

by several authors for certain pathological blood samples, especially in the case of hemolytic anemias with spherocytes. This autohemolysis produced at 37° C is very strongly inhibited by ceruloplasma, as well in case of stored as of pathological blood. Chemical studies have been performed in order to define the mechanism of this protection.

Bibliographie

1. Holmberg, C.G. et Laurell, C.B.: Acta. chem. scand. 2: 550 (1948).
2. Steinbuch, M. et Quentin, M.: Nature 183: 323 (1959).
3. Sizer, I.W.: J. biol. Chem. 163: 145 (1946).
4. Sizer, I.W. et Wagley, P.F.: J. biol. Chem. 192: 213 (1951).
5. Holmberg, C.G. et Laurell C.B.: Acta chem. scand. 5: 921 (1951).

26

Die Bestimmung der Überlebenszeit frischer und gelagerter Erythrozyten

H. A. E. SCHMIDT, H. SCHMITT, M. MATTHES UND W. KEIDERLING
Freiburg i.Br., Deutschland

Beim Studium von Fragen der Blutkonservierung wird immer wieder das Problem der Beurteilung der Lagerungsfähigkeit von Vollblut aufgeworfen. Hierbei haben *In-vitro*-Untersuchungen bisher keine eindeutigen Ergebnisse gezeigt. Es wurde deshalb die Bestimmung der Überlebenszeit retransfundierter Erythrozyten zur Beurteilung der Wertigkeit von gelagertem Blut herangezogen. Methodisch bieten sich hierzu folgende Möglichkeiten an: 1. die von *Ashby* 1929 inaugurierte Differential-Agglutination, 2. die erstmals von *Gray* und *Sterling* 1950 angewandte Markierung der Erythrozyten mit Na-Chromat. Die Radiochrommethode bietet infolge ihrer Einfachheit und ihrer Verwendbarkeit bei Vorliegen gleicher Blutgruppen gewisse Vorteile. Andererseits werden durch den Markierungsvorgang unter Umständen Alterationen oder gar Läsionen der Erythrozyten gesetzt, die zu einer Verfälschung der Meßergebnisse führen können.

Aus diesem Grunde haben wir zunächst eingehende Untersuchungen über die Radiochrom-Aufnahme und -Bindungsfähigkeit der Erythrozyten unter besonderer Berücksichtigung der bei der Blutkonservierung vorliegenden Verhältnisse durchgeführt. Es zeigte sich, wie in Abb. 1 dargestellt, daß nach Bebrüten von deplasmatisiertem Vollblut mit Radiochrom nach 30 min 96,4 % der angebotenen Radiochrommenge in den Erythrozyten zu finden ist, wenn die Inkubationstemperatur 37° C beträgt. Bei Zimmertemperatur wird der Wert von 95,3 % erst nach 60 min erreicht, und bei 4° C ist auch nach 120 min nur eine Radiochromaufnahme von 92,2 % zu beobachten. Es ist weiterhin zu sehen, daß die Impulsraten in Überstand und Waschlösung mit zunehmendem Einbau abnehmen.

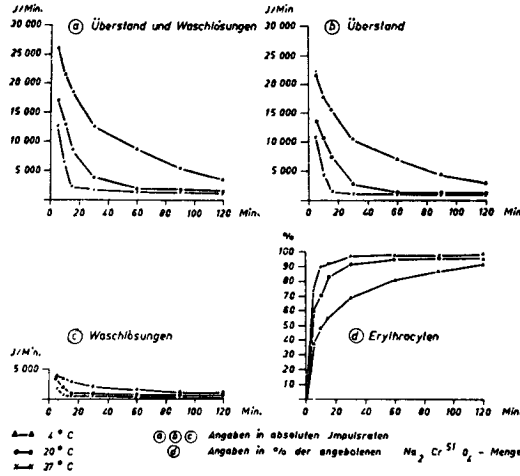


Fig. 1. Aufnahme von $\text{Na}_2\text{Cr}^{51}\text{O}_4$ durch Erythrozyten (deplasmatisiertes Vollblut).
(Mittelwerte von jeweils 3 Versuchsserien.)

Da das Deplasmatisieren nur durch vorheriges Zentrifugieren möglich ist und dieses u. U. eine Schädigung der Erythrozyten setzt, wurde der Radiochromeinbau in die Erythrozyten bei Inkubation von Vollblut geprüft. Wie Abb. 2 zeigt, ist auch hier der Einbau von der Temperatur sowie von der Inkubationsdauer abhängig. Außerdem geht aus der Abbildung hervor, daß die maximale Aufnahme in diesem Fall um 4,5 bzw. 6,5 % niedriger liegt als bei Verwendung einer reinen Erythrozytensuspension.

Bei der üblicherweise verwandten Technik der Radiochrommarkierung erfolgt nach der Inkubation eine dreimalige Waschung der Erythrozyten mit physiol. Kochsalzlösung, um vor der Retransfusion das nicht zellulär gebundene Radiochromat zu entfernen, da sonst im Empfängerkreislauf körpereigene Erythrozyten durch das überschüssige sechswertige Radiochrom zusätzlich markiert würden. Read konnte 1954 zeigen, daß dreiwertiges Chrom nicht in der Lage ist, die Zellmembran der Erythrozyten zu passieren. Wird also überschüssiges Radiochromat

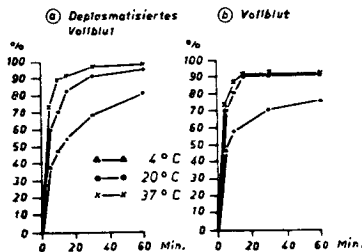


Fig. 2. Aufnahme von $\text{Na}_2\text{Cr}^{51}\text{O}_4$ durch Erythrozyten (Mittelwertskurven von jeweils 3 Versuchsserien, Angaben in % der angebotenen $\text{Na}_2\text{Cr}^{51}\text{O}_4$ -Menge).

durch Zusatz von Ascorbinsäure reduziert, so kann dadurch ein weiterer unerwünschter Einbau von Radiochrom verhindert werden. Wie Abb. 3 zeigt, wird der Radiochromeinbau in die Erythrozyten durch Zusatz von Ascorbinsäure in Konzentrationen von 5 mg/ml Blut unterbrochen. Eine bereits erfolgte Bindung des Radiochroms in den Erythrozyten wird durch den Ascorbinsäurezusatz nicht beeinflusst.

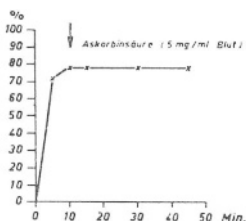


Fig. 3. Wirkung von Ascorbinsäure auf die $\text{Na}_2\text{Cr}^{51}\text{O}_4$ -Aufnahme von Erythrozyten (Angaben in % der angebotenen $\text{Na}_2\text{Cr}^{51}\text{O}_4$ -Menge).

Weitere Versuche sollten zeigen, wo das Radiochrom innerhalb des Erythrozyten gebunden wird. Wie aus Abb. 4 ersichtlich, fand sich das Radiochrom bei unseren Experimenten quantitativ an das Hämoglobin gebunden, während im

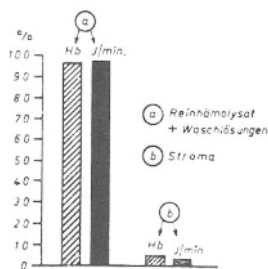


Fig. 4. Verteilung von Cr^{51} auf Reinhämolyat und Stroma. Beziehungen zwischen Hb-Gehalt und Impulsraten (Angaben in % des Vollhämolyats).

Stroma nur eine dem Restgehalt an Hämoglobin entsprechende Impulsrate enthalten war. Auch elektrophoretisch decken sich Impulskurve und Extinktionskurve des radioaktiv markierten Hämoglobins (Abb. 5).

Wird das Hämoglobin in Häm und Globin aufgetrennt, so zeigt sich, daß das Radiochrom zu über 90 % an das Globin gebunden ist (Abb. 6).

Die bisher besprochenen Ergebnisse wurden an Frischblutkonserven gewonnen. Genau die gleichen Verhältnisse fanden sich bei Untersuchungen an bis zu sechs Wochen unter den üblichen Bedingungen gelagerten Blutkonserven, so daß der Schluß berechtigt ist, daß die Na-Chromataufnahme der Erythrozyten und die Bindung im Erythrozyten bei frischen und gelagerten Erythrozyten keine Differenzen aufweist.

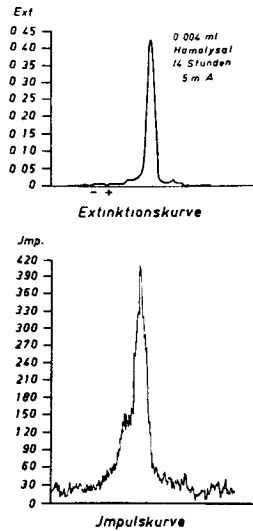
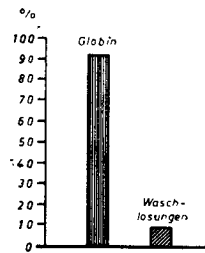


Fig. 5. Hämoglobin-Elektrophorese.

Fig. 6. Cr^{51} -Gehalt des Globins und der Hämatin enthaltenden Waschlösungen (Angaben in % des Reinhämolyсата).

Wir führten sodann Überlebenszeitbestimmungen gelagerter Blutkonserven durch und fanden, wie Abb. 7 zeigt, daß mit zunehmender Lagerungszeit die Überlebensrate verkürzt wird. Die Deutung der in der Literatur mitgeteilten Überlebenszeiten transfundierter gelagerter Erythrozyten ist nicht ganz einfach, da bei Waschen der Konserve nach erfolgter Radiochrom-Inkubation die bereits durch die Lagerung vorgeschädigten Erythrozyten der Hämolyse anheimfallen, so daß eine scheinbar längere Überlebenszeit resultiert. In Abb. 8 sind die eben besprochenen Verhältnisse bei einer 5 Wochen alten Konserve dargestellt. Wie aus der Abbildung weiter hervorgeht, können sich bei Zugrundelegen des 24-Stunden-Wertes als Ausgangswert für die Bestimmung der Überlebenszeit wesentlich längere Zeiten ergeben, als de facto vorhanden sind, da während der ersten 24 Stunden bereits der größte Teil der Erythrozyten gealterten Blutes abgebaut wird.

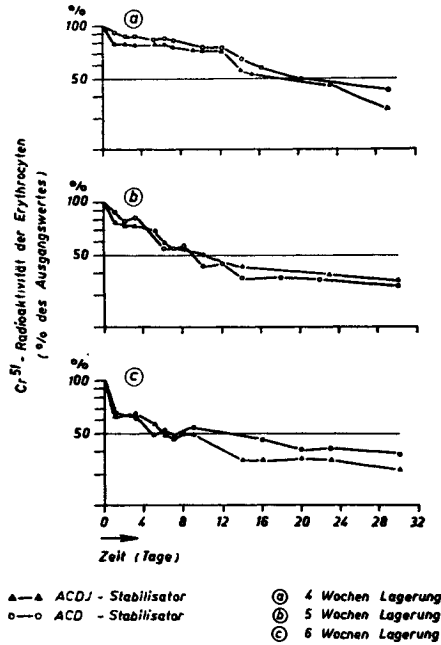


Fig. 7. Überlebenszeit retransfundierter autologer Erythrozyten nach Lagerung bei 4° C ($\text{Na}_2\text{Cr}^{51}\text{O}_4$ -*in-vitro*-Markierung).

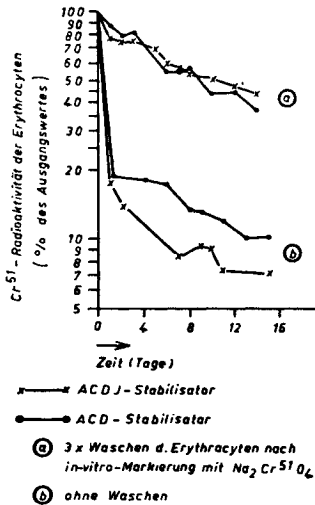


Fig. 8. Einfluß des Waschens nach der *In-vitro*-Markierung von 5 Wochen gelagerten Erythrozyten auf den Verlauf der Lebenszeitkurven.

Eine Radiochrommarkierung von gelagerten Blutkonserven zur Bestimmung der Überlebenszeit ist nach dem vorgelegten Untersuchungsmaterial ohne weiteres möglich, da die Verhältnisse nicht von denen bei der Frischblutmarkierung abweichen. Allerdings sollte auf die Entfernung überschüssigen Radiochromats durch Waschen verzichtet und dieses durch Reduktion des sechswertigen Chroms zu dreiwertigem mittels Ascorbinsäure ersetzt werden. Bei der Beurteilung der Überlebenszeit retransfundierter gelagerter Erythrozyten sollte in jedem Falle vom 15-Minuten-Wert – oder einem vergleichbaren Wert – ausgegangen werden, da bei der Wahl des 24-Stunden-Werts als Ausgangsbasis der Lebenszeitkurve enorm überhöhte Werte ermittelt werden.

Summary

During studies on the possibility of storing blood, the survival time was determined for fresh and preserved blood. The method mainly used was the easy one of tagged radiochrome. Furthermore, detailed studies were also performed on the percentage of Cr⁵¹ taken in and its bonds with erythrocytes, as well as on the possibility of using vitamin C (ascorbic acid) to interrupt assumption of Cr⁵¹. The survival rate was determined after transfusion of tagged erythrocytes, partly comparing with *Ashby's* technique. The results are reported.

Literaturverzeichnis

1. *Ashby, W.*: The determination of the length of transfused blood corpuscles in man. *J. exp. Med.* 29: 267 (1919).
2. *Gray, S. J.* and *Sterling, K.*: The tagging of red cells and plasma proteins with radioactive chromium. *J. clin. Invest.* 29: 1604 (1950).
3. *Read, R. C.*; *Wilson, G. W.* and *Gardner, F. H.*: The use of radioactive sodium chromate to evaluate the life span of the red blood cell in health and in certain hematological disorders. *Amer. J. med. Sci.* 228: 40 (1954).

27

Effect of Inosine on Red Cell Preservation

ROBERT D. LANGE, WILLIAM H. CROSBY, DENNIS M. DONOHUE, CLEMENT A. FINCH,
JOHN G. GIBSON II, THOMAS J. McMANUS AND MAX M. STRUMIA
St. Louis, Missouri, USA

The addition of inosine, a nucleoside purine, to acid-citrate-dextrose solution has been proposed as a means for prolonging the storage period of blood used for transfusion purposes. Inosine appears to affect the carbohydrate and phosphate metabolism of the erythrocyte and thereby improve the viability of stored red cells.

Since an increase in the outdating period of blood would be of great value, this study was undertaken by four different laboratories in order to compare acid-