

169. Über das Vorkommen der Diamin-oxydase bei Mensch, Säuger und Vogel. Mit einem Anhang über das Vorkommen der Cholin-esterase beim Vogel

5. Mitteilung über den enzymatischen Abbau von Poly-aminen

von **E. A. Zeller, Hans Birkhäuser, Hans Mislin und Marianne Wenk.**

(12. X. 39.)

Die in den vorangehenden Arbeiten dieser Untersuchungsreihe¹⁾ festgestellten Spezifitätsverhältnisse des früher als Histaminase bezeichneten Ferments gestatten nicht nur neue Einsichten in dessen biologische Bedeutung, sondern schaffen auch dadurch neue Beziehungen zwischen einer ganzen Reihe von basischen (Wirk-)Stoffen des tierischen Organismus, dass ein Teil derselben vom gleichen Ferment, der Diamin-oxydase, oxydativ desaminiert wird, während andere seine Wirkung durch Blockierung ausschalten. Zu der Gruppe der ersteren gehören Histamin, Putrescin, Cadaverin, Agmatin²⁾, Spermin und Spermidin³⁾, zu den letzteren Aneurin⁴⁾, verschiedene Guanidinderivate wie Methyl-guanidin, Arcain (Tetramethyldiguanidin) und Dekamethylen-diguanidin⁵⁾. Das letztere ist zwar kein körpereigener Wirkstoff, wurde aber neben dem Dodekamethyldiguanidin als perorales Antidiabeticum therapeutisch verwendet⁶⁾. Auch die Körper der ersten Gruppe können durch Bindung an das Ferment (competitive inhibition) einen hemmenden Einfluss auf dasselbe ausüben, besonders wenn sie eine grosse Affinität besitzen und langsam abgebaut werden, wie das für Spermin und Spermidin der Fall ist⁷⁾.

Im Bestreben, in die Zusammenhänge zwischen Wirkung und Stoffwechsel der aufgezählten basischen Stoffe weiter einzudringen, untersuchten wir beim Menschen, bei einigen Säugetieren und Vögeln die Verteilung der Diamin-oxydase in den wichtigsten in Frage kommenden Organen. Neben dieser allgemeinen Fragestellung verfolgten wir mit unsern Untersuchungen noch einige besondere Ziele:

¹⁾ 2. Mittel. (II): *E. A. Zeller*, *Helv.* **21**, 880 (1938); Vorläuf. *Mittel. Naturwiss.* **26**, 282 (1938). 3. Mittel. (III): *E. A. Zeller*, *Helv.* **21**, 1645 (1938); Vorläuf. *Mittel. Naturwiss.* **26**, 578 (1938) und XVI. *Int. Physiol. Kongress Zürich 1938*, *Kongressbericht II*, S. 259; *Kongressbericht III*, S. 73. 4. Mittel. (IV): *E. A. Zeller, B. Schür* und *S. Staehlin*, *Helv.* **22**, 837 (1939). Vorläuf. *Mittel. E. A. Zeller*, *Verh. schweiz. Physiol.* **14**, 27 (1939).

²⁾ II, S. 881. ³⁾ III, S. 1649. ⁴⁾ IV, S. 839. ⁵⁾ III, S. 1653.

⁶⁾ *E. Frank, M. Nothmann* und *A. Wagner*, *Klin. Wschr.* **5**, 2100 (1926).

⁷⁾ IV, S. 841.

1. Wir suchten nach günstigen Ausgangsmaterialien für die Darstellung von Diamin-oxydase-Präparaten für unsere fermentchemischen Untersuchungen. Dabei kam es uns nicht nur auf einen hohen Enzymgehalt, sondern auch auf das Verhalten der Leerwerte, auf die Haltbarkeit und auf das Vorhandensein anderer Fermente an. Gerade dieser letzte Punkt erfuhr besondere Beachtung, weil er im Zusammenhang mit dem Problem der Weiteroxydation der Zwischenprodukte der Diamin-Diamin-oxydase-Reaktion stand¹⁾.

2. Durch die Auswahl bestimmter Tierspezies und Entwicklungsstadien gingen wir auch Probleme der Entwicklungsphysiologie und der vergleichenden Physiologie an.

3. Beim Menschen wollten wir die normalen Werte der wichtigsten in Frage kommenden Organe bestimmen, um die Grundlage für das eventuelle Auftreten abweichender Zahlen bei pathologischen Zuständen zu gewinnen. In ähnlicher Weise hatte *G. Albus*²⁾ den „Histaminase“-Gehalt des menschlichen Blutes von Gesunden mit dem von latenten Allergikern verglichen.

Aus äusseren Gründen mussten wir die Arbeit unterbrechen. Da vorderhand nicht abzusehen ist, wann sie wieder aufgenommen werden kann, teilen wir das bisher Erreichte hier mit.

Methodik.

Kleine Organe wurden in der Reibschale mit Seesand verrieben, grössere zuerst im *Latapie*-Apparat gemahlen, und dann mit der dreifachen Menge 2,5-proz. Natriumchloridlösung unter Rühren gründlich durchmischt und das Ganze in Dialysierschläuche eingefüllt. Dialysiert wurde stets bei 0°, die ersten Stunden gegen destilliertes Wasser, weiterhin gegen Phosphatpuffer p_H 7,2 (nach *Soerensen*) und nicht, wie früher, gegen p_H 6,9, um neben der Diamin-oxydase noch eine Reihe anderer Fermente, wie (Mono-) Amin-oxydase, Xanthin-oxydase, *d*-Aminosäure-oxydase und Cholin-oxydase messen zu können³⁾. Nach 24 Stunden wurde scharf abzentrifugiert und die überstehende Lösung weiter dialysiert und im allgemeinen nach 48 Stunden verwendet. Es wurde also nur der unter diesen Bedingungen lösliche Anteil der Diamin-oxydase ermittelt, der aber nach den früheren Erfahrungen die überwiegende Menge des gesamten im Organ vorhandenen Ferments darstellt. Von der früheren Methode der Acetonfällung wurde trotz der durch sie erzielten geringen Leerwerte abgesehen, weil die Aktivität durch sie leidet, und zwar besonders dann, wenn zuerst mit wässriger Lösung extrahiert und

¹⁾ *E. A. Zeller, R. Stern und M. Wenk*, 6. Mitteilung über Diamin-oxydase, Helv. (im Druck).

²⁾ *Klin. Wschr.* **18**, 858 (1939).

³⁾ *E. A. Zeller, B. Schär und M. Wenk*, 7. Mitt. über Diamin-oxydase (in Vorbereitung.)

diese mit Aceton gefällt wird; direkte Behandlung des Organbreies mit Aceton schadet viel weniger.

Die Ansätze wurden gewöhnlich in folgender Weise gemacht: Zu 2,5 cm³ der dialysierten Fermentlösung wurde 0,1 bis 0,3 0,1-m. Cadaverin-dihydrochlorid, in dem oben angegebenen Puffer gelöst, reine Pufferlösung bis zum Volumen 3,0 cm³, 1 bis 2 Tropfen prim. Octylalkohol und bei länger dauernden Versuchen 0,25 cm³ Toluol hinzugegeben. Bei kleinen Organen wurden die Volumina entsprechend reduziert (bis zu 1,5 cm³). In Organen mit sehr kleinem Enzymgehalt wurde die Menge des in Freiheit gesetzten Ammoniak nach *Parnas*¹⁾ bestimmt. Die Reaktionsdauer betrug hier 4 bis 20 Stunden. In allen übrigen Fällen wurde der Sauerstoffverbrauch in offenen *Warburg*-Manometern gemessen, wobei die Versuche 1 bis 2 Stunden liefen.

Um die Versuche untereinander und gegenüber denen anderer Autoren vergleichen zu können, ist es von Vorteil, eine Einheit der Fermentaktivität aufzustellen. Die dazu nötigen Grundlagen sind in den vorangehenden Arbeiten dieser Untersuchungsreihe, besonders in den reaktionskinetischen Studien der 4. Mitteilung²⁾, geschaffen worden. Wir definieren die Diamin-oxydase-Einheit (DoE.) folgendermassen: Wenn das Ferment, unter den oben angegebenen Bedingungen gemessen, gegenüber der ursprünglichen Konzentration ungefähr auf das Fünffache mit m/15-Phosphatpuffer p_H 7,2 verdünnt und mit Cadaverin gesättigt, eine Anfangsgeschwindigkeit von 10⁻⁶ Mol Umsatz in der Stunde zeigt, dann hat es die Aktivität von 1 DoE. Dies entspricht einer stündlichen Bildung von 17 γ Ammoniak und dem Verbrauch von 11,2 mm³ Sauerstoff. Wenn Histamin als Substrat dient, um die Auswertung auf biologischem Weg (Meerschweinchendarm, Blutdruck der atropinisierten Katze) durchzuführen, kann die gleiche Definition verwendet werden. In einem solchen Fall aber muss das Histamin in optimaler Konzentration, die in jedem Fall experimentell ermittelt werden muss, vorhanden sein. Da in dem untersuchten Konzentrationsbereich³⁾ Cadaverin immer rascher als Histamin oxydiert wird, so entspricht eine „Histamin-Einheit“ einer grösseren Fermentmenge als die „Cadaverin-Einheit“; der Faktor hat bei der optimalen Histaminkonzentration den Wert 1,3.

Gegen die eben geschilderte Art der Messung und Definierung der Diamin-oxydase-Aktivität sind grundsätzlich zwei Einwände zu erheben:

1. In der vorangehenden Mitteilung⁴⁾ wurde eingehend experimentell die Frage untersucht, in welcher Weise der Verbrauch des zweiten Sauerstoffatoms bei der Diamin-Diamin-oxydase-Reaktion

¹⁾ II, S. 881.

³⁾ IV, Fig. 6.

²⁾ IV, S. 842—845.

⁴⁾ IV, S. 843.

den des ersten überlagert. Bei sehr genauen Messungen lässt sich, wie gezeigt wurde, schon nach wenigen Minuten eine solche Überlagerung nachweisen; dieser Fehler aber ist gering und darf für die Art der vorliegenden Untersuchungen vernachlässigt werden, um so mehr, als bei einer sicher sättigenden Cadaverinkonzentration gearbeitet wird, bei der die Geschwindigkeit der ersten Reaktionsstufe die der zweiten um das Vielfache übertrifft.

2. Grössere und noch nicht gelöste Schwierigkeiten bieten die Leerwerte. Es werden natürlich immer parallel und gleichzeitig zu den Versuchen mit Substrat solche ohne angesetzt. Bei dem Verfahren der direkten Fällung des Organbreies mit Aceton und Extraktion des Trockenpulvers und nachfolgender Dialyse gelangt man zu Präparaten, die fast zu vernachlässigende Leerwerte ergeben, und die deshalb besonders günstig für die Bearbeitung vieler fermentchemischer Probleme sind. Bei dem jetzigen Verfahren ist aber der Sauerstoffverzehr der Extrakte aus Diamin-oxydase-armen Organen zuweilen bei Abwesenheit von Substrat recht hoch gegenüber denjenigen mit Cadaverin. In solchen Fällen kann es zu Fehlern führen, wenn man die Leer- von den Hauptwerten einfach subtrahiert. Besonders interessant sind die Versuche, in denen die letzteren kleiner als die ersteren sind, bei denen also der Zusatz eines Diamins die Eigenatmung des Präparates hemmt. Diese Hemmung ist meistens so zu erklären, dass die Diamin-Diamin-oxydase-Reaktion wohl stattgefunden hat, aber den Sauerstoff mit einer kleineren Geschwindigkeit verbraucht hat als die Minuskontrolle. Der Beweis für diese Annahme wurde dadurch geleistet, dass durch Variierung der Versuchsbedingungen (längeres Dialysieren usw.) in diesen Ansätzen der Zusatz eines Diamins den Sauerstoff der Enzymlösung sicher erhöhte. Nur in einer kleinen Zahl von Fällen von Hemmung reichte die Zeit nicht aus, um zu entscheiden, ob ein Abbau stattgefunden hatte, wie wir es für wahrscheinlich halten.

Wenn also in solchen Fermentlösungen, die viel Sauerstoff verbrauchen, eine zweite Sauerstoff zehrende Reaktion, die Diamin-Diamin-oxydase-Reaktion, abläuft, so kann der gesamte Sauerstoffumsatz kleiner sein als die Summe derjenigen der einzelnen Komponenten; es handelt sich somit um ein typisches Konkurrenzphänomen. Die erste, nächstliegende Annahme für dessen Erklärung wäre wohl die, dass in dem Präparat ein Diamin vorhanden sei, das eine kleinere Affinität und eine grössere Zerfallsgeschwindigkeit als Cadaverin besitzt. In den besonders ausführlich untersuchten Organen Niere und Leber kommen Poly-amine, nämlich Histamin¹⁾ und Spermin²⁾ in reichlicher Menge vor. Diese zeigen aber gerade die entgegengesetzten Eigenschaften als die geforderten: die Affinität ist grösser und die Zerfallsgeschwindigkeit kleiner als die des Cadaverins. Die Anwesenheit von Spermin könnte aber einen andern Effekt erklären: *F. W. McHenry*

¹⁾ *D. Ackermann* und *M. Mohr*, *Z. physiol. Ch.* **255**, 75 (1938); *D. Ackermann* und *H. G. Fuchs*, *Z. physiol. Ch.* **257**, 153 (1938).

²⁾ Zusammenfassung bei *M. Guggenheim*, *Les amines biologiques*, Paris 1934, S. 178.

und G. Gavin¹⁾ fanden eine 5 Stunden dauernde Inkubationszeit für die „Histaminase“, während unsere dialysierten Lösungen überhaupt keine mehr aufweisen²⁾. In nicht dialysierten Lösungen könnte zuerst das Spermin so weit mit der ihm eigenen geringen Geschwindigkeit oxydiert werden, bis sich die Konzentrationen der Reaktionspartner so weit geändert hätten, dass das zugesetzte Substrat mit dem Ferment reagieren könnte.

Eine andere Hypothese deckt sich besser mit unsern experimentellen Daten: Von dem einen von uns wurde früher nachgewiesen³⁾, dass die Diamin-oxydase 2 Wasserstoffatome des Substrats aktiviert. Dieser Wasserstofftransport könnte mit dem der Eigenatmung ein gemeinsames Glied besitzen, das möglicherweise als limitierender Faktor wirkt. Welche der beiden Reaktionsketten und in welchem Masse die eine bevorzugt würde, das hinge von den Konzentrationen, der chemischen Konstitution und den Redoxpotentialen⁴⁾ der Reaktionsteilnehmer ab. Nach unsern bisherigen Erfahrungen⁵⁾ könnte ein solches gemeinsames Glied und damit limitierender Faktor ein Flavin sein.

Die erwähnte Hemmung könnte aber auch so zustande kommen, dass nicht die Diamin-oxydase, sondern erst ein Produkt der Diamin-Diamin-oxydase-Reaktion, zusammen mit einer auf jenes einwirkenden Dehydrase, mit andern Dehydrasen konkurriert. Ein solcher Vorgang scheint sich dann abzuspielden, wenn, was nicht allzu selten auftritt, der Haupt- den Leerwert anfänglich übertrifft, während nach einiger Zeit das Verhältnis sich umkehrt. Wenn man nur den Kreuzungspunkt der beiden entsprechenden Kurven kennte, so erhielte man den Eindruck, dass der Zusatz von Cadaverin an der Eigenatmung der Enzymlösung nichts geändert hätte.

Auf die Diskussion über weitere mögliche Mechanismen sowie über das Vorhandensein von Atmungssubstraten trotz der gründlichen Dialyse, der die Präparate unterworfen werden, soll verzichtet und nur noch beiläufig erwähnt werden, dass es sich bei den Fermenten, die die Leerwerte bedingen, hauptsächlich um desaminierende handelt, da die Ammoniakbildung dem Sauerstoffverbrauch ungefähr parallel geht. — Es wurde deshalb auf diese Probleme hingewiesen, weil sie in vielen fermentchemischen Arbeiten nur wenig Beachtung finden, und weil ihre Aufklärung voraussichtlich einige Beiträge über die Atmung der betreffenden Organzellen liefern würde.

Ergebnisse.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 1 zusammengefasst. Alle Angaben beziehen sich auf den oben beschriebenen Normalansatz und geben die Zahl der DoE in 1 Gramm des frischen Organs an. Die Werte, die durch Bestimmung des Ammoniaks gewonnen wurden, sind aus leicht ersichtlichen Gründen Minimalwerte. Leider ist die Zahl der untersuchten Tiere einer Species in den meisten Fällen zu klein, um exakt die Frage zu beantworten, innerhalb welcher Grenzen die Konzentration der Diamin-oxydase eines Organs unter bestimmten Umständen, wie Alter, Geschlecht, Ernährungszustand usw. schwankt. Wir haben deshalb in die Tabelle bloss die mittleren Werte eingesetzt. + bedeutet den sicheren Nachweis einer Enzymmenge kleiner als 0,1 DoE, 0 das sichere, oft gar nicht leicht beweisbare Nichtvorhandensein des Enzyms, ? fragliches, aber wahrscheinliches Vorkommen, H Hemmung (vgl. Methodik).

¹⁾ Biochem. J. **26**, 1365 (1932).

²⁾ IV, S. 842 und Fig. 4.

³⁾ II, S. 884.

⁴⁾ Über das Redoxpotential der Diamin-Diamin-oxydase-Reaktion vgl. III, S. 1661.

⁵⁾ VI, l. c.

Tabelle 1.

Konzentration der Diamin-oxydase in verschiedenen Warmblüter-Organen.

Species	Organ	DoE im g	DoE im ganz. Organ
Mensch, erwachsen . . .	Niere	Rinde	1,4
		Mark	1,8
	Leber		1,3
	Nebenniere		1,7
	Pancreas		0,6
	Placenta		> 0,5
	Blut		0,1 - 0,3
	Gehirn	Rinde	0,1
		Mark	0,2
		Stamm	0,2
	Lunge		+
Mensch, neugeborener . .	Niere	Rinde	0,1
		Mark	1,6
	Leber		> 0,2
	Nebenniere		> 0,3
	Gehirn		0
Rind, 4—6 Jahre alt . . .	Niere	Rinde	6
		Mark	0,5
	Leber		1,1
	Milch		?
Kalb, 5 Wochen alt . . .	Niere	Rinde	3,5
		Mark	0,8
	Leber		1
Schaf, erwachsen	Niere	Rinde	3,2
	Leber		1,4
Pferd, erwachsen	Niere	Rinde	5,2
		Mark	1,6
	Leber		1,2
	Schwein, erwachsen . . .	Niere	Rinde
Mark			2
Leber			0 - 2
Ratte, erwachsen	Niere		Spur
	Leber		1,1
	Darm		8
	Muskel		+
Meerschweinchen, erwachsen	Niere		1
	Leber		1
	Darm		0,5
Haustaub, erwachsen . . .	Niere		0,9
	Leber		2

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Konzentration der Diamin-oxydase in verschiedenen Warmblüter-Organen.

Species	Organ	DoE im g	DoE im ganz. Organ
Haustaube, erwachsen .	Darm	0,2	
	Muskel	0,3	
	Lunge	0,2	
	Milz	1,0	
Turmfalk (<i>Falco tinnunculus</i> L.), 30 Tage alt	Niere	0,8	
	Leber	0,9	
Turmfalk, 46 Tage alt .	Niere	0,9	
	Leber	0,8	
Ente, 4 Wochen alt . .	Niere	0	
	Leber	1,1	
Steinkauz (<i>Athenae noctua Scopoli</i>), juvenil .	Niere	0,4	
	Leber	1,5	
Seidenhuhn (<i>Gallus bankiva dom.</i>), 2 Mon. alt	Niere	?	
	Leber	0,2	
Elster (<i>Pica pica</i> L.), 1¾ Monate alt	Niere	+	
	Leber	1,4	
Star (<i>Sturnus vulgaris</i> L.), 7 Tage alt . . .	Leber	1,3	4,1
Star, 9 Tage alt. . . .	Niere	0,3	0,3
	Leber	1,3	4,5
Star, 10 Tage alt . . .	Niere	0,3	0,4
	Leber	2,3	5,2
	Darm	+	
	Pancreas	H	
	Muskel	H	
Star, 12 Tage alt . . .	Leber	1,1	3,8
Star, 14 Tage alt . . .	Leber	1,3	3,3
Star, 16 Tage alt . . .	Leber	1,4	5,3
Star, 18 Tage alt . . .	Leber	1,5	5,0
Star, 20 Tage alt . . .	Niere	+	
	Leber	0,7	1,8
Star, 32 Tage alt . . .	Niere	?	
	Leber	0,9	2,4
Star, 45 Tage alt . . .	Niere	0,25	0,2
	Leber	2,9	4,4
Star, 75 Tage alt . . .	Niere	0,1	0,1
	Leber	1,8	4,8

Zur Ergänzung der Tabelle 1, der bisher umfangreichsten Zusammenstellung über das Vorkommen der Diamin-oxydase, sollen auch die wichtigsten Untersuchungen über die Verteilung der „Histaminase“ im Tierreich soweit angeführt werden, als es sich um hier nicht angeführte Tiere und Organe handelt. Der Einfachheit halber seien die Resultate ebenfalls in Tabellenform wiedergegeben.

Tabelle 2.
„Histaminase“-Gehalt verschiedener Warmblüter-Organe.

Spezies	Organ	Gehalt	Literatur
Rind	Darm	+++	„Torantil“
	Nebenniere	—	4)
Schwein	Lunge	—	4)
Ratte	Lunge	—	4)
	Milz	—	4)
Meerschweinchen .	Lunge	—	4)
	Milz	—	4)
	Blut	+	6)
Kaninchen	Niere	Spur	3) 5)
	Leber	Spur	5)
	Blut	—	6)
Katze	Niere	+++	5)
	Leber	+	5)
	Blut	—	6)
Hund	Niere	+++	1) 3)
	Leber	— bis +	1) 4)
	Darm	+++	1)
	Lunge	+	1)
	Milz	+	1)
	Blut	+	1) 6)
	Muskel	+	1)
	Nebenniere	+	1)
	Herz	—	1)
	Haut	—	1)
	Magen	—	1)
	Blase	—	1)
	Urin	—	1)
Huhn	Niere	+	4)
	Leber	+	4)
	Darm	+	4)
	Lunge	—	4)
	Milz	—	4)
Küken	Niere	—	2)

1) C. H. Best und E. W. McHenry, J. Physiol. **70**, 349 (1930).

2) E. W. McHenry und G. Gavin, l. c.

3) G. V. Anrep, G. S. Barsoum und M. Talaat, J. Physiol. **86**, P. 55 (1936).

4) S. Edlbacher und A. Zeller, Helv. **20**, 717 (1937) II, S. 880, Anmerkung.

5) P. Holtz, R. Heise und W. Spreyer, Arch. exptl. Path. Pharm. **188**, 580 (1938).

6) J. Marcou, XVI. Int. Physiol.-Kongress Zürich 1938, Kongressbericht II, S. 383.

Die Übereinstimmung zwischen den Resultaten der verschiedenen Autoren¹⁾ ist recht gross. Nur bei solchen Organen, die eine sehr geringe Aktivität besitzen, bestehen kleine Unterschiede. Auch wir finden in den Organen, die schon früher geprüft worden waren, praktisch die gleichen Werte wie die anderen Untersucher. Da diese ausschliesslich Histamin als Substrat und biologische Verfahren angewandt hatten, während wir Cadaverin und chemische und physikalische Methoden benützten, wäre diese durchgehende Parallelität zwischen „Histaminase“ und „Diamin-oxydase“ ein Beweis mehr dafür, wenn ein solcher noch nötig wäre²⁾, dass die beiden Enzyme miteinander identisch sind.

Besprechung der Ergebnisse.

Wir wollen an dieser Stelle kurz die fermentchemisch interessierenden Resultate besprechen, während die rein biologischen und klinischen Gesichtspunkte nur angedeutet und an anderer Stelle ausführlicher dargestellt werden sollen³⁾.

Niere.

Die Niere der meisten untersuchten Säuger enthält beträchtliche Mengen an Diamin-oxydase. Eine Ausnahme bilden die Nagetiere, die nur eine geringe oder gar keine Aktivität aufweisen. Unter ihnen unterscheidet sich die Niere der weissen Ratte wiederum von der des Meerschweinchens und des Kaninchens darin, dass sie nicht, oder höchstens spurenweise, wie diese und alle andern Säugernieren, Monoamine oxydativ desaminiert⁴⁾. Die weisse Ratte besitzt demnach einen völlig abweichenden Basenstoffwechsel.

Immer dort, wo die Rinde und das Mark getrennt voneinander geprüft wurden, war die erstere um das Mehrfache enzymreicher als die letztere, was auch für andere untersuchte Fermente gilt. Die Stoffwechsellleistungen der Niere konzentrieren sich also auf die Rinde. Eine deutliche Ausnahme bildet das Organ des Menschen, in dem ungefähr die gleiche Aktivität in der Rinde wie im Mark herrscht, und besonders des neugeborenen Menschen, in dessen Mark die Enzymkonzentration um das Vielfache grösser ist als in der Rinde. Bei dieser liegt die Konzentration knapp über der exakt nachweisbaren minimalen Grösse. Aber nicht nur die Diamin-oxydase, sondern auch die (Mono-) Amin-oxydase ist in der Menschenniere in anderer Weise verteilt als bei den Säugetieren: Während sonst dieses

1) Weitere Angaben: *E. Gebauer-Fuelnegg* und *H. L. Alt*, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **29**, 531 (1932).

2) II, S. 881; III, S. 1650. *E. A. Zeller*, Habil.-schrift Basel 1938, S. 25—32.

3) *E. A. Zeller*, Zusammenfassende Darstellung über die Diamin-oxydase (in Vorbereitung).

4) *Holtz*, c. s., l. c., *H. Blaschko*, *D. Richter* und *H. Schlossmann*, Biochem. J. **31**, 2187 (1937).

Enzym besonders reichlich in der Rinde vorkommt und nur in viel kleinerer Menge im Mark, ist es beim Menschen in der Rinde und im Mark ungefähr gleich stark vertreten, beim Neugeborenen sogar im Mark noch stärker als in der Rinde¹⁾. Das Nierenmark des Menschen besitzt also eine sehr viel grössere Bedeutung für den Basenstoffwechsel als sonst bei den Säugetieren.

Bei den Vögeln ist die Enzymkonzentration in der Niere durchwegs kleiner als bei den Säugern, und ihre Grösse ändert sich von Gattung zu Gattung, ohne dass bis jetzt eine Gesetzmässigkeit zu erkennen gewesen wäre.

Da die Nieren nur kleine Organe sind und beim Menschen beispielsweise nur etwa $\frac{1}{200}$ des Körpergewichts ausmachen, so könnte man leicht ihre Wichtigkeit für den Stoffwechsel gering schätzen. Wenn man aber bedenkt, dass (beim Menschen) $\frac{1}{13}$ des in die Aorta gepumpten Blutes durch die Nieren strömt, dann erhalten die aufgezählten Tatsachen erst ihre richtige Würdigung.

Leber.

Bei den Säugern liegen die Werte zwischen 0 und 2 DoE. Hier fallen die Nagetiere nicht aus der Reihe. Die Zahlen sind regelmässig kleiner als die entsprechenden der Niere, ausgenommen natürlich die Nager (wegen deren geringen Aktivität in der Niere). Bei den Vögeln sind die Verhältnisse gerade umgekehrt. Die Konzentration in der Leber ist durchschnittlich höher als beim Säuger und immer höher als in der Vogelniere. Die einzige bisher bekannte Ausnahme macht der Turmfalk, bei dem in Niere und Leber fast gleich viel Enzym pro g vorhanden ist.

Diese Variationen in bezug auf Enzymkonzentration in Nierenmark und -rinde, in Leber und Darm (vgl. das Nachfolgende) bei den verschiedenen Tiergruppen und Entwicklungsstadien haben nicht nur quantitative, sondern auch qualitative Bedeutung. Es ist für ein Ferment mit dem zugehörigen Substrat nicht gleichgültig, in welchem Enzymmilieu es sich befindet. In der Leber kommen andere Fermente oder die gleichen in anderer Konzentration als beispielsweise in der Darmschleimhaut vor, was für die weitere enzymatische Umwandlung der Reaktionsprodukte von grösster Bedeutung ist²⁾. So könnte also Histamin in beiden Organen ein gänzlich verschiedenes Schicksal erleiden, obwohl es an beiden Stellen primär mit der Diamin-oxydase reagiert.

Darmschleimhaut.

Es konnte bisher in der Darmschleimhaut aller Warmblüter die Diamin-oxydase nachgewiesen werden, mit Ausnahme vielleicht in

¹⁾ VI, l. c.

²⁾ VI, l. c.

derjenigen des Stares, wo die Konzentration gerade an der Grenze des Nachweisbaren lag. In Kenntnis dieser Tatsachen wurde schon früher der Schluss gezogen¹⁾, dass die Diamin-oxydase an diesem Ort eine besondere Funktion ausübe, nämlich den Schutz des Organismus vor einer Überschwemmung mit den immer in grösserer oder kleinerer Menge im Darmlumen sich bildenden Diaminen (Putrescin, Cadaverin, Histamin). Mit dieser Ansicht stimmt der Befund von *D. Ackermann* c. s.²⁾ überein, dass die Säugerleber wohl beträchtliche Mengen an Histamin, aber kein Putrescin und Cadaverin enthält. Die Herkunft des Histamins in der Leber wird dadurch erklärt, dass der Organismus ein eigenes Ferment, die Histidin-carboxylase³⁾, besitzt, das Histidin in Histamin zu überführen vermag, und das mit der Diamin-oxydase die Eigenschaft gemeinsam hat, von Carbylreagentien schon bei ausserordentlich kleinen Konzentrationen gehemmt zu werden⁴⁾.

Zwischen Ratte und Meerschweinchen besteht ein grosser Unterschied in bezug auf Diamin-oxydase-Konzentration. Dieser ist wahrscheinlich dafür verantwortlich zu machen, dass die betreffenden Organe sich so verschieden gegen Histamin verhalten: Während der Meerschweinchendarm eines der empfindlichen Indikatoren für Histamin ist und Bruchteile von Gamma anzeigt, reagiert der Rattendarm erst auf die tausendfache Menge. Die Diamin-oxydase des Rattendarmes wäre also imstande, kleinere Histaminmengen zu binden und eventuell abzubauen, bevor sie eine Kontraktion ausgelöst hätten.

Andere Organe.

In der menschlichen Nebenniere wurde regelmässig ordentlich viel Diamin-oxydase gefunden, was deshalb interessiert, weil dieses Organ ein Hauptsubstrat der (Mono-)Amin-oxydase, das Adrenalin, produziert, und weil es von grossem Einfluss auf die Histamin-⁵⁾ und Schock-Empfindlichkeit⁶⁾ ist. Auch im Menschenpancreas ist die Enzymkonzentration recht hoch und steht vielleicht in Zusammenhang mit dessen hohen Spermingehalt. Die „Histaminase“ des Blutes wurde von *Marcou* und Mitarbeitern⁷⁾ und von *G. Albus*⁸⁾ in verschiedener Hinsicht untersucht. Wir fanden auch bei gesunden

1) *E. A. Zeller* und *B. Schür*, Schweiz. med. Wschr. **68**, 1318 (1938). — Kürzlich schrieben *K. Bhagvat*, *H. Blaschko* und *D. Richter*, Biochem. J. **33**, 1338 (1939), der Amin-oxydase des Darmes eine ähnliche Schutzfunktion zu und verglichen sie mit der der Diamin-oxydase. ²⁾ l. c.

3) *E. Wehrle* und *K. Heitzer*, Biochem. Z. **299**, 420 (1938); *P. Holz* und *R. Heise*, Arch. exptl. Path. Pharm. **186**, 377, 386 (1937).

4) *E. Wehrle* und *K. Heitzer*, l. c.

5) Zusammenfassung bei *A. Küpper*, Ergeb. Physiol. **30**, 153 (1930).

6) *W. Feldberg* und *E. Schülf*, Histamin. Berlin 1930.

7) *J. Marcou*, XVI. Int. Physiol.-Kongr. Zürich 1938, Kongressbericht II, S. 383, *J. Marcou*, c. s., Presse Médicale **20**, 371 (1938).

8) *G. Albus*, l. c.

Menschen ziemlich grosse Unterschiede, aber stets eine sicher messbare Menge. Der reichliche Enzymgehalt der Menschenplacenta¹⁾ und dessen Schwankungen stehen in keiner erkennbaren Beziehung zum Geburtsverlauf²⁾, wohl aber wahrscheinlich mit der starken Zunahme der histaminabbauenden Wirkung des Blutes unmittelbar vor der Geburt³⁾. Trotzdem sich im Gehirn des Menschen nur eine kleine Enzymkonzentration nachweisen liess, die im Mark stets etwas grösser war als in der Rinde, spielt das Organ wegen seiner Grösse, in gleicher Weise wie das Blut und die Placenta, sicher eine nicht unwesentliche Rolle im Diamin- und Histaminstoffwechsel.

Das gleiche gilt für die Brustmuskulatur der Taube. Es sei hier darauf hingewiesen, dass bei jeder Muskelkontraktion Histamin entstehen⁴⁾, und dass bei Curarevergiftung eine mächtige Ausschwemmung von Histamin aus der Muskulatur in die Blutbahn erfolgen soll⁵⁾. Sogar die Lunge, die bei einigen Tieren als Histaminspeicher dient, ist nicht gänzlich frei von dem Ferment. Die Diamin-oxydase der Milz entstammt zum Teil dem in ihr enthaltenen Blut.

Ausgangsmaterial.

Die beste und enzymreichste Quelle für die Darstellung der Diamin-oxydase bleibt immer noch die Schweinenierenrinde, für Versuche mit Leberpräparaten die Taubenleber, die man ebenfalls durch das Behandeln mit Aceton in eine haltbare Form bringen kann.

Vergleichende Physiologie.

In Tabelle 3 sind die wesentlichen Resultate dargestellt.

Tabelle 3.

	Niere		Leber
	Mark	Rinde	
Vögel	0 bis +		++
Nager	0 bis +		+
Säuger (ohne Nager).	+	+++	+
Mensch	++	++	+

Ontogenese.

Bei Mensch und Rind nimmt nach den bisherigen Erfahrungen das Verhältnis der Diamin-oxydase-Konzentration der Nierenrinde zu der des Nierenmarks zu. Das Mark des jungen Tieres enthält relativ zur Rinde und absolut mehr Ferment als das des erwachsenen.

¹⁾ IV, S. 847.

²⁾ D. N. Danforth, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **40**, 319 (1939).

³⁾ J. Marcou, c. s., l. c.

⁴⁾ G. V. Anrep, G. S. Barsoum und M. Talaat, J. Physiol. **86**, 431 (1936).

⁵⁾ M. Alam, G. V. Anrep, G. S. Barsoum, M. Talaat und E. Wieninger, J. Physiol. **95**, 148 (1939).

Im Zusammenhang mit der von *A. Portmann* und Mitarbeitern¹⁾ durchgeführten vergleichenden Untersuchung der Entwicklung von Nesthocker und Nestflüchter studierten wir die Diamin-oxydase verschieden alter Stare, und zwar deren Leber, Niere und Darm. Die Arbeiten sollen wennmöglich auf weitere typische Nesthocker und auf Nestflüchter ausgedehnt werden, um zu sehen, ob sich auf physiologisch-chemischem Gebiet ähnliche Gegensatzpaare finden lassen wie sie *A. Portmann* auf morphologischem Gebiet für die Entwicklung von Nesthocker und Nestflüchter festgestellt hatte.

Bei der Durchführung der Versuche zeigte es sich, dass hauptsächlich in der Leber und wahrscheinlich auch in der Niere sich die Zahl der DoE pro g und pro Gesamtorgan während des Wachstums ändert. Es ist aber nötig, für jede Altersstufe 6 bis 8 Tiere zu untersuchen, um die Grenzen festzustellen, innerhalb derer die Enzymkonzentration schwankt. Diese Forderung konnten wir bisher nur annähernd erfüllen, weil die diesjährige Zuchtausbeute abnorm gering war. Trotzdem lässt sich von der Starenleber schon jetzt aussagen, dass die gesamte Menge der Diamin-oxydase zwischen 20. und 32. Tag deutlich unter den ziemlich konstant gehaltenen Wert von 3,5 bis 5 DoE sinkt.

Zusammenfassung.

1. Es wird ein Verfahren angegeben, um in frischen Organen die Diamin-oxydase quantitativ zu erfassen.

2. Als Einheit der Diamin-oxydase wird diejenige Anfangsgeschwindigkeit bestimmt, bei der 10^{-6} Mol Cadaverin pro Stunde oxydiert werden, bei vollständiger Sättigung des Ferments durch das Substrat.

3. Der Diamin-oxydase-Gehalt von Niere, Leber und zum Teil noch anderer Organe einer Reihe von Warmblütern wird in DoE angegeben.

4. Im Anschluss an diese und in der Literatur vorhandenen Angaben werden die Funktion und die Topographie der Diamin-oxydase und einige entwicklungs- und vergleichend-physiologische Probleme diskutiert.

Anhang: Über das Vorkommen der Diamin-oxydase beim Vogel.

Bei dieser Arbeit wurde aus der gleichen oben angedeuteten Problemstellung heraus die Cholin-esterase des Gehirns und in einigen Fällen der Leber verschiedener Vögel untersucht.

¹⁾ *A. Portmann*, Rev. Suisse de Zool. **45**, 273—348 (1938).

Methodik.

Die Organe wurden mit der sechsfachen Menge Bicarbonat-Ringer in der Reibschale mit Sand verrieben und von der nach dem Zentrifugieren überstehenden Lösung 0,5 cm³ verwendet. Die Bestimmung der Cholin-esterase geschah nach *R. Ammon*¹⁾: Jede aus Acetylcholin entstehende Molekel Essigsäure setzt aus der Bicarbonatlösung 1 Molekel CO₂ frei, was manometrisch im *Warburg*-Apparat gemessen wird. Es wurden regelmässig Kontrollen mit Physostigmin, das das Ferment praktisch vollständig hemmte, angesetzt. Das gesamte Volumen der Flüssigkeit betrug 2 cm³, die Acetylcholinmenge 2,5 bis 4 mgr pro Ansatz. Temperatur 38°.

Resultate.

Die Resultate sind in Tabelle 4 dargestellt. Die Zahlen bedeuten, wieviel mm³ CO₂ nach 30 Minuten in Freiheit gesetzt werden, und stammen meistens aus zwei Parallelversuchen, die um 1 bis 10 % miteinander differieren. Die Leerwerte werden einfach subtrahiert und betragen in der Regel weniger als ± 10 %. Eine wesentliche Eigenhydrolyse des Acetylcholins konnten wir innert 30 Minuten nicht feststellen.

Tabelle 4.
Cholin-esterase im Gehirn und in der Leber verschiedener Vögel.

	Gehirn		Leber	Stamm
	Stamm	Hemisph.		Hemisph. · 100
Goldfasan, 16 Tage alt.	362	290		123
Seidenhuhn, 2 Monate alt	240	223		107
Ente, 4 Wochen alt . .	93	101		92
Steinkauz, juvenil . . .	153	166		92
Turmfalk, 30 Tage alt .	255	375		70
Turmfalk, 46 Tage alt .	259	330		78
Elster, 1¼ Monate alt .	251	297		84
Star, 12 Tage alt . . .	246	278		81
Star, 14 Tage alt . . .	247	305		80
Star, 20 Tage alt . . .	213	249		85
Star, 9 Tage alt. . . .			83	
Star, 9—10 Tage alt. .			78	
Star, 10 Tage alt . . .			52	
Star, 16 Tage alt . . .			64	
Mensch, ♂ 40 Jahre alt	25 (Thalamus)	12,5 (Rinde)		200
Rind	55 (Thalamus)			

¹⁾ *R. Ammon*, Pflüger's Arch. 233, 486 (1934).

Es soll hier nur darauf hingewiesen werden, dass das Vogelgehirn ausserordentlich reich an Cholin-esterase ist, wie aus dem Vergleich mit dem Gehirn von Mensch und Rind hervorgeht, und dass ein grosser Unterschied der Verhältnisse von Stamm-Esterase zu Hemisphären-Esterase zwischen Mensch und Vogel besteht.

Wir danken Frau Dr. med. *R. Stern* und Frl. *L. Huber* für wertvolle Mithilfe bei der Durchführung der Versuche.

Physiologisch-chemisches Institut, Laboratorium der med.
Klinik und zoologische Anstalt der Universität Basel.

170. Über die Bestimmung kleinster Eisengehalte in Aluminium mittels der photoelektrischen Feinkolorimetrie¹⁾

von *M. Kofler* und *H. v. Halban*.

(14. X. 39.)

Bei der spektralanalytischen Bestimmung von Eisen und Silicium stiessen wir auf die Notwendigkeit, zunächst Elektroden von genau bekanntem Gehalt zu verwenden. Für Eisen konnte die Bestimmung des Gehaltes befriedigend durchgeführt werden, wie unten gezeigt wird. Die Versuche mit Silicium sind noch im Gang. Es gelang spektralanalytisch²⁾, diese beiden Elemente bei Gehalten

¹⁾ Diese Veröffentlichung bildet einen Auszug aus einem Teil der im Februar 1938 eingereichten Dissertation des Erstgenannten. Es war beabsichtigt, die Ergebnisse erst zu veröffentlichen, wenn auch die entsprechenden Resultate der Bestimmung von Silicium mitgeteilt werden konnten. Bei der Bestimmung kleiner Silicium-Gehalte haben sich jedoch grosse Schwierigkeiten ergeben, deren Überwindung voraussichtlich noch längere Zeit in Anspruch nehmen dürfte.

Inzwischen ist eine Arbeit von *R. Bauer* und *J. Eisen*³⁾ erschienen, in der über die photoelektrische Bestimmung von Eisen in Aluminium und Aluminiumlegierungen mit Sulfosalicylsäure berichtet wird. Es handelt sich dort um Eisengehalte der Grössenordnung 0,5%; ferner eine Veröffentlichung von *P. Urech*⁴⁾ über die kolorimetrische Bestimmung von Eisen in Aluminium mit Sulfosalicylsäure und Kaliumrhodanid (zum Teil unter Verwendung eines *Pulfrich*'schen Photometers).

Als „Feinkolorimetrie“ wird der spektrophotometrische Vergleich zweier Lösungen bezeichnet, bei denen durch entsprechende Wahl von Konzentration und Schichtdicke die Extinktionen sich nur sehr wenig unterscheiden. Vgl. *H. v. Halban* und *L. Ebert*⁵⁾, *G. Kortüm* und *H. v. Halban*⁶⁾ sowie *G. Kortüm*⁷⁾.

²⁾ Wir verzichten darauf, den spektralanalytischen Teil der Dissertation zu veröffentlichen, da inzwischen von verschiedenen Seiten über ähnliche Untersuchungen berichtet wurde.

³⁾ *Bauer, R.* und *Eisen, J.*, *Z. angew. Ch.* **52**, 459 (1939).

⁴⁾ *Urech, P.*, *Helv.* **22**, 322 (1939).

⁵⁾ *Halban, H. v.* und *Ebert, L.*, *Z. physikal. Ch. [A]* **112**, 359 (1924).

⁶⁾ *Kortüm, G.* und *Halban, H. v.*, *Z. physikal. Ch. [A]* **170**, 212 (1934).

⁷⁾ *Kortüm, G.*, *Z. angew. Ch.* **50**, 193 (1937).