

34. Kalium- und Kohlehydratstoffwechsel der Leukocyten

von R. Pulver und F. Verzár.

(7. III. 41.)

Im Verlaufe unserer Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Kalium- und Kohlehydratstoffwechsel¹⁾ haben wir gezeigt, dass Hefezellen aus Glucoselösungen während der ersten Phase der Vergärung zusammen mit dem Zucker auch Kalium in beträchtlicher Menge aufzunehmen²⁾. Während dieser ersten Phase wird nach *Willstätter* und *Rohdewald*³⁾ die aufgenommene Glucose zu Glykogen aufgebaut, das dann anschliessend in der zweiten Gärungsphase nach Phosphorolyse in bekannter Weise bis zu Alkohol und Kohlendioxyd gespalten wird. Während dieser Zeit wird wiederum Kalium aus der Hefezelle abgegeben²⁾.

Willstätter und *Rohdewald*⁴⁾ konnten nachweisen, dass bei weissen Blutkörperchen aus Pferdeblut, diesen in grosser Menge erhaltbaren überlebenden Säugetierzellen, ähnliche Verhältnisse vorliegen wie bei der Hefe. Setzt man zu einer Suspension von Leukocyten in *Ringer*-Pufferlösung Glucose hinzu, so wird diese unter Bildung von Glykogen in die Zellen aufgenommen.

Wir haben deshalb im Folgenden untersucht, ob auch bei Leukocyten gleichzeitig mit der Glykogenbildung eine Aufnahme von Kalium festzustellen ist, wobei wir ähnliche Verhältnisse, wie bei der Hefe fanden⁵⁾.

Methodik.

Gewinnung der Leukocyten: Pferdeblut wurde am Schlachthof in weithalsigen Flaschen aufgefangen und mit $\frac{1}{5}$ des Volumens 3,8% Natriumcitratlösung vermischt. 12—15 Liter dieses Citratblutes liessen wir sodann in einem 1 m hohen Glaszyylinder während 6—12 Stunden bei einer Raumtemperatur von 0° sedimentieren. Der Glaszyylinder besass unten einen Hahn, durch welchen die Erythrocyten abgelassen wurden. Die Grenzschicht, die ausser den Leukocyten auch Erythrocyten sowie Plasma enthält und etwa 200 cm³

¹⁾ *J. C. Somogyi* und *F. Verzár*, *Helv. Med. Acta* **7**, 20, 30, etc. (1940).

²⁾ *R. Pulver* und *F. Verzár*, *Helv.* **23**, 1087 (1940); *Verh. d. Ver. d. Schweizer Physiologen* Januar 1940; *Nature* **145**, 823, 1940.

³⁾ *Willstätter*, *R.* und *M. Rohdewald*, *Z. physiol. Ch.* **247**, 269 (1937).

⁴⁾ *Willstätter*, *R.* und *M. Rohdewald*, *Z. physiol. Ch.* **247**, 115 (1937).

⁵⁾ Vorläufige Mitteilung: *Verh. Schweizer Physiol.* Januar 1941.

misst, wird nun aus demselben Hahn entnommen und 8 Minuten mit kleiner Tourenzahl zentrifugiert. Nun wird das Plasma abgesaugt und die Leukocytenschicht abpipettiert. Der Leukocytenbrei wird mit einer Lösung, enthaltend 0,8% Natriumchlorid, 0,1% Kaliumchlorid und 0,1% Natriumcitrat, gewaschen und nochmals schwach auszentrifugiert. Das Waschwasser wird abgesaugt und der Brei wieder in gleicher Weise gewaschen.

Glykolyseversuch: Der so gereinigte Leukocytenbrei wird im zweifachen Volumen *Ringer*-Pufferlösung von folgender Zusammensetzung suspendiert:

0,8 % NaCl	0,01% MgCl ₂
0,02% KCl	0,2 % NaHCO ₃
0,02% CaCl ₂	0,01% NaH ₂ PO ₄

Dann wird in zwei Reagenzgläser verteilt und im Wasserbad auf 37° erwärmt.

Nach 10 Minuten gibt man zu der einen Probe 5% des Volumens einer 5,4-proz. blutisotonischen Glucoselösung. Zu der zweiten (Kontroll-)Probe kommt ebensoviel 0,85-proz. Kochsalzlösung. In anderen, hier nicht beschriebenen Versuchen wurde die Zuckermenge variiert, um auch die Wirkung anderer Glucosekonzentrationen zu prüfen.

Sogleich nach dem Zuckerzusatz, sowie zu verschiedenen Zeiten darnach, werden dann von den Proben je 2 cm³ mit Pipette entnommen, in Eis gekühlt und sofort, kalt, 3 Minuten scharf zentrifugiert. Von der überstehenden klaren Lösung wird 0,5 cm³ für die Kaliumbestimmung benutzt, welche nach Veraschung nach *Clausen, Kramer und Tisdall*¹⁾ ausgeführt wurde. Ferner werden zwei Glucoseanalysen in je etwa 0,1 cm³ nach *Hagedorn-Jensen* ausgeführt. In einigen Fällen wurde ferner in 0,5 cm³ Lösung auch das Natrium nach *Butler und Tuthill*²⁾ bestimmt. Die Zahl der Leukocyten wurde kontrolliert und im Ausstrich auch das qualitative Bild untersucht. Die Leukocyten sollten nach vorsichtiger Behandlung möglichst normales Aussehen haben. Ausser Leukocyten waren immer auch Erythrocyten vorhanden. Das Pferdeblut enthielt immer sehr viele eosinophile Leukocyten.

In einzelnen Versuchen wurde ferner Sauerstoff durch die Probe geperlt.

Versuche.

Die Versuchsresultate sind in den folgenden Tabellen angeführt:

¹⁾ *Clausen, S., B. Kramer and F. Tisdall*, J. Biol. Chem. **46**, 339 (1921).

²⁾ *Butler, A. M. and Tuthill E.*, J. Biol. Chem. **87**, 81 (1937).

Versuch Nr. 1. 500000 Leukozyten/mm³.

Zeit ¹⁾ Min.	mg % Glucose	mg % Kalium	mg % Natrium	mg % Kalium im Kontrollvers.
0	224	26,18	284	27,3
5	196	18,68		27,0
10	154	14,30	288	26,9
20	131	16,41	291	27,4
60	106	28,90	292	28,8
120	64	36,21	298	31,0

ohne O₂-Durchleitung

Versuch Nr. 2.

Zeit ¹⁾ Min.	mg % Glucose	mg % Kalium	mg % Kalium im Kontrollvers.
0	217	17,08	16,80
5	209	14,10	16,53
10	191	19,10	17,42
20	171	21,56	17,42
60	159	22,38	18,01
120	87	26,74	18,24

mit O₂-Durchleitung.

Versuch Nr. 3. 280000 Leukozyten/mm³.

Zeit ¹⁾ Min.	mg % Glucose	mg % Kalium	mg % Kalium im Kontrollvers.
0	226	28,46	23,95
5	215	25,30	23,90
10	202	19,18	22,95
20	188	24,40	23,14
60	132	29,37	24,35

mit O₂-Durchleitung

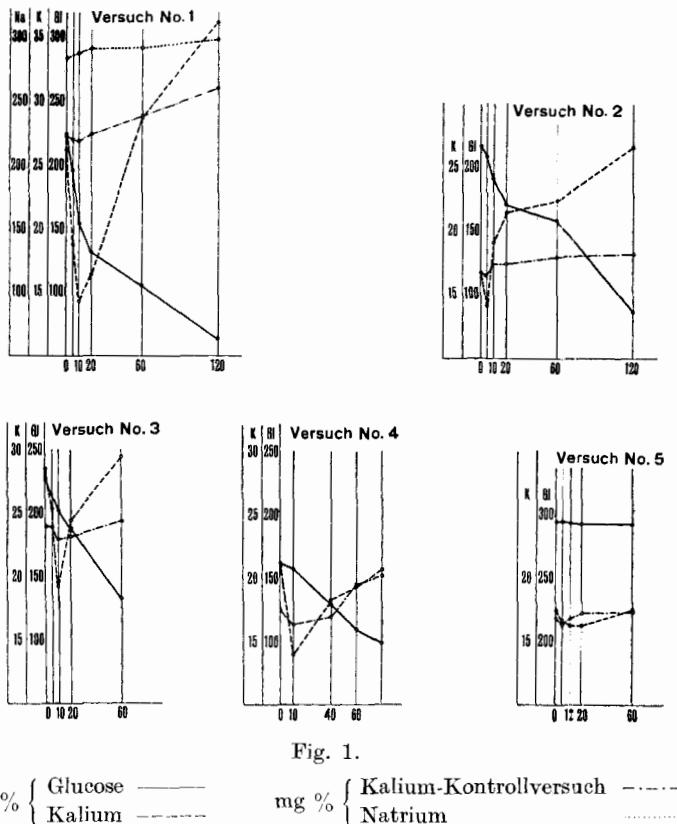
Versuch Nr. 4. 230000 Leukozyten/mm³.

Zeit ¹⁾ Min.	mg % Glucose	mg % Kalium	mg % Kalium im Kontrollvers.
0	162	21,03	17,50
10	158	14,04	16,41
40	130	18,34	17,04
60	110	19,41	19,53
80	100	20,75	20,20

ohne O₂-Durchleitung

¹⁾ Minuten nach Glucosezusatz.

Die Versuche sind nicht direkt miteinander vergleichbar, weil die Zahl der Leukocyten verschieden ist. Der Glucoseverbrauch betrug 62—180 mg in 100 cm³ während 60 Minuten.



Nach dem Glucosezusatz fällt der Kaliumgehalt zusammen mit dem Glucosegehalt in der Lösung rasch ab. Nach 10 Minuten beginnt dann ein langsames Ansteigen der Kaliumkonzentration. Die Kaliumabnahme beträgt bis zu 12 mg % in 10 Minuten und die darauf folgende Zunahme + 22 mg % (Vers. 1). In andern Versuchen (Vers. 3) war nach einer Stunde der Anfangswert wieder erreicht. Fig. 1 zeigt diese Zusammenhänge deutlich.

Im Kontrollversuch ohne Glucose erfolgt keine Kaliumabnahme, die Unterschiede liegen innerhalb der Fehlerbreite der Analysenmethode. Dagegen zeigt die Lösung immer einen langsamen Kaliumanstieg. Dies kann die Folge einer Autolyse der Leukocyten oder einer Haemolyse der auch vorhandenen Erythrocyten sein. Es kann aber auch auf dem Kohlehydratstoffwechsel der Leukocyten, der auch ohne

Zuckerzusatz verläuft, beruhen. Die Menge des dabei frei werden- den Kaliums ist aber viel kleiner als in der zweiten Periode des Ver- suchs mit Zuckerzusatz.

In Versuch Nr. 1 ist auch der Natriumgehalt der Lösung wäh- rend des Versuches bestimmt worden. Dieser ändert sich nicht wesentlich, während der Kaliumgehalt die beschriebenen grossen Veränderungen zeigt. Auch das stimmt mit den bei der Hefe gefun- denen Resultaten überein und beweist, dass es sich nicht um eine allgemeine Permeabilitätsänderung während des Zuckerverbrauchs handelt, sondern um eine spezifische Erscheinung des Kaliumstoff- wechsels.

Eine absolute Konstanz des p_H -Wertes konnte trotz der Puffe- rung nicht erreicht werden. Der p_H -Wert verschiebt sich in den Versuchen mit Leukocyten während der ersten 30 Minuten von 7,1 nach 6,9. Die Konzentration der Pufferlösung darf nicht zu gross sein, da in erster Linie der Zustand der Leukocyten geschont werden muss. Die Änderung des p_H -Wertes ist während der ersten 30 Minuten im Versuch mit Glucose nicht wesentlich anders als im Blindversuch. Nach Messungen von *Willstätter*¹⁾ wird durch Glucosezusatz die Bil- dung von Milchsäure während dieser kurzen Reaktionszeiten nicht wesentlich erhöht.

Kontrollversuche an Erythrocyten.

Die Erythrocyten wurden in gleicher Weise wie die Leukocyten aus der untersten Schicht des sedimentierten Pferdeblutes gewonnen. Sie wurden mehrere Male wie oben gewaschen, zentrifugiert und dann in *Ringer*-Lösung suspendiert, so dass zu 10 cm^3 Erythrocyten- brei 20 cm^3 *Ringer*-Lösung benutzt wurden.

Als Beispiel sei der folgende Versuch angeführt: (Vers. 5).

Versuch Nr. 5. Erythrocyten.

Zeit ²⁾ Min.	mg% Glucose	mg% Kalium	mg% Kalium im Kontrollvers.
0	294	17,4	16,8
5	294	16,6	16,3
12	293	16,2	16,8
20	292	16,2	17,2
60	292	17,4	17,3

ohne O_2 -Durchleitung

Wie man sieht, findet bei denselben Versuchsbedingungen, wie schon *Willstätter* und *Rohdewald* (l. c.) gezeigt haben, keine Glucose-

¹⁾ *Willstätter, R. und M. Rohdewald, Z. physiol. Ch.* **247**, 115 (1937).

²⁾ Minuten nach Glucosezusatz.

aufnahme statt. Ebenso zeigt der Kaliumspiegel nicht die charakteristischen Schwankungen. Der Kontrollversuch ohne Glucosezusatz zeigt ebenfalls keine wesentliche Verschiebung des Kaliums.

Diskussion.

Die Versuche zeigen, dass zwischen dem Kalium- und Kohlehydratstoffwechsel der Leukocyten enge Beziehungen bestehen. Während der ersten Minuten nach Glucosezusatz nehmen die Zellen neben der Glucose auch Kalium mit beträchtlicher Geschwindigkeit auf. Dies erfolgt somit während der Zeit, wo nach *Willstätter*¹⁾ der Prozess des Aufbaues der Glucose zu Glykogen fast isoliert verläuft. Während des anschliessenden Abbaues des Glykogens zu Milchsäure wird wieder Kalium frei.

Diese Verhältnisse gleichen denen, die wir bei der Hefe gefunden haben. Dort handelt es sich um alkoholische Gärung, hier um Glykolyse. In beiden Fällen wird die Glucose zuerst als Glykogen in die Zellen eingelagert. In beiden Fällen geht mit der Glucoseaufnahme eine Kaliumaufnahme, mit dem Glykogenabbau eine Kaliumabgabe der Zellen einher.

Zusammenfassung.

1. Leukocyten aus Pferdeblut verbrauchen Glucose (*Willstätter*). In den ersten Minuten nach Glucosezusatz tritt parallel damit Kalium in die Zellen ein.

2. In der nächsten Phase tritt dieses wieder in die Lösung aus, während die Zellen gleichzeitig (nach *Willstätter*) Milchsäure bilden.

3. Der Natriumgehalt der Lösung zeigt dabei keine messbaren Veränderungen. Es handelt sich somit nicht um allgemeine Permeabilitätsänderungen.

4. Erythrocyten nehmen keine Glucose auf und zeigen auch keine Kaliumaufnahme.

5. Hefe und Leukocyten verhalten sich gleich: Bei der Glykogensynthese wird Kalium gebunden, bei seiner Spaltung abgegeben.

Physiologisches Institut der Universität Basel.

¹⁾ *Willstätter, R. und M. Rohdewald, Z. physiol. Ch. 247, 115 (1937).*