(Aus dem Laboratorium der städt. Irrenanstalt zu Frankfurt a. M.
Direktor: Dr. E. Sioli.)

Die Physiologie der oxydativen Blutfermente.

Von

Dr. med. **Walther Ewald**,
Sekundärarzt am städt. Siechenhaus zu Frankfurt a. M.

Die physiologische Bedeutung der verschiedenartigen Fermente, die für die Verdauungstätigkeit in Betracht kommen, ist seit langem wohl bekannt und auch für die praktische Medizin von erheblicher Wichtigkeit geworden. Der ganze Verdauungsprozess erscheint uns heute nur durch die Wirksamkeit der vielen dabei in Betracht kommenden Fermente erklärlich, und ihre Physiologie und Pathologie spielt bei Erkrankungen der in Betracht kommenden Organe eine dominierende Rolle. Dagegen ist merkwürdigerweise das Studium der Blutfermente, abgesehen von den bei der Fibrinbildung wichtigen Faktoren, erheblich vernachlässigt worden, oder aber man hat sich begnügt, das Vorkommen an sich solcher Fermente, die Fett spalten oder Stärke zersetzen oder oxydative Eigenschaften haben, zu konstatieren. Durch Untersuchungen, die ich über Blutveränderungen bei Geisteskrankheiten anstellte, wurde meine Aufmerksamkeit gerade auf die oxydativen Blutfermente gelenkt, und es musste für mich zunächst von absoluter Wichtigkeit sein festzustellen, welche physiologische Bedeutung ihnen zukomme.

Man unterscheidet heutzutage drei oxydative Fermente nach ihrem jeweiligen Verhalten gegen Wasserstoffsuperoxyd und Guajak-tinktur und bezeichnet Enzyme, die Guajak-tinktur bläuen, als α -Oxydasen, solche, die Guajak-tinktur bei Gegenwart von H_2O_2 bläuen, als Peroxydasen, und solche, die aus H_2O_2 Sauerstoff abspalten, als Superoxydasen.

Das Vorkommen dieser drei Fermente im Blut wird behauptet, und nach Bach und Chodat ist ihre Wirksamkeit in folgender Weise zu erklären: Die α -Oxydasen vermögen ihren Sauerstoff auf

leicht oxydierbare Körper zu übertragen. Hierbei bilden sich intermediäre Peroxyde, die durch die Peroxydasen aktiviert und zur Verbrennung schwer oxydierbarer Stoffe verwendet werden. Die Superoxydasen sollen als Schutzmittel für das Protoplasma dienen, indem durch ihre Tätigkeit die Anhäufung von Peroxyden vermieden wird, die ja als Protoplasmagift wirken würden (zit. nach Senter). So geistreich diese Hypothese auch sein mag, so macht sie doch einen geschraubten und wenig wahrscheinlichen Eindruck, abgesehen davon, dass mancherlei gegen die Voraussetzungen einzuwenden ist. Nach meinen Untersuchungen sind die α -Oxydasen im Blut selbst in minimalen Mengen vertreten; Peroxydasen als Fermente gibt es überhaupt nicht, und Peroxyde, speziell H_2O_2 , sind noch nie im Organismus nachgewiesen worden. Dies alles dürfte jene Hypothese, welche die physiologische Bedeutung der oxydativen Blutfermente von einem einheitlichen Standpunkte aus ansieht, hinfällig machen und auf andere Erklärungsversuche hinweisen. Zunächst ist es aber notwendig, das Vorhandensein dieser Fermente im einzelnen nachzuprüfen.

Wenn man zu einer eiterhaltigen Flüssigkeit Guajaktinktur setzt, tritt die bekannte Blaufärbung der Mischung auf. Dieselbe Probe gelingt nicht, wenn man statt des Eiters Blut verwendet. Nun soll die Reaktion auftreten, wenn man einen Blutstropfen und hinterher einen Tropfen Wasser auf Filtrierpapier bringt und bald hinterher einen Tropfen der Guajaktinktur¹⁾. In den meisten Fällen habe ich die Probe gelingen und eine deutliche Blaufärbung auftreten sehen. Eine wichtigere Rolle als das Blut scheint hier die Porosität des Filtrierpapiers zu spielen. Je poröser das Papier ist, desto mehr Sauerstoff muss an seiner Oberfläche verdichtet sein, und unter Umständen dieser verdichtete Sauerstoff hinreichen, um eine Blaufärbung des Tropffleckens der Guajaktinktur zu bewirken. Von anderer Seite sind denn auch bereits diese Bedenken geltend gemacht worden²⁾. Es tritt in einigen Fällen die Blaufärbung ein, wenn man statt Blut destilliertes Wasser verwendet. Das deutet darauf hin, dass ein derartiges Ferment im Blut wohl nur in Spuren vertreten ist und besondere Umstände (erhöhte Porosität des Filtrierpapiers) hinzu-

1) Klein, Folia haematologica No. 2.

2) Erich Meyer, Über die cytodagnostische Bedeutung der Guajakreaktion. Münch. med. Wochenschr. 1904 Nr. 35.

kommen müssen, um die Reaktion deutlich zu machen. Wenn man bedenkt, dass die Fermente ihre Ursprungsstätte im allgemeinen in den Organen des Fundortes, hier also im Blute, haben müssen, und dass in den beiden Flüssigkeiten Blut und Eiter die Deutlichkeit der Reaktion sich verhält wie die Zahl der Leukocyten in beiden, liegt wohl die Annahme nahe, dass die Leukocyten mit der Anwesenheit dieses Ferments etwas zu tun haben müssen, ja es vielleicht erzeugen. In Übereinstimmung hiermit findet sich die Tatsache, dass in der Literatur Fälle berichtet sind, in denen bei hochgradiger Vermehrung der Leukocyten die Reaktion überaus deutlich in Erscheinung trat¹⁾.

Um auch bei normalem Blut die Blaufärbung der Guajaktinktur zu erhalten, bediente ich mich der bei dem Hämokriten üblichen Methode. Wenn man Blutflüssigkeit zentrifugiert, wird der rote Bodensatz durch die roten Blutkörperchen gebildet, darüber findet sich ein schmaler grauer Ring von Leukocyten und hierüber erst ist das Plasma. Wird das vorsichtig abgegossen und ebenso vorsichtig durch eine milchig gefärbte Mischung von Guajaktinktur mit Wasser ersetzt, so tritt deutlich an der Berührungsstelle ein blauer Ring auf. Hiermit ist bewiesen, dass die α -Oxydase im Blut tatsächlich vorhanden ist. Aus dem Vorhergesagten geht hervor, dass ihre Quantität äusserst gering ist und in direktem Verhältnis zur Zahl der Leukocyten steht. Bei jeder Leukocytose, die durch Verdauung oder Bakterientoxine hervorgerufen ist, muss also die Zahl der α -Oxydase im Blute vermehrt sein. Die Folge dieser Erscheinung dürfte also eine vermehrte Oxydation im Blute sein, die wahrscheinlich sich auf eben jene Toxine und sonstige reduzierende Abbauprodukte bezieht. Das Nützliche der Vorrichtung scheint auf der Hand zu liegen. Eine gewisse Wahrscheinlichkeit spricht sogar dafür, dass die Vermehrung der reduzierenden Stoffe die Leukocytose zur Folge hat, jedoch lässt sich das vorderhand nicht beweisen. An einer Methode, die α -Oxydase quantitativ zu berechnen, fehlt es zur Zeit. Dass es sich um ein echtes Ferment handelt, kann nur dadurch bewiesen werden, dass gekochter Eiter die typische Reaktion nicht gibt.

Setzt man zu einer Blutflüssigkeit eine Mischung von Guajaktinktur und Wasserstoffsuperoxyd, so tritt prompt Blaufärbung ein. Kocht man Blutflüssigkeit entweder allein oder mit Schwefelsäure

1) Erich Meyer, l. c.

und prüft nach dem Erkalten die Reaktion, so fällt sie ebenfalls positiv aus. Man pflegt nun wohl im allgemeinen die Fermente als den Eiweissen nahestehende Stoffe unbekannter Konstitution anzusehen, die sich in kolloidalem Zustande in Lösung befinden. Durch Kochen tritt Gerinnung, und damit Veränderung der chemischen Konstitution und Wirkung ein. Wenn also eine Blutflüssigkeit auch nach dem Kochen noch die Reaktion der Peroxydasen gibt, so kann es sich hierbei nicht um ein Ferment im gewöhnlichen Sinne handeln. Das Eiweissradikal kann bei dem Oxydationsprozess nicht in Frage kommen, vielmehr muss es sich um einen Katalysator anorganischer Natur handeln. Hierbei dürfte nur das Eisenion in Frage kommen, das im Hämoglobin enthalten ist. In der Tat erhält man die Reaktion bei einer Reihe von Eisensalzen, deren wässrige Lösung mit Guajak-tinktur und Wasserstoffsuperoxyd gemischt sich deutlich blau färbt. Bei Eisenoxydsalzen tritt häufig sogar schon bei alleinigem Zusatz der Guajaktinktur das Farbenphänomen auf. Eine eigentliche Peroxydase im Sinne eines Ferments ist demnach im Blute nicht vorhanden, ein Standpunkt, der auch schon von anderer Seite hervor-gehoben ist¹⁾; alle Betrachtungen, die sich auf das Vorkommen der Peroxydase und ihre physiologische Wirkung beziehen würden, sind somit für unsere Zwecke wertlos.

Das dritte der Oxydationsenzyme des Blutes ist eine Superoxydase, d. h. sie spaltet aus Wasserstoffsuperoxyd Sauerstoff ab. Sie ist Katalase genannt und von Senter²⁾ unter dem Namen Hämasen rein dargestellt worden. Senter mischt zur Isolierung dieses Fermentes defibriniertes Blut mit dem zehnfachen Volumen kohlensauren Wassers, lässt über Nacht stehen, zentrifugiert am andern Morgen und filtriert. Die ursprüngliche Blutmischung, dieselbe ohne die Blutkörperchen und diese allein, wurden auf ihre katalytische Kraft geprüft, und es liess sich feststellen, dass das Enzym in die Lösung übergegangen ist und den grössten Prozentsatz der primären katalytischen Wirksamkeit der Blutmischung behalten hat. Das Filtrat, das Senter vorher erhalten hatte, mischte

1) Moitessier, Sur le rôle de la peroxydase Compt. rend. de la soc. de biol. t. 57.

2) Senter, Das Wasserstoffsuperoxyd zersetzende Enzym des Blutes. Zeitschr. f. physikal. Chemie Bd. 44.

er sodann mit dem gleichen Volumen 99%igen Alkohols. Es entstand ein rotbrauner Niederschlag, der starke katalytische Eigenschaften hat. Der Niederschlag wird mit Wasser gemischt und zwei Tage in die Eiskiste gestellt. Die Hämasenlösung geht in Lösung, die Flüssigkeit ist gelblich und hämoglobinfrei. Der rotbraune Niederschlag bleibt ungelöst.

Ich selbst habe mich zur Herstellung einer konzentrierten Hämasenlösung einer einfacheren Methode bedient. Ich gebe auf drei Teile defibrinierten Blutes einen Teil Ätherwasser (hergestellt durch Schütteln von Äther in kaltem Wasser). Nach wenigen Augenblicken ist die Lösung lackfarben. Sie wird nun mit dem gleichen Volumen 99%igen Alkohols gemischt. Sofort fällt ein rotbrauner Niederschlag aus, der auf dem Filter getrocknet wird. Dieser Rückstand wird fein pulverisiert und zur Darstellung der Hämasenlösung mit Wasser übergossen. Lässt man über Nacht stehen und filtriert die Mischung am nächsten Tage, so erhält man eine gelblichbraune Flüssigkeit, die sämtliche von Senter angegebenen Eigenschaften der Hämasenlösung besitzt. Natürlich werden sich noch anderweitige Stoffe in der Lösung befinden, über deren Natur sich nichts sagen lässt; jedenfalls erweist sich die Flüssigkeit spektroskopisch als hämoglobinfrei. Die Hämasenlösung ist leicht zersetzlich und vor jedesmaligem Gebrauch frisch herzustellen. In dem ursprünglich erhaltenen rotbraunen Blutpulver hält sich aber die Hämasenlösung sehr lange unzersetzt, so dass man nur hiervon genügend Vorrat zu haben braucht, um in kürzester Zeit eine brauchbare Hämasenlösung herzustellen.

Die Hämasenlösung ist von Senter auf ihre Eigenschaften einer gründlichen Untersuchung unterworfen worden. Das wichtigste Ergebnis dürfte wohl sein, dass sie nur H_2O_2 zersetzt und keinerlei Oxydationserscheinungen der beiden andern Enzyme zeigt. Bezüglich der Schnelligkeit ihrer Einwirkung stellte sich heraus, dass die Reaktionsgeschwindigkeit bei verdünnten H_2O_2 -Lösungen der Enzymkonzentration parallel geht. Bei 65° soll eine verdünnte Lösung von Blut oder Hämasenlösung ihre Wirksamkeit in 15 Minuten verlieren. Säuren rufen eine starke Verzögerung der Katalyse hervor, ohne das Enzym dauernd dadurch zu schädigen. Bei Zusatz von NaOH verliert die Hämasenlösung allmählich ihre Wirksamkeit, um sie nach Neutralisation alsbald wieder zu gewinnen. Von Giften ist besonders das Cyankalium zu erwähnen, das eine Abschwächung bis Aufhebung der katalytischen Wirksamkeit hervorruft.

Ob die im Blute vorhandenen Superoxydasen sich allein auf die Hämasen beschränken, will ich dahingestellt sein lassen. Jedenfalls dürfte sie wohl als die Repräsentantin der Blutsuperoxydasen anzusehen und ihre Eigenschaften und Wirkungen auch auf die andern mit gewisser Reserve zu übertragen sein.

Bei derartigen Körpern, wie es die Enzyme sind, lässt sich über die Aktivität und Zahl der Einzelelemente wenig sagen und nur mit grösster Vorsicht aus dem Grad der Wirkungsweise auf den Grad der Mengenverhältnisse schliessen. Im allgemeinen wächst ja bei den Fermenten die Wirkung nicht proportional ihrer Masse, sondern bleibt etwas hinter dem Massenverhältnis zurück. Ebenso ist die Konzentration der zu zersetzenden Flüssigkeit nicht belanglos. Schliesslich lassen sich über den Geschwindigkeitskoeffizienten der Reaktion nur Vermutungen aufstellen, da er mit von der Aktivität des Ferments abhängig sein dürfte. Immerhin wird nach einem gewissen Maassstabe zu suchen sein, zumal bei unserm Ferment bei verdünnten H_2O_2 -Lösungen die Reaktionsgeschwindigkeit mit der Enzymkonzentration parallel geht.

Einen solchen Maassstab stellt die von Jolles¹⁾ als Einheit angegebene Katalasenzahl dar. Nach ihm hängt die Wirkung eines Katalysators ab: von der Temperatur, der Zeit der Einwirkung, den Zusätzen zum Reaktionsgemisch, der Konzentration des Körpers, der zu zersetzen ist, und der Konzentration des Katalysators. Wenn man alle Grössen stets konstant hält bis auf die Konzentration des Katalysators, so wird die zersetzte Menge nur mit der Menge des Katalysators wechseln. Danach bezeichnet Jolles als Katalasenzahl die Zahl von Gramm Wasserstoffsuperoxyd, die 1 ccm Blut zersetzt unter folgenden Bedingungen: 0,01 ccm Blut auf 10 ccm verdünnt, 30 ccm 1%igem H_2O_2 , 15° C, Dauer der Einwirkung 2 Stunden. Für den Menschen fand Jolles dabei normalerweise Katalasenzahlen von 18—30, gewöhnlich aber in engeren Grenzen zwischen 20 und 26. Aus den Werten, die er bei Krankheitsprozessen gefunden hat, dürften sich wohl keine bindenden Schlüsse bisher ziehen lassen.

Für die Ausführung des Verfahrens gibt Jolles folgende Vorschriften: Einem Blutstropfen der Fingerbeere werden mittels Kapillarpipette 0,05 ccm entnommen und in einem Messkölbchen mit physio-

1) Jolles, Über Katalysatoren vom physiologisch-chemischen Standpunkte. Österr. Chem.-Zeitg. Jahrg. 8 Nr. 3.

logischer Kochsalzlösung gemischt und auf 50 ccm aufgefüllt. Von der Blutmischung werden 10 ccm mit 30 ccm 1%iger Wasserstoffsuperoxydlösung versetzt und bei Zimmertemperatur (15° C) 2 Stunden stehen gelassen; hierauf wird mit 10 ccm konzentrierter Salzsäure angesäuert und allmählich unter Umschwenken 10% Jodkaliumlösung (20—25 ccm) hinzugefügt, wobei sofort eine Jodausscheidung eintritt. Man lässt eine Stunde stehen und titriert das Jod mit einer Natriumthiosulfatlösung von bekanntem Titre zurück. Die Differenz zwischen dem so gefundenen Werte und dem ursprünglichen Titre der Wasserstoffsuperoxydlösung gibt die Menge H_2O_2 an, die von der angewandten Blutmenge (0,01 ccm) zersetzt wurde. Da die Resultate auf 1 ccm Blut bezogen werden, ist die gefundene Zahl mit 100 zu multiplizieren und stellt die Katalasenzahl dar. Bei quantitativen Untersuchungen habe ich die Jolles'sche Methode mit gutem Erfolg angewandt und kann die genaue Einhaltung der angegebenen Daten bei Untersuchungen nur anraten, da sonst die Werte der Autoren untereinander nicht vergleichbar sind.

Von den Resultaten, die Jolles gefunden hat, ist noch hervorzuheben, dass das Kohlenoxyd beim Durchleiten durch Blut auf die Katalase keine Wirkung ausübt, eine Tatsache, die für die Beurteilung der Kohlenoxydvergiftung von Belang ist. Arteriell und venöses Blut zeigen dieselbe Wirksamkeit. Bei Männern und Frauen finden sich keinerlei Unterschiede. Hämoglobin- und Katalasengehalt pflegen sich im allgemeinen zu entsprechen. Während so eine Reihe von Tatsachen über die Superoxydase des Blutes bekannt ist, ist die Frage ungelöst: Welche Funktion üben die Katalasen des Blutes im Organismus aus?

Eingangs erwähnte ich die Theorie von Bach und Chodat, die ganz unannehmbar ist. Jolles spricht von der Rolle, die das Ferment bei der Sauerstoffabgabe an das Gewebe spielt, und zieht allerlei Schlüsse daraus. Beweise dafür hat er aber nicht gebracht. Seine Annahme erschien aber mir auch als durchaus plausibel, und manches spricht von vornherein für diese Funktion. So viel wir auch schon über die Katalase wissen, so kennen wir nur ihre Eigenschaft O_2 aus H_2O_2 abzuspalten. Was liegt da näher, als ihr gegenüber dem Oxyhämoglobin eine ähnliche Rolle zuzuweisen? Bisher machte man für die Abscheidung des Sauerstoffs aus dem Oxyhämoglobin allein den Partialdruck verantwortlich. Jedoch schon aus den physiologischen Versuchen mit Schüttelluft geht hervor, wie langsam im

allgemeinen der Sauerstoff des Blutes abgegeben wird und gar nicht den physikalischen Gesetzen entsprechend. Ausserdem ist der Partialdruck doch kein Faktor, der mit so eminenter Variabilität arbeitet, dass er dem jeweiligen momentanen Bedürfnis der Gewebe nach O_2 sofort nachkommt. Wie dem auch sein mag, und wenn ich auch die Bedeutung des Partialdrucks für die innere Atmung nicht absolut in Abrede stelle, so scheinen mir doch die Superoxydasen des Blutes hierbei die hervorragendste Rolle zu spielen. Ich untersuchte darum experimentell, wie sich die Katalasen und die O_2 Abscheidung aus dem Oxyhämoglobin zueinander verhielten. Hierzu waren zwei Möglichkeiten gegeben. Ich musste versuchen 1. aus Blut die Katalasen zu entfernen und die Sauerstoffabgabe zwischen dem Blut mit und dem Blut ohne Katalasen zu vergleichen, 2. Oxyhämoglobinlösung + Hämasenlösung in wechselndem Verhältnisse auf Sauerstoffabgabe zu vergleichen.

Wenn man Blutlösung und Schwefelammonium miteinander mischt, so tritt bekanntlich eine Reduktion des Oxyhämoglobins zu Hämoglobin ein. Obwohl beide Mittel in Lösung sind, tritt diese Reduktion nicht plötzlich ein, wie es bei chemischen Reaktionen der Fall zu sein pflegt, sondern bis zur völligen Reduktion des Hämoglobins verstreicht eine gewisse Zeit. Je geringer die Menge der reduzierenden Flüssigkeit ist, desto grösser ist der Zeitraum bis zur völligen Reduktion des Oxyhämoglobins. Wenn die Katalase nun wirklich eine Rolle spielt bei der Sauerstoffabspaltung des Oxyhämoglobins, muss bei gleichen Verhältnissen die Reduktion langsamer oder schneller verlaufen, je nach der Katalasenzahl. Ist viel Katalase im Blute, so muss auch viel Sauerstoff aus dem Oxyhämoglobin abgespalten und dem Schwefelammonium zugeführt werden, d. h. die Reduktion schneller verlaufen, und bei entgegengesetzten Bedingungen umgekehrt. Von vornherein ist aber zu erwarten, dass man nach oben hin, um mich dieses Ausdrucks zu bedienen, d. h. um eine möglichst schnelle Reduktion zu erzielen, eine gewisse Grenze zu erwarten hat, ein Optimum. Setzt man noch mehr Katalase hinzu, so wird nur eine unwesentliche Beschleunigung eintreten. Dieses Optimum zwischen Oxyhämoglobin und Katalasenzahl ist nun im normalen Blut gemeinhin vorhanden; ein weiterer Zusatz von Katalase bewirkt keine erhebliche Beschleunigung der Reduktion. Vermindere ich künstlich die Katalasenzahl, so muss eine mehr oder minder grosse Verzögerung der Reaktion resultieren. Zur Aus-

schaltung der Katalase benutzte ich einmal die Vergiftung des Blutes mit Cyankali, ferner die Erhitzung einer Blutlösung für längere Zeit auf 65° C.

1. Versuchsreihe.

Vergiftung des Blutes durch Cyankali.

Die Blausäurevergiftung ist lange Zeit aufs genaueste studiert worden, und schliesslich ist man zu dem Resultat gekommen, dass eine chemische Umwandlung des Hämoglobins etwa zu Cyanhämatin oder dergleichen nicht stattfindet. Das Oxyhämoglobin bleibt unverändert. Man nimmt vielmehr eine spezifische Vergiftung des Gewebes an, welche die Sauerstoffaufnahme verhindert. Wie weit diese Auffassung ihre Gültigkeit jetzt noch hat, werde ich an anderer Stelle auseinandersetzen. Jedenfalls steht so viel fest, dass das Oxyhämoglobin durch Blausäure oder Cyankali unter gewöhnlichen Verhältnissen innerhalb kürzerer Zeit und in der Kälte nicht verändert wird. Aus dem Vorhergesagten über die Eigenschaften der Hämase hat sich aber ergeben, dass man die Katalasenwirkung durch Cyankali aufheben oder erheblich einschränken kann. Das Cyankali übt auf Schwefelammonium allein keinen schädigenden Einfluss aus. In einem System von Blutlösung + Schwefelammonium + Cyankali habe ich es also in der Hand, durch Vergiftung der Katalasen in höherem oder geringerem Grade die Reduktion mehr oder minder zu verzögern.

Meine Versuchsanordnung war derartig, dass ich von einer Lösung defibrierten Ochsenblutes in destilliertem Wasser 10 ccm mit einer bestimmten Menge von Schwefelammonium im Reagenzglas versetzte und unter Zuhilfenahme des Spektroskops bestimmte, in welchem Moment die letzte Andeutung der Oxyhämoglobinstreifen verschwunden war. Die Zeit wurde durch ein Chronoskop bestimmt. Das Verschwinden der Oxyhämoglobinstreifen kann man bei einiger Übung sehr genau bestimmen; meine Beobachtungsfehler, die sich hieraus ergeben, betragen höchstens 5—7 Sekunden. Bei den letzten Beobachtungen dürften sie noch geringer sein. Von derselben Blutlösung nahm ich in einem zweiten Reagenzglas ebenfalls 10 ccm, dieselbe Menge Schwefelammonium wie vorher, setzte aber vor dem Schwefelammonium noch eine bestimmte Menge Cyankalilösung (10 %) hinzu. Es wurde dann hier, wie vorhin, die Reduktionszeit beobachtet. Nach vollendeter Reduktion schüttelte ich beide Vergleichsröhrchen einige Zeit mit Luft und beobachtete von neuem. Ich setzte dies

mehrmals hintereinander fort. Dabei zeigte sich, dass in beiden Röhren die Reduktionszeit allmählich immer kürzer wurde, ein Phänomen, das ich nicht zu erklären vermag, da ich eine Erhöhung der Aktivität der Katalasen durch Übung nicht vertreten möchte. Von meinen Beobachtungen gebe ich einige Proben.

10 ccm Blutlösung + 1 ccm Schwefelammonium werden reduziert:

	in 1.	2' 27"	} im Durchschnitt
(geschüttelt)	2.	2' 18"	
"	3.	2' 21"	

10 ccm derselben Blutlösung + 1 ccm Schwefelammonium + 0,05 ccm Cyankalilösung werden reduziert:

	in 1.	4' 40"	} im Durchschnitt
(geschüttelt)	2.	3' 17"	
"	3.	3' 58"	

	I. 10 ccm Blut- lösung + 1 ccm Schwefel- ammonium	II. Dasselbe wie I + 0,05 ccm Cyankalilösung	III. 10 ccm Blut- lösung + 5 ccm Schwefel- ammonium	IV. Dasselbe wie III + 1 ccm Cyan- kalilösung
1.	2 Min. 50 Sek.	4 Min. 05 Sek.	31 Sek.	30 Sek.
2. (geschüttelt)	2 " 18 "	3 " 30 "	24 "	32 "
3. "	1 " 58 "	3 " 05 "	20 "	32 "

	I. 10 ccm Blut- lösung + 1/2 ccm Schwefel- ammonium	II. wie I + 0,05 ccm Cyankalilösung	III. 10 ccm Blut- lösung + 1 ccm Schwefel- ammonium	IV. wie III + 0,05 ccm Cyankalilösung
1.	6 Min. 28 Sek.	9 Min. 37 Sek.	2 Min. 05 Sek.	3 Min. 08 Sek.
2. (geschüttelt)	6 " 45 "	9 " 56 "	2 " 07 "	3 " 40 "
3. "	7 " 50 "	9 " 53 "	2 " 00 "	3 " 28 "

	V. 10 ccm Blut- lösung + 2 ccm Schwefel- ammonium	VI. wie V + 0,05 ccm Cyankalilösung	VII. 10 ccm Blut- lösung + 3 ccm Schwefel- ammonium	VIII. wie VII + 3 ccm Cyan- kalilösung
1.	1 Min. 10 Sek.	1 Min. 10 Sek.	40 Sek.	45 Sek.
2. (geschüttelt)	1 " 02 "	1 " 10 "	45 "	43 "
3. "	1 " 09 "	1 " 11 "	42 "	43 "

Aus den Tabellen geht hervor, dass durch die Verminderung der Katalasen infolge Cyankalivergiftung eine Verzögerung in der

Reduktion des Oxyhämoglobins durch Schwefelammonium hervorgerufen wird. Bei sehr grossen Mengen von Schwefelammonium scheint die Reduktion allerdings direkt vom Oxyhämoglobin zum Schwefelammonium verlaufen zu können. In allen Fällen waren die Katalasen nicht vernichtet, denn bei Zusatz von H_2O_2 trat noch deutlich Sauerstoffentwicklung auf. Die Einwirkung vermehrten Cyankalis ist aus folgendem ersichtlich:

10 ccm Blutlösung werden durch 1 ccm Schwefelammonium reduziert in 0' 40",

10 ccm derselben Blutlösung + 0,5 ccm Cyankalilösung werden durch 1 ccm Schwefelammonium reduziert in 0' 60",

10 ccm derselben Blutlösung + 3,0 ccm Cyankalilösung sind durch 1 ccm Schwefelammonium noch nicht reduziert in 4'.

Aus diesem letzten Beispiel ist besonders deutlich die Verzögerung der Reduktion durch das Fehlen der Katalasen ersichtlich.

Geht man nun aber mit der Quantität des Schwefelammoniums noch weiter herab, so ist der Unterschied ganz einwandfrei nachzuweisen.

I. Probe.		II. Probe.	
10	ccm Blutlösung	10	ccm derselben Blutlösung
+ 0,05	„ Schwefelammonium	+ 0,1	„ Cyankalilösung (konzentriert)
Reduktion nach 30 Minuten.		+ 0,05 ccm Schwefelammonium	
		Reduktion noch nicht nach 24 Stunden!	

2. Versuchsreihe.

Hämasenfreies Blut in Wirkung mit Hämasen.

Die zweite Möglichkeit, die sauerstoffabscheidende Wirkung der Hämasen auf das Oxyhämoglobin zu zeigen, ist die, dass man eine hämasenfreie Hämoglobinlösung ohne und mit Hämasen in bezug auf die Schnelligkeit der Reduktion durch Reduktionsmittel vergleicht. Leider gelang es mir nicht im Handel ein katalasenfreies Hämoglobin zu bekommen. Ich suchte mich daher mit einer durch Erhitzen katalasenarm oder katalasenfrei gemachten Blutlösung zu behelfen. Wenn man Blutlösung längere Zeit bei einer Temperatur von 65° hält, so treten allerlei Fällungen auf, die Flüssigkeit bekommt einen schmutzig bräunlichroten Ton. Wahrscheinlich wird hierbei auch die Flüssigkeit hämoglobinärmer; sie stellt aber immerhin eine Hämoglobinlösung dar, die entweder arm oder frei von

Katalasen ist. Es ist mir nicht immer gelungen, die Lösung hämasenfrei zu bekommen, bei längerem Erhitzen trat manchmal eine zu starke Fällung, oft völlige Gerinnung auf. Das liegt einmal an dem Grad der Verdünnung der Blutflüssigkeit, an der Tierart, der das Blut entnommen ist, und schliesslich an den Temperaturschwankungen, die sich bei meiner Heizvorrichtung nicht ganz vermeiden liessen, aber sehr gefährlich sind, da bei 70° ja bereits das Hämoglobin gefällt wird. Ich gebe zunächst einige Vergleichsresultate bei hämase armen Blutlösungen. 10 ccm einer solchen Lösung wurden durch 1 ccm Schwefelammonium reduziert in 1' 10", 10 ccm von derselben Lösung + 0,5 ccm Hämasenlösung durch 1 ccm Schwefelammonium in 0' 30". Bei einer andern derartigen Blutlösung war bei entsprechenden Verhältnissen die Beschleunigung der Reaktion von 54" auf 21". Ich versuchte auch andere Reduktionsmittel. Die meisten erwiesen sich aus dem einen oder andern Grunde als nicht brauchbar. Geeignet war der in der Photographie gebräuchliche Amidolentwickler.

10 ccm einer katalasearmen 1%igen Blutlösung + 1 ccm Amidolentwickler wurden reduziert:

	ohne Zusatz	0,5 ccm Hämasen	1,0 ccm Hämasen
1.	2 Min. 35 Sek.	1 Min. 46 Sek.	1 Min. 45 Sek.
2.	2 " 10 "	1 " 33 "	1 " 41 "
3.	2 " 12 "	1 " 34 "	1 " 45 "

Die Beschleunigung ist auch hier sehr markant. Man ersieht aber aus den Zahlen, dass das Optimum bei Zusatz von 0,5 ccm Hämasen erzielt war; jedes Mehr nützt nicht, scheint sogar hier zu schaden. Daher gibt auch ein Zusatz von Hämasen zur Blutlösung kein günstigeres Resultat; ich fand hier Beschleunigung von 10—15", Zahlen, die fast noch innerhalb der Beobachtungsfehler liegen.

Um absolut deutliche und unanfechtbare Resultate zu erhalten, ging ich schliesslich mit der Menge des Reduktionsmittels noch weiter zurück.

I. Probe.		II. Probe.	
10 ccm katalasearme Blutlösung		10 ccm derselben Lösung	
+ 2 " physiol. Kochsalzlösung		+ 2 " Hämasenlösung	
+ 0,05 " Schwefelammonium		+ 0,05 " Schwefelammonium	
Reduktion nach 44 Minuten.		Reduktion nach 15 Min. 45 Sek.	

Beide Versuchsreihen haben somit zu demselben Resultat geführt, dass nämlich die Hämasen imstande ist, aus dem Oxyhämoglobin Sauer-

stoff abzuspalten. Damit tritt dieses Ferment aus der bescheidenen Rolle heraus, die es bisher in der Wissenschaft gespielt hat. Es erweist sich als ein hochbedeutender Faktor bei der inneren Atmung, und seine Schädigung muss zu den schwersten Störungen im Organismus führen. Durch äussere Verhältnisse, die Alkaleszenz des Blutes und andere unbekannte Prozesse beeinflussbar, kann es in kürzester Zeit im Blute seine Wirksamkeit vermehren und vermindern, den jeweiligen Bedürfnissen im höchsten Grade anpassungsfähig. Die Bedeutung, welche die Hämase aber für die Pathologie hat, lässt sich zurzeit gar nicht ermessen; jedoch dürften nunmehr Erkrankungen, wie Blausäurevergiftung, Säureintoxikation und andere mehr, aus einem neuen Gesichtswinkel zu betrachten sein.