

## Autoradiographische Bestimmung der mittleren Verweilzeit neutrophiler Granulozyten im Blut der Ratte mittels Dauerinfusion von $^3\text{H}$ -Thymidin

Für die Messung der intravasculären Verweilzeit von Erythrocyten existieren zuverlässige Methoden, die beim Menschen wie im Tierexperiment anwendbar sind<sup>1</sup>. Dagegen ist die Bestimmung der mittleren Verweilzeit neutrophiler Granulozyten in der Blutbahn aus methodischen Gründen immer noch problematisch. Für die üblichen Laboratoriumstiere findet man mit Ausnahme des Hundes<sup>2</sup> in der Literatur keine Angaben über diesen Zeitparameter der Granulozyten-Kinetik. Die im folgenden dargestellten Versuche hatten die Bestimmung der mittleren Verweilzeit neutrophiler Granulozyten im Blut der Ratte zum Ziel.

3 ♂ Wistar-Ratten erhielten für einen Zeitraum von 120 h eine i.v.-Dauerinfusion von  $^3\text{H}$ -Thymidin ( $3 \mu\text{C/g}$  in 24 h). In 6-stündigen Abständen wurde der Prozentsatz markierter Granulozyten in Blut- und Sputumausstrichen autoradiographisch bestimmt.

Die Figur zeigt die bei den einzelnen Tieren ermittelten Messwerte. Die linke Bildhälfte gibt den Prozentsatz markierter Granulozyten als Funktion der Infusionsdauer in linearem Maßstab wieder, auf der rechten Bildhälfte ist der Prozentsatz nicht-markierter Granulozyten halblogarithmisch dargestellt.

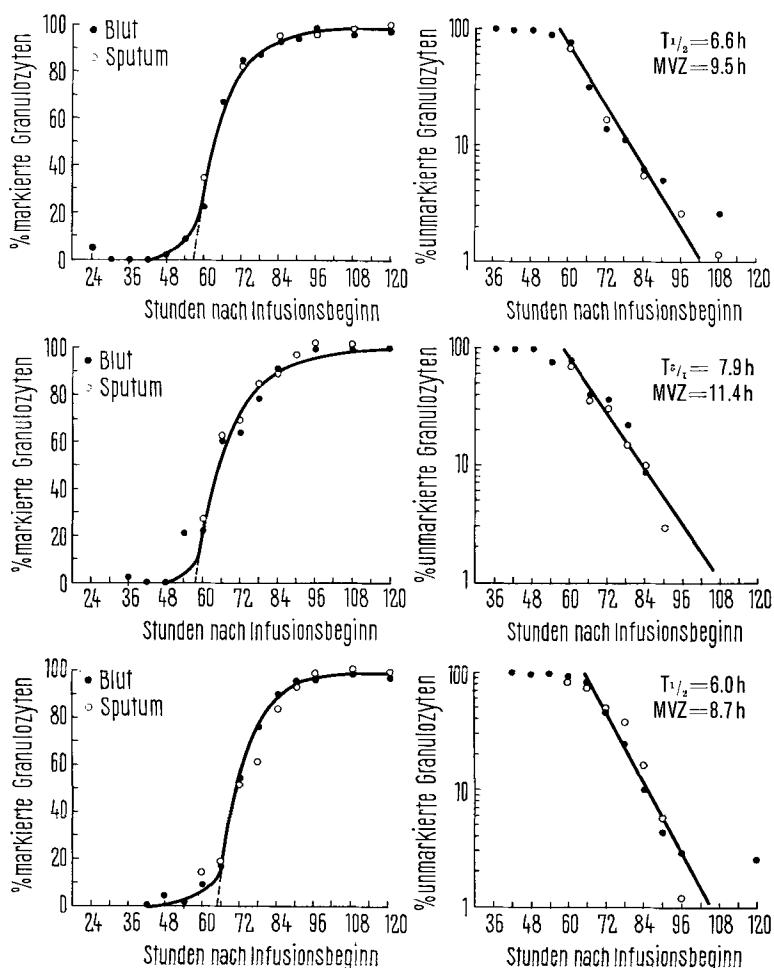
Bis zu etwa 60 h nach Infusionsbeginn findet man nur vereinzelt markierte Granulozyten im Blut und im Sputum. Dann folgt ein steiler Anstieg des Prozentsatzes

markierter Zellen. Die Ausreifungszeit (= Zeitintervall vom Ende der letzten S-Phase granulopoetischer Zellen im Knochenmark bis zum Eintritt reifer Granulozyten ins Blut) liegt daher bei 60 h. Nach weiteren 40 h erreicht die Anstiegskurve bei allen Tieren annähernd 100%.

Die Messpunkte des Prozentsatzes nicht-markierter Granulozyten liegen im halblogarithmischen Maßstab jenseits von 60 h angenähert auf einer Geraden. Das Verschwinden nicht-markierter Granulozyten aus dem Blut kann also durch eine  $e$ -Funktion beschrieben werden. Dies ist theoretisch dann zu erwarten, wenn jenseits der Ausreifungszeit nur noch markierte Zellen ins Blut eintreten und wenn die Granulozyten das Blut unabhängig von ihrem Alter nach statistischen Gesetzmäßigkeiten verlassen. Die mittlere Verweilzeit (MVZ) ist unter diesen Voraussetzungen gleich der Halbwertszeit ( $T_{1/2}$ ), dividiert durch ln 2. Die Auswertung der Versuche ergab als Mittelwert der 3 Tiere eine MVZ von 9,9 h.

<sup>1</sup> E. B. HARRISS und E. H. BELCHER, IX. Intern. Congr. Radiol., München (Ed. B. RAJEWSKY; Thieme, Stuttgart 1960), p. 905.

<sup>2</sup> S. O. RAAB, J. W. ATHENS, O. P. HAAB, D. R. BOOGES, H. ASCHENBRUCKER, G. E. CARTWRIGHT and M. M. WINTROBE, Am. J. Physiol. 206, 83 (1964).



Zunahme des Prozentsatzes markierter Granulozyten (linke Bildhälfte) beziehungsweise Abnahme des Prozentsatzes nicht-markierter Granulozyten (rechte Bildhälfte) im Blut und im Sputum in Abhängigkeit von der Infusionsdauer von  $^3\text{H}$ -Thymidin. Versuche an 3 ♂ Ratten.

Zwischen Blut- und Sputumwerten findet sich kein messbarer Unterschied. Dies stimmt mit Befunden am Menschen nach einmaliger Injektion von  $^3\text{H}$ -Thymidin überein und darf als weiterer Hinweis auf die statistische Elimination der Granulozyten gewertet werden<sup>3</sup>. Würden die Granulozyten ähnlich wie die Erythrozyten erst nach Ablauf eines Alterungsprozesses das Gefäßsystem verlassen, so wäre eine zeitliche Verschiebung zwischen den Messwerten im Blut und im Sputum zu erwarten.

Die dargestellte Methode kann auch bei sehr kleinen Tieren (Maus, Goldhamster) angewendet werden. In solchen Fällen ersetzt man die Dauerinfusion von  $^3\text{H}$ -Thymidin zweckmäßig durch Einzelinjektionen, deren Zeitabstände kürzer sind als die DNS-Synthesephase. Da ferner für alle Tiere gelten dürfte, dass der Prozentsatz markierter Granulozyten im Blut und im Sputum ausreichende Übereinstimmung zeigt, kann allein aus Mundhöhlenabstrichen die Verweilzeit der Granulozyten im Blut bestimmt werden<sup>4</sup>.

**Summary.** Labelling of neutrophil granulocytes in the blood and sputum of rats was followed by autoradiography for 120 h after starting a continuous infusion of  $^3\text{H}$ -thymidine\*).

D. GERECKE, B. SCHULTZE  
und W. MAURER

*Institut für Medizinische Strahlenkunde  
der Universität Würzburg,  
D-8700 Würzburg (Deutschland), 8. Oktober 1969.*

<sup>3</sup> T. M. FLIEDNER und E. P. CRONKITE, Blood 24, 402 (1964).

<sup>4</sup> Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

\* The mean sojourn of these cells in the blood was determined to be c. 10 h.

## Oscillations in the Rate of Disappearance of Labeled Triiodothyronine from Human Plasma and the Minimum Sampling Rate for their Observation

Diurnal variations (oscillations) in the concentration of plasma thyroxine have been reported by MARGOLESE and GOLUB<sup>1</sup> and VOLPE et al.<sup>2</sup>, and a diurnal pattern in the rate of disappearance of labeled thyroxine from human plasma has been investigated by WALFISH et al.<sup>3</sup> and BUSHLER et al.<sup>4</sup>. The WALFISH group<sup>3</sup> first suggested that their observations may be related to diurnal changes in plasma volume. Later, the BUSHLER group demonstrated that the observed rhythms are *paralleled* by changes in plasma proteins, plasma PBI<sup>127</sup>,  $^{125}\text{I}$ -RISA and TBG. They also showed that changes in the feeding cycle had no effect, while reversal of the sleep-waking rhythm immediately reversed the observed diurnal variations in plasma thyroxine<sup>4</sup>. They concluded that observed oscillations in plasma thyroxine concentration are related to the redistribution of fluid between the intravascular and extravascular pools, associated with changes from upright to recumbent positions.

We investigated the rate of disappearance from the plasma of  $^{125}\text{I}$ -labeled triiodothyronine (T3) in two<sup>5</sup> recumbent patients. Our objective was to determine whether the rate of disappearance of T3 from the blood exhibits oscillatory behavior, a phenomena which would be related to the temporal pattern of binding, distribution and/or metabolism of T3, and, if it does, how often we must sample the blood to observe these oscillations.

**Materials and methods.** Two euthyroid patients, A (hypertensive) and B (anemic), were given 20 mg of methimazole approximately 2 h prior to the injection of 500  $\mu\text{Ci}$  of  $^{125}\text{I}$ -T3 (from Amesham) to prevent recycling of  $^{125}\text{I}$ . The administration of 10 mg of methimazole was repeated about every 6 h for the duration of the experiment. Sampling was begun 4 h after injection of the tracer in patient A and after 2 h in patient B. Blood samples were taken for 3 days. For patient A, sampling occurred every 4 h on the first day, every 2 h the second day, and every 6 h the third day. This ordering was mixed in patient B, who was sampled every 2 h on the first day, every 6 h the second day and every 4 h the third day.  $^{125}\text{I}$ -PBI was determined in a well-type scintillation counter. The corrected data points for all 3 days are plotted

on rectangular coordinates in Figure 1 with straight lines connecting the points. In Figure 2, the vertical and horizontal graph scales of Figure 1 have been magnified to illus-

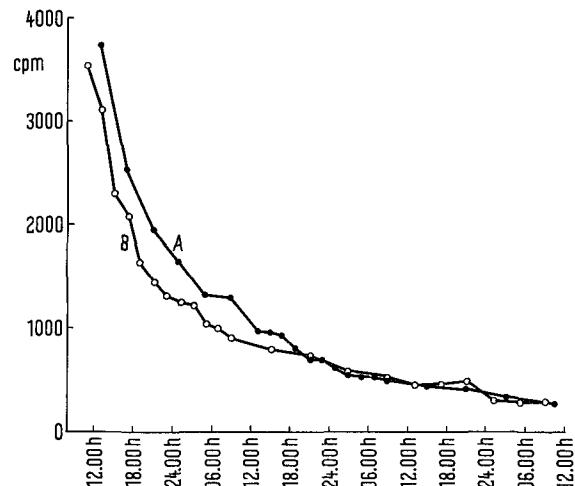


Fig. 1.  $^{125}\text{I}$ -PBI activity in 2 patients A and B, beginning 4 h after injection of 500  $\mu\text{Ci}$  of  $^{125}\text{I}$ -T<sub>3</sub>. Blood samples were taken every 2, 4 or 6 h for 3 days, staggered as described in the text. 20 mg of methimazole was administered 2 h prior to the  $^{125}\text{I}$ -T<sub>3</sub>, to prevent recycling of  $^{125}\text{I}$ , followed by 10 mg every 6 h thereafter.

<sup>1</sup> M. S. MARGOLESE and O. J. GOLUB, J. clin. Endocr. Metab. 17, 849 (1957).

<sup>2</sup> R. VOLPE, J. VALE and M. W. JOHNSTON, J. clin. Endocr. Metab. 20, 415 (1960).

<sup>3</sup> P. G. WALFISH, A. BRITTON, P. H. MELVILLE and C. EZRIN, J. clin. Endocr. Metab. 21, 582 (1961).

<sup>4</sup> V. BUSHLER, P. DECASTRO, S. REFETOFF and L. J. DEGROOT, (Abstract) Proc. Ann. Meeting American Thyroid Assoc., Washington, D.C., 9-12 October 1968, p. 45.

<sup>5</sup> Technical difficulties prevented studies in more than 2 patients. Fortunately, the results for each patient show the same effects.