

Zur Prüfung auf eine eventuelle Kumulierung injizierten wir einem Kaninchen 5 Tage lang jeweils 100 mg/kg, einem anderen 14 Tage lang die gleiche Dosis und arbeiteten die Organe 48 h nach der letzten Injektion auf. Die Tabelle II zeigt die Ergebnisse.

Ein Vergleich der spezifischen Aktivitäten zeigt, dass der Gehalt an Xylanester bei mehrmaliger Injektion erheblich ansteigt. In der Leber erhöht er sich nach 5 Tagen auf das 10fache und nach 14 Tagen auf das 13fache des Wertes nach einmaliger Gabe. Die letzte Zahl deutet auf eine beginnende Sättigung. In der Milz ist der Anstieg noch erheblicher: nach 5 Tagen wird der 7fache und nach 14 Tagen der 25fache Wert erreicht. Diese Befunde über die Verweildauer der gespeicherten Substanz und die Kumulierung lassen eine wiederholte Anwendung derartiger Stoffe als bedenklich erscheinen.

Bei der Synthese blutgerinnungshemmender Schwefelsäureester dient stets das körpereigene Heparin als Vorbild. Wir indizierten daher diese Substanz¹ ebenfalls mit S³⁵ und untersuchten ihr Schicksal im Organismus auf die gleiche Art. Ausserdem stellten wir zum Vergleich einen Xylanester her, der in Schwefelgehalt und Viskositätszahl mit dem Heparin möglichst übereinstimmte. (Heparin: $Z\eta = 0,0057$, $S = 12,8\%$, XS II: $Z\eta = 0,0047$, $S = 12,2\%$).

Tabelle III
Vergleich der Aktivitäten der Organe nach 1- bzw. 5maliger Injektion von XS I, XS II und Heparin

Organ	Spezifische Aktivität					
	XS I		XS II		Heparin	
	1	5	1	5	1	5
Leber. . . .	0,51	4,95	0,11	0,34	0,093	0,27
Niere	2,14	8,15	0,33	2,0	0,78	3,4
Milz	0,78	5,6	0,35	1,3	0,56	1,2

Die Werte von XS II und Heparin liegen übereinstimmend niedriger als die von XS I. Wie ein Vergleich mit den Werten nach einmaliger Injektion zeigt, ist die Kumulierung wesentlich geringer als bei XS I.

Auch in der Verweildauer der gespeicherten Substanzen ist ein deutlicher Unterschied zu erkennen. Aus der Tabelle IV sieht man, dass nach 3 Wochen die Aktivität in den Organen im Gegensatz zu XS I (vgl. Tab. I) erheblich abgenommen hat.

Tabelle IV
Verweildauer von XS II und Heparin in den Organen

Organ	XS II		Heparin	
	Spezifische Aktivität nach			
	48 h	3 Wochen	48 h	3 Wochen
Leber. . . .	0,107	0,068	0,093	0,052
Niere	0,33	0,185	0,78	0,33
Milz	0,35	0,20	0,065	0,062

Aus unseren bisherigen Ergebnissen folgern wir, dass der Schwefelgehalt entscheidend ist für die Dauer der Speicherung und die Kumulierung. Das körpereigene Heparin nimmt keine Sonderstellung ein, sondern ver-

hält sich innerhalb der Fehlergrenze ebenso wie ein Xylanester gleichen Schwefelgehaltes.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sowie der Dr.-Wander-GmbH., Bern und Säckingen, danken wir sehr herzlich für die Unterstützung der Arbeit.

E. HUSEMANN, B. PFANNEMÜLLER und W. HERTLEIN

Aus dem Staatlichen Forschungsinstitut für makromolekulare Chemie und dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br., den 28. März 1953.

Summary

The storage of anticoagulant Xylane sulfuric acid esters, as tested by the radioactivity of compounds containing S³⁵, is of an extremely long duration. After three weeks the quantity found in the liver is the same as that found after 48 h. Additional dosage results in further accumulation. Heparin is no exception since it behaves as Xylane sulfuric acid ester of the same viscosity and sulfur content.

La migration de l'hémoglobine additionnée au sérum humain lors de l'électrophorèse sur papier

Pour étudier l'influence de l'hémolyse sur l'électrophorogramme du sérum humain obtenu selon la technique de GRASSMANN et HANNIG¹, nous avons fait cheminer ensemble une solution à 4% d'hémoglobine humaine, non dénaturée, et un sérum humain de référence, choisi au hasard. L'appareil à électrophorèse était le Elphor H (tampon: véronal sodique/acétate/acide chlorhydrique, ph. 8,6, $\mu = 0,1$).

Pour l'hémoglobine pure nous avons toujours obtenu une seule tache (tache H) à mobilité de β -globuline (Fig. 1a). Ceci correspond aux observations de MOORE² qui utilise l'électrophorèse selon TISELIUS. Par contre, si après avoir appliqué 10 μ l d'une solution à 4% (0,4 mg) d'hémoglobine, nous ajoutons sur la même ligne 10 μ l du sérum humain choisi, nous observons après la migration et avant toute coloration, deux taches «hémoglobiques» nettement démarquées (taches h et H) (Fig. 1b). En réduisant à 1 μ l la quantité d'hémoglobine (0,04 mg), tout en maintenant le volume du sérum à 10 μ l, nous ne retrouvons que la tache h, à mobilité légèrement plus élevée que celle d'une β -globuline (Fig. 1c).

La coloration à l'amido schwarz 10B révéla que le sérum humain utilisé présentait une nette élévation des α_2 -globulines (1,0%). Dans une première série de contrôles, nous avons ajouté 0,4 mg d'hémoglobine à 10 μ l de sérums de diverses concentrations en α_2 -globuline. L'intensité de la tache h se révéla parallèle à la concentration en α_2 -globuline, la tache H restant d'intensité sensiblement constante. Dans une deuxième série, nous avons ajouté des quantités croissantes d'hémoglobine à 10 μ l d'un même sérum (α_2 -globuline: 1,7%). A partir de 0,24 mg d'hémoglobine, la tache h semble atteindre une intensité constante tandis que la tache H, nette à partir de ce volume, s'intensifie encore pour des quantités d'hémoglobine plus élevées.

¹ W. GRASSMANN et K. HANNIG, *Naturwissenschaften* 37, 496 (1950); Hoppe Seylers *Z. physiol. Chem.* 290 (1952). – W. GRASSMANN et L. HÜBNER, *Naturwissenschaften* 40, 272 (1953).

² H. MOORE, J. B. ROBERTS, M. COSTELLO et T. W. SCHONBERGEN, *J. Biol. Chem.* 180, 1147 (1949).

¹ Der Deutschen Hoffmann-La-Roche-AG. danken wir auch an dieser Stelle für die Überlassung von 2 g Heparin.

Tout se passe donc comme si, dans ces sérums, il y avait captation de l'hémoglobine par une α_2 -globuline qui se sature rapidement, après quoi l'hémoglobine migre librement et se place sur le front des β -globulines.

Nous avons d'ailleurs pu montrer que cette captation de l'hémoglobine par une α_2 -globuline conduit à un complexe de mobilité intermédiaire entre celle d'une α_2 - et d'une β -globuline (Fig. 2). En effet, après l'addition d'hémoglobine, on trouve sur le phérogramme coloré à l'amido schwarz, une fraction apparemment nouvelle, entre les α_2 - et les β -globulines, et qui correspond à la tache *h* repérée au crayon. En même temps, l'emplacement des α_2 -globulines s'est vidé et il n'y reste qu'une fraction mineure qui ne semble pas avoir réagi. Ceci conduit au diagramme à trois sommets intriqués, que

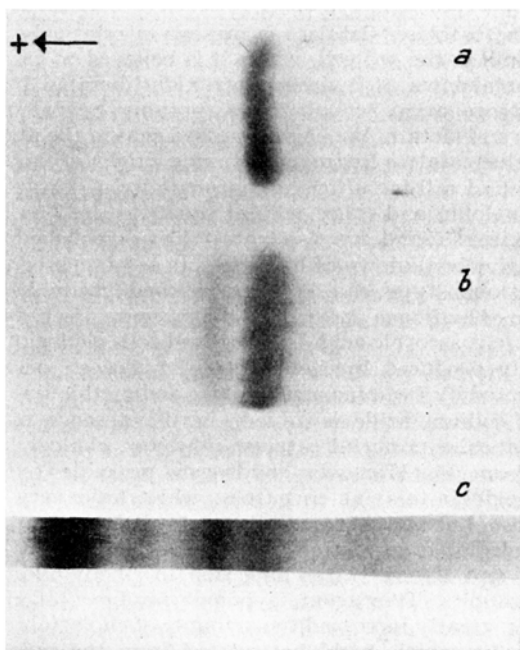


Fig. 1. *a* hémoglobine; *b* hémoglobine additionnée de 10 μ l de sérum; *c* hémoglobine additionnée de 1 μ l de sérum. La moitié supérieure du phérogramme est colorée à l'amido schwarz. Dans la moitié inférieure on perçoit la tache *h* très légèrement indiquée.

nous avons retrouvé sur des sérums légèrement hémolytiques.

La captation de l'hémoglobine par une α_2 -globuline rappelle le comportement de l'haptoglobine de JAYLE et POLONOVSKI¹. VAN ROYEN² a démontré d'autre part, que l'haptoglobine est congruente à une fraction importante et hautement variable des α_2 -globulines. Nous croyons donc pouvoir identifier la tache *h* au complexe haptoglobine/hémoglobine.

Cette observation nous semble d'un intérêt certain: toute trace d'hémolyse diminue apparemment la quantité des α_2 -globulines avant d'influencer l'estimation des β -globulines; cet effet sera d'autant plus net que l' α_2 -globuline sera en concentration supranormale. Ce phénomène fera donc écarter de l'analyse électrophorétique courante tous les sérums à trace d'hémolyse. Il pourrait, d'autre part, permettre un dosage de l'haptoglobine libre.

R. J. WIEME

Clinique médicale, Université de Gand, le 10 juin 1953.

¹ M. F. JAYLE et ABDELLATIF, Bull. Soc. Chim. Biol. 28, 80 (1946).

² A. H. VAN ROYEN dans L. W. JANSEN: *Electrophoretic studies on serum proteins* (1951), p. 94.

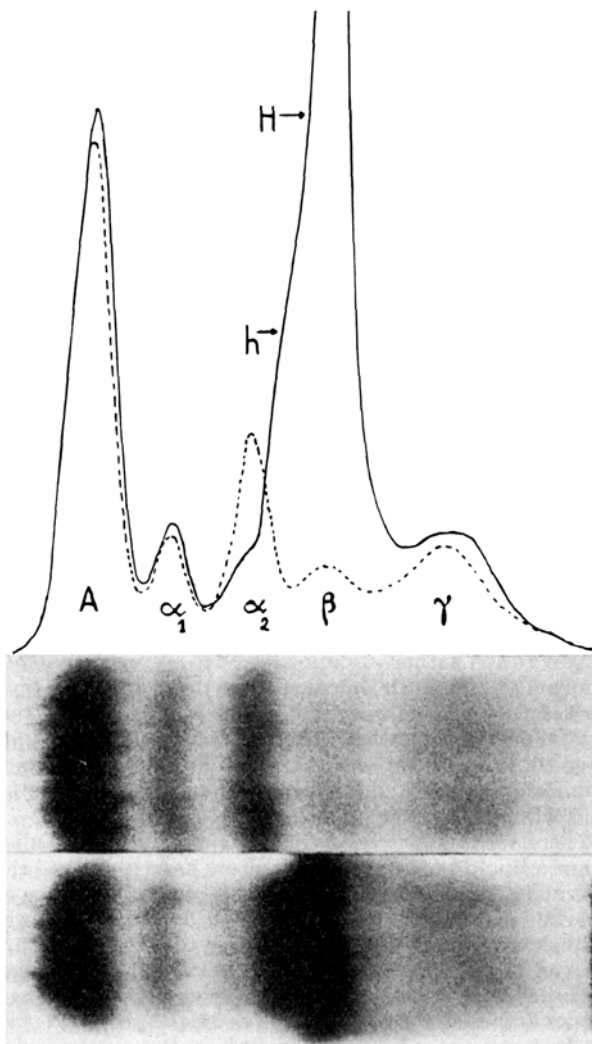


Fig. 2. Diagramme pointillé: sérum à élévation des α_2 globulines; diagramme en ligne continue: même sérum après addition d'hémoglobine. – Phérogrammes: supérieur: même sérum; inférieur: même sérum additionné d'hémoglobine.

Summary

Using paper electrophoresis, the author found that when human hemoglobin is added to human sera, it is captured by a fraction of the α_2 -globulin, which results in a compound with an electrophoretic mobility between that of α_2 -globulin and β -globulin.

He identifies this fraction of the α_2 -globulin with the haptoglobin discovered by JAYLE. This phenomenon may influence the estimation of α_2 -globulin even in slightly hemolytic sera.

Catalase Inhibition: A Possible Mechanism for the Production of Heinz Bodies in Erythrocytes

It has long been recognized that inclusion bodies in mammalian red blood cells similar to those originally described by ROBERT HEINZ¹ can be produced *in vivo* and *in vitro* by many toxic substances. So diverse are

¹ R. HEINZ, Virch. Arch. path. Anat. 122, 112 (1890).