

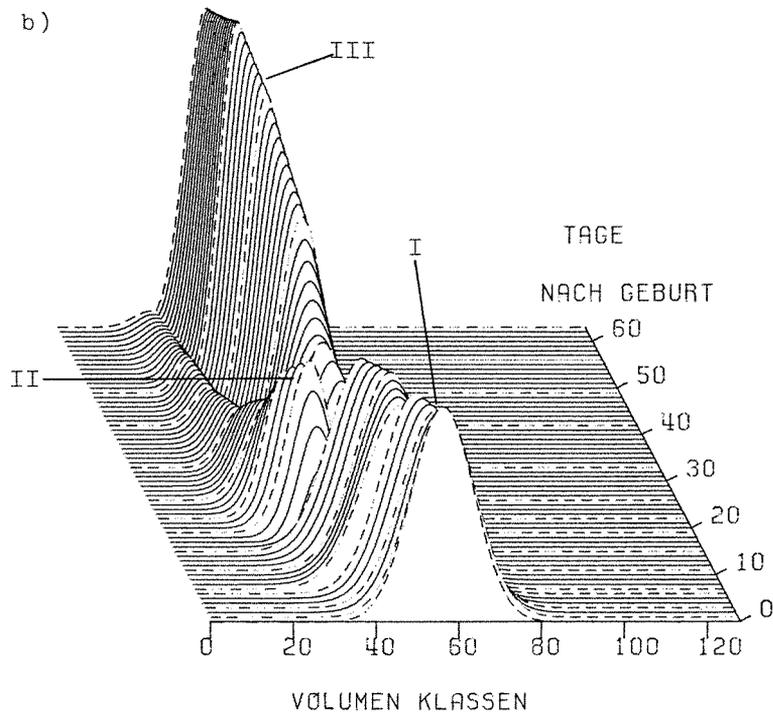
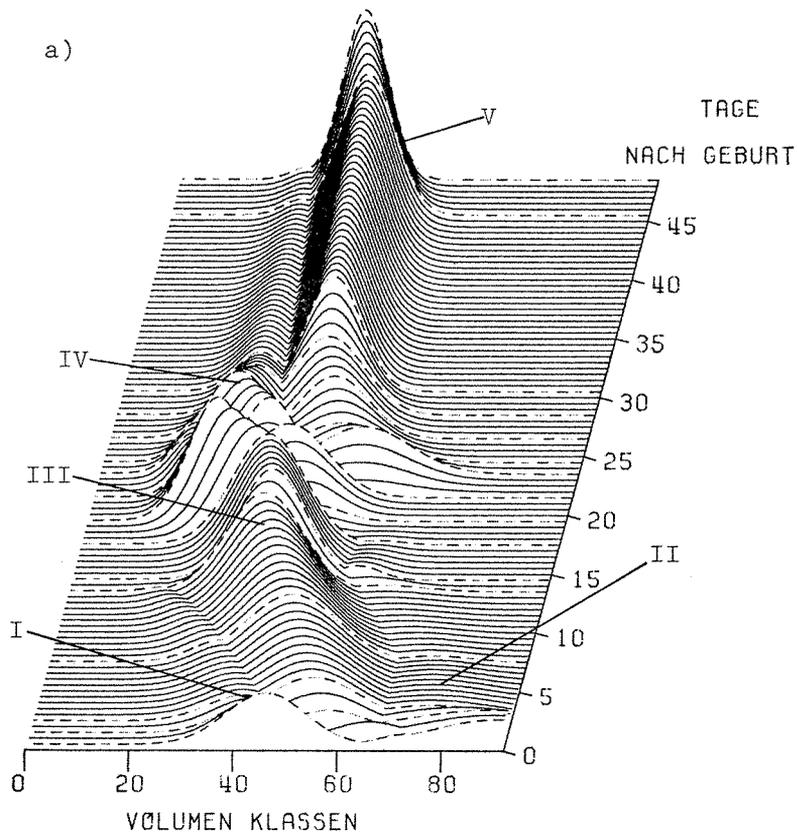
## **Ein neues Konzept der Hämatopoese im Säugetierorganismus während der Nachgeburtphase: Nachweis mehrerer Volumenpopulationen der Erythrozyten bei Ratten, Mäusen, Meerschweinchen, Kaninchen, Schafen und Ziegen**

Günter Valet, Gisela Hanser und Gerhard Ruhenstroth-Bauer

Die hämatopoetische Entwicklung im Säugetierorganismus ist bei der Geburt noch nicht abgeschlossen. Im erythropoetischen System ändern sich eine Reihe von Parametern: z. B. wird das fötale Hämoglobin langsam durch adultes Hämoglobin ersetzt [1]. Weiterhin können sich Membrantigene [7], Enzymkonzentrationen [5] und andere Zellinhaltsstoffe [5] ändern. Auch im leukopoetischen System erreicht der Organismus die volle Immunkompetenz erst nach einiger Zeit [6]. Es fragt sich, wie diese Übergänge vonstatten gehen. Zwei grundsätzliche Mechanismen kommen in Frage: die Änderung von Zellparametern kann a) dadurch zustande kommen, daß eine Zellart von Tag zu Tag mit gering veränderten Parametern produziert und in die Blutbahn ausgestoßen wird, oder b), daß der Organismus zunächst Zellen mit einer Art von Parametern produziert und von bestimmten Zeitpunkt an auf eine neue Zellpopulation umstellt, die die neuen Parameter aufweist; die erste Population stirbt mit der Zeit ab. Bisher ist man experimentell nicht in der Lage gewesen, zwischen beiden Möglichkeiten sicher zu unterscheiden. Im folgenden wird gezeigt, daß der Säugetierorganismus bei der erythropoetischen Entwicklung nach der Geburt die zweite Möglichkeit benützt. Zu dieser Erkenntnis hat die Entwicklung schneller Durchflußzytometer [2] wesentlich beigetragen. Sie ermöglichen mit einer Meßgeschwindigkeit von 1000 bis 2000 Zellen/sec in kurzer Zeit die Untersuchung repräsentativer Stichproben. Die folgenden Messungen wurden mit einem in unserer Abteilung entwickelten elektrischen Volumenmeßgerät „Metricell“ [4] durchgeführt.

Der Ausgangspunkt unserer Untersuchungen war die Beobachtung, daß sich die Volumenverteilungskurven der peripheren Erythrozyten von Säugern nach der Geburt deutlich ändern [9, 10, 12]. Zur Auswertung der Volumenverteilungskurven wurde ein Computerprogramm ausgearbeitet [10].

Bei der Ratte [14] sind die Erythrozyten nach der Geburt größer als beim erwachsenen Tier, die Verteilungskurven sind im Laufe der Entwicklung zwei- oder manchmal auch dreigipfelig, was das Vorhandensein von verschiedenen Erythrozytenpopulationen mit unterschiedlichem mittleren Volumen anzeigt. Wenn man die Volumenverteilungskurven der peripheren Erythrozyten in den ersten 8 Wochen nach Geburt laufend verfolgt, ergeben sich *fünf* aufeinanderfolgende Volumenpopulationen (Abb. 1 a). Die letzte Population ist die endgültige, die während des gesamten erwachsenen Lebens der Ratte erhalten bleibt. Nach einer Ganzkörperbestrahlung der erwachsenen Ratte kommt eine neue Population M zum Vorschein, die im Laufe der Zeit wieder verschwindet, ohne in die Erwachsenenpopulation überzugehen [13]. Gleiches gilt für eine überstürzte Erythropoese nach Aderlaß [8].



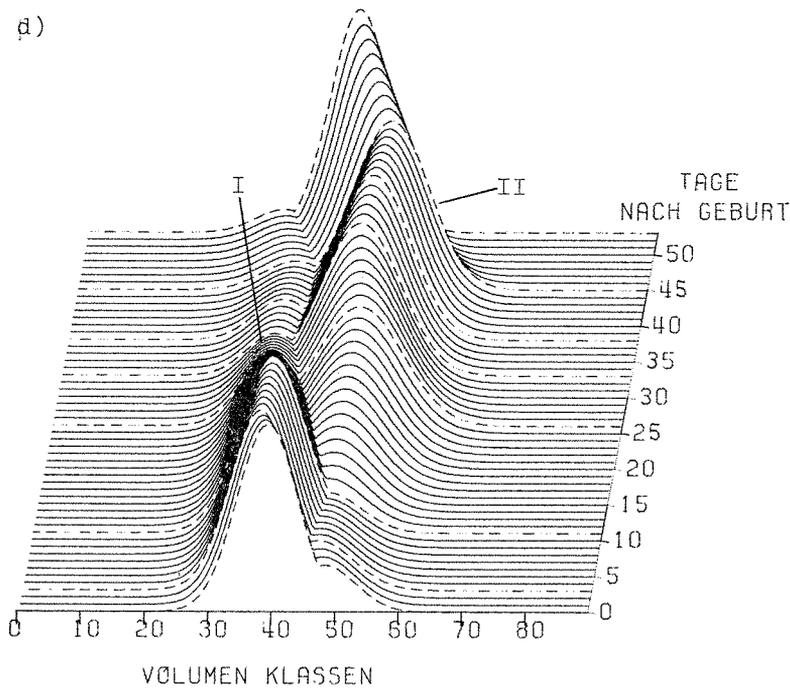
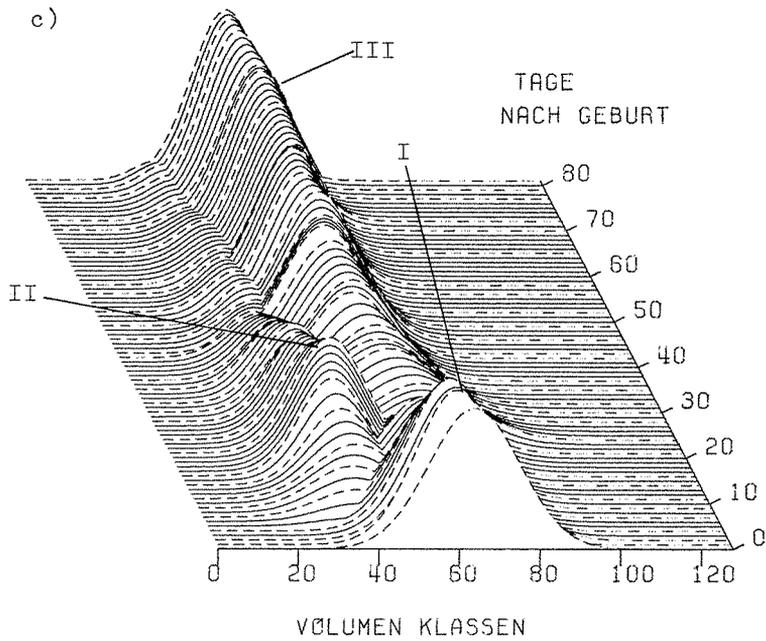


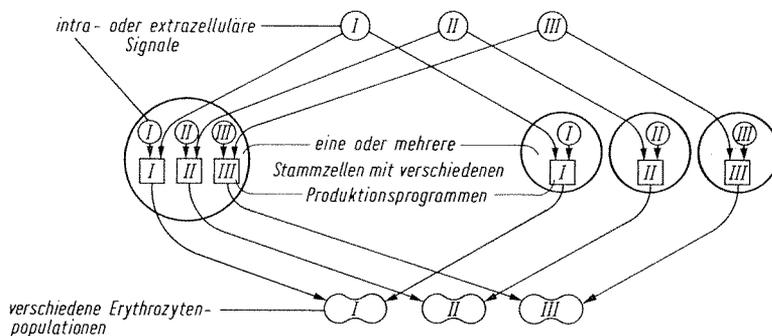
Abb. 1: Entwicklung der Erythrozytenvolumenpopulationen im peripheren Blut der Ratte (1a), der Kaninchens (1b), des Schafes (1c) und des Meerschweinchens (1d). Für diese Zeichnungen wurden die gemessenen Volumenverteilungskurven (gestrichelte Kurven) hintereinander aufgezeichnet. Die durchgezogenen Kurven wurden durch lineare Interpolation zur Erhöhung der deidimensionalen Eindrucks errechnet. Auf der nach rechts weisenden Achse ist das Volumen, nach hinten sind die Tage nach der Geburt und nach oben ist die Häufigkeit der Erythrozyten bei den verschiedenen Volumina aufgetragen. In allen Fällen entstehen und verschwinden die Erythrozytenvolumenpopulationen in einer kontinuierlichen Entwicklung. Am Ende bleibt eine einzige Erythrozytenvolumenpopulation des erwachsenen Tieres übrig.

Die Zahl der Erythrozytenpopulationen ist bei den verschiedenen Säugern nicht übereinstimmend: *drei* Populationen werden gefunden bei Maus, Kaninchen (Abb. 1b), Schaf (Abb. 1c) und Ziege; das Meerschweinchen hat nur *zwei* Populationen (Abb. 1d).

Neben dem mittleren Volumen können sich die Erythrozytenpopulationen voneinander je nach der Tierart auch in anderen Parametern wie der elektrophoretischen Beweglichkeit [9,11], der Antigenstruktur der Membran, den membranständigen Natrium-Kalium-Pumpen, der intrazellulären Natrium-Kalium-Konzentration und der Hämoglobinart [9] unterscheiden. Daraus geht hervor, daß es sich beim Auftreten verschiedener Populationen um eine Multiparameter-Umschaltung der Differenzierung handelt.

Die Erythrozytenpopulationen gehen im peripheren Blut nicht ineinander über [9]. Die bei der Geburt schon vorhandenen Populationen werden bei der Ratte wahrscheinlich von der Leber produziert. Nach der Geburt können die Populationen gleichzeitig in der Milz und im Knochenmark entstehen [3], wobei nach den bisherigen Ergebnissen nur die Populationen 4 und 5 erythropoetinsensitiv sind [8]. Auch das leukopoetische System ist von den Vorgängen betroffen: die periphere Leukozytenkonzentration sinkt bei der Ratte zur Zeit des Wechsels der Erythrozytenpopulationen deutlich ab. Außerdem ändern sich *synchron* mit dem Auftreten neuer Erythrozytenpopulationen das Differentialblutbild, die Volumenverteilungskurven der Knochenmark- und Milzzellen und das mittlere Volumen der peripheren Blutleukozyten [8]. Diese Veränderungen im leukopoetischen System deuten darauf hin, daß die Umschaltvorgänge der Differenzierung bereits auf dem Stammzellniveau wirksam sind.

Zwei mögliche Wege der Realisierung der verschiedenen Genaktivierungsmuster sind in Abb. 2 wiedergegeben. Einmal könnte es *eine* Stammzelle geben, die alle Produktionsprogramme verwirklichen kann, zum anderen könnten mehrere Stamm-



Zellvolumen	hoch	niedrig	hoch
elektrophor. Beweglichkeit	niedrig	intermediär	hoch
L-, M-Antigen Expression	niedrig	intermediär	hoch
K <sup>+</sup> -Konzentration	hoch	intermediär	niedrig
Haemoglobin	HbF	HbC	HbA

Abb. 2: Hypothetisches Konzept der Bildung der verschiedenen Erythrozytenpopulationen im jungen Schaf. Extra- und/oder intrazelluläre Signale wirken entweder auf *eine* Stammzelle (links), die alle Programme verwirklichen kann, oder auf *mehrere* Stammzellen (rechts), von denen jede nur ein Produktionsprogramm realisiert. In beiden Fällen entstehen Erythrozytenpopulationen, die jeweils durch ein anderes Parameterraster gekennzeichnet sind.

zellen existieren, von denen jede ein bestimmtes Programm ablaufen lassen kann. Die Umstellung auf ein anderes Programm würde in beiden Fällen durch extra- oder intrazelluläre Signale erfolgen. Beide Mechanismen würden zu verschiedenen Erythrozytenpopulationen führen, die, wie am Beispiel des Schafes dargestellt, sich in verschiedenen Parametern unterscheiden (Abb. 2).

Das praktische Interesse an einem Mechanismus der postnatalen hämatopoetischen Entwicklung ist dadurch gegeben, daß bei einer ganzen Reihe von hämatologischen Erkrankungen die Differenzierung plötzlich verändert ist oder auch maligne entartet. Diagnostisch sind solche Zustände erkennbar, therapeutisch steht man ihnen jedoch häufig machtlos gegenüber, weil man über den Mechanismus, der zu einer Differenzierungsumschaltung führt, nur wenig weiß. Dies kommt nicht zuletzt daher, daß Umschaltungen der Differenzierung bisher nur im Embryonalorganismus beschrieben worden sind, wo sie einem biochemischen Studium weitgehend entzogen sind. Im Gegensatz dazu ist die hier beschriebene Differenzierungsumschaltung ein postnataler Vorgang, der bei den Säugetieren physiologischerweise weit verbreitet ist, und der ohne große experimentelle Schwierigkeiten studiert werden kann. Es ist von wesentlichem Interesse, die Natur der Differenzierungssignale zu erforschen, da deren Kenntnis zum besseren Verständnis des Biochemismus von Differenzierungsumschaltungen beitragen wird.

#### Literatur

1. Blunt M. H. & Huisman T. H. J.: The haemoglobins of the sheep. In: The blood of the sheep, Herausgeber M. H. Blunt, Springer Verlag, Berlin 1975, S. 155–183.
2. Mitteilungen der IV. Conference on automated cytology. Asilomar 1975. *J. Histochem. Cytochem.* 24, 211 (1976).
3. Hanser G., Valet G., Boss N. & Ruhenstroth-Bauer G.: Origin and regulation of the different erythrocytes volume populations in the newborn rat, XV. Congress Int. Soc. Hematology, Jerusalem 1974, S. 318 Abstr.
4. Kachel V.: Basic principles of electrical sizing of cells and particles and their realization in the new instrument "Metricell", *J. Histochem. Cytochem.* 24, 211 (1976).
5. Lindsay D. B. & Leat W. M. F.: Carbohydrate and lipid metabolism, in: The blood of the sheep, Herausgeber M. H. Blunt, Springer Verlag, Berlin 1975, S. 45–62.
6. Park B. H. & Good R. A.: I. Principles of basic immunology, the influence of nutritional deficiency and ageing. In: Principles of modern immunobiology, Lea and Febiger, Philadelphia 1974, S. 189–199.
7. Tucker E. M.: Genetic markers in the plasma and red blood cells. In: The blood of the sheep, Herausgeber M. H. Blunt, Springer Verlag, Berlin 1975, S. 123–153.
8. Valet G., Hanser G., Schindler R., & Ruhenstroth-Bauer G.: in Vorbereitung.
9. Valet G., Franz G. & Lauf P. K.: Different red cell populations in newborn, genetically low potassium sheep: relation to haematological, immunological and physiological parameters and to erythropoietic differentiation (in Vorbereitung).
10. Valet G., Hofmann H. & Ruhenstroth-Bauer G.: The computer analysis of volume distribution curves, demonstration of two erythrocyte populations of different size in the young guinea pig and analysis of the mechanism of immune lysis of cells by antibody and complement, *J. Histochem. Cytochem.* 24, 231 (1976).
11. Valet G., Schindler R., Hanser G. & Ruhenstroth-Bauer G.: Several ery-

- throcyte populations of different mean volume in the young sheep and rat with different electrophoretic mobilities, Third meeting European and African Division Int. Soc. Haematology, London 1975, Abstr. 18:02.
12. Valet G., Hanser G., Metzger H., & Ruhenstroth-Bauer G.: Several erythrocyte volume populations in the blood of the newborn rat, mouse, guinea pig and in the human fetus, XV. Congress Int. Soc. Haematology, Jerusalem 1974, S. 317 Abstr.
13. Valet G., Metzger H., Kachel V. & Ruhenstroth-Bauer G.: Die Volumenverteilungskurven von Rattenerozyten nach Röntgenganzkörperbestrahlung. *Blut* 24, 274 (1972).
14. Valet G., Metzger H., Kachel V. & Ruhenstroth-Bauer G.: Der Nachweis verschiedener Erythrozytenpopulationen bei der Ratte. *Blut* 24, 42 (1972).

Anschr. d. Verf.: PD Dr. Günter Valet, Max-Planck-Institut für Biochemie, Abteilung für Experimentelle Medizin, D-8033 Martinsried bei München.