4 (1956), 419.
- [12] Hartweg, H.: Strahlenwirkung auf Zellen wichtiger Organe, blutbildendes Gewebe. In: Scherer, E., H. St. Stender: Strahlenpathologie der Zelle, S. 129. G. Thieme, Stuttgart 1963.
- [13] Kleine, N., W. Burgass: Die Ursache des elektrischen Widerstandes gepackter Erythrozyten im niederfrequenten Bereich. *Acta haemat. (Basel)* 34 (1965), 51.
- [14] Künkel, H. A., H. J. Mauss, K. Mihm: Strahlenbiologische Untersuchungen mit chrommarkierten Erythrozyten. IV. Besteht ein Zusammenhang zwischen Erythrozytenlebensdauer und Strahlenempfindlichkeit? *Strahlentherapie* 131 (1966), 137.
- [15] Meija, R. H.: Regional Hematocrit Ratio and Intestinal Fluid Volume in the Normal Rat. *Experientia* 24 (1968), 43.
- [16] Merker, H.: Über unspezifische Erythrozytenesterasen und ihre Beziehung zur Erythrozytenregeneration. *Folia haemat. (Frankfurt)* 9 (1964), 366.
- [17] Löhr, G. W., H. D. Waller: Zur Biochemie der Erythrozytenalterung. *Folia Haemat (Frankfurt)* 78 (1962), 117.
- [18] Mönig, H., U. Maier: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz, 88. Mitt.: Quantitative Beziehungen beim Radioeisenbau in Erythrozyten nach einer Ganzkörperbestrahlung von Mäusen. *Strahlentherapie* 136 (1968), 596.
- [19] Ninkov, V.: Response of Bone Marrow Cells after Whole-Body Irradiation and Partial Protection in Rats. *Strahlentherapie* 134 (1967), 463.
- [20] Powell, R. D., R. L. de Gowin: Relationship Between Activity of Pyruvate Kinase and Age of the Normal Erythrocyte. *Nature (Lond.)* 205 (1965), 507.
- [21] Rustad, H.: Correction for Trapped Plasma in Micro-Hematocrit Determinations. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* 16 (1964), 677.
- [22] Supplee, H., J. D. Hauschildt, C. Entenman: Plasma Proteins and Plasma Volume in Rats Following Total Body X-Irradiation. *Amer. J. Physiol.* 169 (1952), 482.
- [23] Travnicek, T., J. Neuwirt, J. Taborsky, H. Stoklasova: Die Wirkung verschiedener Strahlendosen auf die Erythropoese von Ratten. *Strahlentherapie* 130 (1966), 376.
- [24] Valet, G., G. Ruhenstroth-Bauer: Esteraseaktivität, Proteingehalt und Gewicht der Milz ganzkörperbestrahlter Ratten unter Berücksichtigung funktionsmorphologischer Gesichtspunkte. *Virchows Arch. Abt. B* 2 (1969), 326.
- [25] Valet, G., G. Ruhenstroth-Bauer: Gewicht, Proteingehalt und Esteraseaktivität der Leber von ganzkörperbestrahlten Ratten unter Berücksichtigung funktionsmorphologischer Gesichtspunkte. *Strahlentherapie* 137 (1969), 734.
- [26] Valet, G.: Esteraseaktivität und Proteingehalt der Milz ganzkörperbestrahlter Ratten unter Berücksichtigung funktionsmorphologischer Gesichtspunkte. Diss. München 1968.

Anschrift d. Verff.: Dr. G. Valet, Max-Planck-Institut für Biochemie, 8 München 15, Goethestr. 31.