

Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den heterophilen Granulozyten des Haushuhns

Über heterophile Granulozyten des Haushuhns liegen bisher mehrere lichtmikroskopische Beobachtungen vor¹⁻³. Eine Übersicht über ihre Feinstruktur wurde bereits an anderer Stelle gegeben⁴. Die folgende Darstellung soll sich daher nur auf ihre Granula beziehen.

Peripheres Blut wurde 10 klinisch gesunden, legenden weissen Hybridhennen nach i.v. Applikation von Na-Zitrat (3,8%; pH 7,6) entnommen und zentrifugiert (30 g; 30 min). Der leukozytenreiche Überstand wurde in gepuffertem Glutaraldehyd (6,25%; pH 7,2; 2 h) vorfixiert, zur Erhöhung des Kontrastes mit gepufferter Osmiumsäurelösung (1%; pH 7,2), mit Uranylacetat (0,5%) sowie Phosphorwolframsäure (1%) behandelt und in Vestopal-W eingebettet. Mikrophotos wurden mit einem EM 9 (Zeiss) aufgenommen.

Auffälligste Bestandteile der Heterophilen sind die charakteristisch geformten osmiophilen Granula. Sie liegen dicht gelagert im gesamten Zytoplasmaraum; ihre Gestalt ist rundlich bis oval oder spindelförmig (Figur 1). Sie sind von einer Membran («unit membrane») umgeben und zeigen neben einer dichten Matrix gewöhnlich umschriebene elektronenlichte Bezirke («cores») in unterschiedlicher Anzahl und Grösse (Figuren 1 und 2). Core- und Matrixmaterial sind zwar durch eine Verdichtungszone deutlich voneinander abgegrenzt, eine Membran ist zwischen ihnen jedoch nicht sichtbar; zuweilen heben sich Core- und Matrixanteile durch einen schmalen lichten Spalt voneinander ab.

Während die heterophilen Myelozyten im Knochenmark von Leghornküken 2 Populationen von Granula aufweisen⁵, können in den Heterophilen des zirkulierenden Blutes vom Haushuhn 4 Granulatypen nachgewiesen werden. Die Unterscheidung erfolgt nach ihrem Kontrast (Osmiophilie): Sehr zahlreich vertreten sind stark osmiophile Granula, die entweder homogen erscheinen oder elektronenlichte Bezirke enthalten (Figuren 1, 2a, 2b). Ein anderer Granulumentyp besitzt eine schwach osmiophile Matrix mit deutlich erkennbaren «cores». Weniger häufig sind schwach osmiophile Granula; Matrix und «core» sind bei ihnen nicht zu unterscheiden, jedoch liegt

elektronendichteres Material an ihrer Aussenzone (Figur 2a).

Hin und wieder beobachtet man auf Granulaanschnitten Zytoplasmaanteile. Diese rundlichen bis ovalen Bezirke sind möglicherweise mit den lichtmikroskopisch festgestellten Vakuolen innerhalb der Granula³ identisch. Selten enthält ein Heterophiler neben den beschriebenen Formen ein abnorm grosses Granulum mit mehreren unregelmässigen Zytoplasmaeinschlüssen an der Peripherie und deutlich geschiedene Core- und Matrixbezirke (Figur 3). Möglicherweise ist dieses der Ausdruck eines besonderen funktionellen Zustandes.

¹ W. ÄCKERLEIN und H.-U. SPRENGER, Tierärztl. Umsch. 21, 626 (1966).

² H. CH. LÖLIGER, Tierärztl. Umsch. 2, 63 (1964).

³ A. M. LUCAS und C. JAMROZ, *Atlas of Avian Hematology* (Agric. Monograph., Dept. of Agriculture, Washington 1961), vol. 25.

⁴ H. ENBERGS und K. KRIESTEN, Dt. tierärztl. Wschr. 75, 271 (1968).

⁵ F. CHAMPELL, J. Morph. 123, 405 (1967).

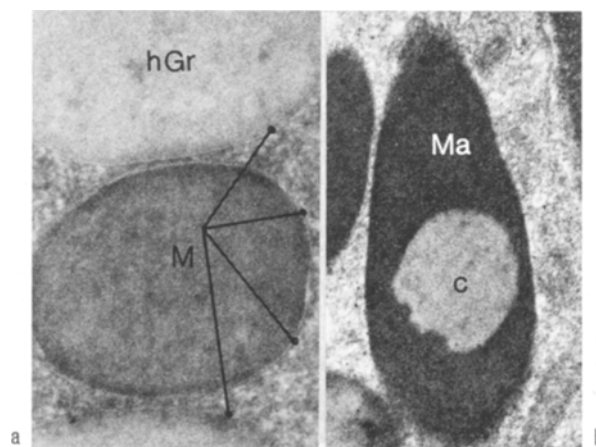


Fig. 2. (a) Granula mit Membranen (M); helles Granulum (hGr) mit osmiophiler Randzone. $\times 80000$. (b) Spindelförmiges Granulum mit Matrix (Ma) und «core» (c). $\times 42000$.



Fig. 1. Heterophiler mit spezifischen Granula (Gr). Kern (N). $\times 7000$.

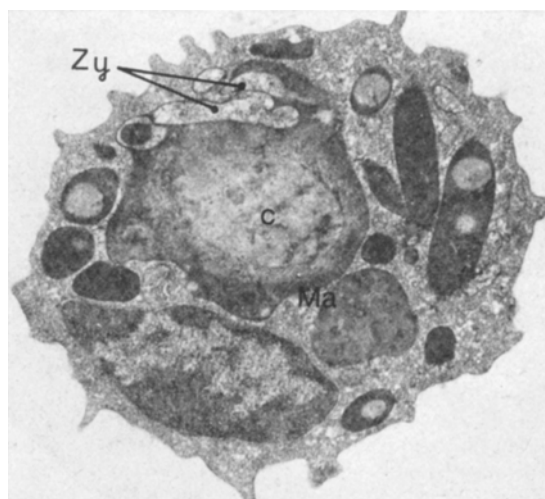


Fig. 3. Abnorm grosses Granulum: Matrix (M), «core» (c) und Zytoplasmaeinschlüsse (Zy). $\times 7000$.

Der Golgiapparat ist gut ausgeprägt; seine Zisternen sind unterschiedlich stark erweitert und enthalten teilweise schwach osmiophile Substanz. In seiner Nähe liegen Vesikel und homogene Granula unterschiedlicher Form, Grösse und Elektronendichte. Die Häufung von Vesikeln sowie ihrer Übergangsformen zu homogenen Granula im Bereich des Golgikomplexes deutet auf die Entstehung der Granula in diesem Organell. Die Bildung von Granulummaterial im Golgiapparat wurde schon bei heterophilen Myelozyten des Leghornküchens⁶, Progranulo- und Myelozyten des Kaninchens⁶ und Neutrophilen des Pferdes⁷ beobachtet. Die Entstehung der 3 beschriebenen Granulumentypen in bestimmten Zonen des Golgikomplexes, wie z. B. bei den Myelozyten des Kaninchens⁶, wurde nicht festgestellt.

Eine Umwandlung von Mitochondrien in Granula, wie es RINEHART⁸ für die Granula der Neutrophilen des Menschen postulierte, dürfte bei den Heterophilen des Haushuhns auszuschliessen sein, da entsprechende Übergangsstadien fehlen.

Die physiologische Bedeutung der Granula in den Heterophilen ist noch ungeklärt. Durch bereits eingeleitete

zytochemische Untersuchungen soll das Vorkommen von bestimmten Enzymen in diesen Granula studiert werden.

Summary. Ultra-thin sections of heterophil granulocytes of clinically healthy, laying hybrid-hens were examined by electron microscope. Within the cytoplasm of these cells, round, oval or fusiform granules (rods) of different electron density were found. Osmiophilic and electron light areas (cores) were seen, either together within the same granular body, or separately in different granules.

K. KRIESTEN und H. ENBERGS

*Institut für Anatomie und Physiologie der Haustiere
der Universität, 53 Bonn (Deutschland),
30. September 1968.*

⁶ D. F. BAINTON und M. G. FARQUHAR, J. Cell Biol. 28, 277 (1966).

⁷ M. SONODA und K. KOBAYASHI, Jap. J. vet. Res. 14, 71 (1966).

⁸ J. F. RINEHART, Am. J. clin. Path. 25, 605 (1955).

Lack of Immunological Specificity of Heterologous So-Called Antilymphocyte Serum

On the one hand, heterologous antiserum represents a common reagent for studies on tissue specificity¹; on the other hand, heterologous immunization mostly results also in formation of antibodies directed against a variety of other antigens, which may be species-specific and thus common to many different structures and cell types in the organism of any individual of that species (see, e.g.²). It appears to be of special interest for the understanding of possible in vivo activity of an injected heterologous anti(lymphocyte)-serum – as of its γ -globulin fraction – to check its cross-reactivity with various tissues or cells under relatively physiological conditions, i.e. involving intact cells rather than extracts.

Therefore, we studied, amongst other things, 2 main aspects of reactivity of rabbit antisera against rat thymocytes, namely (a) decrease of thymocyte agglutination and cytotoxicity titers after exhaustive absorption with other cells, and (b) cytotoxicity on different rat cells. Our observations, the details of which are to be published, may be summarized as follows:

(a) The mean of thymocyte agglutination titers of 11 non-absorbed antisera ranged between 1:512 and 1:1024; it dropped about 2 twofold dilution steps after absorption with rat erythrocytes, about 1 step further after subsequent absorption with liver-cell or with kidney-cell suspensions; and 5 steps further after combined absorption with both cell types (thymocytotoxic titers fell correspondingly). Equally exhaustive absorption of previously erythrocyte-absorbed antisera by the vascular network of perfused livers or kidneys (after having ruled out the interaction of white blood cells) reduced titers by about 4 steps; and finally, a combination of all absorption procedures (cell suspensions plus perfusions) resulted in the most pronounced drop of titers, down to values of about 1:1.

(b) Cytotoxic efficiency on macrophages, thyroid cells, ovarian cells, and testicular cells was studied after incubation of undiluted erythrocyte-absorbed antisera and freshly prepared normal rat sera as source of C' with the cell suspension at a ratio of 1:1:1 by counting the percentage of dead cells in trypan blue exclusion tests

after various lengths of incubation. All types of cells were killed almost as fast as thymocytes (reaching about 100% mortality after maximum 60–90 min). This was in sharp contrast to survival times of the various cells in normal rabbit serum, which did not differ significantly from those of isolated rat cell control suspensions in normal rat serum.

These data show the extent to which heterologous so-called antithymocyte antibodies may be able to react with antigens located at apparently easily accessible sites on cells or in tissues quite different from lymphoreticular. This may, at least in part, help to explain some of the experimentally (see, e.g.³) or clinically (see, e.g.⁴) observed (side-)effects after in vivo application of the so-called antilymphocyte sera, as well as such effects as may only be clarified after prolonged application and/or purposeful investigations.

Zusammenfassung. Thymozyten-Agglutinations- und Zytotoxizitäts-Titer von Kaninchenantiseren gegen Rattenthymozyten sanken nach erschöpfender Absorption mit Nieren- oder/und Leberzellen oder/und Organperfusionen stufenweise bis etwa 1:1 ab. Suspendierte Makrophagen, Thyreoidea-, Hoden- oder Ovarialzellen von Ratten wurden nach Inkubation mit diesen Antiseren fast ebenso rasch abgetötet wie Thymozyten.

W. MÜLLER-RUCHHOLTZ und
H. G. SONNTAG

*Hygiene-Institut der Universität,
23 Kiel (Germany), 30 October 1968.*

¹ F. MILGROM, Ann. N.Y. Acad. Sci. 129, 767 (1966).

² W. MÜLLER-RUCHHOLTZ, W. A. LIEB and E. F. PFEIFFER, Z. Immunforsch. exp. Ther. 125, 3 (1963).

³ H. G. SONNTAG and W. MÜLLER-RUCHHOLTZ, Verh. dt. Ges. inn. Med., in press 74 (1968).

⁴ T. E. STARZL, Symp. immun. klin. Fragen Organtranspl., Bonn, in press (1968).