Sonderdruck

Blut ZEITSCHRIFT FÜR DIE GESAMTE BLUTFORSCHUNG

Band XXIV · Seite 42–53 (1972) · J. F. Lehmanns Verlag, München

Aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie, München

Der Nachweis verschiedener Erythrozytenpopulationen bei der Ratte

Von G. Valet, H. Metzger, V. Kachel und G. Ruhenstroth-Bauer

Die Erythrozyten von neugeborenen und jungen Ratten werden in zeitlich festgelegter Reihenfolge in verschiedenen Organen gebildet [*7*], wobei das Auftreten mehrerer Hämoglobine beobachtet wurde [*3*]. Das mittlere Volumen der im Blut kreisenden Erythrozyten nimmt von der Geburt an fortschreitend ab und beträgt beim erwachsenen Tier weniger als die Hälfte der Werte beim Neugeborenen [*6*]. Die Vorstufen der Neugeborenen-Erythrozyten scheinen auch weniger Erythropoetin-sensibel zu sein als jene der späteren Altersstufen [*7,8,10*].

An Hand der Erythrozytenvolumen-Verteilungskurven von Ratten verschiedenen Alters wird in der vorliegenden Arbeit geprüft, ob diese Vorgänge einer einzigen Erythrozytenpopulation oder mehreren zugeordnet sind, die zu bestimmten Zeiten auftreten und wieder verschwinden.

Methodik

Versuchstiere

Als Ausgangstiere wurden spezifisch-pathogenfreie weibliche Sprague-Dawley-Koloniezuchtratten (Fa. Gassner, München-Ottobrunn) verwendet, die zum Erhalt von Jungtieren für eine Generation selbst weitergezüchtet wurden. Je Versuch wurden 2 Tiere eingesetzt. Die Tiere der Versuchsreihe stammten aus 10 verschiedenen Würfen.

Blutabnahme

Das Blut wurde den Ratten in Äthernarkose aus der Bauchaorta mit einer Vetren-gespülten Spritze abgenommen (100 I.E. Heparin/ml, Promonta, Hamburg), ein Teil in konischen 1,5 ml-Polyäthylengefäßen mit Deckel in Eis aufbewahrt, der Rest gepoolt und 10 min lang bei 3200 × g und 4° C zentrifugiert. Das überstehende Plasma wurde durch ein Membranfilter von 0,45 μ Porenweite (Sartorius, Göttingen) gefiltert, der spezifische Widerstand mit einer 0,5 ml fassenden Leitfähigkeitsmeßzelle (Philips PR 9513) und einer Widerstandsmeßbrücke (Philips GM 4249/01) bei 25° C bestimmt. Bis zur Verwendung wurde das Plasma bei 4° C aufbewahrt.

Hämatokrit, Erythrozytenzählung, Retikulozyten- und Hämoglobinbestimmung

Der Hämatokrit der Blute wurde in 75 mm langen Mikrohämatokritröhrchen mit 1,1 mm Innendurchmesser (Clay-Adams, New York) in einer Hawskley-Mikrohämatokritzentrifuge nach 6 min Zentrifugation bei 12000 × g bestimmt. Die Erythrozyten wurden mit einem Coulter A-Partikelzählgerät und einer 100-μ-Kapillare in 0,95proz. NaCl-Lösung bei Verstärkung 1, Stromstufe 8 und Schwelle 5 in einer Verdünnung von 1:50000 gezählt. Das mittlere Erythrozytenvolumen (MCV) wurde aus dem Quotienten Mikrohämatokrit durch Zellzahl/mm³ Blut in μ³ ausgerechnet. Für die Retikulozytenbestimmung wurde Blut im Volumenverhältnis 9 + 1 mit 0,4proz. methylalkoholischer Brillantkresylblau-Lösung gut vermischt, 5 min später auf Objektträger ausgestrichen, nach 15 min Lufttrocknung mit May-Grünwaldt- und Giemsa-Lösung (Merck) gefärbt; sodann wurden 1000 Erythrozyten je Präparat ausgezählt. Die Hämoglobinkonzentration im Vollblut wurde mit der Cyanhämoglobinmethode [*1*] und Merckotest-Reagentien bestimmt. Aus den Quotienten von

Eingegangen am 28. 10. 1971

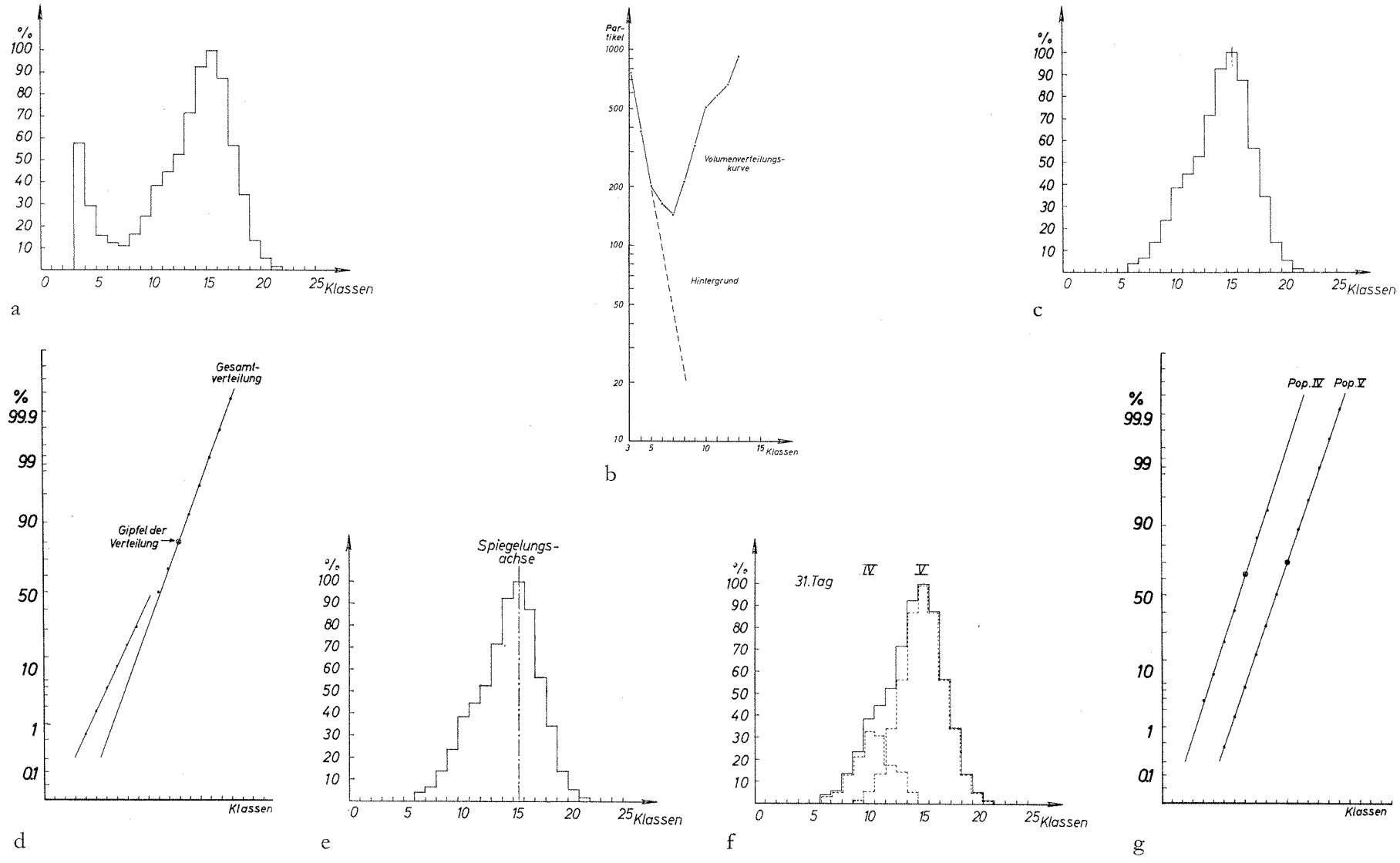


Abb. 1a bis 1g: Analyse der Volumenverteilungskurven von Rattenerythrozyten. Näheres siehe bei Methodik.

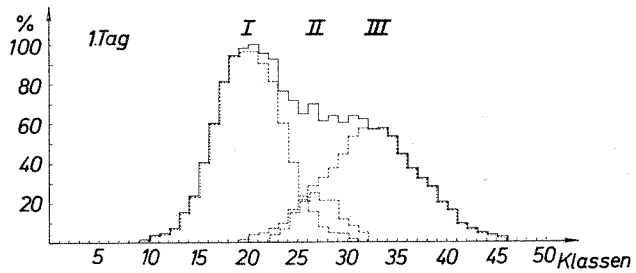
Hämoglobinkonzentration im Vollblut durch Hämatokrit, sowie durch Zellzahl/mm³ Blut wurde die mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC) in g% und ihr mittlerer Hämoglobingehalt (MCH) in pg ausgerechnet.

Volumenverteilungskurven

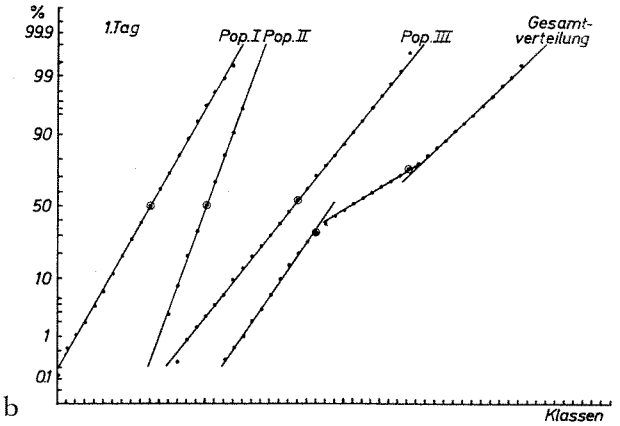
Die Volumenverteilungskurven der Rattenerythrozyten wurden mit einer auf dem Coulter-Prinzip basierenden, von *Kachel, Metzger* und *Ruhenstroth-Bauer* 1970 angegebenen Partikelstrahlkapillare von 70 μ Durchmesser und 34 μ Länge sowie einem Impulshöhenanalysator mit einem maximalen Meßbereich von 60 Klassen [*4*], bei einem Meßstrom von 0,4 mA, einer Temperatur von 25° C und einem Sog von 0,1 kp/cm² gemessen. Die Zählgeschwindigkeit betrug maximal 250 Partikeln/sec. Je Volumenverteilungskurve wurden $1{,}0–1{,}5 \times 10^4$ Partikeln registriert. Durch die Verwendung der Partikelstrahlkapillare wurde einmal die Rechtsschiefe der Volumenverteilungskurven für normalverteilte Partikelbevölkerungen vermieden, die bei den konventionellen Coulter-Kapillaren durch eine Fehlbewertung der am Rande des Meßloches durchtretenden Partikeln verursacht wird [*4*]; zum anderen konnten die Erythrozyten in Plasma, ihrem natürlichen Umgebungsmilieu, gemessen werden und eine Beeinflussung der Volumenverteilungskurven durch Pufferlösungen vermieden werden. Zur Messung wurden die Erythrozyten in Mischplasma aufgeschwemmt und in den Vorratsbehälter der Meßgutzuführungsspitze eingefüllt. Die Verwendung von Mischplasma war erforderlich, da bei kleinen Tieren nicht genügend Eigenplasma für die Messungen zur Verfügung stand. Mischplasma wurde bei Erythrozyten von 100-g-Tieren vorgetestet und hatte, verglichen mit Eigenplasma, keinen Einfluß auf die Form der Volumenverteilungskurve. Als Außenphase zwischen den Stromzuführungselektroden wurde eine gefilterte isotone NaCl-Glucose-Lösung (300 mOsmol) verwendet, die aus 7,1 g NaCl und 16 g D-Glucose ad 1000 ml aq. dest. hergestellt wurde und durch NaCl- oder Wasserzusatz auf die Plasmaleitfähigkeit (ca. 83 Ω/cm bei 25° C) abgeglichen war. Zur Absoluteichung der Meßapparatur wurde zu jedem Versuchstag die Volumenverteilungskurve von Erythrozyten eines 100-g-Tieres gemessen, deren mittleres Volumen aus Hämatokrit durch Zellzahl/mm³ Blut errechnet und der Gipfelklasse der Volumenverteilungskurve zugeordnet wurde. Die Klassenbreite in μ³ konnte aus dem Quotienten Gipfelvolumen durch Nummer der Gipfelklasse bestimmt werden, da die Klassierung der Impulse bei Null Volt Impulshöhe begann. Zur Kontrolle der Absoluteichung wurden Volumenverteilungskurven von Rattenerythrozyten aufgenommen, die in 0,5proz. Glutaraldehyd fixiert worden waren. Ihr Gipfelvolumen blieb im Versuchszeitraum unverändert. Die Klassenbreite betrug für die 10 Versuche der Meßreihe $5{,}49 \pm 0{,}14$ μ³.

Kurvenauswertung

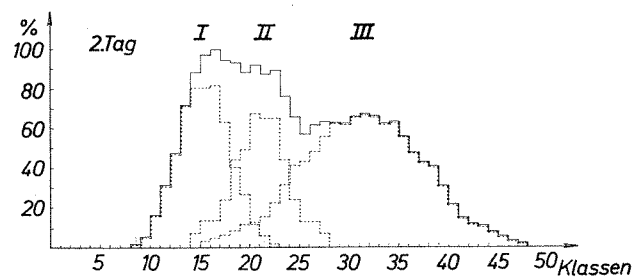
Für jeden Versuchstag wurde eine Verteilungskurve ausgewertet, da sich die Volumenverteilungskurven der beiden je Versuch eingesetzten Ratten weitgehend glichen und trotz gewisser Schwankungen die Tendenz der Veränderungen dadurch nicht beeinträchtigt wurde. Die gemessenen Verteilungskurven (Abb. 1a) wurden zunächst im Anfangsteil für einen exponentiell abfallenden Hintergrund korrigiert (Abb. 1b), die Restkurve (Abb. 1c) ins Wahrscheinlichkeitspapier eingezeichnet (Abb. 1d), sodann der oder die sichtbaren Gipfelpunkte der Verteilung im Wahrscheinlichkeitspapier markiert (Abb. 1d) und festgestellt, wie viele Bereiche dieser Kurve durch je eine Gerade annäherbar waren. Dadurch war die Anzahl der in der Volumenverteilungskurve enthaltenen Normalverteilungen annähernd zu bestimmen. Zur weiteren Kurvenanalyse wurde die in der Volumenverteilungskurve am weitesten rechts liegende, wenig von den anderen Verteilungen überlagerte Normalverteilung an ihrer Symmetrieachse gespiegelt (Abb. 1e), die Restverteilung ausgerechnet, beide Verteilungen gezeichnet (Abb. 1f), ins Wahrscheinlichkeitspapier eingetragen (Abb. 1g), die sichtbaren Gipfel markiert und, wie oben gezeigt, festgestellt, ob noch weitere Normalverteilungen in der Restverteilung enthalten waren. Gegebenenfalls wurde weitergespiegelt. Von den so isolierten Normalverteilungen wurden Mittelwert und Standardabweichung aus dem Wahrscheinlichkeitspapier entnommen und die Variationskoeffizienten der Verteilungen als Quotienten aus Standardabweichung und Mittelwert errechnet. Für die einzelnen Populationen wurde der prozentuale Anteil an der Gesamtpopulation ausgerechnet und als


%
100
80
60
40
20
1.Tag
I
II
III
5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 Klassen

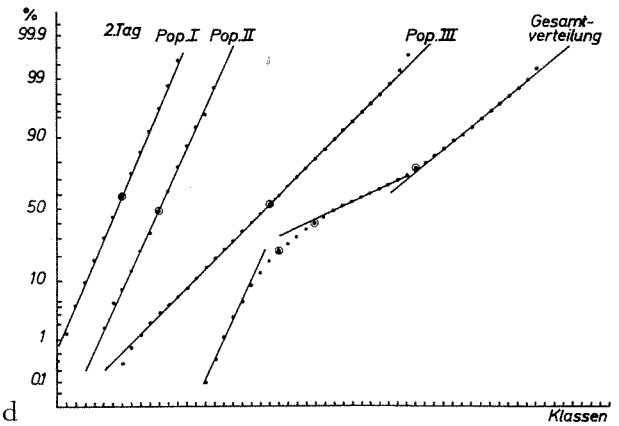
a


%
99.9
99
90
50
10
1
0.1
1.Tag
Pop.I
Pop.II
Pop.III
Gesamt-
verteilung
Klassen

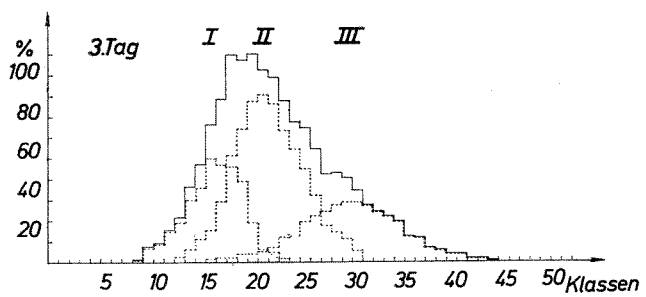
b


%
100
80
60
40
20
2.Tag
I
II
III
5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 Klassen

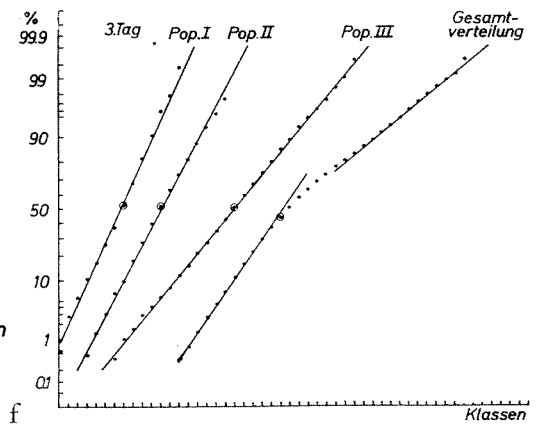
c


%
99.9
99
90
50
10
1
0.1
2.Tag
Pop.I
Pop.II
Pop.III
Gesamt-
verteilung
Klassen

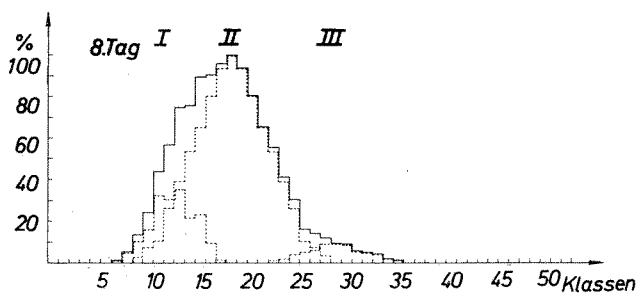
d


%
100
80
60
40
20
3.Tag
I
II
III
5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 Klassen

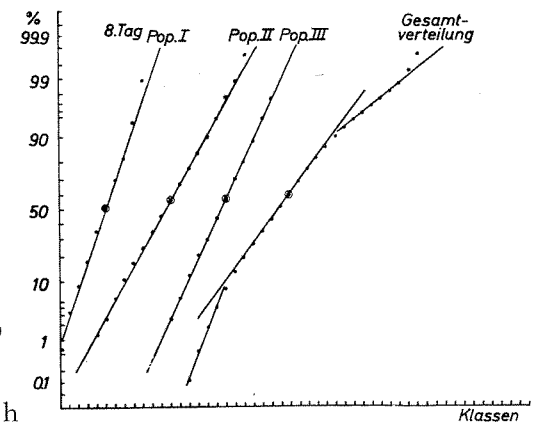
e


%
99.9
99
90
50
10
1
0.1
3.Tag
Pop.I
Pop.II
Pop.III
Gesamt-
verteilung
Klassen

f


%
100
80
60
40
20
8.Tag
I
II
III
5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 Klassen

g


%
99.9
99
90
50
10
1
0.1
8.Tag
Pop.I
Pop.II
Pop.III
Gesamt-
verteilung
Klassen

h

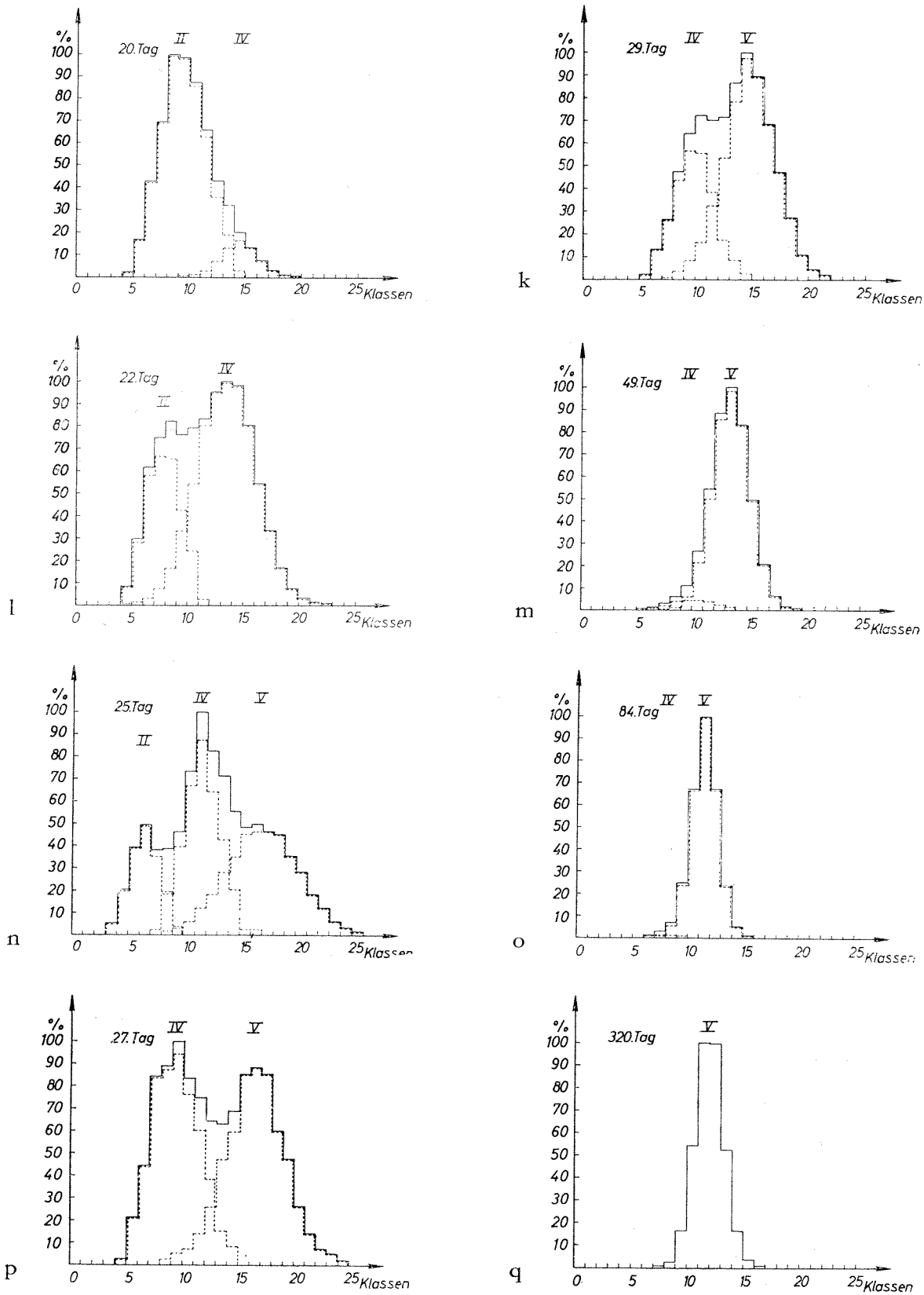


Abb. 2 (a–q): Analysierte Volumenverteil.kurven von Rattenerythrozyten v. 1. bis 320. Tag nach Geburt, sowie Darstellung der Teil- und Gesamtverteilungen im Wahrscheinlichkeitspapier. Die Volumenverteilungskurven sind für die Ordinate auf den häufigsten Wert (= 100%) normiert, die Klassenbreite auf der Abszisse beträgt 5,49 ± 0,14 μ^3 (Pop. = Population).

Erythrozyten/Gesamttier ausgedrückt (Tab. 1), wobei die von *Ganzoni* [2] angegebenen Blutvolumina für Ratten verschiedenen Alters zugrunde gelegt wurden. Für nicht in der Tabelle von *Ganzoni* enthaltene Tiergewichte wurde extrapoliert.

Ergebnisse

Die Analyse der Volumenverteilungskurven (Abb. 2) zeigt 5 volumenmäßig voneinander abgrenzbare, im Wahrscheinlichkeitspapier mit guter Näherung normalverteilte Erythrozytenpopulationen, die in charakteristischer Weise im Laufe des Wachstums zu- oder abnehmen. Bei der Geburt sind 3 Populationen vorhanden. Die kleine Population I und die große Population III nehmen etwa gleich schnell ab und machen der mittelgroßen Population II Platz (Tab. 1). Ab dem 20. und 24. Tag treten 2 neue Populationen IV und V auf. Die Population V bleibt als Endbevölkerung bestehen, die übrigen Populationen verschwinden mit zunehmendem Alter.

Anteile der 5 Rattenerythrozytenpopulationen													
a) an den Volumenverteilungskurven (%)							b) an den Gesamterythrozyten je Tier ($\times 10^9$ Erythrozyten/Tier)						
	Population					Ratten-gewicht	Blut-vol.* (ml/100 g)	Blut-vol./Tier (ml)	Population				
T.	I	II	III	IV	V	(g)			I	II	III	IV	V
1	50,6	8,4	41,0			4,6	7,2	0,33	0,34	0,06	0,28		
2	27,2	21,9	50,9			7,5	7,2	0,54	0,18	0,15	0,34		
3	24,2	49,5	26,3			10,0	7,2	0,72	0,44	0,91	0,48		
8	16,9	77,0	6,1			19,0	7,0	1,34	0,73	3,34	0,26		
14	1,6	91,6	6,8			14,0	7,1	1,00	0,06	3,26	0,24		
15		92,0	8,0			23,0	6,9	1,59		4,03	0,36		
18		97,5	2,5			22,6	6,9	1,56		7,40	0,19		
20		88,4		11,6		28,0	6,9	1,94		3,85		0,50	
22		29,9		70,1		33,8	6,8	2,31		2,02		4,76	
24		21,6		24,6	53,8	36,7	6,8	2,50		1,28		1,46	3,20
25		18,7		37,9	43,4	38,0	6,8	2,58		1,53		3,12	3,57
27				47,7	52,3	35,0	6,8	2,38				5,96	6,55
29				32,6	67,4	37,0	6,8	2,51				3,30	6,83
31				22,9	77,1	50,0	6,7	3,35				3,52	12,0
46				7,0	93,0	79,0	6,4	5,05				1,74	23,6
49				5,8	94,2	100,0	6,2	6,20				2,03	33,0
84				2,1	97,9	195,0	5,6	10,9				1,52	70,5
320					100	283,0	5,2	14,8					96,0

* Aus *M. Ganzoni,* Kinetik und Regulation der Erythrozytenproduktion, Springer-Verlag, Heidelberg 1970, Tab. 3, S. 36.

Tab. 1: Anteile der 5 Rattenerythrozytenpopulationen.

Das mittlere Zellvolumen aller Populationen nimmt vom Zeitpunkt des Erstauftretens an gerechnet ab (Abb. 3), unterschiedlich ist jedoch der zeitliche Verlauf. Während die Populationen I, II und III linear ihr Volumen mit Abnahmeraten von 4,8, 3,8 und 4,2 μ^3 je Tag verringern, was zu einer Halbierung des Erythrozytenvolumens innerhalb von 7,5, 15,5 und 21 Tagen führt, zeigen die Populationen IV und V bis zum 31. Tag eine schnelle, dann eine langsame Abnahme des mittleren Volumens bis zum 84. Tag nach Geburt. Von da ab bleibt das mittlere Volumen konstant.

Die Form der Volumenverteilungskurven bleibt im hypotonen (160 mOsmol) und hypertonen Milieu (600 mOsmol) erhalten. Schwellung oder Stechapfelbildung der Erythrozyten im normotonen Plasmamilieu sind demnach nicht wesentlich am Auftreten der verschiedenen Erythrozytenpopulationen beteiligt.

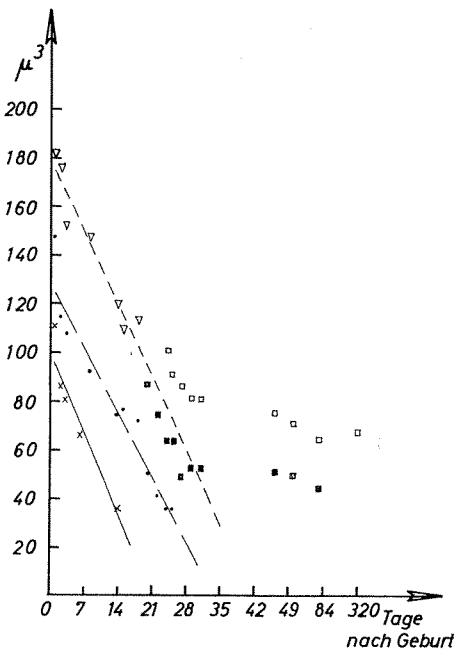


Abb. 3: Gipfelvolumina der Population I (×), II (●), III (▽), IV (■), V (□) zu verschiedenen Tagen nach der Geburt sowie Regressionsgeraden nach der Methode der kleinsten Quadrate für den linearen Volumenverlust von Population I (——) $y = -4{,}81\,x + 103$; Population II (— —) $y = -3{,}84\,x + 130$; Population III (– – –) $y = -4{,}23\,x + 179$. Die zugehörigen Korrelationskoeffizienten betragen $r_I = 0{,}971$, $r_{II} = 0{,}972$, $r_{III} = 0{,}971$.

T.	Population I Volumen (μ³)	Population I Var. koeff. (%)	Population II Volumen (μ³)	Population II Var. koeff. (%)	Population III Volumen (μ³)	Population III Var. koeff. (%)	Population IV Volumen (μ³)	Population IV Var. koeff. (%)	Population V Volumen (μ³)	Population V Var. koeff. (%)
1	112,0	16,7	148,0	7,8	181,2	14,0				
2	87,1	16,1	115,0	13,1	177,7	19,4				
3	81,8	17,9	108,0	16,4	153,2	16,9				
8	67,0	17,6	93,6	19,0	148,4	9,8				
14	36,2		75,5	19,2	120,9	13,9				
15			77,2	16,9	110,0	8,0				
18			72,2	19,2	114,3					
20			50,3	22,3			86,5	12,9		
22			41,8	20,0			75,2	19,9		
24			36,2	23,1			64,0	19,5	101,3	17,7
25			36,2	20,6			64,0	14,4	92,0	18,8
27							49,9	22,2	86,5	15,1
29							53,6	19,0	81,8	16,5
31							52,9	17,3	80,9	13,0
46							50,3	14,2	75,5	13,7
49							49,9		70,8	12,3
84							42,3		64,3	10,4
320									67,0	10,8

Tab. 2: Gipfelvolumina und Variationskoeffizienten der 5 Rattenerythrozytenpopulationen. Bei prozentualen Anteilen einer Population von weniger als 6% der Gesamtverteilung wurden wegen geringer Genauigkeit keine Variationskoeffizienten (Var.koeff.) ermittelt.

Die Variationskoeffizienten (Tab. 2) von Population I bleiben etwa gleich, bei Population III haben sie Tendenz zur Abnahme, bei Population II ist eine deutliche Zunahme von 7,8% am 1. Tag auf 23,1% am 24. Tag nach der Geburt festzustellen. Die Variationskoeffizienten von Population IV und V zeigen Tendenz zur Abnahme mit der Zeit. Der Endwert bei Population V ist um den 84. Tag erreicht. Für 14 verschiedene Zeitpunkte zwischen dem 84. bis 320. Tag nach Geburt wurde für Population V ein Variationskoeffizient von 10,7 ± 0,9% bestimmt.

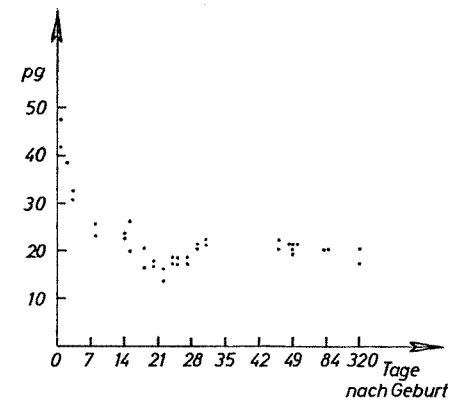


Abb. 4: Zelluläres Hämoglobin (MCH) der Rattenerythrozyten in pg vom 1. bis 320. Tag nach Geburt.

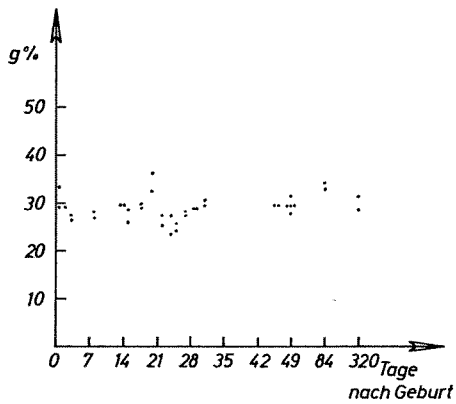


Abb. 5: Zelluläre Hämoglobinkonzentration der Rattenerythrozyten (MCHC) in g% vom 1. bis 320. Tag nach Geburt.

Die mittlere Hämoglobinmenge/Erythrozyt nimmt während des Volumenschwundes der Erythrozyten von Population I bis III ab (Abb. 4). Sie erreicht am 31. Tag nach Geburt den Endwert von 21 pg. Setzt man eine Hämoglobinkonzentration von 30 g% als Normwert, wie sie in den Erythrozyten von 100-g-Tieren gefunden wird, so sind die Erythrozyten von Population I bis III zunächst leicht hyper-, dann leicht hypo- und kurz vor dem Verschwinden von Population II wieder leicht hyperchrom (Abb. 5), die Erythrozyten von Population IV und V zunächst leicht hypo-, ab dem 31. Tag normochrom.

Die Retikulozytenzahl (Tab. 3) nimmt mit Ausnahme eines kleinen Gipfels zur Zeit des Auftretens von Population IV und V am 20. bis 24. Tag vom 1. Tag an ständig ab. Der Endwert ist am 84. Tag mit etwa 2% erreicht.

Morphologisch finden sich am 1. Tag unterschiedlich große, bikonkav bis napfförmige Erythrozyten (Abb. 6). Vom 14. bis 18. Tag fallen napfförmige Erythrozyten mit einer zentralen, deutlich konturierten Eindellung auf. Vom 18. bis 22. Tag sind an manchen Erythrozyten tropfen- bis trommelschlegelartige Anhängsel zu erkennen (Abb. 7a und 7b), viele Erythrozyten zeigen unregelmäßig gezackte, entrundete oder fragmentierte Formen. Am 25. Tag treten große Erythrozyten auf

(Abb. 6), am 49. und deutlicher noch am 320. Tag ist eine weitgehende Normalisierung der Form und eine Gleichmäßigkeit der Erythrozytengröße eingetreten.

T.	n	Gewicht (g)	Erythrozyten/ mm^3 ($\times 10^6$)	Hämatokrit (%)	Erythrozytenvolumen (μ^3)	Retikulozyten (%)	Hb-Konzentration im Blut (g%)
1	2	5,2	1,98	27,9	140,5	73,1	8,71
2	2	7,8	1,55	20,1	126,5	45,0	7,28
3	2	10,3	2,45	28,5	115,5	41,6	7,73
8	2	17,3	2,99	26,2	87,4	43,5	7,26
14	2	14,8	3,70	29,1	78,8	16,6	8,59
15	2	23,5	3,24	27,1	84,4	15,1	7,35
18	2	22,5	4,16	26,1	61,5	14,3	7,70
20	2	27,9	2,28	11,9	50,6	19,2	4,08
22	2	34,0	3,04	17,1	56,0	24,4	4,58
24	2	33,9	2,34	16,9	71,2	18,8	4,30
25	2	37,5	3,10	22,8	73,6	7,6	5,69
27	2	36,0	5,05	33,9	67,0	23,3	9,27
29	2	33,0	3,79	28,4	74,8	17,8	8,02
31	2	52,0	4,43	32,2	73,3	8,7	9,70
46	2	78,5	5,15	36,9	71,7	6,5	11,0
49	5	100,2	5,63	39,5	70,2	7,4	11,7
	± s	±3,70	±0,74	±5,2	±3,5	±3,9	±1,6
84	2	209,0	6,66	40,5	61,3	2,1	13,5
320	2	263,0	6,71	42,3	63,0	1,8	12,8

Tab. 3: Gewicht und hämatologische Parameter von weiblichen Sprague-Dawley-Ratten vom 1. bis 320. Tag nach Geburt.
s = Standardabweichung T. = Tage nach Geburt n = Anzahl der Versuchstiere Hb = Hämoglobin

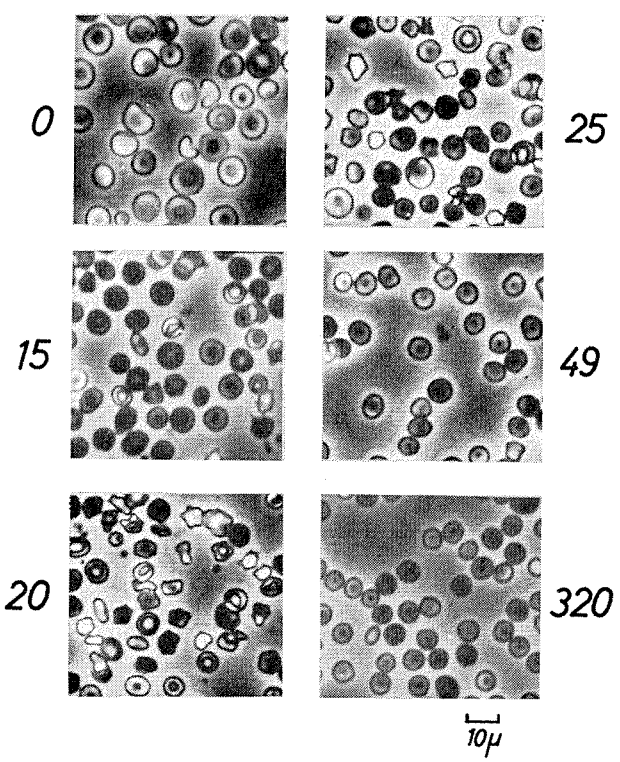


Abb. 6: Veränderung von Erythrozytenform und Größe im morphologischen Bild. Native Rattenerythrozyten aufgeschwemmt in einer Lösung aus ⅓ 0,95proz. NaCl-Lösung (mit 1,08 g Na_2HPO_4 und 0,14 g NaH_2PO_4 je Liter Wasser auf pH 7,35 gepuffert), ⅓ 0,25 M Sucrose-Lösung (3 mM $CaCl_2$) und ⅓ Aqua dest. im Phasenkontrastbild zwischen silikonisiertem Objektträger und Deckglas. Die Zahlen neben den Bildern geben die Tage nach Geburt an.

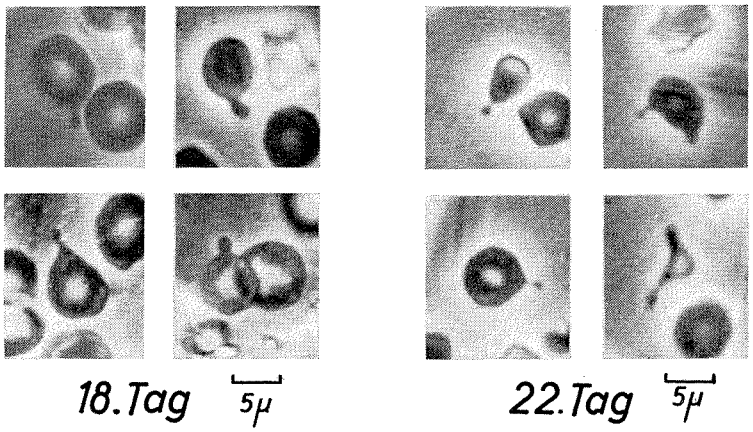


Abb. 7: Fragmentation nativer Rattenerythrozyten a) am 18. Tag nach Geburt in Eigenplasma und b) am 22. Tag nach Geburt mit dem unter Abb. 6 angegebenen Verfahren.

Besprechung

Über die Herkunft der 5 verschiedenen Rattenerythrozytenpopulationen lassen sich gegenwärtig nur Vermutungen anstellen. Wahrscheinlich stehen sie in Zusammenhang mit den verschiedenen Blutbildungsorten der Ratte. Hauptblutbildungsort bei der fötalen Ratte ist die Leber, kurz vor der Geburt übernehmen Milz und Knochenmark und um den 40. Tag nach Geburt ausschließlich das Knochenmark die Erythropoese [7]. Zeitlich könnten die hyperchromen, mengenmäßig etwa gleich häufig vorkommenden Populationen III und I (Tab. 1), deren mittleres Volumen sich vom 1. bis 8. Tag annähernd wie 2:1 verhält (Abb. 3), der Leberphase zugeordnet werden. Die Populationen I und III nehmen nach Geburt, bezogen auf das Gesamttier (Tab. 1) nicht mehr in nennenswertem Maße zu und treten angesichts der außerordentlich schnell an Zahl zunehmenden hypochromen Population II, die von der Geburt an in Milz und Knochenmark produziert würde, schnell in den Hintergrund. Population I verschwindet bei einem kritischen mittleren Volumen von etwa 36 μ^3 aus der Zirkulation. Um den 18. Tag würde Population II, deren Variationskoeffizient von der Geburt an auf das 2,5fache angestiegen ist, nicht mehr produziert (Tab. 1) und fällt infolge der morphologisch feststellbaren Fragmentation (Abb. 7), verbunden mit zunehmender Hyperchromie (Abb. 5), schnell der Zerstörung anheim. Die Fragmentation der Erythrozyten läuft in der schon von *Weed* und *Reed* 1966 [2] angegebenen Weise ab. Das kritische mittlere Volumen von Population II liegt wieder bei 36,2 μ^3. Ab 20. und 24. Tag würde das Knochenmark und wohl auch die Milz, einhergehend mit einer vorübergehenden geringen Retikulozytose die zunächst hypochromen Populationen IV und V produzieren. Population IV schließt von der Größe her an das Endvolumen von Population III an (Abb. 3), nimmt in der Folge an Zahl ab (Tab. 1) und ist nach dem 84. Tag nicht mehr mit Sicherheit nachweisbar.

Die normalverteilte Endpopulation V ist auf Grund unserer Messungen innerhalb der apparativen Genauigkeit ab dem 3. Lebensmonat allein vorhanden. *LeGO* und *LeGO* [5] fanden dagegen 1970 mit einer konventionellen 100-μ-Coulter-Kapillare und einem modifizierten Coulter-A-Impulsverstärkungs- und Klassiergerät bei 3 Monate alten männlichen, unbehandelten *Carworth*-Ratten 3 Erythrozytenpopulationen mit Anteilen von 68,5, 26,5 und 5%. Das mittlere Volumen ihrer kleinsten Population mit dem 68,5%-Anteil entspricht dem unserer Population V. Wir vermuten, daß die beiden größeren Populationen von *LeGO* und *LeGO* apparativ bedingt sind und wesentlich auf der Verwendung einer konventionellen 100-μ-Coulter-Kapillare beruhen.

Über die Funktion der 4 nacheinander auftretenden und wieder verschwindenden Erythrozytenpopulationen I bis IV besteht Unklarheit. Vielleicht steht sie mit der Ausbildung verschiedener Rattenhämoglobintypen in Verbindung [*3*].

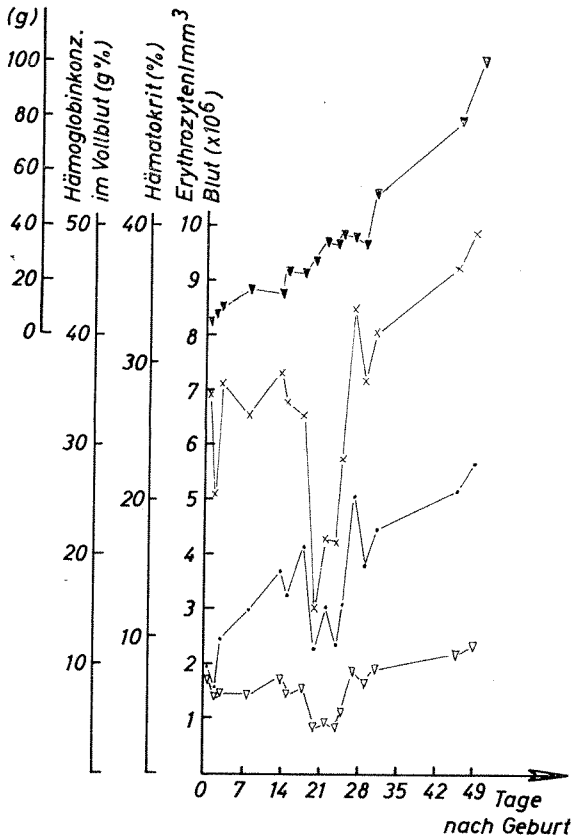


Abb. 8: Entwicklung der Erythrozytenparameter im Vollblut sowie Gewichtszunahme der Ratten nach Geburt. Erythrozytenzahl/mm³ Vollblut (●–●), Mikrohämatokrit (×–×), Hämoglobinkonzentration im Vollblut (▽–▽), Rattengewicht (▼–▼).

Die charakteristischen Einbrüche in den Verlaufskurven der hämatologischen Erythrozytenparameter im Vollblut (Abb. 8, Tab. 3) sowie die Veränderungen des mittleren Hämoglobingehalts und der mittleren Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (Abb. 4 und 5) zwischen dem 18. und 31. Tag nach Geburt haben keinen Einfluß auf das unverändert zunehmende Körpergewicht (Abb. 8, Tab. 3) als empfindlichem Maß für eine ungestörte Entwicklung der Ratten. Bemerkenswert ist, daß die hämatologischen Parameter um den 31. Tag nach Geburt Werte erreichen, die einer harmonischen Fortführung der bis zum 18. Tag aufgetretenen Kurven entsprechen. Beides läßt vermuten, daß es sich bei den beschriebenen Vorgängen um sehr feinfühlig aufeinander abgestimmte physiologische Regelungsmechanismen handelt, die schließlich nicht die Ausgangswerte vor den Einbrüchen, sondern die in der Zwischenzeit veränderten Sollwerte herbeiführen.

Frau I. *Garms* und Frl. S. *König* sei für ihre geschickte technische Assistenz sehr gedankt. Dem Bundesministerium für Bildung und Wissenschaft danken wir für die Unterstützung der Arbeit.

Zusammenfassung

1. Auf Grund der Analyse der Volumenverteilungskurven von Rattenerythrozyten lassen sich vom 1. bis 320. Tag nach der Geburt insgesamt 5 normalverteilte, volumenmäßig unterscheidbare Erythrozytenpopulationen nachweisen. Bei der Geburt

sind 3 Populationen I bis III vorhanden, die durch linearen Volumenverlust mit der Zeit immer kleiner werden und bei einem kritischen mittleren Volumen von etwa 36 μ^3 aus der Zirkulation verschwinden. Der Volumenverlust ist sehr wahrscheinlich einer morphologisch nachweisbaren Erythrozytenfragmentierung zuzuschreiben. In der Zeit vom 20. bis 24. Tag nach der Geburt treten 2 neue Populationen IV und V auf, von denen die Population V die Endbevölkerung darstellt, während der Anteil von Population IV um den 84. Tag so gering wird, daß sie nicht mehr mit Sicherheit nachweisbar ist.

2. Das Auftreten und Verschwinden mehrerer Erythrozytenpopulationen führt zwischen dem 18. und 31. Tag nach der Geburt zu vorübergehenden Einbrüchen im Kurvenverlauf bei verschiedenen Erythrozytenparametern im Blut, nicht aber zu einer Beeinträchtigung der Gewichtszunahme der Tiere. Daraus wird geschlossen, daß es sich beim Auftreten und Verschwinden der verschiedenen in ihrer Funktion und Herkunft noch weitgehend unbekannten Erythrozytenpopulationen um physiologische Regelungsvorgänge handelt.

Summary

1. The volume distribution curves of erythrocytes from rats of ages from 1 to 320 days were analysed. Five populations of erythrocytes, possessing different volumes, were observed. All populations showed a Gaussian distribution. The populations I, II and III are present at birth. They show a linear loss in cell volume and disappear from circulation when the mean cellular volume approaches about 36 μ^3. The volume loss is probably due to erythrocyte fragmentation. From day 20 to 24 after birth, two new populations IV and V appear. Population IV disappears at about 84 days of age; population V is the final erythrocyte population.
2. Between 18 to 31 days after birth the appearance and disappearance of several erythrocyte populations in the blood is accompanied by a marked drop in microhematocrit, hemoglobin and erythrocyte/mm^3, the weight increase of the rat, which is a sensitive indicator of an undisturbed growth, is not affected.
3. It is concluded that the appearance and disappearance of different rat erythrocyte populations of yet unknown origin and function, reflect physiological regulation mechanisms.

Literatur: 1 Boroviczény, von, K. G.: Erythrocytometric Methods and their Standardization, S. Karger Verlag, Basel 1964. — 2 Ganzoni, M.: Experimentelle Medizin, Pathologie und Klinik, Bd. 31, Springer-Verlag, Berlin–Heidelberg–New York 1970. — 3 Hunter, J. A. and J. Paul: J. Embryol. exp. Morph. *21*, 361 (1969). — 4 Kachel, V., H. Metzger und G. Ruhenstroth-Bauer: Z. ges. exp. Med. *153*, 331–347 (1970). — 5 LeGO, A. et R. LeGO: XIII. Internat. Hämatologie-Kongreß, München 1970. — 6 Lucarelli, G., D. Howard and F. Stohlman jr.: J. clin. Invest. *43*, 2195–2203 (1964). — 7 Lucarelli, G., A. Porcellini, C. Carnevali, A. Carmena and F. Stohlman jr.: Ann. N.Y. Acad. Sci. *149*, I, 544–559 (1968). — 8 Matoth, Y. and R. Zaizov: Isr. J. Med. Sci. *7*, 839–845 (1971). — 9 Weed, R. I. and C. F. Reed: Amer. J. Med. *41*, 681–698 (1966). — 10 Zaizov, R. and Y. Matoth: Isr. J. med. Sci. *7*, 846–849 (1971).

Anschr. d. Verff.: G. Valet, H. Metzger, V. Kachel und G. Ruhenstroth-Bauer, Max-Planck-Institut für Biochemie, D-8000 München 15, Goethestr. 31.

Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung, sowie Nachdruck und fotomech. Wiedergabe vorbehalten.