

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
9. Jg., S. 324—328, Juli 1971

Zur Gewinnung „plättchenreicher Plasmen“ für Thrombocyten-Zählungen und -Funktionsprüfungen¹⁾

VON V. SCHULZ, K. KOCHSIEK, H. KÖSTERING UND CH. WALTHER

Medizinische Universitätsklinik und Poliklinik Göttingen

(Eingegangen am 25. März 1971)

Es wird eine standardisierte Methode zur Gewinnung kleiner Mengen „plättchenreicher Plasmen“ beschrieben. Diese „plättchenreichen Plasmen“ sind die Grundlage einer einfach durchführbaren, rationellen Methode zur Thrombocytenzählung. Die Standardmethode wird wie folgt durchgeführt: Venenblut wird im Verhältnis 1:5 mit einer unter „Methodik“ beschriebenen EDTA-Dextran-NaCl-Lösung versetzt. Dieses Gemisch läßt man etwa 1 Std. „vorsedimentieren“. Danach wird es 10 Min. bei 100 g zentrifugiert. Das im Überstand befindliche „plättchenreiche Plasma“ ist dann nahezu frei von Blutzellen. Die Plättchen sind darin homogen verteilt. Ihre Konzentration ist der Thrombocytenzahl der jeweiligen Blutprobe proportional. Es ergibt sich eine charakteristische nephelometrisch meßbare Trübung im Überstand. Nach einer zweiten Zentrifugation von 10 Min. bei 1500 g ist der Plasmaüberstand nahezu plättchenfrei und kann als „Leerwert“ verwendet werden.

The preparation of platelet-rich plasma for platelet counts and tests of platelet function

A standardised method is described for obtaining small amounts of "platelet-rich plasma". This preparation forms the basis of a simple, rational method for thrombocyte counting. Venous blood is mixed in the proportion 1:5 with an EDTA-dextran-NaCl solution. This mixture is allowed to stand about 1 hour for presedimentation, then centrifuged for 10 min at 100 g. The supernatant represents the "platelet-rich plasma" and it is practically free from blood cells. The platelets are distributed homogeneously within this preparation and their concentration is proportional to the thrombocyte count of the original blood sample. The supernatant has a characteristic turbidity, which can be measured nephelometrically. The platelet-rich plasma is practically cleared of platelets by a second centrifugation for 10 min at 1500 g and it can then be used as a blank.

Einige Verfahren der Thrombocytenzählung (1, 2, 3) und -Funktionsprüfung (4—7) gehen von sogenannten „plättchenreichen Plasmen“ aus.

Bei der Herstellung „plättchenreicher Plasmen“ werden in einem Teil einer Blutprobe, dem „Plasmaüberstand“, Zellen und Plättchen als „korpuskuläre Blutfraktionen“ voneinander getrennt. Diese Trennung kann mehr oder weniger vollständig sowohl im Schwerfeld der Erde (Spontansedimentation), als auch mit Hilfe einer Zentrifuge ablaufen. Dabei sollen die Blutplättchen möglichst wenig, die Blutzellen dagegen möglichst vollständig aus dem Überstand heraussedimentieren. Die Voraussetzung für diese „Blutfractionierung“ ist neben der unterschiedlichen Größe der Zellen das andersartige Aggregationsverhalten, das besonders die Thrombocyten und die Erythrocyten voneinander unterscheidet (8, 9, 10).

Material und Methodik

Material

Es wurde nur frisches Venenblut verwendet. Die Venenpunktion erfolgte mit Kanülen Nr. 1. 1,6 ml Blut wurden jeweils in eine 2 ml Spezialspritze²⁾ aufgezogen. Die Spritzen enthielten je 0,4 ml einer blutisotonischen Lösung, die in Anlehnung an frühere Untersuchungen (5, 8, 9, 11, 18) die folgende Zusammensetzung hatte:

Dinatriumäthylendiamintetraacetat (EDTA, Titriplex III der Firma Merck)	0,75 g
Dextran (Dextran 150, Pharmacia, Uppsala)	1,25 g
NaCl	0,75 g
dest. Wasser	ad 100,00 ml

¹⁾ Die Arbeit enthält Teile der Inauguraldissertation von V. SCHULZ.

Für die in der Tabelle 1 wiedergegebene Versuchsanordnung wurde der Dextrananteil der Lösung verändert (10; 2,5; 0,625; 0,3125 g/100 ml). Entsprechend der Verdünnung der Lösungen im Blut im Verhältnis 1:5 bedeutete dies eine Dextranendkonzentration im Blut von 2,0; 0,5; 0,125 und 0,0625 g/100 ml, bei der routinemäßig verwendeten Dextranlösung berechnet sich der Dextrananteil im Blut auf 0,25 g/100 ml.

Direkt nach der Blutentnahme wurde der Spritzeninhalt durch mehrfaches Kippen gut durchmischt, der Kanülenansatz durch zentrifugenfeste Plastikkappen²⁾ verschlossen, der Stempel entfernt und der Spritzenzylinder mit Inhalt in einen Ständer bei Raumtemperatur zur „Vorsedimentation“ gebracht.

Die weitere Verarbeitung der Blutproben erfolgte 1 bis 3 Stdn. nach der Blutentnahme.

Für die unter der Tabelle 3 beschriebene Versuchsanordnung wurden außerdem Proben erst 6 und 10 Stdn. nach der Blutentnahme weiterverarbeitet.

Zentrifugation

Die „vorsedimentierten“ Blutproben wurden in den Spritzenzylindern (innerer Durchmesser 10 mm) bei Raumtemperatur zentrifugiert.

Die Laufzeiten der Zentrifuge betragen jeweils 10 Min. Für die unter der Tabelle 2 beschriebene Versuchsanordnung wurden außerdem Zentrifugationen über 20 und 30 Min. durchgeführt.

Die relativen Zentrifugenbeschleunigungen wurden für den inneren Radius der zentrifugierten Blutsäulen berechnet. Sie betragen für die als „Leerwerte“ in die Messungen eingehenden „plättchenarmen Plasmen“ einheitlich 1500 g ($1 g = 981 \text{ cm} \cdot \text{sec}^{-2}$).

Für die Zentrifugation der „plättchenreichen Plasmen“ („Hauptwerte“) betragen sie jeweils 100 g. Für die unter der Abbildung 1 beschriebene Versuchsanordnung wurden außerdem „Hauptwerte“ mit 50, 150, 200, 250, 300 und 600 g hergestellt.

Nephelometrie

0,1 ml der nach der Zentrifugation vorliegenden Plasmaüberstände wurden mit Konstriktions-Pipetten in 3 ml physiol. NaCl-

²⁾ Fa. Braun, Melsungen.

Für das neue,
im Jahre 1972 zu beziehende
Robert-Bosch-Krankenhaus,
Stuttgart,
suchen wir den

Leiter des klinischen Zentral- laboratoriums

Das 460 Betten umfassende und nach dem Departementsystem strukturierte Allgemein-Krankenhaus mit Schwerpunkt Innere Medizin wird Krankenversorgung mit klinischer Forschung und Lehre verbinden. Ein wesentlicher Träger der Forschung wird das dem Krankenhaus zugeordnete Institut für Klinische Pharmakologie sein. Da der Leiter des Zentrallabors sich an den gemeinsamen Forschungsvorhaben beteiligen soll, erwarten wir von ihm nicht nur Erfahrung in der Leitung eines klinischen Zentrallaboratoriums, sondern auch Interesse an klinisch orientierter Forschung.

Wir suchen in erster Linie einen klinischen Chemiker, der jedoch approbierter Arzt sein soll und gute Kenntnisse und Erfahrungen auf dem Gebiet moderner analytischer Methoden mitbringt. Zu seinen Aufgaben wird auch die Beteiligung an der Weiterbildung der Ärzte und des medizinisch-technischen Personals unseres Hauses gehören.

Der Eintritt soll zum 1. 1. 1972 und noch im alten Krankenhaus erfolgen. Bewerbungen mit Lebenslauf, Unterlagen über Ausbildung und bisherige Tätigkeit und ein Verzeichnis der veröffentlichten Arbeiten sind zu richten an Verwaltungsdirektor Werner Brugger des Robert-Bosch-Krankenhauses, Stuttgart, Hahnemannstraße 1.

15000.- DM Etat für Spülfrau?

Das ist kein Seminar über Personalkosten, aber rechnen Sie:

- + Jahreseinkommen
- + Urlaubsgeld
- + Sozialabgaben
- + Krankheitsausfall
- + Personalwerbung

= viel zu viel.

um dafür Ihre Mitarbeiter Pipetten spülen zu lassen!

Micro-Caps sind Einmal-Pipetten

Micro-Caps kosten 28,75 Pfg./Stück

Micro-Caps sind innenkalibriert

Micro-Caps können daher längenproportional auf Volumen geschnitten werden

Micro-Caps haben keine Graduierung, denn

Micro-Caps nehmen exakt das angegebene Volumen auf. Ablesefehler gibt es also nicht.

Micro-Caps werden in folgenden Volumina in Packungen zu 100 Stück geliefert:

1 µl - 2 µl - 5 µl - 10 µl - 20 µl - 50 µl - 100 µl

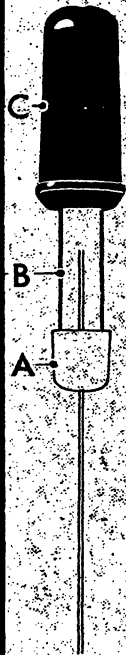
Zwischengrößen durch Abschneiden, denn

Micro-Caps sind innenkalibriert.

**Shandon
Labortechnik GmbH**

Frankfurt 50,

Karl-von-Drais-Straße 18, Tel. (06 11) 54 1065

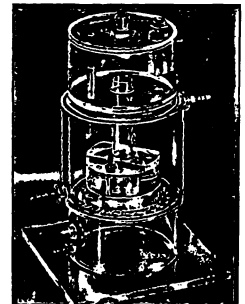


Discophor[®]

der programmierbare Disk-Elektrophorese-Automat EA 100 fährt wahlweise

- präparativ
- oder
- analytisch

und liefert bei präparativer Verwendung automatisch



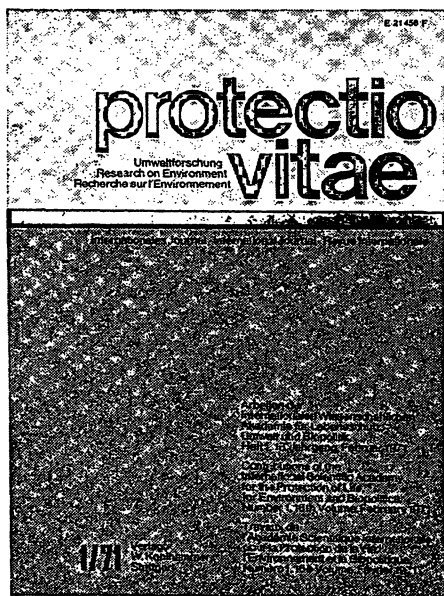
**konzentrationsgerechte Fraktionen
und quantitative Diagramme**

Fordern Sie Unterlagen an! Bei Ihrem Fachhändler oder direkt bei uns!

Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH
Dr. hab. K. Slevogt · 812-Weilheim · Tel. (0881) 26 38/27 84

Büros: 43 Essen K. Akemann, Lönsberg 22, Tel. (02141) 51 00 19
7407 Dusslingen b. Tübingen
W. Bohn, Farrenbergweg 5, Tel. (07128) 78 09
58 Hagen H. Duckstein, Hesterstraße 64, Tel. (02331) 4 58 57
635 Bad Nauheim H. Ballauff, Frankfurter Str. 39, Tel. (06032) 48 60

Das geht uns alle an: **die Aufgabe**
dem Menschen
eine gesunde Umwelt
zu erhalten!



Herausgeber:
 Internationale Wissenschaftliche
 Akademie für Lebensschutz, Umwelt
 und Biopolitik und die Internationale
 Gesellschaft für Erforschung von
 Zivilisationskrankheiten und Vital-
 stoffen.

»protectio vitae« zugleich 16. Jahr-
 gang von »Vitalstoffe und
 Zivilisationskrankheiten« erscheint
 seit Januar 1971 im Verlag
 W. Kohlhammer Stuttgart.

Themen wie:
 Zivilisationskrankheiten und
 Zivilisationsschäden, Umwelt-
 disharmonie, Boden-, Wasser- und
 Luftverschmutzung, radioaktive
 Strahlung, Lärmbelästigung,
 Naturschutz, Humanökologie,
 Lebensschutz und Biopolitik, sind
 keine neuen, aber durchaus wichtige
 Probleme. Bei der Lösung dieser
 Probleme mitzuhelfen, hat sich die
 neue Zeitschrift

»protectio vitae«
 Umweltforschung – Research on
 Environment – Recherche sur
 l'Environnement
 Internationales Journal –
 International Journal – Revue
 Internationale.

zum Ziel gesetzt.

»protectio vitae« erscheint
 dreisprachig mit Abbildungen.

Erscheinungsweise: jährl. 6 Hefte.
 Jahresabonnement DM 66,—,
 für Mitglieder der beteiligten
 Gesellschaften DM 54,—.
 Einzelheft DM 12,—,
 für Mitglieder DM 10,—.
 Zu allen genannten Preisen
 zuzüglich Versandkosten.

Fordern Sie ein kostenloses
 Probeheft an! Ihre Bestellung
 richten Sie an den Verlag
 W. Kohlhammer, 7 Stuttgart 1,
 Postfach 747



Verlag W. Kohlhammer
 Stuttgart · Berlin · Köln · Mainz

Lösung überpipettiert. Von den so hergestellten Plasmaverdünnungen wurden die Extinktionen („Hauptwert“ gegen „Leerwert“) mit einem Eppendorf-Photometer unter Einsatz der Rechteckblende 1770 für Trübungsmessungen ermittelt. Die Schichtdicke betrug 20 mm. Es wurde das Filter Hg 578 mm verwendet. Der Abstand von der Küvette zur Photozelle war mit 40 mm konstant. Unter diesen Bedingungen ist bei zellfreien Plättchensuspensionen die gemessene Extinktion der Thrombocytenzahl pro mm^3 „plättchenreichen Plasma“ proportional (20).

Mikroskopie

Die Betrachtung der Plasmaüberstände zu einer qualitativen Überprüfung des Zellgehaltes erfolgte lichtmikroskopisch in THOMA-Zählkammern.

Ergebnisse

Mit den Untersuchungen zur Tabelle 1 wurde der Einfluß verschiedener Konzentrationen des hier verwendeten Dextrans auf die Plättchenzahl im Plasmaüberstand gemessen. Dextrankonzentrationen über 0,5 g/100 ml führten zu einem „Thrombocytenschwund“ im „plättchenreichen Plasma“. Unterhalb dieser Konzentration blieben die Werte dagegen nahezu konstant. Die Sedimentation der Erythrocyten wurde dagegen auch durch Dextrankonzentrationen unter 0,5 g/100 ml verbessert. Bei einer Dextrankonzentration von 0,25 g/100 ml waren z. B. sämtliche Blutproben nach etwa 1 Std. weitgehend sedimentiert. Nach der anschließenden 10 minütigen Zentrifugation der bei 100 g erwiesenen sich lichtmikroskopisch die Plasmaüberstände praktisch frei von Blutzellen.

Die Abbildung 1 kennzeichnet die Abhängigkeit der Thrombocytenzahlen im „plättchenreichen Plasma“

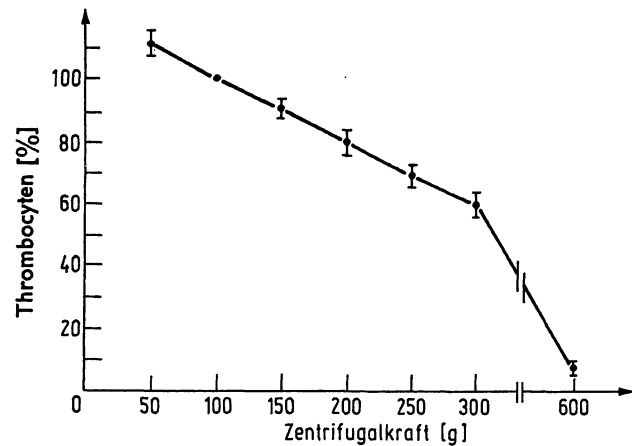


Abb. 1

„Vorsedimentierte“ Blutproben von 20 verschiedenen Versuchspersonen wurden nacheinander bei sieben abgestuften Beschleunigungen 10 Min. zentrifugiert. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen, wobei als Bezugsgrößen die bei 100 g ermittelten Meßwerte dienen, die gleich 100% gesetzt wurden. Man erkennt, daß bis 300 g die Thrombocytenzahl im Plasmaüberstand der relativen Zentrifugenbeschleunigung direkt proportional ist

von der zur Herstellung angewendeten relativen Zentrifugenbeschleunigung. Der Abbildung liegen Mittelwerte aus den Meßreihen von 20 verschiedenen Spendern zugrunde. Konstant gehalten wurde hierbei die Zentrifugationszeit von 10 Min. Von 50 g bis 300 g bewirkte eine Steigerung um 50 g jeweils eine Abnahme der Plättchen im „plättchenreichen Plasma“ um 10% des Ausgangswertes. Bei 600 g wurde bereits der überwiegende Teil der Thrombocyten abzentrifugiert. Die Tabelle 2 gibt Auskunft über den Einfluß drei verschiedener Laufzeiten der Zentrifuge auf die Throm-

Tab. 1

Einfluß verschiedener Dextrankonzentrationen auf die Thrombocytenzahl im „plättchenreichen Plasma“. Die Prozentzahlen beziehen sich auf die gleich 100% gesetzten Werte der niedrigsten Dextrankonzentration

Dextran im Blut [g/100 ml]	2,0		0,5		0,25		0,125		0,0625	
	$E_{578} \cdot 1000$	%	$E_{578} \cdot 1000$	%	$E_{578} \cdot 1000$	%	$E_{578} \cdot 1000$	%	$E_{578} \cdot 1000$	%
Versuchsperson										
1	115	52	205	93	215	98	220	100	220	100
2	115	43	255	94	265	98	270	100	270	100
3	105	72	145	100	140	97	145	100	145	100
4	125	56	200	90	215	96	220	98	225	100
5	245	83	300	102	290	100	300	103	295	100
6	65	54	115	96	125	104	120	100	120	100
7	150	68	200	91	210	96	230	105	220	100
8	135	45	260	87	290	97	300	100	300	100
9	150	60	260	102	250	100	245	98	250	100
10	95	46	190	93	205	100	205	100	205	100
$\bar{x} \pm s$ [%]		58 ± 13		95 ± 3		99 ± 2		100 ± 2		100

Tab. 2

Einfluß verschiedener Zentrifugationszeiten auf die Thrombocytenzahl im „plättchenreichen Plasma“. Die Werte bei zehnminütiger Zentrifugationsdauer wurden gleich 100% gesetzt

Laufzeit der Zentrifuge (Min.)	10		20		30	
	$E_{578} \cdot 1000$	%	$E_{578} \cdot 1000$	%	$E_{578} \cdot 1000$	%
Versuchsperson						
1	185	100	155	84	110	59
2	230	100	175	81	130	57
3	240	100	180	75	135	56
4	200	100	160	80	110	55
5	260	100	210	81	165	63
6	305	100	260	85	200	65
7	240	100	185	77	140	58
8	320	100	260	81	210	65
9	195	100	155	80	120	61
10	230	100	180	78	140	61
$\bar{x} \pm s$ [%]		100		80 ± 3		60 ± 3

Tab. 3

Einfluß verschiedener Spontansedimentationszeiten auf die Thrombocytenzahl im „plättchenreichen Plasma“. Die Werte bei einstündiger Sedimentationsdauer wurden gleich 100% gesetzt

Spontansedimentationszeit (Std.) Versuchsperson	1		3		6		10	
	$E_{678} \cdot 1000$	%	$E_{678} \cdot 1000$	%	$E_{678} \cdot 1000$	%	$E_{678} \cdot 1000$	%
1	175	100	180	102	170	97	160	92
2	220	100	220	100	200	92	190	86
3	250	100	260	104	235	94	210	84
4	205	100	200	98	195	95	175	83
5	250	100	260	104	245	98	230	92
6	300	100	300	100	275	92	250	83
7	230	100	230	100	220	96	205	89
8	325	100	325	100	290	90	270	83
9	200	100	195	98	185	92	170	85
10	230	100	235	98	215	94	195	85
$\bar{x} \pm s$ [%]	100		100 \pm 2		94 \pm 2		86 \pm 3	

bocytenzahl im „plättchenreichen Plasma“. Konstant gehalten wurde bei diesen Untersuchungen die Beschleunigung von 100 g. Beschreibt man das auf die Blutprobe wirksam gewordene Schwerfeld als Produkt aus Beschleunigung · Zeit, so ergeben sich mit einem Thrombocytendefizit von 10% pro 50 g · 10 Min. in der Tabelle 2 übereinstimmende Werte zur Abbildung 1.

Mit der Tabelle 3 wurde der Einfluß der Spontansedimentationszeit des Blutes vor der Zentrifugation auf die im „plättchenreichen Plasma“ gemessene Thrombocytenzahl ermittelt.

Zwischen den nach 1 Std. und nach 3 Stdn. Spontansedimentation gemessenen Zahlen bestand kein Unterschied. Eine sechsstündige „Vorsedimentation“ führte zu einem Thrombocytenverlust von 6%. Nach 10 Stdn. fehlten bereits 14% der Thrombocyten.

Für die Tabelle 4 wurde die 0,1 ml-Meßprobe nacheinander dem oberen, mittleren und unteren Anteil der plättchenreichen Plasmaüberstände entnommen. Aus den Ergebnissen geht hervor, daß die Thrombocyten nach der Zentrifugation homogen im Plasmaüberstand verteilt waren.

Tab. 4

Einfluß der Entnahme der Meßprobe auf die ermittelte Thrombocytenzahl im „plättchenreichen Plasma“

Meßprobe entnommen Versuchsperson	Oben	Mitte	Unten	Maximale Abweichung
	$E_{678} \cdot 1000$			
1	170	170	175	3%
2	195	200	205	3%
3	230	235	235	2%
4	190	190	195	3%
5	245	245	250	2%
6	275	275	275	0%
7	220	220	215	2%
8	290	290	290	0%
9	180	185	175	3%
10	215	215	220	2%
\bar{x}	221	222	224	2%
%	100	100	101	

Diskussion

Rote Blutzellen zeigen in vitro unter bestimmten Bedingungen die Neigung, untereinander zusammenzu-

ballen und sogenannte Agglomerate zu bilden (11, 14–17). Das ist die entscheidende Voraussetzung für eine schnelle Sedimentation der Erythrocyten (10, 19). Die Agglomeration der Erythrocyten wird durch „Agglomerine“ ausgelöst (15). Körper-eigene „Agglomerine“ sind zum Beispiel Coeruloplasmin, Haptoglobin und Fibrinogen (15). Neben den genannten körpereigenen Verbindungen gibt es auch synthetisch oder halbsynthetisch hergestellte industrielle Produkte mit starker „Agglomerin“-Wirkung (12, 15, 20). Zu diesen zählen die im Rahmen unserer Untersuchungen verwendeten Dextrane mit hohem Molekulargewicht (15, 17).

Thrombocyten werden im Gegensatz zu den Erythrocyten durch Dextrane nicht aggregiert; um die Thrombocyten in Suspension zu halten, müssen jedoch dem Blut die freien bivalenten Ionen durch geeignete „Komplexbildner“, z. B. durch das hier verwendete EDTA vollständig entzogen worden sein (8, 9).

Die Wirkung hochmolekularer Dextrane als „Sedimentationsbeschleuniger“ für Erythrocyten nimmt mit ihrer Konzentration im Blut zu. Sehr effektive „Agglomerine“, z. B. einige Polyaminosäuren, können darüber hinaus eine schon makroskopisch sichtbare Hämolyse auslösen (15). Daraus kann man schließen, daß es mit zunehmender Wirksamkeit der „Agglomerine“ über die Zusammenlagerung der Erythrocyten hinaus auch zu einer Zerstörung ihrer Zell-Membranen kommt. Beim Zerfall roter Blutzellen können jedoch außer den bivalenten Magnesiumionen noch Stoffe frei werden, die eine starke Aggregation der Thrombocyten auslösen können, z. B. bestimmte Adenosinphosphate (21, 22). Wie aus der Tabelle 1 dieser Arbeit hervorgeht, führten höhere Dextrankonzentrationen im Vollblut tatsächlich zu einem Thrombocytenverlust im „plättchenreichen Plasma“.

Daraus ergibt sich, daß bei der Herstellung „plättchenreicher Plasmen“ nur bestimmte „Agglomerine“ als Sedimentationsbeschleuniger für Erythrocyten verwendet werden können und diese nur in solchen Konzentrationen, bei denen noch keine Hämolyse der Blutzellen ausgelöst wird.

Trotz des Zusatzes eines geeigneten „Agglomerins“ zum Blut reicht innerhalb weniger Stunden die Spontansedimentation des Blutes nicht aus, um ein ausreichend zellreines „plättchenreiches Plasma“ zu erreichen. Das gilt besonders auch dann, wenn es für Thrombocytenzählungen (2) Verwendung finden soll. Die „Fraktionierung“ muß daher stets im Schwerfeld der Zentrifuge vervollständigt werden, wobei zwangsläufig ein gewisser Verlust an Thrombocyten hingenommen werden muß.

Zur Erklärung von Erscheinungen, die in einer Suspension homogener Teilchen durch ein Schwerfeld ausgelöst werden, kann die STOKES'sche Gleichung herangezogen werden.

Sie lautet:

$$v = \frac{g \cdot d^2 \cdot (\rho_1 - \rho_2)}{18 \eta}$$

v = Sinkgeschwindigkeit

g = Normalfallbeschleunigung ($981 \text{ cm} \cdot \text{sec}^{-2}$)

d = Durchmesser der Teilchen

ρ_1 = Dichte der suspendierten Teilchen

ρ_2 = Dichte des Suspensionsmediums

η = Viskosität des Suspensionsmediums.

Näherungsweise wollen wir im Falle unserer „Plättchen-im-Plasma-Suspensionen“ die Größen d , ρ_1 , ρ_2 und η als konstant betrachten. Die Sinkgeschwindigkeit (v) der suspendierten Thrombocyten hätte dann formelgemäß der Beschleunigung in der Zentrifuge (g) proportional sein müssen.

Die Sinkgeschwindigkeit (v) war jedoch hier keine meßbare Größe. Die Anzahl der in der Zeiteinheit (t = Laufzeit der Zentrifuge) sedimentierten Plättchen (ΔS) muß sich jedoch proportional zur Sedimentationsgeschwindigkeit (v) verhalten.

Formelmäßig bedeutet dies unter den obengenannten Voraussetzungen:

$$\frac{\Delta S}{t} \sim v \sim g$$

oder

$$\Delta S = g \cdot t \cdot \text{konst.}$$

Die oben (Abb. 1, Tab. 2) gefundene konstante Plättchensedimentationsrate von 10% pro $50 g \cdot 10 \text{ Min.}$ sowie die relativ geringe Standardabweichung in den Kollektiven bestätigen die hier postulierte einfache Proportionalität. Wie wir aus hier nicht näher dargestellten Sedimentationsversuchen mit Plättchensuspensionen in Plasmaverdünnungen mit physiol. NaCl-Lösung feststellen konnten, führen auch pathologische Abweichungen der Plasmaviskosität und -dichte nur zu relativ unbedeutenden Veränderungen in der Sedimentationsgeschwindigkeit der Thrombocyten.

In die oben angeführte Sedimentationsgleichung nach STOKES geht die Teilchengröße (d) als Faktor ein. Wir gingen von einem konstanten Teilchendurchmesser aus, denn für stärkere Größenunterschiede, etwa analog zu

mikro- und makrocytären Veränderungen bei den Erythrocyten, besteht bei den Thrombocyten kein Anhalt.

Unsere Ergebnisse erlauben es daher, eine qualitative Übereinstimmung der Sedimentationseigenschaften der im Blutplasma suspendierten Plättchen mit der STOKES'schen Gleichung festzustellen. Dieser Befund kann jedoch nicht uneingeschränkt auf die Verhältnisse im Vollblut übertragen werden, da es sich hierbei nicht um eine reine Suspension von Thrombocyten handelt, außerdem kommt es unmittelbar nach der Blutentnahme durch den Dextranzusatz zur Blutflüssigkeit zu einer raschen Bildung von Blutzellaggregaten, die relativ schnell absedimentieren, so wie man es bei einer sehr schnellen Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit kennt. Während dieser Phase, die wir als „Vorsedimentation“ bezeichnen, wird der lösende Raum der Blutzellen im Plasmaüberstand durch Plasma aus dem Sedimentraum ersetzt, d. h. solange Blutzellen oder Blutzellaggregate aus der Thrombocytensuspension herausedimentieren, besteht ein Plasmarückstrom, der dem Schwerfeld entgegengesetzt gerichtet und dem Volumen der sedimentierenden Zellen oder Zellaggregate proportional ist. Es erscheint möglich, daß dadurch nicht nur die im Vergleich zu den Zellen nur sehr schwache Eigensedimentation der Plättchen kompensiert wird, sondern daß auch noch zusätzlich Thrombocyten aus dem Sedimentraum in den Plasmaüberstand „zurückgeflutet“ werden. Tatsächlich wurde über eine derartige „Anreicherung“ der Thrombocyten in „plättchenreichem Plasma“ bereits berichtet (1). Einige eigene Ergebnisse, über die wir später berichten werden (2), sprechen ebenfalls für eine solche „Anreicherung“ während der „Vorsedimentation“. Die durch den genannten Plasmarückstrom beförderte Thrombocytenmenge wird jedoch in erster Näherung der Thrombocytenzahl der jeweiligen Blutprobe proportional sein. Aus diesem Grunde wird am Verhältnis zwischen der Thrombocytenzahl im Vollblut und der im „plättchenreichen Plasma“ wenig geändert. Somit kann dadurch auch keine wesentliche Beeinträchtigung der diagnostischen Aussagekraft entstehen, wenn dieses „plättchenreiche Plasma“ zur Messung der Thrombocytenzahl im Blut verwendet wird (2). Man muß solche Mechanismen jedoch berücksichtigen, wenn man auf die absoluten Thrombocytenzahlen pro Volumeneinheit Blut rückschließen will.

Unsere Untersuchungen lassen keine genauen Schlüsse darüber zu, welche physiko-chemischen Mechanismen bei der Sedimentation der Thrombocyten ablaufen. Wie die Tabelle 4 zeigt, tritt im plättchenreichen Plasmaüberstand nach der Zentrifugation kein Verteilungsgradient auf. Das spricht dafür, daß, ähnlich wie bei den Erythrocyten, auch bei der Sedimentation der Thrombocyten z. B. Aggregationsvorgänge eine Rolle spielen könnten. Im Hinblick auf die später zu besprechende neue Zählmethode für Thrombocyten (2) ist jedoch deren homogene Verteilung im plättchenreichen Plasmaüberstand von großem Vorteil.

Literatur

1. DAVIDSON, E. und S. TOMLIN, *Acta haemat.* 28, 113 (1962). —
2. SCHULZ, V., K. KOCHSIEK, K. KÖSTERING und CH. WALTHER, *diese Z.* 9, 329 (1971). —
3. SIPE, G. R. und E. P. CRONKITE, *Ann. N. Y. Acad. Sc.* 99, 262 (1962). —
4. BORN, G. V. R. und M. J. CROSS, *J. Physiol. (London)* 169, 178 (1963). —
5. BORN, G. V. R. und M. J. CROSS, *J. Physiol. (London)* 170, 397 (1964). —
6. BREDDIN, K. und J. BAUKE, *Blut* 11, 144 (1965). —
7. NIEMEYER, G. und H. REUTER, *Internist* 9, 48 (1968). —
8. BROSSMER, R. und TH. PFLEIDERER, *Naturwissenschaften* 53, 464 (1966). —
9. PFLEIDERER, TH. und R. BROSSMER, *Thrombos. Diathes. haemorrh.* 18, 674 (1967). —
10. RUHENSTROTH-BAUER, G., *Klin. Wschr.* 44, 533 (1966). —
11. GERLACH, E., B. DEUTICKE und K. STRASSBURGER, *Klin. Wschr.* 44, 203 (1966). —
12. MINOR, A. L. und L. BURNETT, *Blood* 7, 693 (1952). —
13. MUSTARD, J. F., *Amer. J. Clin. Path.* 30, 498 (1958). —
14. RUHENSTROTH-BAUER, G., G. BRITTINGER, E. GRANZER und G. NASS, *Dtsch. med. Wschr.* 85, 808 (1960). —
15. RUHENSTROTH-BAUER, G., G. BRITTINGER, F.-H. KAISER und G. NASS, *Klin. Wschr.* 40, 1200 (1962). —
16. RUHENSTROTH-BAUER, G., *Klin. Wschr.* 43, 460 (1965). —
17. RUHENSTROTH-BAUER, G., *Klin. Wschr.* 44, 533 (1966). —
18. WEISS, H. J., *J. Lab. Clin. Med., S. Louis* 69, 37 (1967). —
19. FAHRAEUS, R., *Physiol. Rev., Baltimore* 9, 241 (1929). —
20. THORSEN, G. und H. HINT, *Acta chir. Scand. Suppl.* 154, 1 (1950). —
21. HARRISON, M. J. G. und J. R. A. MITSCHELL, *Lancet, London* 1966/II, 1163. —
22. HELLEM, A. J., A. E. ODEGAARD und B. A. SKALMEGG, *Thrombos. Diathes. haemorrh.* 10, 61 (1963).

Prof. Dr. K. Kochsiek
3400 Göttingen
Humboldtallee 1