

Methanbakterien, Halophile und Thermoacidophile, ein eigenes Bakterienreich: Die Archaeobakterien

Konsequenzen für die Phylogenie und Evolution der Organismen

R. Hammann

Institut für Med. Mikrobiologie und Immunologie, Universität Bonn

Zusammenfassung:

Die Anwendung verschiedener molekularbiochemischer Methoden, vor allem der Sequenzierung der ribosomalen 16S-(18S-)Ribonucleinsäure, hat zur Abgrenzung der Methanbakterien, Halobakterien und der Thermoacidophilen als eigenes Mikroorganismenreich, die Archaeobakterien, geführt. Außerdem haben diese Methoden so starke Auswirkungen auf die Klassifizierung des gesamten Bakterienreiches, daß in Zukunft eine Neuordnung erforderlich sein wird. Der Einfluß der Methoden auf evolutionstheoretische Betrachtungen und die Entstehung der eukaryontischen Zelle und ihrer Organellen (Endosymbiontentheorie) wird ebenfalls diskutiert.

Schlüsselwörter:

16S-(18S-)rRNA-Sequenzierung – Archaeobakterien – Evolution – Endosymbiontentheorie

Summary:

The application of several molecular biochemical methods, especially the sequencing of the ribosomal 16S-(18S-)ribonucleic acid, helped to delineate the methanogens, the halobacteria, and the thermoacidophiles as a new kingdom of microorganisms, the archaeobacteria. The same methods will help to rearrange the taxonomy of the whole bacterial kingdom in a natural system. The influence of the methods on the evolution theory and the endosymbiont hypothesis of the cell organelles of eucaryotic cells is also discussed.

Keywords:

16S-(18S-)rRNA-Sequenzierung – Archaeobacteria – evolution – endosymbiont hypothesis

Einleitung

Die Analyse der ribosomalen 16S-RNA der Bakterien und der 18S-RNA der Eukaryonten erlaubt es heute, ein zusammenhängendes Bild von der Evolution seit der Aufspaltung aus einer gemeinsamen Urform, dem Progenoten, aufzustellen (Abb. 1). Die vergleichende Untersuchung der T₁-Spaltstücke der 16S-(18S-)rRNA läßt sich im sog. S_{AB}-Wert ausdrücken, der die Ähnlichkeitsbeziehung zwischen zwei Organismen reflektiert:

$$S_{AB} = \frac{2 \times \text{Zahl der in A und B gemeinsamen Oligonukleotide}}{\text{Gesamtzahl der Oligonukleotide in A + B}}$$

Die Werte reichen von 1,0 (= vollständige Übereinstimmung) bis etwa 0,03 (Zufallsverteilung).

Mit dieser Methode wurden bisher zahlreiche Organismen, hauptsächlich Bakterien, untersucht.

Gerade bei den Bakterien kam es zu einer molekularbiochemischen Neuordnung, die die konventionellen morphologischen Methoden weitgehend umwirft. Doch die Anwendung führte

auch zu einer für die Evolutionslehre wichtigen neuen Einsicht.

Während man nämlich noch vor zehn Jahren alle lebenden Organismen in zwei Reiche, nämlich die Prokaryonten, das sind im wesentlichen die Bakterien und die Blaualgen, sowie in die Eukaryonten, d. h. Tiere, Pilze und Pflanzen, einteilte, kam es in den späten Siebzigerjahren unseres Jahrhunderts durch die bahnbrechenden Untersuchungen von Carl Woese aus Urbana, USA, und Otto Kandler in München zu der Abgrenzung eines dritten Organismenreiches, nämlich der Archaeobakterien. Man muß sich das vorstellen: „Man geht hinter das Haus, in den Garten, und läuft einem Lebewesen über den Weg, das weder Tier noch Pflanze ist“ (1).

Die Methode der RNA-Sequenzierung

Vereinfacht dargestellt wird die Zusammensetzung der RNA wie folgt bestimmt. Mit ³²P_o markierte 16S-(18S-)RNA, die nach Phenolextraktion durch Polyacrylamidgelelektrophorese isoliert und gereinigt wurde, wird mit T₁-Ribonuklease behan-

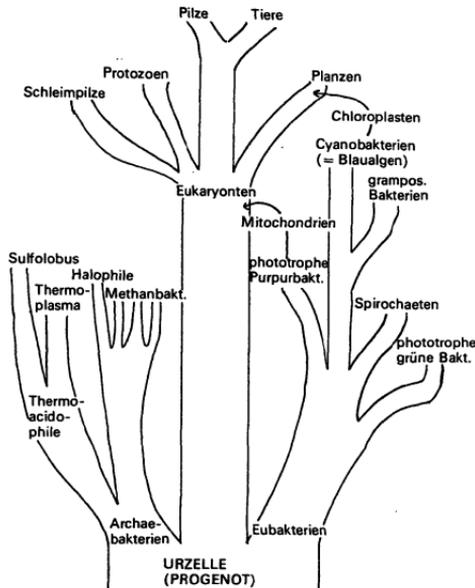


Abb. 1: Entwicklung der Archaeobakterien, Eubakterien und Eukaryoten aus einem gemeinsamen, hypothetischen Vorfahren, dem Progenoten (nach Woese, 1981)

delt. Dieses Enzym schneidet die RNA immer hinter der Base Guanin, so daß Bruchstücke von 15–20 Basen erhalten werden. Diese Bruchstücke werden durch zweidimensionale Elektrophorese getrennt (1. Phase: Cellulose-Acetat, 2. Phase: DEAE-Cellulose). Dann werden die Oligonukleotide mittels Endonukleasen geschnitten, und es ergibt sich ein Sequenzkatalog, der für einen bestimmten Organismus charakteristisch ist.

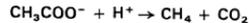
Zur Feststellung des S_{80} -Wertes zweier Organismen werden die Kataloge der Organismen miteinander verglichen.

Die Abgrenzung der Archaeobakterien als eigenes Bakterienreich

Die jetzt als Archaeobakterien zusammengefaßten Mikroorganismen waren zum Teil schon geraume Zeit bekannt. Nach heutiger Kenntnis unterscheiden sie sich in physiologischer, biochemischer und morphologischer Hinsicht so stark von den Eubakterien, daß ihre Einordnung in ein neues Reich durchaus einleuchtend ist. Die Einzelheiten dieser Unterschiede werden im folgenden ausführlich besprochen. Zunächst seien die wichtigsten Vertreter kurz vorgestellt.

Die Archaeobakterien bestehen nach unseren heutigen Kenntnissen aus elf Gattungen, von denen alle „Spezialisten“ sind.

Die meisten von ihnen bilden aus CO_2 und H_2 , aus Essigsäure oder aus Methanol das Gas Methan, z. B. nach den Formeln:



und heißen deshalb Methanbakterien. Die obengenannten Reaktionen sind energieliefernd, ihr G^0 -Wert liegt zwischen $-8,6$ und $-32,7$ kcal/mol.

Alle Methanbakterien sind strikte Anaerobier, die schon bei geringen O_2 -Konzentrationen absterben. Oft sind sie mit Anaerobiern aus dem Reich der Eubakterien vergesellschaftet, z. B. mit Clostridien, welche den Methanbakterien als Kohlenstoffquelle dienende Verbindungen in großen Mengen als Fermentationsendprodukte ausscheiden. Als Cofaktor, der als Methylüberträger bei der Methanbildung fungiert, konnte bei ihnen CoM (= 2-Mercaptoethansulfonsäure) nachgewiesen werden, eine Substanz, die bisher bei keinem anderen Organismus gefunden wurde.

Von den Methanbakterien weiß man schon lange, daß das Sumpfgas, im wesentlichen Methan (CH_4), auf ihre Aktivität zurückgeht.

Man findet sie auch in Kläranlagen, wo Methan in den Faultürmen in solchen Mengen entsteht, daß es sich lohnt, das Gas als Energieträger zu nutzen. Wie man ebenfalls schon geraume Zeit weiß, sind Methanbakterien auch im Dickdarm des Menschen vertreten. Es konnte gezeigt werden, daß bei einem Drittel der untersuchten Probanden Methan in der Atemluft nachweisbar ist (2). Miller und Wolin beobachteten, daß Methanobrevibacter smithii der häufigste der beim Menschen vorkommenden Methanbakterien ist und Keimzahlen von 10^7 – 10^{10} /g Faeces erreicht (3).

Andere Arten treten auf dem Meeresgrund oder in heißen Quellen auf, sie müssen also barophil oder barotolerant (d. h. unempfindlich gegen hohen Atmosphärendruck) bzw. thermophil oder thermotolerant sein. Das Suffix „-phil“ kennzeichnet hierbei solche Organismen, die die extremen Umweltbedingungen nicht nur überstehen, sondern sogar zum Leben benötigen.

Andere Archaeobakterien, deren Energiegewinnung nicht von der Methanbildung abhängig ist, sind Exoten in anderer Hinsicht: Sie sind nicht strikt anaerob, haben aber andere merkwürdige Eigenheiten. So umfaßt die Gattung Halobacterium extrem halophile, also salzliebende Organismen, die in Salinen, dem Toten Meer oder an anderen hoch salzhaltigen Standorten vorkommen. Bestimmte Arten dieser Gattung können sogar salzhaltigen Fisch durch die Bildung von Aminen ungenießbar machen. Die Salzliebe geht so weit, daß einige noch in gesättigter Kochsalzlösung wachsen können.

Die thermoacidophilen Vertreter schließlich, das sind solche, die sowohl extrem hohe Temperaturen als auch extreme Säurekonzentrationen zum Wachstum benötigen, leben ebenfalls in heißen Quellen, besonders Schwefelquellen, wie sie im Yellowstone-Nationalpark und an anderen vulkanisch aktiven Standorten häufig sind.

Natürlich erfordern hohe Temperaturen, hohe Salzkonzentrationen und hohe Wasserstoffionenkonzentrationen auch besondere Schutzmechanismen. Halobacterium-Arten zum Beispiel erhalten an ihrer Zellmembran ein großes Konzentra-

tionsgefälle für bestimmte Ionen aufrecht und schleusen mit seiner Hilfe eine Vielzahl von Ionen in die Zelle hinein und andere heraus. Das Innere der Zelle ist also keineswegs so salzig oder so sauer wie das Milieu, in dem sie wachsen.

Daß Thermophilie und Thermotoleranz Schutzmechanismen erfordern, die die Denaturierung von Proteinen und DNA verhindern, ist einleuchtend, doch sind diese Mechanismen weit weniger erforscht als die Ionenpumpen der Acido- und Halophilien. Wie sehr Thermoacidophile hohe Temperaturen zum Wachstum brauchen, zeigt die Tatsache, daß die Ionenpumpen beim Absenken der Umgebungstemperatur sofort zum Erliegen kommen. Die Zelle kann dann ihr Inneres nicht mehr neutral halten und wird so, indirekt, vergiftet.

Die Thermotoleranz vieler Arten geht so weit, daß das Wachstumsoptimum bei 90 °C und darüber liegt. Einige Halobakterien gewinnen Energie durch eine primitive Form der Photosynthese. Jedoch dient als lichtabsorbierendes Pigment nicht in dem Maße wie bei Pflanzen das Chlorophyll, sondern ein dem Sehpurpur im Auge ähnliches Pigment, das Bacteriorhodopsin.

Die Zellwände der Archaeobakterien

Schon lange vor den Untersuchungen der ribosomalen RNA war bekannt, daß extrem Halophile und der thermoacidophile Sulfolobus auch in anderer Hinsicht mit den „normalen“ Bakterien wenig gemein haben. Während die echten Bakterien in ihrer Zellwand das Zuckerderivat Muraminsäure enthalten, welches zusammen mit Seitenketten aus Aminosäuren das Murein (Peptidoglycan) bildet, weisen die heute zu den Archaeobakterien gerechneten Organismen eine abweichende Zellwandstruktur auf. Besonders der Münchner Arbeitsgruppe um Otto Kandler ist es zu verdanken, daß die Archaeobakterien systematisch auf ihren Zellwandaufbau hin untersucht wurden. Dabei stellte sich heraus, daß die Wände aller Archaeobakterien mureinfrei sind. Es gibt zwar bei ihnen völlig verschiedene Zellwandtypen, doch Muraminsäure wurde nie gefunden. Auch enthält die Zellwand der Methanbakterien nie D-Aminosäuren, wie sie als normale Bestandteile im Murein der Eubakterien vorkommen. Die Methanbakterien verhalten

sich hinsichtlich der chemischen Struktur der Zellwände nicht einheitlich. Einige weisen eine aus Strukturproteinen bestehende Wand auf, andere ein Heteropolysaccharid, wieder andere eine mureinähnliche Struktur, die als Pseudomurein bezeichnet wird, deren Polysaccharidkette aber keine Muraminsäure enthält, sondern abwechselnde Einheiten von N-Acetylglucosamin und N-Acetylgalactosamin. Der beim Murein typische Wechsel von D- und L-Aminosäuren fehlt, die quervernetzenden Aminosäuren gehören alle der L-Reihe an (4).

Thermoplasma schließlich ist ein Mycoplasma unter den Archaeobakterien, das also ohne feste Zellwand ist und nur von der Membran umhüllt wird.

Bau der Zytoplasmamembranen der Archaeobakterien

Auch die Membran unterscheidet sich strukturell, aber nicht funktionell von derjenigen der Eubakterien.

Während bei den letzteren nämlich die Lipidkomponente aus zwei langkettigen Fettsäuren besteht, die am Carboxyende mit einem Molekül Glycerin, einem dreiwertigen Alkohol, verestert sind (= Esterlipide), kommen bei Halobakterien, Methanbakterien und Thermoacidophilen ausschließlich Etherlipide vor. Hier sind zwei Moleküle Phytanol (ein langkettiger, seitlich zusätzlich methylierter Alkohol) mit einem Molekül Glycerin über die Hydroxygruppe etherartig verbunden.

Andere Besonderheiten

Bei der Untersuchung der ribosomalen Ribonukleinsäure (rRNA) der Archaeobakterien stellte sich eine weitere Eigenheit heraus: Während bei fast allen Organismen an einer bestimmten Stelle die transfer-RNA statt Uracil ein Thymin enthält, ist dort bei den Archaeobakterien die Base Pseudouridin oder eine bisher nicht identifizierte Base in der t-RNA vorhanden. Auch dieses Variationsmuster weist auf die weitgehende phylogenetische Trennung von Eubakterien und Archaeobakterien hin. Darüber hinaus ist die Aminosäure der als Starter dienenden t-RNA nicht das Formylmethionin (wie bei Eubakterien), sondern Methionin.

Tab. 1: S_{AB} -Werte einiger Eukaryonten, Eubakterien und Archaeobakterien nach Woese (1981)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
I. Eukaryonten													
1. Saccharomyces cerevisiae (Bierhefe)	—	0,29	0,33	0,05	0,06	0,09	0,11	0,08	0,11	0,11	0,08	0,1	0,08
2. Lemna minor (Wasserlinse)	0,29	—	0,36	0,1	0,05	0,1	0,09	0,11	0,1	0,1	0,07	0,09	0,09
3. Mäusezelle	0,33	0,36	—	0,06	0,06	0,07	0,09	0,06	0,1	0,1	0,07	0,11	0,07
II. Eubakterien													
4. Escherichia coli	0,05	0,1	0,06	—	0,24	0,28	0,26	0,21	0,11	0,12	0,12	0,07	0,09
5. Chlorobium vibiforme	0,06	0,05	0,06	0,24	—	0,22	0,20	0,19	0,06	0,07	0,09	0,07	0,07
6. Corynebacterium diphtheriae	0,09	0,1	0,07	0,28	0,22	—	0,23	0,21	0,12	0,12	0,1	0,1	0,09
7. Aphanocapsa sp. (Cyanobacterium)	0,11	0,09	0,09	0,26	0,2	0,23	—	0,31	0,11	0,11	0,1	0,13	0,1
8. Chloroplast von Lemna	0,08	0,11	0,06	0,21	0,19	0,21	0,31	—	0,14	0,12	0,12	0,12	0,07
III. Archaeobakterien													
9. Methanobacterium sp.	0,11	0,1	0,1	0,11	0,06	0,12	0,11	0,14	—	0,51	0,3	0,34	0,19
10. Methanobrevibacter sp.	0,11	0,1	0,1	0,12	0,07	0,12	0,11	0,12	0,51	—	0,24	0,31	0,2
11. Methanosarcina sp.	0,08	0,07	0,07	0,12	0,09	0,1	0,1	0,12	0,3	0,24	—	0,28	0,23
12. Halobacterium sp.	0,1	0,09	0,11	0,07	0,07	0,1	0,13	0,12	0,34	0,31	0,28	—	0,23
13. Thermoplasma sp.	0,08	0,09	0,07	0,09	0,07	0,09	0,1	0,07	0,19	0,2	0,23	0,23	—

Der Progenot

Vor der Erkennung der Archaeobakterien als eigenständiges Organismenreich ging man davon aus, daß sich die höheren Zellen der Eukaryonten aus Prokaryonten entwickelt haben. Alle Anzeichen sprechen nun, nach der Erkennung der besonderen Natur der Archaeobakterien, dafür, daß eine (hypothetische) Urzelle, der Progenot, der Urvater aller zellulären Organismen ist. Die Progenoten besaßen schon alle zellulären Bausteine und molekularen Mechanismen, die für alle zellulären Organismen notwendig sind, an einigen Feinheiten wurde jedoch noch „herumexperimentiert“ so z. B., an der Zellwand oder an den Membranen. Aus den verschiedenen Ergebnissen dieser „evolutionären Experimente“ konnten sich schließlich drei verschiedene Typen entwickeln, die Eubakterien, die Archaeobakterien und die Eukaryonten (Abb.1). Für diese Theorie von Woese sprechen die S_{23S} -Messungen an Organismen aus allen drei „Reichen“. Archaeobakterien und Eubakterien sind nicht näher miteinander verwandt als mit den Eukaryonten (Tab.1).

Auswirkungen der RNA-Sequenzierung auf unser gegenwärtiges Wissen von den Eubakterien

Während bis jetzt hauptsächlich die Auswirkungen der Sequenzierung der 16S-rRNA auf die Einordnung der Archaeobakterien diskutiert wurden, sollen zum Schluß alle drei Reiche an einigen Beispielen unter diesem Aspekt betrachtet werden.

Vor der Verwendung der RNA-Sequenzierung und anderer biochemischer Methoden betrachtete man die Taxa der Prokaryonten, vor allem Familien und Gattungen, hauptsächlich unter morphologischen Aspekten. So gehörten die Sporenbildner in die Familie Bacillaceae mit den Gattungen Bacillus und Clostridium. Die 16S-rRNA-Sequenzierung ergab jedoch, daß die Clostridien verschiedenen Gruppen angehören und daß die Bacillus-Arten viel näher mit Staphylokokken und Lactobazillen verwandt sind als mit den Clostridien.

Wie teilweise schon vorher aufgrund der Lipid- und DNA-Zusammensetzung vermutet wurde, sind die mycelartig wachsenden Streptomyceten mit Bifidobacterium, Propionibacterium, Corynebacterium und Micrococcus verwandt. Schließlich zeigen die zellwandlosen Mycoplasmen Verwandtschaft zu einem Teil der Clostridien.

Im gramnegativen Ast der Eubakterien konnten Verwandtschaftsbeziehungen zwischen Alcaligenes und dem photosynthetischen Rhodospseudomonas gelatinosa konstatiert werden. Die Enterobacteriaceen dagegen sind mit Photobacterium, Aeromonas und dem phototrophen Chromatium verwandt.

Wesentliche taxonomische Neugliederungen bzw. Umorientierungen werden also nötig sein, wenn das Reich der Eubakterien aufgrund der natürlichen genetischen Verwandtschaft gegliedert wird. Morphologische Aspekte werden in Zukunft in der Klassifikation eine geringere Rolle spielen.

Auswirkungen der rRNA-Sequenzierung auf unser gegenwärtiges Verständnis von Eukaryonten

Mehrere Jahrzehnte lang wurde die sog. „Endosymbionten“-Theorie in der zytologischen und biochemischen Literatur diskutiert. Durch die Untersuchungen der rRNA ist die Wahrscheinlichkeit, daß diese Hypothese der tatsächlichen Entwicklung entspricht, größer geworden.

Mitochondrien, die als Zellorganellen für die Atmung bei allen Eukaryonten verantwortlich sind, und Chloroplasten, in denen bei den grünen Pflanzen die Photosynthese, also die Umwandlung von Strahlenergie in chemische Energie, abläuft, weisen in ihrem Bau und in ihren Inhaltsstoffen gewisse Ähnlichkeiten zu den Bakterien auf.

So sind beide von einer Doppelmembran umgeben, deren innere Schicht wie bei vielen Bakterien nach innen zahlreiche Einfaltungen aufweist. Auf dieser Innenmembran sind zahlreiche membrangebundene Enzyme und bei den Chloroplasten die lichtabsorbierenden Pigmente und die Photosysteme

Tab. 2: Charakteristische Eigenschaften von Archaeobakterien, Eubakterien und Eukaryonten

Eigenschaft	Archaeobakterien	Eubakterien	Eukaryonten
Organellen	0	0	vorhanden
Zellwand	viele Typen, nie Murein	immer Murein	- keine Zellwand bei Tieren, sonst viele Typen
Membranen	Äther in verzweigten Ketten	Ester in geraden Ketten	Ester in geraden Ketten
t-RNA-Starter-AS	Methionin	Formylmethionin	Methionin
Ribosomen: Elongationsfaktor	reagiert mit Diphtherietoxin	reagiert nicht mit Diphtherietoxin	reagiert mit Diphtherietoxin
Rhodopsin oder Bacteriorhodopsin	vorhanden	nicht vorhanden	vorhanden
β -Carotinsynthese über Mevalonatweg	ja	nein	ja
Coenzym M als Cofaktor der C ₁ -Übertragung	ja	nein	nein
Empfindlichkeit gegen Chloramphenicol	unempfindlich	empfindlich	unempfindlich
Empfindlichkeit gegen Anisomycin	empfindlich	unempfindlich	empfindlich

lokalisiert. Diese Strukturen werden auch bei vielen aktiv atmenden Bakterien bzw. bei phototrophen Bakterien gefunden. Darüber hinaus weisen Mitochondrien und Chloroplasten eigene (also nicht von der „Wirtszelle“ stammende) DNA, Ribosomen und eine eigene Proteinsynthese auf.

S_{80} -Bestimmungen zwischen der 16S-rRNA der Chloroplasten einer Rotalge (Porphyridium) und den Cyanobakterien zeigen in der Tat eine Verwandtschaft zwischen beiden auf. Bei dem erst vor einigen Jahren entdeckten Cyanobacterium Prochloron schließlich wurde, wie bei den Grünalgen, Chlorophyll a und b nachgewiesen.

Auch die Endosymbiontentheorie der Mitochondrien ist in letzter Zeit erhärtet worden; sie scheinen von Vorfahren der photosynthetischen Purpurbakterien abzustammen, die im Laufe der Evolution als Endosymbionten ihre photosynthetischen Eigenschaften zurückgebildet haben.

Trotz dieser Gemeinsamkeiten zwischen Bakterien und den erwähnten Zellorganellen gibt es noch einige nicht erklärbare Phänomene in bezug auf ihre gemeinsame Abstammung, die damit zwar nicht als bewiesen, immerhin aber doch als sehr wahrscheinlich angesehen werden darf (5).

Gerade in letzter Zeit hat man, noch sehr hypothetisch, die Abstammung des Nucleus der Eukaryonten von gewissen Archaeobakterien herzustellen versucht (Gray & Doolittle, 1982). Wie Tab. 2 zeigt, gibt es ja tatsächlich gewisse Ähnlichkeiten zwischen Eukaryonten und Archaeobakterien, z. B. das Vorkommen von Rhodopsin, die gleichen Synthesewege von Karotinoiden, ähnliche Aminosäuretransportmechanismen, die gleiche Starter-Aminosäure, Empfindlichkeit des Elongationsfaktors gegen Diphtherietoxin, Empfindlichkeit gegen Antibiotika und andere Fakten mehr. Doch bedarf diese Hypothese noch weiterer Untersuchungen.

Schlußbemerkungen

Die molekularbiologische Forschung hat gerade in jüngster Zeit viele Fragen, die den Menschen schon Jahrhunderte beschäftigt, aufgeklärt.

Die Einsicht in die eigenständige Natur der Archaeobakterien stößt viele ältere Thesen und Hypothesen über die Evolution, wie wir sie früher verstanden haben, um. Ein neues, wenn auch noch unvollständiges Bild von der Entwicklung aller zellulären Lebens aus einer Urzelle, die sich in verschiedene Richtungen hin fortentwickelt hat, zeichnet sich ab.

Schrifttum:

1. WOESE, C. R.: Archäobakterien — Zeugen aus der Urzeit des Lebens. *Spektrum der Wissenschaft*, August 1981, 74—91.
2. BOND, J. H., ENGLE, R. R., LEVITT, M. D.: Factors influencing pulmonary methane excretion in man. *J. Exp. Med.* 133, 572—588 (1971).
3. MILLER, T. L., WOLIN, M. J.: Enumeration of *Methanobrevibacter smithii* in human feces. *Arch. Microbiol.* 131, 14—18 (1982).
4. KANDLER, O.: Zellwandstrukturen bei Methanbakterien — Zur Evolution der Prokaryonten. *Naturwissenschaften* 66, 95—105 (1979).
5. GRAY, M. W., DOOLITTLE, W. F.: Has the endosymbiont hypothesis been proven? *Microbiol. Rev.* 46, 1—42 (1982).

Anschrift des Verfassers:

Dr. rer. nat. Rainer Hämmann
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Immunologie
Universität Bonn
Venusberg, Klinikgelände
D-5300 Bonn 1



Hämatologische Parameter für Diagnose und Verlaufskontrolle von Anämien*

W. Fereberger

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Graz (Vorstand: Prof. Dr. S. Sailer)

Zusammenfassung:

Eine zweckmäßige Laboratoriumsdiagnose von Anämien besteht aus der richtigen Interpretation von Grunduntersuchungen für weitere, komplizierte Tests, die in vielen Fällen vor allem der näheren Charakterisierung und Quantifizierung von hämolytischen Anämien dienen.

Das diagnostische Grundlagenprogramm wird ausführlich besprochen und mögliche Fehler bei der Indikationsstellung für weitere Untersuchungen werden diskutiert.

Schlüsselwörter:

Anämien — Laboratoriumsdiagnose — Grundlagenprogramm

Summary:

The rationale of the laboratory diagnosis of anemias is based on the correct interpretation of basic tests for further, more complicated studies which are in many cases necessary especially for the further characterisation and quantification of hemolytic anemias.

The basic diagnostic program is demonstrated extensively and possible mistakes concerning the indication for further evaluations are discussed.

Keywords:

Anemias — laboratory diagnosis — basic program

Einleitung

Als Anämie wird nach Begemann (1) eine Verminderung von roten Blutkörperchen, Hämoglobin und Hämatokrit pro Volumeneinheit Blut unter die Norm bezeichnet. Ohne auf die interessanten Detailfragen der Methodik und Standardisierung näher einzugehen, sind diese Normbereiche sowie einige diagnostisch besonders bedeutende Indizes beim Erwachsenen in Tab. 1 dargestellt.

Von 1800 (846 Männer und 936 Frauen) wegen verschiedenartigster Erkrankungen innerhalb eines Monats ambulant oder stationär behandelten Patienten an unserer Klinik zeigten nach dieser Definition 35% der Männer und 40% der Frauen das Symptom „Anämie“. Dabei machten Blutkrankheiten nur in weniger als 4% dieser Fälle die Hauptdiagnose aus. Wenngleich diesen Zahlen keinerlei absolute Wertigkeit zukommt, vor allem da das Selektionskriterium „Blutbild“ gewählt wurde, eine Untersuchung die bei ambulanten Patienten nicht in allen Fällen durchgeführt wird, überrascht doch die Häufigkeit von Anämien.

Keines der zahlreichen vorgeschlagenen Einteilungsprinzipien genügt in gleichem Maße klinischen, diagnostischen und

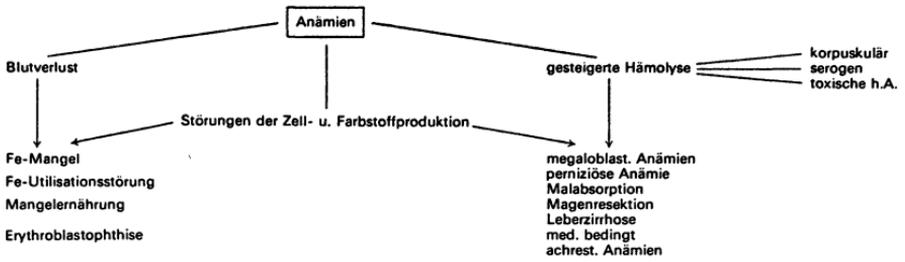
pathogenetischen Kriterien (Tab. 2). Es soll das Ziel dieser kurzen Übersicht sein, vereinfachende Hinweise für eine möglichst rationelle Anämiediagnostik zu geben. Dabei soll auf eine genauere Beschreibung einzelner Entitäten zugunsten einer übersichtlichen Didaktik verzichtet werden. Jeg-

Tab. 1: Normalwerte des roten Blutbildes beim Erwachsenen (1, 10 u. 3) SI-Einheiten (herkömmliche Einheiten in Klammern)

Hämatol. Parameter	Männer	Frauen
Erythrozyten	$5,4 \pm 0,8 \times 10^{12}/l$	$4,8 \pm 0,6 \times 10^{12}/l$
Hämoglobin	140–180 g/l	120–160 g/l
Hämatokrit	0,43–0,49 (43–48%)	0,38–0,44 (38–44%)
Mittleres Zellvolumen MCV = Hkt/Ery	82–96 fl (82–96 μ^3)	
Mittleres korpuskuläres Hämoglobin (MCH)	27–33 pg	
Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC)	310–350 g/l (31–35 g/dl)	
Retikulozyten (relativ)	5–15‰	

* Vortrag Hämatologie-Symposium Wien, November 1982

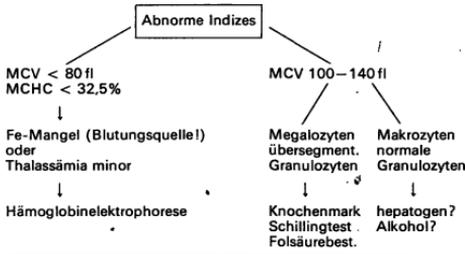
Tab. 2: Pathogenetische Einteilung der Anämien (vereinfacht n. H. Begemann, 1)



Tab. 3: Grundprogramm der Laboratoriumsdiagnostik von Anämien

1. Blutbild mit Erythrozytenindizes (z. B. elektronische Zählgeräte) Erythrozyten, Hb., Hkt., MCH (Hb₂), MCHC, MCV, Leukozyten
2. Blutaussstrich (Erythrozytenmorphologie)
3. Retikulozytenzählung
4. Thrombozytenzählung
5. Serum-Fe, Eisenbindungskapazität (in besonderen Fällen Serumferritin)
6. Chemische Serumroutineuntersuchungen (insbesondere LDH, Harnstoff, Kreatinin, Gesamtbilirubin u. indir. Bil., Gesamteiweiß, Elektrolyse)

Tab. 4: Beispiele für Informationen durch abnorme Erythrozytenindizes



liches „wenn und aber“ wurde daher auf ein Minimum reduziert.

Ein gut ausgerüstetes Laboratorium verfügt heute über ein Spektrum von über 30 verschiedenartigen Laboratoriumsuntersuchungen zur Differentialdiagnose von Anämien, wobei der umfangreichste diagnostische Aufwand im allgemeinen der Klassifizierung und Quantifizierung von hämolytischen Anämien dient (9). Komplizierte Labortests werden jedoch nur dann einen diagnostischen Gewinn bringen, wenn neben der klinischen Untersuchung die Ergebnisse eines einfachen

diagnostischen Grundprogrammes (Tab. 3) richtig interpretiert wurden. Von seiner methodisch einwandfreien, exakten Durchführung mit standardisierten Methoden und sorgfältigen regelmäßigen Qualitätskontrollen hängen letztlich die entscheidenden weiteren Konsequenzen ab. Einzelne Gesichtspunkte der Interpretation der Ergebnisse dieses Grundprogrammes sollen im folgenden näher erläutert werden.

Erythrozytenindizes

Sieht man zunächst von Veränderungen durch Störungen des Wasser- und Elektrolythaushaltes ab, liefern abnorme Erythrozytenindizes bereits wertvolle Informationen über die Art einer zugrunde liegenden Anämie (Tab. 4). Ein mittleres Zellvolumen (MCV) von weniger als 80 fl bedeutet fast immer entweder eine ausgeprägte Eisenmangelanämie oder auch einmal eine Thalassämie minor. Ein MCV von weniger als 100 fl läßt eine unbehandelte perniziöse Anämie ausschließen.

Anämien nach akuten Blutungen oder chronische Infektanämien haben kaum ein MCV über 110 fl. Eine mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC) von über 36% spricht für eine hereditäre Sphärozytose, ein Wert unter 32% für Eisenmangel oder Thalassämia minor (9).

Eine Eisenmangelanämie zeigt nach Beseitigung ihrer Ursache und suffizienter peroraler Eisensubstitution einen Retikulozytenanstieg zwischen dem 5. und 11. Tag nach Einsetzen der Therapie und eine anfängliche Zunahme der Hämoglobinkonzentration um 0,2–0,3 g/dl und Tag (8).

Die perniziöse Anämie erfährt eine diagnostische Bestätigung 1 Woche nach dem Schillingtest durch den Retikulozytenanstieg als Folge der bei diesem Test angewendeten parenteralen Zufuhr von unmarkiertem Vitamin B₁₂. Während die normalisierte erythropoetische Proliferation erst nach diesem Zeitraum im Blut erscheint, sind die Megaloblasten bereits nach einem Tag aus dem Knochenmark verschwunden (2). Eine diagnostische Knochenmarkpunktion ist daher bekanntlich nur vorher sinnvoll.

Blutaussstrich (Erythrozytenmorphologie)

Wichtige diagnostische Informationen können folgende Veränderungen der Erythrozyten im panoptisch gefärbten Blutaussstrich liefern:

Sphärozyten zeigen sich bei der hereditären Sphärozytose aber auch bei manchen autoimmunhämolytischen Anämien. Sogenannte Fragmentozyten werden bei mechanischer Zell- oder Gefäßwandschädigung sowie bei der manchmal bei Neoplasien auftretenden mikroangiopathisch-hämolytischen Anämie gesehen (3, 4).

Ovalozyten kommen bei der kongenitalen Elliptozytose vor, sowie immer zusammen mit ausgeprägter Aniso- und Poikilozytose bei megaloblastären Anämien, manchmal bei refraktären, normoblastischen Anämien und Osteomyelofibrosen, die in späteren Stadien zusätzlich „tränenförmige“ Erythrozyten zeigen. Eine vermehrte Anzahl von basophil getüpfelten Erythrozyten (RNA Präzipitate, Ribosomen) kommt nicht nur bei verschiedenen Metallvergiftungen (Blei, Quecksilber, Zink) und anderen toxisch-hämolytischen Anämien, sondern manchmal auch bei der Thalassämia minor vor. „Targetzellen“ finden sich nicht nur bei vielen Hämoglobinopathien, sondern auch bei Lebererkrankungen. Sie können auch nach Splenektomien zusammen mit Kernresten (Howell-Jolly-Körperchen) vorkommen.

Retikulozytenzählung

Der Prozentsatz von Retikulozyten ist ein besonders wichtiger und einfacher diagnostischer Wegweiser (Tab. 5). Extrem hohe Werte über 50%₁₀₀ sprechen für eine autoimmunhämolytische Anämie, oder bei negativem Coombs-Test für einen hämolytischen Schub bei einer enzymopathischen hämolytischen Anämie. Beständig mittelgradig erhöhte Werte um 15%₁₀₀ bedeuten gewöhnlich eine periphere Hämolyse. Ausgenommen sind transitorische Erhöhungen nach akuten Blutungen oder nach Substitution einer Mangelanämie. Weitere Hinweise lassen sich häufig bereits durch die Erythrozytenmorphologie finden. Erniedrigte Werte stellen eine Indikation zur Knochenmarksuntersuchung dar. Sie finden sich bei perniziöser Anämie, sowie bei primärer oder sekundärer Knochenmarksinsuffizienz.

Thrombozytenzählung

Eine ungeklärte Anämie mit Thrombopenie bedeutet immer eine Indikation zu einer Knochenmarksuntersuchung. Dabei

soll vor allem die Frage nach dem Vorliegen einer akuten Leukämie, einer neoplastischen Knochenmarksinfiltration anderer Genese oder eines aplastischen Syndroms geklärt werden (Tab. 6). Splenogene Hypersequestrationen können gelegentlich ebenfalls eine mäßiggradige Anämie mit Leukopenie und Thrombozytopenie zur Folge haben.

Serumeisen und Eisenbindungskapazität

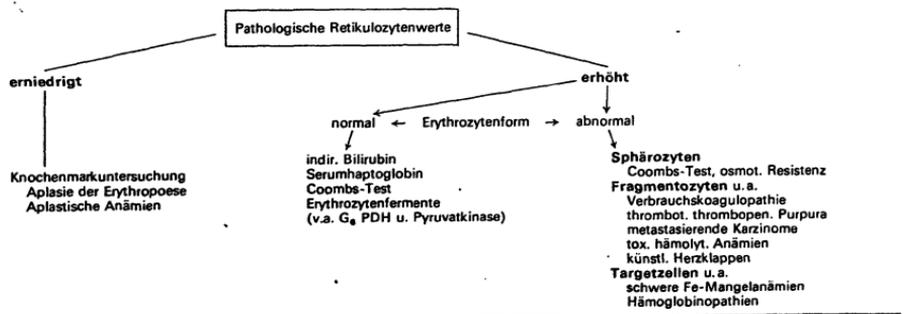
Serumeisen und Transferrinbestimmungen gehören nach wie vor zur Vorfelddiagnostik bei Anämien. Neben der Beachtung von bekannten, variablen Größen wie Altersabhängigkeit, physiologischen Tagesschwankungen, erhöhten Serumeisenwerten bei Hepatitis mit erniedrigtem Transferrinspiegel, sowie erniedrigtem Eisen und Transferrin bei nephrotischen Syndromen und exsudativen Enteropathien, empfiehlt sich noch die Berücksichtigung einfacher, praktischer Hinweise.

Wenig Aufschluss wird die Untersuchung bei Patienten mit Fieber und Infekten geben, da beide Werte dabei häufig erniedrigt sind. Eine Retikulozytose gehört nicht zu einer unbehandelten Eisenmangelanämie. Behandelte Patienten mit einer perniziösen Anämie zeigen nach Beginn der Behandlung über längere Zeit anhaltende niedrige Serumeisenpiegel auch bei vollen Eisenspeichern. Deutlich erniedrigte Serumeisenpiegel (unter 35 µg/dl) mit erhöhter Bindungskapazität (über 350 µg/dl) bedeuten Eisenmangel, während ein norma-

Tab. 6: Indikationen zur Knochenmarksuntersuchung in der Anämiediagnostik

Befund	Hauptfrage
1. MCV über 100 µ ³	megaloblastäre Anämie
2. MCH unter 30, Serum Fe ↓	sideroachrestische Anämie
3. Retikulozyten ↓	aplastische Anämie
4. Thrombozyten ↓	KM-Insuff., akute Leukämie
5. Thrombozyten ↑ mit path. Differentialblutbild	myeloproliferatives Syndrom
6. Leukozyten ↓ oder ↑ mit path. Differentialblutbild	akute Leukämie
7. BSG ↓ verdächtige Serumelektrophorese	myeloproliferatives Syndrom paraproteinämische Hämoblastose

Tab. 5: Diagnosehinweis: Abnorme Retikulozytenzahl nach Ausschluß von Blutungen od. Subst. einer Mangelanämie



ler Serumeisen Spiegel eine manifeste Eisenmangelanämie ausschließt. Hohe Serumeisenwerte bei hypo-normochromen Anämien sind verdächtig auf sideroachrestische Anämien und stellen eine Indikation zur Knochenmarkpunktion mit Berlinerblau-Färbung dar (Tab. 6).

Schwieriger liegen die Verhältnisse bei chronischen Infekt- und Tumoranämien mit niedrigen Eisen- und Transferrinwerten im Serum. Hier hilft auch der vielfach empfohlene Index der Transferrinsättigung nicht viel weiter. Falls keine Knochenmarkuntersuchung mit semiquantitativer zytochemischer Speichereisenbestimmung vorgenommen wurde, zeigen die Serumferritinwerte trotz heterogener und vielfach noch ungeklärter Herkunft eine gute Korrelation zum Knochenmarkspeichereisen und ermöglichen in solchen Fällen meist eine gute Abgrenzung zwischen Eisenmangel und sogenannter Eisenfehlverwertung (5, 7). Falsch hohe Werte werden allerdings meist dann erzielt, wenn in den letzten 10 Tagen eine Eisenmedikation vorgenommen wurde. Wenn nicht die chronische Blutung überwiegt, haben Tumorpatienten häufig relativ hohe Serumferritinwerte und volle Eisenspeicher (6).

Chemische Serumroutineuntersuchungen

Serumroutineuntersuchungen, wie sie in Tab. 3 dargestellt sind, können die Ursachen von Anämien aufklären helfen. Eine erhöhte Serum-LDH findet sich bei hämolytischen Anämien mit peripherer Hämolyse, bei megaloblastären Anämien mit ausgeprägter intramedullärer Hämolyse, sowie bei manchen myeloproliferativen Erkrankungen. Eine Erhöhung von harnpflichtigen Substanzen deutet auf eine verminderte Erythrozytenproduktion bei Azotämie oder auf eine renale Anämie. Erhöhtes indirektes Bilirubin findet sich bei Hämolyse, verminderte Bilirubinwerte kommen bei Eisenmangelanämien vor. Erhöhtes Gesamteiweiß wird bei normalem Albumingehalt, ebenso wie eine stark erhöhte BSG oder charakteristische Elektrophoresebilder zur Fahndung nach einer paraproteinämischen Hämoblastose führen.

Allgemeine Bemerkungen zu Spezialuntersuchungen

Schillingtest, gastrointestinale Exploration und Folsäurebestimmung sind zur weiteren Klassifizierung einer megaloblastären Anämie sinnvoll, nachdem die Diagnose durch die hämatologischen Grunduntersuchungen, sowie die Knochenmarkuntersuchungen eingeengt wurde. Sie sind nicht sinnvoll bei Patienten mit einem MCV unter 100 fl, sowie einer deutlichen Retikulozytose oder Leukozytose. ♣

Die wichtigsten Indikationen zur Knochenmarkpunktion in der Anämiediagnostik sind in Tab. 6 dargestellt. Wenig hilfreich wird das Knochenmark bei nachgewiesener Eisenmangelanämie oder bei Anämien mit vorwiegend peripherer Hämolyse sein, es sei denn, ein in Tab. 6 angegebenes Kriterium läßt an eine Begleithämolyse durch ein Malignom mit Knochenmarksbefall denken.

Eine Hämoglobinelektrophorese bringt außer bei der Sichelzellanämie wenig diagnostischen Gewinn bei morphologisch unauffälligen Erythrozyten. Das umfangreichste Spektrum erfordert oft die nähere Klassifizierung einer hämolytischen Anämie. Wenn die erwähnten Voraussetzungen durch entsprechende Befunde des Grundprogrammes fehlen, werden sie überflüssig.

Selten werden nuklearmedizinische hämatologische Untersuchungen, wie Ferrokinetik oder ^{51}Cr -Erythrozyten- oder Thrombozytenüberlebenszeit für die primäre Anämiediagnostik benötigt.

Eine verkürzte Erythrozytenüberlebenszeit wird bereits aus einer beständigen Anämie mit Retikulozytose und einer angemessenen Anzahl an Knochenmarkserothroblasten ersichtlich. Überlebenszeitstudien mit ^{111}In -Chlorid, das sich an Transferrin bindet zum Abschätzen erythroblastischer Restaktivitäten zugrunde (9).

Ähnliche quantifizierende Zielsetzungen liegen z. B. auch Untersuchungen mit $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Schwefelkolloid bei myeloproliferativen Erkrankungen oder Studien mit ^{111}In -Chlorid, das sich an Transferrin bindet zum Abschätzen erythroblastischer Restaktivitäten zugrunde (9).

Schrifttum:

1. BEGEMANN, H. (Herausgeber): Klinische Hämatologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1975).
2. BOLL, I.: Megaloblastische Anämien. Med. Welt 32, 38, 1416-1419 (1981).
3. BRAIN, M. C., DACIE, J. V., HOURIHANE, D. O. B.: Brit. J. Haemat. 8, 358 (1962).
4. BRAIN, M. C., AZZOPARDI, J. G., BAKER, L. R. I., PINCO, G. F., ROBERTS, P. D., DACIE, J. V.: Brit. J. Haemat. 18, 1983 (1970).
5. FEREBERGER, W., NEUBAUER, M., LEB, G.: Serumferritin und zytochemisches Speichereisen in Erythropoese und R. E. S. bei Eisenmangel und Eisenfehlverwertung. Acta Med. Austriaca 6, 366 (1979).
6. FEREBERGER, W., LEHNERT, M., NEUBAUER, M., GOEBEL, R.: Transferrin und Serumferritin bei Tumorpatienten. Acta Med. Austriaca 6, 344 (1979).
7. FEREBERGER, W.: Ferritin, Bestimmung und diagnostische Bedeutung. Wiener Med. Wochr. 20, 493-496 (1981).
8. HEILMANN, E.: Therapie der Anämien in Klinik und Praxis. Int. Praxis 19, 133-139 (1979).
9. WALLERSTEIN, R. O.: Role of the Laboratory in the Diagnosis of Anemia. J.A.M.A. 236, 5, 490-493 (1976).
10. WINTROBE, M. M.: Clinical Hematology. Lea u. Febiger, Philadelphia (1975).

Anschrift des Verfassers:

OA, Dr. Werner Fereberger
Medizinische Universitätsklinik Graz
Auenbruggerplatz 15
A-8036 Graz



Spezifische Einflüsse des Lebensalters und des Geschlechtes auf die Thrombozytenzahl, Größe und Größenverteilung

Referenzbereiche für ein mechanisiertes Analysengerät*

Christiana Artmann, K. Mayr

Zentrallaboratorium des Allg. öff. Krankenhauses der Barmherzigen Schwestern, Wels

Zusammenfassung:

Bei ca. 3000 Probanden aller Altersstufen, deren übrige hämatologische Befunde normal waren, wurden mit einem mechanisierten Zellzählgerät die Thrombozytenzahl, der Thrombokrit, das mittlere Zellvolumen und ein Index der Größenverteilung der Plättchen ermittelt.

Die anfallenden Daten wurden nach Alter und Geschlecht der Probanden in elf Gruppen aufgeteilt und statistisch ausgewertet, mit den Zielen:

1. Erstellung von gruppenspezifischen Referenzbereichen (Mittelwert und $\pm 2s$ Bereiche).
2. Prüfung auf geschlechts- und altersspezifische Unterschiede und deren Signifikanz, Vergleich der Verteilungshistogramme der einzelnen Parameter.

Es zeigt sich, daß die Beurteilung von Thrombozytenzahl, -Volumen und -Größenverteilung nur unter Berücksichtigung von Lebensalter und Geschlecht sinnvoll ist, da signifikante Unterschiede der Referenzbereiche bestehen.

Schlüsselwörter:

Thrombozytenzahl – Thrombokrit – Mittleres Thrombozytenvolumen – Größenverteilungsbreite der Thrombozyten – Referenzbereiche in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht

Summary:

Approximately 3000 patients, with normal hematological values, were tested using a mechanical cell count instrument to obtain number, plateletcrit, mean platelet volume. The size distribution of platelets was used to obtain an index named PDW (Platelet Distribution Width).

The data obtained were classified into 11 groups according to the age and sex of the patients, and a statistical evaluation was carried out for:

1. Determination of a group-specific range (Mean ± 2 SD).
2. Testing of differences in values due to sex and age, and the significance thereof.

Between the various groups, significant differences in platelet number, platelet size and size distribution indicate that age and sex must be considered in the evaluation of data.

Keywords:

Platelet number – plateletcrit – mean platelet volume – size distribution of platelets – normal range relative to age and sex

Einleitung

Moderne elektronische Zählgeräte machen es möglich, unter Routinebedingungen nicht nur die Zählung von Partikeln im Blut (Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten) durchzuführen, sondern auch deren Volumen zu messen und eine Quantifizierung ihrer Größenverteilung vorzunehmen.

Wir untersuchten eine große Anzahl der von unserem Gerät gelieferten Daten, um die Referenzbereiche der Thrombozytenparameter zu ermitteln und deren Verhalten in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht zu prüfen.

Probanden, Material und Methodik

Die in die statistische Auswertung aufgenommenen Daten stammen von stationären und ambulanten Krankenhauspatienten, die nicht an einer hämatologischen Erkrankung litten und deren Zustand keinen Einfluß auf hämatologische Parameter erkennen ließ (Leukozytenzahl und -verteilung, Erythrozytenzahl, -volumen und -verteilungsbreite, sowie Hämoglobin, Hämatokrit, MCH und MCHC im Normalbereich). Die Venenblutproben wurden am nüchternen Patienten in K-EDTA-haltigen Röhrchen gesammelt und innerhalb der ersten Stunde gezählt, nach ca. 8 min Mischdauer. Gemessen wurde am Coulter Counter S-Plus II. Das Gerät erfaßt die Thrombozytenzahl nach dem Prinzip der Impedanzmessung; alle Meßimpulse — auf den drei Kanälen — welche einer Teilchengröße zwischen 2 und 20 fl entsprechen, werden in einer log-normalen Größenverteilungskurve geordnet, für den Bereich 0—70 fl extrapoliert und zur Ermittlung der Thrombozytenzahl verwendet. Das mittlere Plättchenvolumen leitet sich von dieser Größenverteilungskurve ab, als arithmetischer Mittelwert der Plättchenvolumina. Errechnete Parameter sind der Thrombokrit (Thrombozytenzahl \times mittleres Thrombozytenvolumen, geteilt durch 10) und der Index der Größenverteilungsbreite der Plättchen-PDW (geometrische Standardabweichung der Streuung der Plättchenvolumina, mit 10 multipliziert).

Die Eichung mechanisierter Analysensysteme zur Thrombozytenzählung ist bekanntlich schwierig (1); wir führten sie über vergleichende Mehrfachzählungen am Phasenkontrastmikroskop (Referenzmethode) durch. Die Richtigkeit der Geräteeinstellung wurde mit Kontrollblutproben auf Humanbasis mit deklarierten Werten geprüft (4 C Plus der Fa. Coulter Electronics Ltd., Thrombocell N und L der Fa. Molter GmbH, Thrombokontrolle, N und P der Fa. ASID-Bonz und Sohn GmbH).

Mit einer Kontrollblutprobe erreichten wir anhand 20 Messungen in Serie einen Variationskoeffizienten von 2,76%, von Tag zu Tag einen Variationskoeffizienten von 2,95%, bei einer mittleren Thrombozytenzahl von 232 G/l.

Zur Geräteeichung für das mittlere Plättchenvolumen verwendeten wir eine Suspension mit Latexpartikeln geeigneter Größe: Calibration Standard-Platelet volume — Mode 8,5 fl der Fa. Coulter. Unsere Untersuchungen mit Kontrollblutproben ergaben für 20 Messungen in Serie einen Variationskoeffizienten von 1,26%, von Tag zu Tag einen Variationskoeffizienten von 1,90%, bei einem Mittelwert von 7,8 fl.

Die rechnerische Auswertung der Meßdaten erfolgte mit Hilfe eines Computerprogrammes*: Nach Eliminierung von Extremwerten wurde für jeden Parameter und jede Gruppe ein

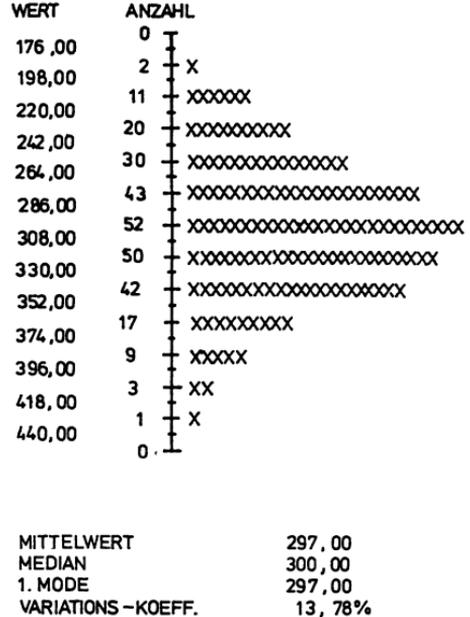


Abb. 1: Verteilungshistogramm der Thrombozytenzahl bei Frauen, 31—45 Jahre

Tab. 1: Referenzbereiche der Thrombozytenzahl

Alter in Jahren	unter 1	1—5	6—15		
Kinder	n	86	203	278	
	\bar{x}	510	398	340	
	$\pm 2s$	355—666	286—509	247—436	
Alter in Jahren	16—30	31—45	46—60	über 60	
Frauen	n	272	269	277	271
	\bar{x}	313	297	290	277
	$\pm 2s$	220—406	215—379	201—379	187—366
Männer	n	272	267	273	270
	\bar{x}	288	279	279	269
	$\pm 2s$	210—366	193—365	202—356	177—361

* Für die Durchführung der Berechnungen danken wir Herrn OA. Dr. Rudolf Sommer und der Ärztlichen Leistungsverrechnung G.m.b.H. Linz

Verteilungshistogramm erstellt und Mittelwert und $\pm 2s$ Bereiche, Median, Mode sowie Streuung und Variationskoeffizienten ermittelt.

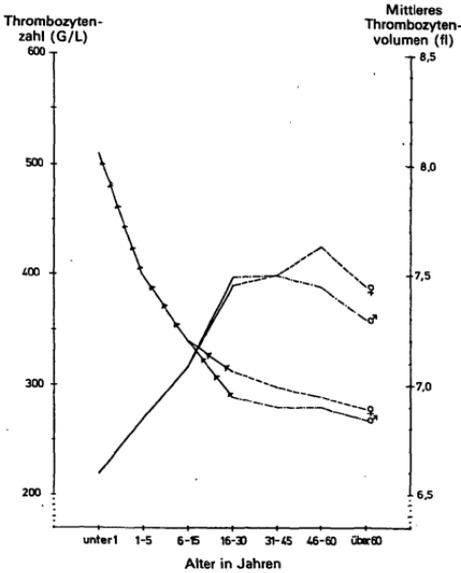


Abb. 2: Verhalten der Thrombozytenzahl und des mittleren Thrombozytenvolumens in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht. Die Thrombozytenzahl wird durch die mit Δ markierte Linie dargestellt.

Ergebnisse und Diskussion

Thrombozytenzahl

Die Histogramme dieses Parameters zeigen in allen Erwachsenengruppen das Bild einer annähernd normalen Verteilung: Mittelwert, Median und 1. Mode liegen in unmittelbarer Nähe (Abb. 1).

Die gruppenspezifischen Mittelwerte und Referenzbereiche (Tab. 1) entsprechen weitgehend den in der Literatur (2, 3, 4) angegebenen Bereichen.

Die erste Gruppe, Kinder bis zum 1. Jahr, weist die höchsten Plättchenzahlen auf und die breiteste Streuung, z. T. vermutlich auch durch die schwierige Blutabnahme bedingt. Bis zum Pubertätsalter nimmt die gemessene Thrombozytenzahl deutlich ab, nach dem 15. Lebensjahr wird die absinkende Tendenz geringer, bleibt jedoch bis ins höchste Alter nachweisbar (Abb. 2).

Der Vergleich zwischen männlichem und weiblichem Kollektiv ergibt in allen Altersstufen signifikante Unterschiede der Mittelwerte (Tab. 2). Ähnliche Beobachtungen wurden bereits beschrieben (4), man findet jedoch häufig noch gegenteilige Behauptungen (2).

Mittleres Thrombozytenvolumen

Die altersabhängige Kurve dieser Meßgröße verläuft anfangs ansteigend, gegensinnig zur Kurve der Plättchenzahl (Abb. 2), bleibt im Erwachsenenalter auf einem Niveau und sinkt im höheren Alter nur leicht ab. Tab. 3 zeigt die ermittelten Referenzbereiche und Mittelwerte; sie decken sich mit den Literaturangaben für andere Meßgeräte (5, 6), sind jedoch etwas niedriger als die mit gleichartigen Analysensystemen erstellten Normalbereiche (7, 8). Als Ursache dafür vermuten wir einerseits die differente Selektion des Probandenkollektives, andererseits die unterschiedliche Zeitspanne zwischen Blutabnahme und Messung; das Plättchenvolumen steigt in den ersten Stunden nach der Blutabnahme nachweislich an

Tab. 2: Signifikanzniveaus der Unterschiede zwischen den gruppenspezifischen Mittelwerten

Signifikanzniveau	Thrombozytenzahl (Jahre)	Mittleres Thrombozytenvolumen (Jahre)	Index der Größenverteilung der Thrombozyten (Jahre)
P < 0,001	♀ 16-30: ♂ 16-30 t 6,7955 ♀ 31-45: ♂ 31-45 t 4,9993	♀ 46-60: ♂ 46-60 t 3,4179	♀ 16-30: ♂ 16-30 t 4,4212 ♀ über 60: ♂ über 60 t 5,3555
	Kinder unter 1: 1-5 t 12,1471	Kinder unter 1: 1-5 t 3,8558	♂ 16-30: ♂ 31-45 t 4,1814
	1-5: 6-15 t 6,5904	1-5: 6-15 t 4,9616	♂ 46-60: ♂ über 60 t 4,2674
	0,01 > P > 0,001	♀ 46-60: ♂ 46-60 t 3,1490	♀ über 60: ♂ über 60 t 2,8949 ♀ 31-45: ♂ 46-60 t 2,7972

(7. 9). Wir beobachteten eine Zunahme des mittleren Plättchenvolumens um durchschnittlich 0,5 fl in der ersten Stunde nach der Blutabnahme, in den folgenden 7 Stunden um weitere 0,1 – 0,2 fl pro Stunde; nach 24 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur war das mittlere Plättchenvolumen um ca. 2,0 fl höher als der Ausgangswert.

Tab. 3: Referenzbereiche des mittleren Thrombozytenvolumens

Alter in Jahren	unter 1	1–5	6–15
Kinder	n 86	199	272
	\bar{x} 6,61	6,84	7,08
	$\pm 2s$ 5,73–7,50	5,82–7,86	6,02–8,14

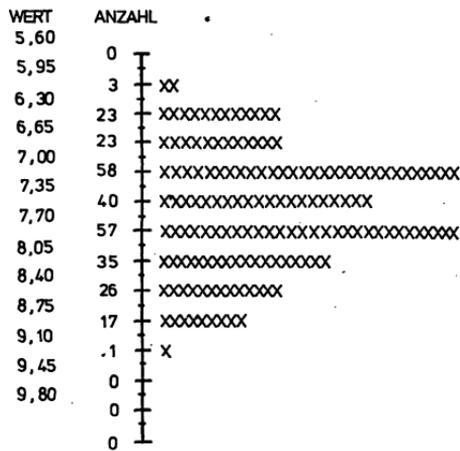
Alter in Jahren	16–30	31–45	46–60	über 60
Frauen	n 273	270	279	273
	\bar{x} 7,44	7,49	7,63	7,45
	$\pm 2s$ 6,20–8,68	6,49–8,48	6,30–8,97	6,33–8,58
Männer	n 271	271	273	276
	\bar{x} 7,47	7,50	7,45	7,31
	$\pm 2s$ 6,31–8,63	6,26–8,74	6,32–8,58	6,16–8,46

Bei der Prüfung auf geschlechts- und altersabhängige Unterschiede fällt die Gruppe der Frauen von 46 bis 60 Jahren auf, sie zeigt etwas höhere Werte als das Gesamterwachsenenkollektiv; außerdem erscheint das Verteilungshistogramm dieser Gruppe bimodal (Abb. 3), der 1. Mode ist bei 7,17 fl, der 2. Mode bei 7,87 fl.

Tab. 4: Referenzbereiche des Thrombokrits

Alter in Jahren	unter 1	1–5	6–15
Kinder	n 87	202	275
	\bar{x} 0,338	0,269	0,239
	$\pm 2s$ 0,227–0,450	0,194–0,344	0,180–0,298

Alter in Jahren	16–30	31–45	46–60	über 60
Frauen	n 274	266	275	273
	\bar{x} 0,230	0,223	0,218	0,207
	$\pm 2s$ 0,171–0,288	0,166–0,279	0,153–0,284	0,140–0,274
Männer	n 277	272	272	269
	\bar{x} 0,214	0,209	0,206	0,196
	$\pm 2s$ 0,160–0,269	0,150–0,267	0,151–0,262	0,137–0,255



MITTELWERT	7,63
MEDIAN	7,60
1. MODE	7,17
2. MODE	7,87

Abb. 3: Verteilungshistogramm des mittleren Thrombozytenvolumens bei Frauen, 46–60 Jahre

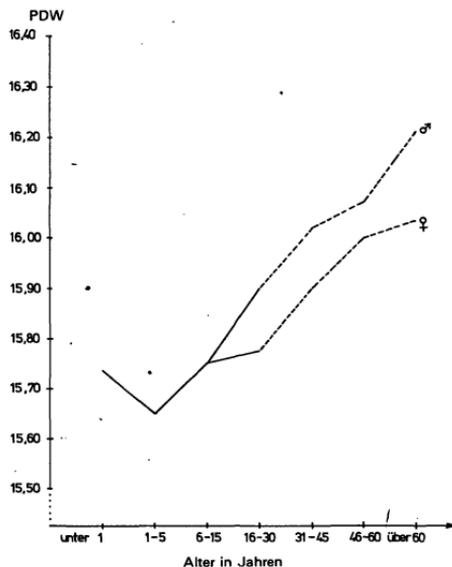


Abb. 4: Verhalten des Index der Größenverteilung der Thrombozyten in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht

Tab. 5: Referenzbereich des Index der Größenverteilung der Thrombozyten

Alter in Jahren		unter 1	1-5	6-15	
Kinder	n	87	200	276	
	\bar{x}	15,73	15,65	15,74	
	$\pm 2s$	15,06-16,41	14,97-16,32	15,10-16,39	
Alter in Jahren		16-30	31-45	46-60	über 60
Frauen	n	272	268	273	276
	\bar{x}	15,77	15,89	15,99	16,03
	$\pm 2s$	15,18-16,37	15,26-16,52	15,25-16,74	15,29-16,77
Männer	n	270	271	270	270
	\bar{x}	15,89	16,02	16,07	16,21
	$\pm 2s$	15,22-16,55	15,30-16,84	15,37-16,78	15,39-17,03

Möglicherweise deuten diese Beobachtungen auf hormonell bedingte Einflüsse auf die Thrombopoese – im Zusammenhang mit der Menopause – hin.

Thrombokrit

Diese errechnete Größe spiegelt weitgehend die Schwankungen der Plättchenzahl wieder (Tab. 4), da sich das mittlere Plättchenvolumen unter normalen Bedingungen nur geringfügig ändert.

Index der Größenverteilung der Thrombozyten – PDW

Die Heterogenität der Plättchen wurde mehrfach beschrieben und untersucht (5, 10–13). Den Unterschieden in Größe und Dichte der einzelnen Thrombozytenpopulationen sollen Unterschiede in ihren strukturellen und funktionellen Eigenschaften entsprechen.

Das zahlenmäßige Verhältnis der einzelnen Populationen zueinander scheint unter normalen Bedingungen sehr konstant zu sein, die Größenverteilungsbreite der Plättchen – als numerischer Index angegeben – streut nur gering (Tab. 5).

Mit zunehmendem Alter steigen die Indizes leicht an, dabei bleiben die Werte des männlichen Kollektives durchwegs etwas höher als die der weiblichen Probanden (Abb. 4). Da die ermittelten Referenzbereiche sehr klein sind (meist Mittelwert $\pm 0,7$) und die Meßwerte erheblich schwanken (Reproduzierbarkeit von $\pm 0,1$) eignet sich dieser Parameter vorwiegend zum Screening, z. B. als Hinweis für das Vorliegen einer gestörten Thrombopoese, als Zeichen für das Auftreten von abnormen Plättchen oder Zellfragmenten im Blut.

Schlußfolgerung

Die signifikanten Unterschiede der Plättchenzahl und der Plättchenvolumina zwingen zu dem Schluß, daß zur Beurteilung der angeführten Parameter Lebensalter und Geschlecht des Probanden berücksichtigt werden müssen.

Schrifttum:

- ROSS, D. W., AYSUE, L., GULLEY, M.: Automated platelet counts. Accuracy, precision and range. *Am. J. Clin. Pathol.* 74, 151–156 (1980).
- QUEISSER, W.: Das Knochenmark. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, p. 541 (1978).
- WILLIAMS, W. J., BEUTLER, E., ERSELY, A. J., RUNDLES, R. W.: Mc Graw-Hill Inc., *Hematology*, 2. Auflage, New York (1977).
- STEVENS, R. F., ALEXANDER, M. K.: A sex difference in the platelets count. *Brit. J. Haematol.* 37, 296–300 (1977).
- KARPATIN, S.: Heterogeneity of human platelets I and II, a. b. *J. Clin. Invest.* 48, 1073–1082, 1083–1087 (1969).
- BONEJ, G., CORBERAND, J., PLANTE-BIENNE: Evidence that platelet densities and volume are not related to aging. *Thromb. Res.* 10, 475–486 (1977).
- GILES, C.: The platelet count and mean platelet volume. *Brit. J. Haematol.* 48, 31–37 (1981).
- BESSMAN, J. D.: Evaluation of automated whole – blood platelet counts and particle sizing. *Am. J. Clin. Pathol.* 74, 157–162 (1980).
- ROPER, P. R., JOHNSON, D., AUSTIN, J. et al.: Profile of platelet volume distributions in normal individuals and in patients with acute leukemia. *Am. J. Clin. Pathol.* 68, 445–457 (1977).
- PAULUS, J. M., BRETON-GORIUS, J., KINET-DENDEL, C., BONIVER, J.: Megakaryocyte ultrastructure and ploidy in human macrothrombocytosis. In: Platelets: production, function, transfusion and storage, ed. by M. C. Baldini, S. Ebbe, Grune & Stratton, New York, London, p. 131 (1974).
- PENNINGTON, D. G., LEE, N. L. Y., ROXBURGH, A. E., MCGREADY, J. R.: Platelets density and size: the interpretation of heterogeneity. *Brit. J. Haematol.* 34, 365–376 (1976).
- PENNINGTON, D. G., STREATFIELD, K., ROXBURGH, A. E.: Megakaryocytes and the heterogeneity of circulating platelets. *Brit. J. Haematol.* 34, 639–653 (1976).
- DIGHIERO, G., LESTY, C., LEPORRIER, M., COUTY, M. C.: Computer analysis of platelets volumes. *Blood Cells* 6, 365–370 (1980).

Anschrift der Verfasser:

OA Dr. Christiana Artmann
 Prim. Dr. Konrad Mayr
 Zentrallaboratorium des Allg. öff. Krankenhauses
 der Barmerhizigen Schwestern
 A-4600 Weils

