

Untergruppierung der «Blasten» wurde in dieser orientierenden Übersicht nicht versucht, es fand sich jedoch eine ausgesprochene Variabilität an Übergangsformen in den positiven Kulturen.

Homologe Granulozyten als nicht DNA synthetisierende Endzellen von kurzer (20–50 h) Überlebenszeit bieten sich damit als potentes Mitogen an, welches die selektive Beobachtung biochemischer und morphologischer Ver-

Anzahl Blasten und Mitosen in Leukozytenmischkulturen nach 140 h

Kultur	%	
	Blasten	Mitosen
Homologe GLM Genetisch nicht Verwandte	21,7 (8,6–63,2)	3,2 (0,7–8,2)
GLM Geschwister	18,9 (3,3–59,9)	3,0 (0–4,4)
GLM Zwillinge	3,2 (1,7–3,8)	0
Lymphozyten allein; autologe GLM	< 4	0
Lymphozyten + PHA-P	67,8 (34,5–92,0)	4,1 (3,9–4,6)
Granulozyten allein; Granulozyten + PHA-P	0	0

Mitosen ausschliesslich in Lymphozytenkulturen stimuliert durch PHA-P oder durch homologe Granulozyten. GLM, Granulozyten-Lymphozyten-Mischkultur.

änderungen transformierter Lymphozyten erlaubt. Die positive Lymphozytentransformation durch homologe, nicht aber autologe und isologe Granulozyten ist in Übereinstimmung mit Resultaten der gemischten Lymphozytenkultur^{2,3} und eine indirekte Bestätigung anderer Beobachtungen¹⁰, dass Granulozyten Träger von Transplantationsantigenen sind. Die Zahl der Zellen mit bekannter mitogener Aktivität wird damit erweitert, und es drängt sich die Adaptation dieses Histokompatibilitätstestes zur immunzytologischen Differenzierung von normalen und neoplastischen Geweben auf.

Summary. Lymphocyte stimulation in vitro could be obtained with allogeneic but not autochthonous or isogeneic granulocytes. Blastoid transformation, mitosis and activated DNA synthesis measured by H³-thymidine incorporation occurred simultaneously. The cytoimmunological relevance and further applications of the findings are discussed.

G. A. NAGEL^{11,12}

*Service de Médecine Interne,
Centre des Tumeurs de l'Université libre de Bruxelles,
Institut Jules Bordet,
Bruxelles (Belgien), 25 August 1969.*

¹⁰ J. J. VAN ROOD, A. VAN LEEUWEN, A. SCHIPPERS und H. BALNER, *Cancer Res.* 28, 1415 (1968).

¹¹ Mit Unterstützung der schweizerischen Krebsliga.

¹² Gegenwärtige Adresse: Medizinische Universitätsklinik Bürgerspital, CH-4000 Basel (Schweiz).

Das bioelektrische Potential an der zytoplasmatischen Membran der Granulozyten

Die gemessenen Ionenverteilungen zwischen dem Zellinnern der Leukozyten und dem jeweiligen Suspensionsmedium^{1,2}, die Messungen des Membranpotentials bei Einzellern mit amöboider Bewegung³ und die Ergebnisse an Erythrozyten⁴ legten nahe, diese Grösse für Leukozyten zu bestimmen. Es ist zu vermuten, dass Grösse und Vorzeichen dieser Potentiale von den umgebenden Bedingungen der Leukozyten abhängen, und dass ein Zusammenhang mit der physiologischen Aktivität dieser Blutzellen existiert. REDMANN^{5–7} zeigte, dass das Deckglaspräparat (monolayer) ein günstiges Untersuchungsobjekt für das Studium der Beziehungen zwischen dem bioelektrischen Potential an der Membran von Einzelzellen und den Milieueinflüssen und Zellfunktionen darstellt.

Methodik. Die Granulozyten wurden auf Glasobjektträgern angereichert⁸.

1) Granulozyten aus Vollblut: Einige Tropfen Humanblut werden auf Objektträger gebracht und 30 min bei 37°C bebrütet. Nach anschliessendem Abspülen des Gerinnsels mit dem Untersuchungsmedium ergibt sich eine mehr oder weniger dichte Besetzung von Leukozyten auf dem Objektträger. Es handelt sich bei den haftenden Zellen zu 99% um Granulozyten⁸.

2) Kaninchenexsudatleukozyten: Die Exsudatleukozyten wurden in entsprechender Weise auf die Objektträger gebracht. Das verwendete Exsudat wurde nach den Angaben von BURMEISTER⁹ gewonnen. Sein zellulärer Anteil gliedert sich durchschnittlich in 81% polymorphkernige Leukozyten und 19% Lymphozyten.

3) Messverfahren: Die Messung der Potentiale erfolgte nach den Angaben von REDMANN^{6,7} in einer thermostatisierten Messkammer unter mikroskopischer Kontrolle. Zur Zellpunktion wurden Glasmikroelektroden verwendet (Spitzendurchmesser < 0,5 µm, abgewinkelte Spitze, Tip-Potential < 5 mV, elektrischer Widerstand ca. 30 MΩ, Füllung mit 3M KCl-Lösung). Die Messkette führt symmetrisch über Flüssigkeitsbrücken und Kalomelektroden zum Eingang eines Gleichspannungsverstärkers (Negativ-Capacitance-Elektrometer, Fa. DISA Elektronik, Kopenhagen). Anzeige und Registrierung erfolgte mittels Oszilloskop und Kamera.

Ergebnisse. Die Ergebnisse an Blutleukozyten stammen aus Untersuchungen an 2 Kollektiven: 1) 18 Personen verschiedenen Alters und Geschlechts; 2) 12 Studenten, männlich, 20–22 Jahre). Die zum Vergleich mitgeteilten

¹ D. L. WILSON and J. F. MANERY, *J. cell. comp. Physiol.* 34, 493 (1949).

² D. A. RIGAS, *J. Lab. clin. Med.* 58, 234 (1961).

³ M. S. BINGLEY, *J. exp. Biol.* 45, 251 (1966).

⁴ U. V. LASSEN and O. STEN-KNUDSEN, *J. Physiol.* 195, 681 (1968).

⁵ K. REDMANN, *Biophysik* 4, 92 (1967).

⁶ K. REDMANN und W. KALKOFF, *Experientia* 24, 975 (1968).

⁷ K. REDMANN und D. MOSCHAU, *Acta biol. med. germ.* 20, 255 (1968).

⁸ W. BAUDISCH, *Wiss. Z. Univ. Rostock, Math.-Naturw. Reihe* 3/4, 743 (1963).

⁹ J. BURMEISTER, *Acta biol. med. germ.* 14, 216 (1965).

Werte von Exsudatleukozyten stammen aus 5 Versuchen mit 3 weiblichen Kaninchen. Beim Einstich in die Zelle zeigt das Oszilloskop sofort einen negativen Ausschlag, der im Verlauf von 5–10 sec kleiner wird (Figur 1, a und b). Beim Herausziehen der Elektrode springt der Elek-

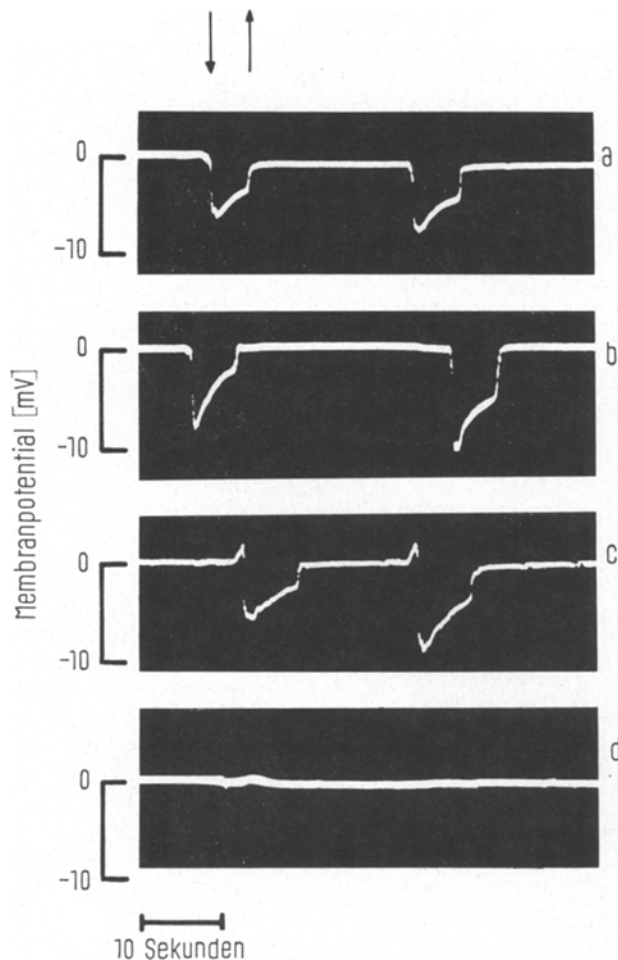


Fig. 1. Potentialverläufe bei der Punction von Granulozyten mit einer Glasmikroelektrode. ↓, Einstich; ↑, Ausstich (siehe 1. Zelle in Registrierung a), Filmregistrierung 6,9 s/cm. a) und b) normale Verläufe bei je 2 Zellen. c) Positivierung bei Berührung der Zellen kurz vor dem Einstich. d) Potentialverlauf beim Aufsetzen und Abheben der Mikroelektrode vom Deckglas (Fibrin).

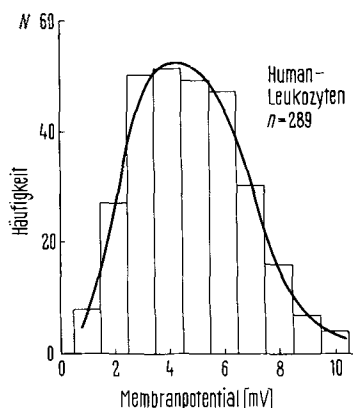


Fig. 2. Häufigkeitsverteilung der gemessenen Potentiale von 289 menschlichen Leukozyten (2. Kollektiv, Pufferlösung).

Durchschnittliche Membranpotentiale (\overline{MP}) von Granulozyten

Material	n	Medium	\overline{MP} [mV]	$\pm m$ [mV]
1. Kollektiv	168	NaCl (0,9%)	-5,1	0,2
1. Kollektiv	170	Pufferlös. ^b	-6,1	0,2
2. Kollektiv	276	NaCl (0,9%)	-4,3	0,2
2. Kollektiv	289	Pufferlös. ^a	-4,9	0,2
Exsudatleukozyten	145	Pufferlös. ^a	-6,9	0,3

^a Pufferlösung nach HEDESKOV und ESMANN¹⁰. n, Zahl der Messwerte beziehungsweise Zellpunktionen. $m = \pm \sqrt{[\lambda \lambda]/(n-1) n}$; λ : Abweichung des Einzelwertes vom arithmetischen Mittel (\overline{MP}).

tronenstrahl auf die Nulllinie zurück. In manchen Fällen, besonders bei Elektroden mit hohem Tip-Potential, ergab sich kurz vor dem Einstich ein deutlicher Positivierungseffekt (Figur 1, c). Auch in diesen Fällen wurde das Potential immer von der Nulllinie ausgehend bis zum tiefsten Punkt der Kurve ausgewertet. Figur 1, d zeigt den Potentialverlauf bei Berührung des mit Plasmaeiweiss (Fibrin) bedeckten Deckglases mit der Mikroelektroden spitze. Die Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengefasst. Für eine grössere Anzahl von Zellen eines Kollektivs ergibt sich eine annähernd symmetrische Normalverteilung der gemessenen Potentiale (Figur 2), die der Potentialverteilung in einer K.B.-monolayerkultur⁶ entspricht. In allen untersuchten Fällen ist das mittlere Potential in der Ca^{++} -haltigen Pufferlösung grösser als in der physiologischen NaCl-Lösung. Der Grund hierfür könnte in der vermuteten membranstabilisierenden Wirkung der Ca^{++} -Ionen gesehen werden.

Die Deutung der gemessenen Potentiale ist schwierig, zumal zuverlässige Werte über die ionalen Konzentrationsverhältnisse zwischen intra- und extrazellulärem Raum der Granulozyten noch nicht vorliegen. Es deutet aber einiges darauf hin, die gemessenen Grössen als Cl^- -Diffusionspotentiale anzunehmen. Eine ausführliche Darstellung dieser Hypothese wird in einer weiteren Arbeit erfolgen.

Summary. The bioelectric potential between the interior of granulocytes taken from whole blood and exudatleucocytes and 2 extracellular media was examined with microelectrode-technique. The order of magnitude amounts to about -5 mV. The potentials of the cell population are Gaussian distributed.

A. BECKMANN, H. L. JENSEN,
W. KALKOFF und K. REDMANN¹¹

Physiologisches Institut der Universität Rostock,
25 Rostock (DDR), und Physiologisches Institut der
Medizinischen Akademie Magdeburg,
Spezialabteilung für Biophysik und
Elektrophysiologie der Zelle,
301 Magdeburg (DDR), 8. September 1969.

¹⁰ C. J. HEDESKOV und V. ESMANN, Blood 28, 163 (1966).

¹¹ Frl. D. LÜDERS sind wir für die sehr sorgfältig durchgeführten Zellpunktionen und Potentialmessungen sowie für die Herstellung der Mikroelektroden zu grossen Dank verpflichtet.