

# DIE NATURWISSENSCHAFTEN

WOCHENSCHRIFT FÜR DIE FORTSCHRITTE DER NATURWISSENSCHAFT, DER MEDIZIN UND DER TECHNIK

HERAUSGEGEBEN VON

DR. ARNOLD BERLINER UND PROF. DR. AUGUST PÜTTER

Neunter Jahrgang.

8. April 1921.

Heft 14.

## Über den Sauerstoffstrom im tierischen Gewebe.

### Sauerstofforte und Reduktionsorte nach P. G. Unna.

Von Walter Thörner, Bonn.

Wenn wir die Vorgänge in den lebenden Organismen mit den Methoden des Chemikers untersuchen und mit seinen Augen betrachten, erkennen wir als Grundlage aller Lebenserscheinungen die Umsetzungen chemischer Körper, die wir als Stoffwechsel bezeichnen. Der Stoffwechsel ist der *elementare Lebensvorgang*, er spielt sich in jeder *Zelle*, dem Grundbaustein aller Organismen, bereits in der kompliziertesten Weise ab. Über seine Einzelheiten sind wir wenig unterrichtet. Wir kennen wohl größtenteils die Stoffe, die zugeführt werden müssen, um das Leben zu unterhalten; wir können auch die Ausscheidungen chemisch analysieren, in denen die Endprodukte des Stoffwechsels erscheinen. Die Wege aber, auf denen die zugeführten Stoffe in den Körperzellen in die Endprodukte übergeführt werden, sind offenbar äußerst verwickelte und lange Bahnen und unserm Auge noch fast ganz in Dunkel gehüllt. Die Zwischenstufen des sogenannten intermediären oder Zellstoffwechsels kennen wir kaum. Auch über das „wo“ sind wir nur unvollkommen orientiert. Im Größern haben wir zwar bestimmte Funktionen bestimmten Organen zuweisen können, so die Harnstoffbildung der Leber oder die Synthese der Hippursäure der Niere, stehen aber ziemlich ratlos da, wenn wir die chemischen Prozesse im Innern der *Zelle* zu lokalisieren versuchen.

Hier Aufklärung zu bringen, ist die Aufgabe der *Histochemie* oder *Mikrochemie*, welche im Zellgewebe unter dem Mikroskop verfolgbare chemische Reaktionen ausführt. So hat uns die Histologie bereits durch Verankerung bestimmter Stoffe und speziell Farben an bestimmten Zellbestandteilen wichtige Schlüsse auf deren chemischen Charakter erlaubt. Ich erinnere an die Bindung basischer Farbstoffe durch saure Zelleiweiße und das Umgekehrte, an die spezifische Färbung von Stärke, von Glykogen, von Fett in der Zelle. Aber die Histologie hat diese mikrochemischen Methoden mehr zu morphologischen Zwecken ausgebaut, während der physiologische Gesichtspunkt vernachlässigt ist. Diesen nun in den Vordergrund gerückt zu haben, ist das Verdienst des Hamburger Dermatologen P. G. Unna, der durch seine mikrochemischen Untersuchungen vor allem über die *Atmungsvor-*

*gänge im Zellgewebe* unsere Kenntnisse über den Zellstoffwechsel wesentlich erweitert und zum Teil neu fundiert hat. Ihm ist es gelungen, in äußerst durchsichtiger Weise den *Sauerstoffstrom in der Zelle zu lokalisieren, indem er gewisse Teile des Zellgewebes als reduzierend, andere als oxydierend und sauerstoffspeichernd färberisch darstellen konnte*. Wegen der überragenden Stellung der Oxydationsvorgänge im Stoffhaushalt der aeroben Lebewesen und ferner, weil sie methodisch der Erforschung des *Zellstoffwechsels* neue Bahnen öffnen, sind die Untersuchungen Unnas und die daraus abgeleiteten Anschauungen bedeutungsvoll und wert, einem weiteren Kreise bekannt zu werden.

Die theoretische Anschauung erfordert im tierischen Gewebe Reduktions- und Oxydationsvorgänge nebeneinander. Schon Paul Ehrlich hatte experimentell gezeigt, daß das lebende und überlebende Zellgewebe ganz allgemein ein starkes Reduktionsvermögen besitzt, indem es gewissen eingespritzten Farbstoffen lebhaft Sauerstoff entzieht und sie in die Reduktionsfarbe überführt, z. B. Indophenolblau in Indophenolweiß, Alizarinblau in Alizarinweiß. Andererseits waren die oxydativen Fähigkeiten des Gewebes dadurch bewiesen, daß Oxydationsfermente (Stoffe, die die Eigenschaft haben, Oxydationsprozesse zu bewirken) aus dem Zellprotoplasma extrahiert werden konnten. Um nun das Nebeneinander dieser chemisch entgegengesetzten Vorgänge räumlich zu fassen, ließ Unna in dünnen Gewebsschnitten die Reduktion oxydierter Farbstoffe und umgekehrt die Oxydation vorher reduzierter Farben durch das überlebende Gewebe selbst vornehmen, das sich gleichzeitig mit den entstehenden Farben echt färbte. Auf diese Weise gelang es ihm, *Reduktionsorte, d. h. solche Zellteile, die Sauerstoff an sich reißen und zu ihren Verbrennungen verbrauchen, und Sauerstofforte, d. h. solche, die freien, aktiven Sauerstoff ansammeln und zu Oxydationen hergeben können, färberisch darzustellen und unter dem Mikroskop zu beobachten*.

Zur Färbung der Reduktionsorte eignet sich am besten eine 1proz. wäßrige Lösung von Kaliumpermanganat, in der die Gewebsschnitte 1—2 Minuten gebadet werden. Es zeigen dann die Reduktionsorte durch Reduktion des Farbstoffs zu Mangansuperoxyd (Braunstein) eine um so tiefer braune Tönung, je stärker ihre Reduktionskraft ist. Stellen aber, die nicht zu reduzieren vermögen, bleiben hell. In analoger Weise kann man eine Mischung der 1proz. wäß-

rigen Lösungen von Eisenchlorid und rotem Blutlaugensalz (Reduktionsorte tiefblau durch Entstehen von Berliner Blau) oder eine 1proz. Lösung von Tetranitrochrysohansäure in Chloroform benutzen (Reduktionsorte rot). Das *Manganbild* gibt die reinste Darstellung, da hier die saure oder alkalische Beschaffenheit der Zellbestandteile ohne Einfluß auf die Färbung ist. Die mikroskopische Betrachtung so behandelter Schnitte zeigt natürlich große Verschiedenheiten je nach Art des untersuchten Organs und Tieres. Im allgemeinen tritt aber übereinstimmend hervor, daß die *Grundsubstanz des Zellprotoplasmas* (Spongioplasma) starke *Reduktionsfärbung* gibt, daß speziell *Muskelsubstanz, rote Blutkörperchen* und *Hornschicht* der Haut *ausgesprochene Reduktionsorte* sind, während das Reduktionsvermögen bei Drüsenzellen wechselnd stark, bei Ganglienzellen, Nerven und bei den Interzellularsubstanzen im allgemeinen schwächer ist. Mit auffallender Deutlichkeit aber heben sich im Reduktionsbild stets die *Zellkerne, ferner das Fett* (und vielfach auch die Knorpelsubstanz) als *gänzlich ungefärbt* heraus. Diese Elemente reduzieren also nicht! Warum nicht? - Weil sie selbst mit Sauerstoff gesättigt sind und daher dem Farbstoff keinen mehr entziehen können? Oder sind sie gar imstande, selbst freien Sauerstoff abzugeben und oxydierend zu wirken? Die Behandlung mit spezifischen Sauerstoffreagentien ergab die Entscheidung.

Als solches benutzte *Unna* das „*Rongalitweiß*“<sup>1)</sup>. Mit Rongalitweiß bezeichnet er die Leukobase des Methylenblau, das Leukomethylenblau oder Methylenweiß, das aus dem sauerstoffreicheren Methylenblau durch Reduktion mit einem Überschuß von Rongalit<sup>2)</sup> entsteht. Dies farblose Leukomethylenblau geht nach Beseitigung des Rongalitüberschusses bei Anwesenheit freien aktiven Sauerstoffes wieder in den blauen Oxyfarbstoff über. Die Gewebsschnitte (nur Gefrierschnitte frischen Materials eignen sich, da die Sauerstofforte viel empfindlicher sind als die Reduktionsorte und durch die gewöhnlichen

Fixierungsmittel zerstört werden) werden 1—2 Minuten in die Rongalitweißlösung getaucht, dann in abgekochtem Wasser unter Bewegung ausgewaschen und auf dem Objektträger an der Luft getrocknet. Die Leukobase ist nach einem weiter unten zu erörternden Prinzip von sauren und gleichzeitig sauerstoffreichen Gewebsteilen aufgenommen und gefesselt worden, durch Auswaschung des Rongalitüberschusses ist die Oxydation des Methylenweiß zum Blau freigegeben, und diese erfolgt an allen Zellelementen, in denen freier Sauerstoff verfügbar ist, unter echter Blauanfärbung derselben. Auf diese Weise heben sich im mikroskopischen Bilde *alle Sauerstofforte durch ihre Blautönung* scharf heraus aus dem übrigen ungefärbten Gewebe.

Und vergleichen wir ein solches Oxydationsbild mit dem etwa durch Manganfärbung erzeugten Reduktionsbilde eines analogen Gewebsschnittes, so erkennen wir, daß beide sich in überraschender Treue ergänzen. Gerade die Teile, die im Manganbilde ungefärbt blieben, zeigen im Rongalitweißbilde die tiefste Bläuung und umgekehrt. So stellen sich die *Kerne tiefblau als ausgeprägte Sauerstofforte* dar, während Muskelsubstanz und rote Blutkörperchen ungefärbt sind. Nur das Fett, im Reduktionsbild als nicht reduzierend erkannt, färbt sich auch mit Rongalitweiß nicht. Es unterscheidet sich daher wohl von den Kernen dadurch, daß es zwar sauerstoffgesättigt, aber nicht imstande ist, oxydierend zu wirken. Wie die Kerne verhalten sich die von *Ehrlich* entdeckten *Mastzellen* und *gewisse Granula* in Drüsenzellen, so daß wir *Zellkerne, Mastzellen* und *gewisse Zellgranula als reine konstante Sauerstofforte* ansehen können, denen als *reine konstante Reduktionsorte Muskelsubstanz, rote Blutkörperchen, Nerven* und *Hornschicht der Haut* gegenüberstehen. Im Vergleich zu diesen Extremen nehmen die Interzellularsubstanzen eine Mittelstellung ein: so wirkt die Knorpelsubstanz meist stark oxydierend, Kollagen und Elastin meist schwach reduzierend.

Einen *besonderen Typus* aber stellt das *Zellprotoplasma* dar gemäß seiner stark wechselnden Zusammensetzung. An und für sich ist das Protoplasma als Grundsubstanz betrachtet ein lebhaft reduzierender Körper, so erkennbar an den großen Deckepithelien der Haut, der Speiseröhre, der Stachelschicht des Haarbalges, ferner an dem Epithel der gewundenen Harnkanälchen in der Niere, welche reduzierende Stoffe ausscheiden. Anders aber ist es, wo das Protoplasma selbst oxydierende Substanzen erzeugt, wie bei Zellteilungen oder bei vielen Drüsenzellen, deren Sekrete sauerstoffreich sind, oder wo es, in schmalen Säumen große Kerne dicht umlagernd, von deren Überfluß an freiem Sauerstoff überschwemmt wird. In diesen Fällen bläut sich auch das Protoplasma bei der Rongalitweißbehandlung, so z. B. in den großkernigen Zellen, die die Ausführungsgänge vieler

<sup>1)</sup> Man kann die Rongalitweißlösung fertig beziehen von Grübler, Leipzig, oder selbst herstellen, indem man in 10 ccm Wasser löst 0,2 Methylenblau und 0,4 Rongalit, 4 Tropfen 25proz. Salzsäure zufügt und die Mischung bis zur Entfärbung gelinde erwärmt. Tritt beim Erkalten eine Trübung auf, so wird filtriert. Ebenso zweckmäßig ist die dünnere Farblösung: 10 ccm einer ½proz. Methylenblaulösung und 0,3 Rongalit mit 7 Tropfen 25proz. Salzsäure. Die Lösung ist einige Tage haltbar. Sie stellt vor allem die Kerne gut dar. Durch Neutralisieren mit 1proz. Natronlauge (tropfenweise bis zur bleibenden Fällung, filtrieren) wird sie besonders geeignet für Mastzellengranula und Granoplasma. Zur Verstärkung der Färbung oder Herstellung von Dauerpräparaten badet man die Schnitte nach dem Auswaschen kurz in 1proz. Chromsäure oder 1proz. Ammonpersulfat, spült sie ab und bettet sie in Gummi ein.

<sup>2)</sup> Rongalit ist eine stark reduzierende Verbindung von Formaldehyd mit dem Natriumsalz der Sulfoxylsäure.

Drüsen auskleiden, wo aus dem Sauerstoffreichtum des Protoplasmas dem Sekret noch Sauerstoff zugeführt werden kann. Ähnlich finden wir auch die Luftwege in den Lungen bis an die Alveolen mit Zellen ausgekleidet, in denen sich Kern und Protoplasma gleichmäßig bläuen, und können in dieser Wandbedeckung der Bronchien mit Sauerstofforten eine durchaus zweckmäßige Einrichtung erkennen, die verhindert, daß die vorbeistreichende Luft vorzeitig ihres Sauerstoffs beraubt werde, bevor sie in die eigentlichen Gasaustauschstellen, die Alveolen, gelangt. Im übrigen weisen auch gewisse Einschlüsse im Protoplasma durch tiefe Bläuung starken Sauerstoffgehalt und Oxydationsvermögen auf, wie die Nißl-Schollen in den Garglienzenellen und die Granula in Mast- und Plasmazellen.

Zusammenfassend kann man mit *Unna* sagen: „*Hauptsauerstofforte sind die Zellkerne*, dann folgen für das Bindegewebe die Mastzellen, für die Drüsenepithelien gewisse Granula, für das Zentralnervensystem das Protoplasma der Ganglienzenellen und schließlich als durch die Kernnähe bedingt das Protoplasma aller basalen Epithelien der Ausführungsgangsepithelien und des Bronchialepithels. Den Schluß machen die Granula der weißen Blutkörperchen des Blutes, der Milz und des Knochenmarkes.“

Es wird nun selbstverständlich der Gedanke auftauchen, ob denn die Rongalitweißmethode auch wirklich freien Sauerstoff im Gewebe anzeigt, ob nicht vielleicht schon vorher aus der Leukobase das Methylenblau zurückgebildet und dieses als basischer Sauerstoff an allen sauren Gewebeteilen verankert wird, so daß dadurch nicht *Sauerstofforte*, sondern einfach *Säureorte* dargestellt würden, wie mit basischen Farben überhaupt. Demgegenüber ist jedoch zu betonen, daß das Rongalitweißbild sich ganz durchgreifend von dem Bild der direkten Methylenblaufärbung unterscheidet. Das Methylenblau wird von allen sauren Körpern im Gewebe ohne Rücksicht auf den Sauerstoffgehalt aufgenommen und gespeichert und färbt daher auch Reduktionsorte, soweit sie saure Eiweiße enthalten, wie z. B. Muskelsubstanz und Hornschicht der Haut. Es gibt also viel mehr Säureorte als Sauerstofforte, wenn auch die letzten stets an die ersten gebunden sind. *Jeder Sauerstoffort ist zugleich auch Säureort, aber nicht umgekehrt auch jeder Säureort ein Sauerstoffort.* Entzieht man einem Gewebeschnitt durch Cyanalivergiftung den Sauerstoff oder erhitzt man ihn auf 100° C, so versagt jetzt die Rongalitweißfärbung völlig, während die direkte Methylenblaufärbung das normale Bild erzielt. Es wird demnach das *Leukomethylenblau* im Gegensatz zum Methylenblau *nur von solchen Säureorten gebunden und gespeichert, die freien Sauerstoff besitzen*, während es zu den sauerstoffarmen (reduzierenden) Eiweißen keine Affinität hat. Hierin kommt ein für die Verwandtschaft zwischen Zelleiweiß

und Farben allgemein geltendes Gesetz zum Ausdruck, *nach welchem sauerstoffarme und sauerstoffreiche Körper einander anziehen* und ab-sättigen. Dies Gesetz, das sich auch weiterhin bestätigt hat, ist von *Unna* mit der Bezeichnung „*oxypolare Affinität*“ belegt worden. — Daß an den Sauerstofforten tatsächlich gespeicherter freier Sauerstoff vorhanden ist, ergibt sich daraus, daß eine mehr oder weniger starke Bläuung dieser Stellen auch dann auftritt, wenn man die Rongalitweißmethode unter Ausschluß des Luftsauerstoffes (wie später zu erörtern) vornimmt. An basischen Teilen der Gewebe aber liegen keine Sauerstofforte, denn verwendet man an Stelle eines basischen (Leukomethylenblau) einen sauren reduzierten Farbstoff wie Leukosäuregrün oder Indigoweiß, so kann dieser, an basischen Zellteilen verankert, hier nur durch Oxydation an der Luft wie echte Küpen Färbungen erzeugen; ein saurer Leukofarbstoff stellt also nur basische Gewebsstoffe (Kollagen u. a.), aber keineswegs Sauerstofforte dar.

Auf Grund dieser färberisch-mikroskopischen Befunde erhebt sich naturgemäß die Frage, was sind die Sauerstofforte? Wie gewinnen und bewahren sie ihren Reichtum an wirksamem Sauerstoff und wie vollziehen sie mit ihm die Oxydationen? Beschränken wir in der Beantwortung dieser Fragen der Übersichtlichkeit wegen unsere folgenden Erörterungen zunächst auf die Kerne als die wichtigsten Sauerstofforte. Schon durch ältere Untersuchungen war festgestellt, daß Zellgewebe oder auch Extrakte aus frischen oder abgetöteten Zellen imstande sind, chemische Körper wie z. B. Benzylalkohol oder Salicylaldehyd in Berührung mit Luft oder Blut zu oxydieren und daß diese oxydierende Kraft um so größer ist, je kernreicher das betreffende Zellmaterial. Blut allein dagegen wirkte kaum oxydierend, Muskel und Nervensubstanz zeigten gar einen verzögernden Einfluß, was auf ihren Reichtum an reduzierenden Stoffen schließen ließ. Alle diese Befunde stehen in bester Übereinstimmung mit den Resultaten *Unnas* und weisen auf die Kerne als Hauptoxydationsorte hin. Man stellte sich die oxydierende Kraft als Eigenschaft löslicher Fermente, *Oxydasen* genannt, vor, die besonders in den Kernen sich finden und als deren einer Träger durch *Spitzer* bereits ein eisenhaltiges Nukleoprotein charakterisiert werden konnte. Auf den Metallgehalt der Oxydationsfermente wurde von vielen Seiten Gewicht gelegt. Nach *Bertrand* wird eine Oxydase erst wirksam (aktiviert), wenn zu einem unbeständigen organischen Anteil des Fermentes, der den eigentlichen Fermentcharakter bedingt, ein zweiter stabilerer anorganischer oder auch organischer Körper, das sogen. Cofement, hinzutritt. Dabei soll das Manganoxydul eine wichtige Rolle als Cofement spielen, wie denn auch in vielen pflanzlichen Oxydasen Mangan aufgefunden wurde. Es kann jedoch durch Eisen und andere Metalle vertreten

werden. *Macallum* kam zu der Überzeugung, daß in allen tierischen und pflanzlichen Zellkernen und vielfach auch im Protoplasma festverankertes Eisen vorhanden sei, das mit organischen Anteilen zusammen als „mineralisches Ferment“ die Oxydationsprozesse bewirke. Über den Mechanismus der Oxydasewirkung herrschen sehr verwickelte und auseinandergehende Vorstellungen. Es ist zu unterscheiden zwischen Fermenten, die direkt mit Luftsauerstoff zu oxydieren vermögen, Oxydasen im engeren Sinne, und den „*Peroxydasen*“, die nur bei Gegenwart von Peroxyden (Wasserstoffsperoxyd oder organische Peroxyde) unter Abspaltung freien aktiven Sauerstoffs oxydativ wirken. Peroxydasen finden sich ungemein verbreitet und wohl in allen tierischen und pflanzlichen Geweben. Sie scheinen das wichtigste Oxydationsferment der Zelle zu sein, ja man ist geneigt, überhaupt jede Oxydasewirkung auf Peroxydasen zurückzuführen und ihr Wesen zu erblicken in leicht sich bildenden und wieder sich zersetzenden Peroxyden, wobei ein stabiler unorganischer Fermentkern (Eisen, Mangan) eine wesentliche Rolle spielt. Das Resultat ist die Überführung molekularen inaktiven Sauerstoffs in die unvollständig dissoziierte oder atomistische aktive Form. Den Oxydasen resp. Peroxydasen gewissermaßen entgegengerichtet arbeiten die in nahezu allen Zellen nachgewiesenen „*Katalasen*“, Fermente, welche, etwa wie feinverteiltes Platin das Wasserstoffsperoxyd, Peroxyde zerlegen unter Abspaltung von molekularem inaktiven Sauerstoff. Als ihre Aufgabe im Zellgewebe sieht man vielfach die Zersetzung der überschüssigen, für die regulären Oxydationen nicht mehr benötigten Peroxyde im Sinne einer entgiftenden Schutzfunktion an.

Über das Geschehen in den Sauerstofforten lassen sich nun grundsätzlich zwei verschiedene Annahmen machen. Es könnten z. B. die Zellkerne einfach infolge Gehaltes an sauerstoffreichen Verbindungen als Ansammlungen dieses Gases wirken, von dessen Überfluß sie abzugeben imstande wären, sie könnten andererseits aber auf Grund eines Besitzes an Oxydasen oder Peroxydasen befähigt sein, den ihnen zugeführten molekularen Sauerstoff (aus der Luft oder dem Zellsaft) zu aktivieren und so oxydierend zu wirken. Die erste Annahme würde kaum genügend die große Labilität der Sauerstofforte, ihre Empfindlichkeit gegen Protoplasmagifte, gegen die üblichen Fixierungsmittel und gar gegen Neutralsalze erklären. Diese Momente weisen vielmehr auf fermentartige Vorgänge hin. Außerdem konnte *Unna* zeigen, daß die Bläuung der Kerne nach Auswaschung allen Rongalitüberschusses schwächer resp. verändert ausfällt, wenn man keinen gelösten oder Luftsauerstoff hinzutreten läßt. Die Sauerstofforte sind also nicht einfach Sauerstoffquellen, sondern Sauerstoffkatalysatoren, die erst aktiven Sauerstoff her-

stellen aus molekularem, der ihnen gewissermaßen als Rohmaterial zugeführt wird. Daß aber im Zellgewebe, vor allem in den Zellkernen, die Bedingungen für diesen Aktivierungsprozeß durch Vorhandensein von Oxydasen oder Peroxydasen gegeben sind, geht aus dem weiter oben Gesagten hervor.

Wenn wir nun versuchen wollen, auf Grund der bisherigen Darlegungen die Bewegung des Sauerstoffes im Gewebe verständlich zu machen, so stoßen wir auf Schwierigkeiten, die hauptsächlich in den Fragen liegen: Wie gelangt der Sauerstoff durch das als stark reduzierend erkannte Protoplasma der Zelle in den bezüglich der Zufuhr doch recht ungünstig gelegenen Kern, und wodurch ist dieser in den Stand gesetzt, Sauerstoff in aktivierter Form festzuhalten und zu speichern? *Unna* findet eine Lösung durch die Annahme, daß die Kerne im Gegensatz zum Protoplasma keine Katalase enthalten, daß sie von dem allgemeinen Gesetz des Katalasegehaltes der tierischen Gewebe ausgeschlossen sind, und stellt sich demgemäß den Sauerstoffstrom in der Zelle folgendermaßen vor: „Die aktiven Sauerstoff als Hydroperoxyd enthaltende Lymphe überschwemmt das Zellenprotoplasma von der Außenseite her . . . Das stark reduzierende Protoplasma . . . nimmt sofort einen Teil dieses . . . Sauerstoffs für sich zu seiner eigenen Verbrennung in Anspruch. Dieser Anteil wird nach den Untersuchungen von *Bach* u. a. nicht von der Katalase des Protoplasmas in Beschlag genommen. Ein anderer Teil aber . . . wird von der Katalase des Protoplasmas seiner Aktivität beraubt und als unbrauchbarer Rest von molekularem Sauerstoff nach Durchwanderung des Protoplasmas an dessen Innenseite abgegeben. Hier kommt der restliche molekulare Sauerstoff des Protoplasmas in Kontakt mit der Peroxydase des Kernes, wird wieder in aktiven Sauerstoff umgewandelt und, da der Kern keine Katalase enthält (als solcher), aufgespeichert.“

Von diesem allgemeinen Verhalten gibt es verschiedene Abweichungen, die im Vorhandensein von freiem aktiven Sauerstoff im Protoplasma bestehen, im Rongalitweißbilde ausgedrückt durch Bläuung des Protoplasmas oder von Teilen desselben. In schmalen Protoplasmasäumen um große Kerne kann es infolge ungenügender Neutralisation der alkalischen Lymphe zu einem Rückströmen des Sauerstoffüberschusses aus dem Kern in das Protoplasma kommen. Im Protoplasma können katalasefreie, peroxydasehaltige Orte liegen, wie Granula, Granoplasma u. a. in Mastzellen, Plasmazellen, Drüsenzellen, Leuko- und Lymphozyten, die wie Kerne freien Sauerstoff speichern. „Hiernach wären also ganz im allgemeinen Reduktionsorte des Gewebes solche Gewebeelemente, die Katalase, aber keine Peroxydasen enthalten, Sauerstofforte solche, die Peroxydasen, aber keine Katalase enthalten.“

Starke experimentelle Stützen für diese Anschauung haben Untersuchungen von Golodetz und P. Unna erbracht. Sie unterzogen, um Protoplasma und Kern zu trennen, Vogelblut, dessen rote Blutkörperchen bekanntlich im Gegensatz zu denen der Säugetiere Kerne besitzen, der Einwirkung von Pepsin-Salzsäure. Durch diese wird in wenig Tagen das Protoplasma völlig verdaut und aufgelöst, die Kerne dagegen werden kaum angegriffen. Golodetz und P. Unna sahen nun zugleich mit dem Schwinden des Protoplasmas auch den Katalasegehalt des Verdauungsgemisches (geprüft an der Wasserstoffsperoxyd-Katalyse) abnehmen und am vierten Tage nahezu gleich Null werden, während zur selben Zeit die mikroskopisch noch wohl erhaltenen Kerne mit Rongalitweiß Blaufärbung zeigten und mit der Benzidinreaktion noch Peroxydasegehalt angaben, obwohl sie von Hämoglobin sorgfältig befreit waren. So gehören also Kernsubstanz und Peroxydase einerseits und Protoplasma und Katalase andererseits zusammen, wie denn auch in quantitativen Versuchen der Katalasegehalt stieg und fiel mit dem Protoplasmareichtum der Gewebe und gänzlich unabhängig war vom gleichzeitigen Peroxydasegehalt. Der fast völlige Mangel an Katalase in der Knorpelsubstanz, die durch die Rongalitweißmethode als Sauerstoffort erwiesen wird, spricht ebenfalls für die Katalaselosigkeit der Sauerstofforte im allgemeinen.

Unter den Sauerstofforten nimmt Unna eine Scheidung in primäre und sekundäre vor. Verhindert man nämlich bei der Rongalitweißfärbung durch Auswaschen und Aufheben der Schnitte in sauerstofffreiem Wasser den Zutritt von Luftsauerstoff, so findet dennoch eine Bläuung statt an den Orten, die freien Sauerstoff gespeichert festhalten. Das gilt vor allem in den Plasmazellen für das Granoplasma, in den Ganglienzellen für die Nißl-Schollen und für die Knorpelgrundsubstanz. Diese Gewebsteile entziehen nämlich zufolge ihrer stark sauren Beschaffenheit ihren Zellkernen, die sie dicht umschließen, den dort erzeugten aktiven Sauerstoff und speichern ihn selbst. Daher bleiben auch unter den gleichen Umständen in diesen Zellen die Kerne ungefärbt, die hier sogar bei gewöhnlichen an der Luft gebläuten Schnitten infolge ihrer aufgezwungenen starken Sauerstoffabgabe eine gewisse Sauerstoffarmut offenbaren. Unna nennt diese Zellteile *sekundäre oder labile Sauerstofforte*, da sie nur speichern können, nicht aber imstande sind (aus Mangel an Peroxydasen), wenn ihnen der angehäufte freie Sauerstoff künstlich entzogen wurde, solchen aus der Luft durch Aktivierung wiederzugewinnen. Ihnen gegenüber stehen die *primären oder stabilen Sauerstofforte*, als deren Hauptvertreter die Kerne zu nennen sind, die neben dem Speichervermögen durch ihren Peroxydasegehalt in den Stand gesetzt sind, ihnen gebotenen mole-

kularen Sauerstoff in die zur Oxydation nötige aktive Form überzuführen.

Bevor wir zum Schluß versuchen, ein zusammenhängendes Bild von Sauerstoffstrom auf seinem Wege vom Eintritt in den Säugetierkörper durch die Lungenbläschen bis zu den Zellkernen im Gewebe zu entrollen, wie es sich Unna auf Grund seiner Forschungen vorstellt, müssen wir noch eine Bemerkung über das rote Blutkörperchen vorausschieken. Der Erythrozyt erweist sich durch die Rongalitweißfärbung als Reduktionsort und läßt keinen freien Sauerstoff erkennen, obwohl wir wissen, daß das Hämoglobin, der in dem Stroma (Gerüstwerk) des Blutkörperchens eingeschlossene rote eisenhaltige Farbstoff, den Sauerstoff speichert und durch das Gefäßsystem transportiert. Befreit man aber das Hämoglobin aus dem Stroma, so färbt es sich mit Rongalitweiß als Sauerstoffort intensiv blau. Es ist also das Stroma, welches, solange es das Hämoglobin umschließt, das Auftreten freien Sauerstoffs nach außen verhindert, das dem zusammengesetzten System „Erythrozyt“ das Gepräge eines Reduktionsortes verleiht, indem es durch seinen Katalasegehalt jeden Überschuß an freiem aktiven Sauerstoff zurückverwandelt in molekularen, wie es auch das Protoplasma tut.

Nun mag endlich der Sauerstoffstrom in seinen möglichen Grundzügen dargestellt werden: In den Lungenkapillaren dringt der molekulare Sauerstoff der Atmungsluft durch die Wände der Lungenalveolen in großen Massen in das Blutplasma, wo er durch die Leukozyten, die als Sauerstofforte durch Unna diese neue wichtige Funktion erhalten, in aktiven Sauerstoff verwandelt wird. Dieser überschwemmt die roten Blutkörperchen, deren Stromakatalase es bei dem starken Zustrom nicht verhindern kann, daß reichlich aktiver Sauerstoff in loser Bindung, in Peroxydform im Hämoglobin als Oxyhämoglobin gespeichert wird. Das Stroma ist vollauf beschäftigt, weitere zudringende Sauerstoffmassen in die molekulare Form zurückzuwandeln und ins Plasma zurückzustoßen. So bleibt das Peroxyd im Innern des roten Blutkörperchens bewahrt, solange das Blutplasma sauerstoffreich ist. Gelangt aber das Blutkörperchen in die lungenfernen Gewebskapillaren, wo das Plasma mehr und mehr an Sauerstoff verarmt, so wendet die Stromakatalase mehr und mehr ihre zersetzende Kraft dem Oxyhämoglobin zu; sie zerlegt es und treibt den Sauerstoff in molekularer Form in das Blutplasma aus. Hier wird er durch die weißen Blutkörperchen und weiter in den Gewebesäften durch Mastzellen und Plasmazellen von neuem aktiviert und gelangt so an die Gewebezellen. Deren Protoplasma verbraucht einen Teil für sich und läßt den Rest durch Katalase inaktiviert bis an den Kern passieren, der ihn endgültig in die aktive Form überführt mit Hilfe seiner Peroxydasen und aufspeichert, da keine

Katalase vorhanden ist. So füllen die Kerne als primäre Sauerstofforte allmählich ihre Reservoir mit freiem aktiven Sauerstoff und können jederzeit an die sekundären Sauerstofforte und das Protoplasma je nach Bedarf aus ihrem Reichtum abgeben.

#### Literatur:

- P. G. Unna, Die Reduktionsorte und Sauerstofforte des tier. Gewebes, Arch. f. mikroskop. Anatomie Bd. 78, 1911.  
 P. G. Unna, Die Sauerstofforte und Reduktionsorte, eine histochem. Studie, Arch. f. mikroskop. Anatomie Bd. 87, 1915.  
 P. G. Unna, Biochemie der Haut, Gust. Fischer, Jena, 1915.  
 L. Golodetz u. P. Unna, Über Peroxydase u. Katalase in der Zelle, Berliner Klin. Wochenschr. 1912, Nr. 24. Vergl. ferner:  
 P. G. Unna, Medizin. Klinik 1912, Nr. 23, Berliner Klin. Wochenschr. 1913, Nr. 13 und Nr. 17.

### Besprechungen.

**Freudenberg, K., Die Chemie der natürlichen Gerbstoffe.**  
 Berlin, Julius Springer, 1920. VIII, 161 S. Preis M. 22,—.

Das alte Gewerbe der Gerberei hat der wissenschaftlichen Durchdringung bis in die jüngste Zeit hinein Widerstand geleistet. Noch heute ist die Theorie des Gerbevorganges Gegenstand hartnäckiger Diskussionen und es fragt sich, ob hier sobald eine eindeutige Entscheidung möglich sein wird. Eine um so glücklichere Entwicklung nimmt neuerdings die Erforschung der gerbenden Stoffe, seit Emil Fischers Meisterhand die grundlegendsten Fragen der Tanninchemie geklärt hat. Den gemeinsam mit Fischer begonnenen Vormarsch in das viel begangene und doch wenig erforschte Gebiet der Gerbstoffe setzt Freudenberg, weit über den Bezirk der Tannine hinausgreifend, mit großem Schwung und glücklichem Erfolg fort. Seine „Chemie der natürlichen Gerbstoffe“ ist die erste Sichtung des gewonnenen reichen Einzelmateriale. Daß dabei allerlei überraschende biochemische Zusammenhänge aufgedeckt werden, macht das Buch dem Chemiker wie dem Pflanzenphysiologen gleich erfreulich.

Mitten aus produktiver Tätigkeit geschrieben, atmet Freudenbergs „Gerbstoffchemie“ Leben und Wärme. Hier ist nicht wahllos alles zusammengetragen, was je auf dem Gerbstoffgebiet von verschiedenen Seiten an widersprechenden Beobachtungen und Deutungen mitgeteilt wurde. Mit sicherer Kritik und gestützt auf vielseitige eigene Erfahrung hat der Verfasser aus dem umfangreichen Material das Zuverlässige herausgesucht und trotz der Menge des Aufgenommenen in überraschend gedrängter Form zusammengestellt.

Den ersten, allgemeinen Teil eröffnet eine vergleichende Zusammenstellung der analytischen Erkennungsreaktionen. Hier und im folgenden Abschnitt, der hauptsächlich von den physikalischen Eigenschaften der Gerbstoffe handelt, wird der Kolloidchemiker viel wertvolles Material finden. Weiter schließen sich an: Methoden der Gewinnung und Bestimmung von Gerbstoffen; Umwandlungen durch Chemikalien und Fermente; Derivate. Den Schluß des allgemeinen Abschnittes, der ein getreues Bild der heutigen verfeinerten Methodik für die Untersuchung hochmolekularer amorpher Stoffe liefert, bildet eine Übersicht der verschiedenen bekanntgewordenen Verfahren zur Gerbstoffsynthese. Ihre Kürze ist um so mehr berechtigt,

als der wesentlichste Teil in der Zusammenfassung der Arbeiten Emil Fischers (Untersuchungen über Depside und Gerbstoffe, Berlin, J. Springer, 1919) zu finden ist.

Der Beschreibung der einzelnen natürlichen Gerbstoffe und verwandten Naturstoffe, welche die zweite Hälfte der Freudenbergischen Schrift einnimmt, ist ein sehr glücklich gewähltes neues Einteilungsprinzip zugrunde gelegt. Es werden unterschieden:

1. Hydrolysierbare Gerbstoffe und gerbstoffartige Verbindungen von Ester- oder Glucosidform. Als wesentliches Kriterium für die Zugehörigkeit zu dieser Gruppe wird die Spaltbarkeit in einfache Bausteine durch hydrolysierende Fermente angesehen. Von den drei Untergruppen umfaßt die erste die sogenannten Depside, das sind Ester der Phenolcarbonsäuren mit ihresgleichen oder anderen Oxyssäuren. Die Ausdehnung des ursprünglichen Depsidbegriffes auf Oxyssäuren ermöglicht auch die zwanglose Einreihung der Chlorogensäure, deren Aufklärung als Ester von Kaffeesäure mit Chinasäure ja Freudenbergs Experimentierkunst zu danken ist. Die zweite Untergruppe „Tanninklasse“ wird durch die Umgrenzung als „Ester aromatischer Säuren mit mehrwertigen Alkoholen oder Zuckern“ verhältnismäßig weit gefaßt. Immerhin gewährt das den Vorteil, daß jetzt eine Reihe einfacher Naturstoffe, wie das Vacciniin der Preiselbeeren (eine Monobenzoylglucose), das Populin usw., als Vorstufen des Glucogallins (Monogalloylglucose des chinesischen Rhabarbers), des Hamamelitannins (Digalloylhexose) und weiterhin der Galläpfeltannine (Polygalloylglucosen) erscheinen. Die dritte und letzte Untergruppe „Glucosidartige Gerbstoffe“ enthält vorerst die sogenannten Ellagerbstoffe.

2. Kondensierte Gerbstoffe und gerbstoffähnliche Verbindungen heißen solche, bei denen Benzolkerne durch Kohlenstoffverbindung zusammengehalten werden. Durch Fermente werden sie nicht in einfache Bausteine zerlegt; oxydierende Mittel oder starke Säuren kondensieren sie zu hochmolekularen, amorphen Produkten (Gerbstoffrot). Von den beiden Untergruppen steht diejenige der kondensierten Gerbstoffe, welche einen Phloroglucinkern enthalten, im Vordergrund.

Den genetischen Zusammenhang dieser Gruppe mit anderen Pflanzenstoffen vermittelt Freudenberg durch seine geistreiche „Catechinhypothese“. Sie besagt etwa soviel, daß sich die Catechine zusammen mit den amorphen Phloroglucingerbstoffen und den sogenannten Roten den drei nahe verwandten und weit verbreiteten Gruppen der Flavonfarbstoffe, Anthocyanidine und Phenylstyrylketone als vierte Gruppe phloroglucinführender Naturstoffe ähnlicher Bauart anschließen — ein bestechender Gedanke von großer Überzeugungskraft. Und es muß als Erfolg der Freudenbergischen Betrachtungsweise gebucht werden, daß sich eine theoretische Voraussage über die chemische Natur des Gambircatechins, die er an die Aufstellung der Catechinhypothese angeschlossen, inzwischen bei der experimentellen Prüfung restlos bestätigt hat.

Der kurze hier gegebene Auszug läßt schon erkennen, welcher Fortschritt, welche Klärung der Begriffe in den wenigen Jahren seit Erscheinen der Monographie von Dekker erzielt worden ist. Darum findet in Freudenbergs Schrift der Gerbereifachmann ebensogut wie der chemisch interessierte Botaniker seine Rechnung. Insonderheit sei aber dem Chemiker, dem die Kenntnis pflanzlicher Naturstoffe am Herzen liegt, die Lektüre warm empfohlen.

M. Bergmann, Berlin-Charlottenburg.