

Zur Naphtholreaktion der roten Blutkörperchen.

Von

Dr. W. Loele,

Dresden, Landesstelle für öffentliche Gesundheitspflege.

(Eingegangen am 3. Februar 1924.)

Untersuchungen von roten Blutkörperchen, die mit Naphthol und Wasserstoffsuperoxyd behandelt wurden, haben einige Befunde ergeben, die nach verschiedenen Richtungen hin der Mitteilung wert erscheinen. Gibt man zu, in physiologischer Kochsalzlösung¹⁾ oder in isotonischer Traubenzuckerlösung in einem Verhältnis von 1 : 100 aufgeschwemmten, gewaschenen Hammelblutkörperchen die gleiche Menge einer isotonischen (Kochsalz- oder Traubenzucker-) Naphthollösung und verschiedene Mengen Wasserstoffsuperoxyd und untersucht die roten Blutkörperchen, nachdem sie sich schwärzlich gefärbt haben, so findet man, daß alle roten Blutkörperchen in destilliertem Wasser unlöslich geworden sind, daß aber nur diejenigen roten Blutkörperchen von Säuren und Laugen nicht mehr angegriffen werden, die bei größeren Mengen Wasserstoffsuperoxyd eine Farbreaktion geben, d. h. mit Naphtholfarbstoff gesättigt sind, daß die roten Blutkörperchen bei geringem Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd sich gegen Säuren und Laugen aber eigenartig verhalten. Nimmt man 10 ccm der Blut-Naphthollösung, dann findet bei Zusatz von 1,0 ccm einer 1 proz. Wasserstoffsuperoxydlösung vollkommene Härtung statt, während bei 0,15 ccm Wasserstoffsuperoxyd die roten Blutkörperchen säure- und alkaliempfindlich bleiben. In den folgenden Versuchen wurde zu 1,0 ccm der Naphthol-Blutlösung (mit 0,15 H₂O₂-Zusatz) 1,0 ccm Säure und entweder 1 ccm einer 1 proz. Pepsinlösung (in destilliertem Wasser gelöst) oder 1 ccm destilliertes Wasser hinzugefügt. Das Ergebnis geht aus der beifolgenden Tabelle hervor.

¹⁾ Noch schärfer sind die Unterschiede in einer isotonischen Lösung von CaCl₂, wenn man die Säurewirkung zeigen will.

Tabelle I.

	Normal	$1/_{\text{s}}$ n.	$1/_{\text{10}}$ n.	$1/_{\text{20}}$ n.	$1/_{\text{200}}$ n.	$1/_{\text{2000}}$ n.	$1/_{\text{20000}}$ n.
A. Isotonische Kochsalzlösung.							
Salpetersäure	{ ohne Pepsin .	+	+	-	-	-	+
	{ mit Pepsin (1%) .	+	+	-	-	+	+
Schwefelsäure	{ ohne Pepsin .	+	-	-	-	-	+
	{ mit Pepsin .	+	-	-	-	+	+
Salzsäure	{ ohne Pepsin .	+	-	+	-	-	+
	{ mit Pepsin .	-	+	-	-	+	+
Oxalsäure	{ ohne Pepsin .	-	-	-	-	-	+
	{ mit Pepsin .	-	-	--	+	+	+
Essigsäure	{ ohne Pepsin .	-	-	-	-	+	+
	{ mit Pepsin .	+	+	+	+	+	+
B. Isotonische Traubenzuckerlösung.							
Salpetersäure	{ ohne Pepsin .	+	+	-	-	-	+
	{ mit Pepsin .	+	+	-	-	+	+
Schwefelsäure	{ ohne Pepsin .	+	+	-	-	-	+
	{ mit Pepsin .	+	+	-	-	+	+
Salzsäure	{ ohne Pepsin .	+	-	-	-	-	+
	{ mit Pepsin .	+	-	-	-	+	+
Oxalsäure	{ ohne Pepsin .	-	-	-	-	-	+
	{ mit Pepsin .	-	-	-	+	+	+
Essigsäure	{ ohne Pepsin .	-	-	-	-	+	+
	{ mit Pepsin .	+	+	+	+	+	+

Zeichenerklärung: + = nicht gelöst; \mp = teilweise gelöst; - = gelöst.

Demnach hemmen Säuren etwa entsprechend ihrem Dissoziationsgrad, lösen von einer bestimmten Verdünnung ab bis zu einer bestimmten Verdünnung, von der ab wieder Hemmung erfolgt.

Ebenso spielt die H-Ionenkonzentration bei der Pepsinauflösung eine Rolle. Die schwächste Säure wird am stärksten gehemmt, während Pepsin noch imstande ist, stärkere Säuren, die an sich nicht lösen, wirksam zu machen. Daß die stärkere Mineralsäure nicht durch eine nicht umkehrbare Veränderung der Oberfläche die roten Blutkörperchen unlöslich macht, geht daraus hervor, daß nach entsprechender Verdünnung Hämolyse eintrat. Kochsalz hemmt und verhindert in stärkerer Konzentration die Säurewirkung. Eiweißlösungen hemmten nicht so stark wie Pepsin.

Verhalten der roten Blutkörperchen gegen OH-Ionen und Trypsin.

Setzt man zu den säurelöslichen, aber gegen destilliertes Wasser unempfindlichen Naphtholblutkörperchen Laugen oder Alkalisalze, so werden die roten Blutkörperchen auch hier entsprechend der Stärke der OH-Konzentration gelöst. Die außerordentliche Empfindlichkeit gegen OH-Ionen ist um so auffälliger, als die roten Blutkörperchen

ohne Naphtholbehandlung in isotonischer Kochsalzlösung verhältnismäßig alkalifest sind.

Setzt man gleichzeitig Gläschen an, die enthalten

1. gewaschene Hammelblutkörperchen + 1 proz. Trypsinlösung,
2. gewaschene Hammelblutlösungen (in phys. Kochsalzlösung + Trypsin + Naphthollösung [ohne H_2O_2]),
3. gewaschene Hammelblutkörperchen + Naphthollösung (0,85% Kochsalz),

so bleiben in Röhrchen 1 und Röhrchen 3 die Blutkörperchen noch unverändert zu einer Zeit, wo sie in Röhrchen 2 vollkommen gelöst sind. Das Naphthol ist demnach imstande, das Trypsin wirksam zu machen. Allerdings zerfallen auch in der Naphthollösung nach längerem Stehen die roten Blutkörperchen körnig oder lösen sich.

Die Erklärung für diese Versuche ist sehr schwierig. Vielleicht liegt die Lösung des merkwürdigen Verhaltens der roten Blutzellen in ihrer Entstehung. Die roten Blutkörperchen entstehen nach *Nägeli* ausschließlich durch einen Kernlösungsprozeß, d. h. da der Kern trypsinfeste Bestandteile (Kernkörperchen) und trypsinlösliche Bestandteile enthält (Chromatin), durch einen komplizierten Lösungsprozeß peptisch-tryptischer Natur. Selbst wenn die lytischen Fermente in der Zelle nicht frei auftreten, sondern durch das quantitativ geregelte Zusammenwirken verschiedener Stoffe und Gruppen der Lösungsprozeß bewirkt wird, ist es nicht unwahrscheinlich, daß in der Masse des roten Blutkörperchens einzelne Gruppen vorhanden sind, die in ihrem Zusammenwirken mit Naphthol oder Naphtholfarbstoff mit oder ohne Ferment bei Gegenwart von Säuren und Alkalien Lösungerscheinungen hervorrufen, trotzdem die Blutkörperchen scheinbar gehärtet sind. Stellt man die Verdauungs- und oxydierenden Fermente, nach ihrem Basizitätsgrade geordnet, untereinander, so ergibt sich aus den Schriften von *Bechhold*, *Fodor*, *Iscovesco*, *Willstätter* u. a. die folgende Reihe:

basisch Tryptase: ampholytisches Protein (*Fodor*), Trypsin von den Pankreasfermenten am stärksten basisch (*Willstätter*);

Katalase: (*Iscovesco*);

Phenoloxydase: (für das Vorhandensein basischer Gruppen spricht die Phenolreaktion);

Diastase: nach *Willstätter* steht die Pankreasdiastase zwischen Trypsin und Lipase;

Lipase: nach *Willstätter* von den Pankreasfermenten am stärksten sauer;

Peroxydase: der Benzidinreaktion nach saurer wie die Oxydase;

sauer Pepsin: Säurecharakter, nicht umkehrbares Ferment mit Anoden-Wanderung (*Bechhold*).

In den roten Blutkörperchen sind Katalase und Peroxydase nachweisbar, ausgeschlossen ist es also von vornherein nicht, daß noch einzelne wirksame Gruppen des peptischen und tryptischen Systems vorhanden sind, deren Natur vorläufig noch unbekannt ist.

Aus den Versuchen geht hervor, daß ein eiweißlösendes Ferment in seiner Wirkung unmittelbar und mittelbar von einem oxydierenden Ferment abhängig sein kann, daß demnach die Bildung von undurchlässigen Membranen und deren Wiederlösung außer von anderen Ursachen abhängig ist auch von den Mengenverhältnissen der im Zwischenstoffwechsel auftretenden oxydierenden und lytischen Fermente.

Es wird verständlich, daß selbst konzentrierte Säuren und Laugen vom Protoplasma durch Membranen abgetrennt werden können, von Membranen, die sich unter Umständen ebenso schnell lösen wie sie sich bilden. Für den Mechanismus der Salzsäureausscheidung im Magen sind diese Feststellungen von einem gewissen Interesse, ebenso für die Bildung und Veränderung der „Nahrungsvakuolen“ bei Infusorien.

Lösungen von verschiedenen Phenolen beeinflussen gewaschene Hammelblutkörperchen in verschiedener Weise, bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd ist es aber gleichgültig, welches Phenol vorhanden ist; die Blutkörperchen werden stets unlöslich in destilliertem Wasser. Es ist demnach für die Vorgänge in der Zelle nicht gleichgültig, ob aktiver Sauerstoff gleichzeitig mit Phenolen vorhanden ist, d. h. Lösung oder Bildung einer Membran hängt unter Umständen von der Anwesenheit einer Peroxydase ab.