

(Staatliche Landesstelle für öffentliche Gesundheitspflege, Dresden.)

Über einige Beziehungen oxydierender Substanzen.

Von

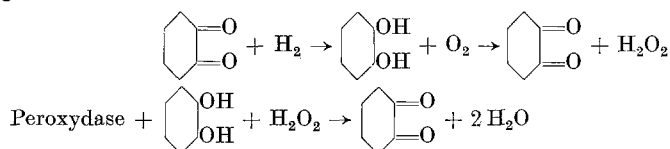
Dr. W. Loele.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. Februar 1927.)

In dem engen Raume der Zelle ist es unvermeidbar, daß verschiedene wirksame Stoffe, wenn sie gleichzeitig nebeneinander auftreten, gemeinschaftlich ausgefällt oder an eine Oberfläche adsorbiert werden. Bei ungestörtem Stoffwechsel sind unter sonst gleichen Bedingungen die ausgefällten Strukturen gleich, wenn aber Stoffwechselstörungen vorliegen, dann sind unter Umständen Veränderungen in der Zusammensetzung auch nachweisbar. Es ist klar, daß derartige krankhafte Mischungen nur in der Zelle selbst festzustellen sind, da in Gewebsauszügen unübersehbare Veränderungen eintreten. Es ist daher zunächst einmal wünschenswert nachzuweisen, wie unter normalen Verhältnissen verschiedene wichtige und wirksame Stoffe miteinander verbunden sind. Besonders wichtig ist die Verbindung von lytischem Ferment, Oxydase und Pigment.

Nach der Theorie von *Loew*¹⁾ ist es unwahrscheinlich, daß Katalase mit organischen Peroxyden reagiert, was dafür spricht, daß, wenn die Katalase in den Zellen Zweck haben soll, H_2O_2 als Peroxyd auftreten muß. Nach *Benecke* und *Jost*²⁾ gelten für die pflanzliche Atmung folgende Formeln:



Es ist nicht unwahrscheinlich, daß auch in tierischen Zellen die Atmung wenigstens teilweise ähnlich verläuft (gestufte Dehydrierung *Wielands*). Da phenolartige Verbindungen, Chromogene und Farbstoffe beim Auf- und Abbau mancher Zellstrukturen ebenfalls eine

¹⁾ Zentralbl. f. Bakteriöl., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. 2, Ref. 60, 299.

²⁾ Pflanzenphysiologie I, S. 366. Jena: Fischer.

Rolle spielen, bestehen zunächst theoretisch gesetzmäßige Beziehungen zwischen Chromogen, oxydierendem Ferment und solchen Stoffen, die den Auf- und Abbau der Zelle beeinflussen.

Es ist nun in der Tat möglich, bei gewissen Substanzen nicht nur nachzuweisen, daß diese Verbindung (Chromogen-Oxydase-Zymogen) besteht. Man hat es sogar in der Hand, die einzelnen Teile unter ganz bestimmten Versuchsbedingungen, die auch in der lebenden Zelle möglich sind, erst durch Spaltung des Sammelkomplexes zu erzeugen.

Es sind dies die großen Granula der Eiweißzellen bei unseren einheimischen Nacktschnecken *Arion* und *Limax*. In dem vorjährigen feuchten Sommer war es möglich, eine größere Anzahl dieser Schnecken zu untersuchen und frühere Untersuchungen teils zu bestätigen, teils wesentlich zu ergänzen, so daß die Bedingungen, unter denen aus an sich nicht färbbaren, anscheinend indifferenten Stoffen wichtige Verbindungen entstehen, einigermaßen geklärt sind.

Arion kommt bei uns besonders in 2 Arten vor, am häufigsten wohl als *Arion ater*, die schwarzglänzende und als *Arion rufus*, die rotbraune Wegschnecke. Die Farbe der Schnecke ist an die Bodenbeschaffenheit gebunden; in derselben Gegend kommt immer nur eine Art vor. Im einzelnen schwanken die Farben zwischen hell und dunkel, was ebenfalls von dem Fundort der Schnecke abhängt. Im Gegensatz zu der allbekannten Wegschnecke ist die gleich große seltenere *Limax* (Egelschnecke) auf dem Rücken gekielt und hat ihr Atemloch im hinteren Drittel des Mantels; auch bei dieser Schnecke schwanken die Farben erheblich. So sind sie z. B. im Tharandter Wald bei Dresden fast schwarz, im Hubertusburger Forst bei Oschatz fast weiß mit einem Stich ins Grünliche. Die rote Farbe von *Arion rufus* ist bekanntlich nicht, wie die schwarze Farbe von *A. ater*, durch Pigmentzellen bedingt, sondern ist die Folge davon, daß ein mehr oder weniger großer Teil der Schleimzellen einen orangeroten Schleim enthält. Es sind nun die Schnecken am besten zu Versuchen zu verwenden, die möglichst blaß aussehen. *Arion ater* enthält meist die geringste Anzahl von Eiweißzellen. Betrachtet man die Granula als Schutzstoffe, die aufgespeichert sind, so bestehen insofern Beziehungen zwischen Pigment und Schutzsubstanzen, als mit Zunahme des Farbstoffes die gespeicherte Schutzsubstanz abnimmt, eine Erfahrung, die man bei Mollusken häufig macht. Im Gewebe der Schnecke sind die Granula, wenn man abblendet, bei schwacher Vergrößerung leicht zu erkennen als große, etwas lichtbrechende, wie kalkig aussehende Körner. Es lassen sich folgende Eigenschaften der Granula durch den Versuch feststellen.

Granula und Pigment.

Behandelt man Gefrierschnitte von *Arion rufus* nach Formolhärtung mit verschieden starken Lösungen einer Lauge, so findet man, daß eine Gelb- bis Braunfärbung der Granula um so eher eintritt, je konzentrierter die Lauge ist und je länger zunächst die Formolfixation dauerte. In einer starken Lauge tritt zum Teil eine Verschleimung der Granula ein und der sich gleichzeitig mit dem Schleim bildende braune Farbstoff diffundiert in das benachbarte Gewebe. Kalilauge

in einer Verdünnung von 1 : 100 rief nur eine langsam eintretende Gelbfärbung hervor, bei einer Verdünnung von 1 : 1000 trat diese nur in einzelnen Zellen dicht unter der Oberfläche auf, während alle anderen Granula unbeeinflusst blieben. Sowohl die unbehandelten wie die nach Einwirkung von Alkali braun gefärbten Körner sind außerordentlich empfindlich gegen stärker dissoziierende*) Säuren, die sie sofort in Lösung bringen.

Es ist dies ein Beweis dafür, daß der in den Pigmentzellen vorhandene Farbstoff nicht einfach durch Einwirkung von OH-Ionen auf derartige Granula entstanden sein kann, da die schwärzlichen Schneckenpigmente nicht säurelöslich sind. Weiter ist das Verhalten gegen Säuren ein Beweis dafür, daß die Bindung des Farbstoffes an die Granula, die Oxydase enthalten, nicht so vor sich geht wie in den meisten Oxydasegranula, die, obwohl sie in Säuren leichtlöslich sind, dann unlöslich werden, wenn sie den durch Oxydation eines Phenoles entstandenen Farbstoff gebunden haben.

Als Beispiel seien die eosinophilen Granula menschlicher Leucocyten angeführt. Die säurelöslichen α -Leukocytengranula sind im Gegensatz zu den Schneckengranula färbbar, und zwar nur durch saure Farben bei einer primären Färbung, haben sie aber ein Phenolchromogen gebunden, dann sind sie säurefest und gleichzeitig mit basischen Farbstoffen darzustellen. Die durch Alkalibehandlung braun gefärbten Schneckengranula bleiben unfärbbar, ebenfalls ein Beweis dafür, daß hier keine Bindung der Oxydase an den Farbstoff erfolgt ist.

Etwas Ähnliches haben wir bei den roten Blutkörperchen, auch hier sind nebeneinander ein oxydierendes Ferment und ein Farbstoff vorhanden, und die Blutkörperchen sind gegen verdünnte Säuren sehr empfindlich, haben sie aber durch Vermittlung der Peroxydase ein Phenolchromogen gebunden, dann sind sie in der gleichen Säure unlöslich. So gehört also zur Entstehung der Säurefestigkeit offenbar eine Verbindung von oxydierender Substanz und Chromogen bzw. Farbstoff.

Auch bei den Schneckengranula besteht das gleiche Verhalten, wenn die Granula durch Naphthol geschwärzt sind, so werden sie von Säuren nicht mehr angegriffen.

Die gleichen Erfahrungen, wie mit *Arion*, konnten auch an *Limax* gemacht werden, die im Juni 1926 in 10proz. Formol eingelegt waren und im Januar 1927 geschnitten wurden. Es wurden Stückchen der Schnecke in Paraffin eingebettet, nachdem sie mit der Methode von *Lubarsch* behandelt waren (Einschaltung von Anilinöl zwischen Alko-

*) Eine Ausnahme machte *Limax* nach 9monatiger Fixierung, hier waren nur die ungefärbten Granula säurelöslich, nicht die braun gefärbten.

hol und Xylol). In den Paraffinschnitten lagen die Granula unverändert und färbten sich nach Alkalibehandlung langsam gelb bis braun. Nach 24stündigem Einlegen in eine Lösung von Schwefelammonium trat ebenfalls eine Gelbfärbung ein, nicht im geringsten eine grünliche Färbung, die für das Vorhandensein von angreifbarem Eisen sprach. Dagegen waren in der Leber reichlich eisenhaltige Granula vorhanden und selbst die Nucleolen der Eizellen gaben eine deutliche Eisenreaktion. Weder die unbehandelten Granula der Schnitte noch die braunen Granula waren durch Färbungen darzustellen (Giemsa, Hämatoxylin). Als Ergebnis dieser Untersuchungen kann also gelten: Alle Granula der Eiweißzellen von Arion und Limax spalten einen braunen Farbstoff ab, die Bildung des Farbstoffes hängt aber bei den einzelnen Zellen von der OH-Konzentration ab, die Angriffsfähigkeit der Zellen ist eine verschiedene, und diese Verschiedenheit in der Empfindlichkeit ist besonders groß bei nur kurze Zeit fixierten Schnecken und nach längerer Formolfixation nicht mehr so deutlich. Bei Arion, wo die Granula während der Formolfixierung zu autolytischen Prozessen neigen, treten bei der Zersetzung gelegentlich auch spontan gelbe Pigmente auf.

Granula und Oxydase.

Behandelt man die Granula der Eiweißzellen mit alkalischen α -Naphthollösungen, so ist auffällig, daß die Schwarzfärbung der Granula zu ganz verschiedenen Zeiten eintritt, und zwar färben sich am ersten die Granula, die auch, mit Alkali behandelt, zuerst eine Braunfärbung zeigen. Da nun die gleichen Granula keine Naphthol-Peroxydasereaktion geben, im Gegensatz zu fast allen anderen Naphtholoxidasen, so ist wohl der Schluß gerechtfertigt, daß erst durch die Behandlung mit Alkali die Granulasubstanz gelöst und gespalten wird. Daß eine Lösung von Granulasubstanz auch ohne diese Zersetzung (Trennung in Oxydase und Farbstoff) möglich ist, geht daraus hervor, daß in den formolfixierten Egelschnecken die sonst farblosen Keimflecke den Eizellen sowohl mit Alkali eine Braunfärbung wie mit Naphthol eine Schwarzfärbung gaben, der Oxydase-Chromogenkomplex war demnach auf die Nucleolen übergegangen. Durch die Härtung in Alkohol leidet die Oxydase erheblich, ohne ganz zu verschwinden; vor allem ist es die sekundäre Reaktion der Kernkörperchen, die meist vollkommen verlorengeht, nur die großen Nucleolen der Eizellen machten hier eine Ausnahme. Auch bei der Oxydase zeigte sich die gleiche Erscheinung wie bei der Farbstoffbildung. Alle Granula geben eine Oxydasereaktion, am schnellsten die oberflächlich liegenden Granula, die wahrscheinlich infolge ihrer Lage eher angegriffen werden als die in der Tiefe liegenden Granula. Bei meinen ersten

Untersuchungen war die Peroxydasereaktion mit α -Naphthol stets mißlungen, dieser Umstand und die Tatsache, daß in der alkalischen Naphthollösung nicht wie sonst eine Violett-, sondern eine Schwarzfärbung eintrat, sprachen dafür, daß hier andere Stoffe vorliegen. Es hat sich aber herausgestellt, daß man es in der Hand hat, auch violette Naphthol-Peroxydasereaktionen zu erhalten, die auch eine Nachfärbung mit Gentianaviolett und damit die Darstellung in Dauerpräparaten gestatten.

Granula und α -Naphthol-Peroxydase.

Die Beobachtung, daß in seltenen Fällen sich granulierten Zellen vorfinden, deren Granula nach Behandlung mit alkalifreier Naphthollösung und H_2O_2 sich violett färbten und daß diese Zellen stets oberflächlich lagen, machten es wahrscheinlich, daß es diejenigen Zellen waren, die auch in stark verdünnten alkalischen Lösungen sich gelb färbten, daß demnach in diesen Granula bereits eine Spaltung erfolgt ist. Es wurden daher, um die Zersetzung der Granula durch Alkali einzuleiten, eine Anzahl Schnecken in eine alkalische (1%) Formollösung (10%) getan und nach einigen Tagen untersucht. Dabei stellte es sich heraus, daß in der Tat nunmehr nach Behandlung mit H_2O_2 -haltiger wäßriger Naphthollösung fast alle granulierten Zellen eine violette Färbung der Granula annahmen und daß auch ein großer Teil der Kernkörperchen (und bei längerer Fixierung) auch der Schleim die gleiche Reaktion zeigte. Erst bei längerem Aufenthalt in der Naphthollösung nehmen die meisten Granula eine Schwarzfärbung an und sind dann nicht mehr mit Naphtholgentiana nachzufärben. Die Reaktion ist ein Beweis dafür, daß aus den Granula eine echte Naphtholperoxydase abgespalten werden kann und daß diese Reaktion auf eine Stufe mit den Peroxydasereaktionen anderer Zellen zu stellen ist. Es war diese Erscheinung auch zu erwarten, da bereits früher in einzelnen Fällen die Peroxydasereaktion mit einer Benzidinlösung positiv ausgefallen war. Von oxydationsbeschleunigenden Stoffen spalten demnach diese Granula ab: eine Naphtholoxydase, eine Naphtholperoxydase, eine Benzidinperoxydase, eine Indophenoloxydase, dagegen ist die Dopareaktion bisher noch nicht gelungen, obwohl in Vergleichspräparaten eine schnelle und starke Schwärzung z. B. der eosinophilen Granula eintrat, die Methodik also einwandfrei war. Auch nach Alkoholfixierung war die Peroxydasereaktion noch deutlich, wenn durch Behandlung mit Alkali erst die Zersetzung eingeleitet war. Ohne die vorherige Gelbfärbung der Granula trat hier die Reaktion nicht ein. Zur Abspaltung der Peroxydase ist vorherige Zersetzung nötig, die auch durch Autolyse der Granula eintreten kann, hier aber sehr unsicher ist, so daß man sie nicht immer findet.

Granula und Färbung.

Die Granula lassen sich auf 3 verschiedene Weisen färben.

1. Spaltet man durch Behandlung mit Alkali den Farbstoff ab, so wird gleichzeitig die Peroxydase frei, vermag α -Naphthol zu oxydieren und die Oxydationsstufe zu bilden, die ihrerseits, als Beize an den Granula haftend, Gentianaviolett bindet.

2. Behandelte man die oben erwähnten Paraffinschnitte von *Limax* mit Alkali bis zur Gelbfärbung der Körner, färbte mit einer

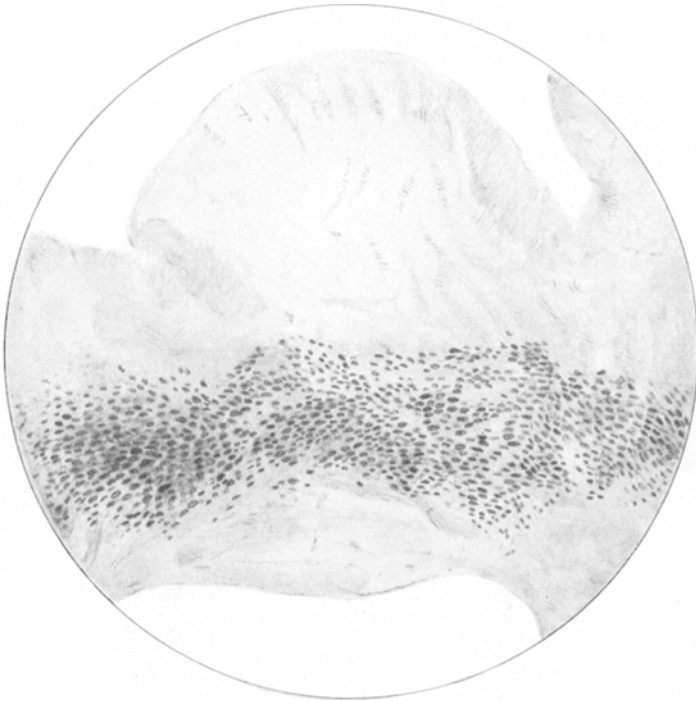


Abb. 1. Sekundäre Naphtholreaktion (*Helix pomatia*).

gesättigten wäßrigen Safraninlösung und differenzierte mit Pikrinsäure und Alkohol, so wurden die Granula zwar gelöst, aber es blieb an ihrer Stelle ein rot gefärbter Schleim zurück.

3. Bringt man Gefrierschnitte von *Arion* in eine Lösung des eigenartigen Farbstoffes, den man durch Auszug aus den roten Schwungfedern des Pisangfressers (Turacin) in alkalischen Lösungen gewinnt und der nach den Untersuchungen von *H. Fischer*¹⁾ Hämatoporphyrin

¹⁾ *J. Krumbiegel*, Biol. Zentralbl. 1925, S. 735 und Dtsch. med. Wochenschr. 1926, Nr. 48. Herrn Dr. *Krumbiegel* bin ich für die Überlassung von Turacinlösung zu Danke verpflichtet.

enthält, das an Kupfer gebunden ist, so nehmen allein die Granula der Eiweißzellen den Farbstoff auf. Mit der Oxydase selbst hat diese Bindung nichts zu tun, wie sich daraus ergibt, daß auch nicht oxydasehaltige Strukturen den Farbstoff adsorbieren. Legt man z. B. Schnitte von *Helix pomatia* (Weinbergsschnecke), und zwar Schnitte aus der Mitte des Fußes, wo sich, der Leibeshöhle anliegend, im Gewebe massenhaft zylinderartige Gebilde finden, die, wie man leicht nachweisen kann, aus granulierten Zellen hervorgegangen sind, in die Turacinelösung, so nehmen diese Gebilde den roten Farbstoff sehr schnell und dauerhaft an. Die gleichen Zylinder geben keine primäre Oxydase-reaktion, wohl aber eine sekundäre Reaktion, wenn sie einige Zeit mit Schnitten von *Arion* zusammengelegt haben. Die aus den Schnitten diffundierenden Oxydasen werden von den Zylindern adsorbiert und diese sind nunmehr in alkalischen Naphthollösungen in schwarzer Farbe darstellbar. Es sind also an den Granula von *Arion* turacinbindende Gruppen neben der Oxydase vorhanden, während bei *Helix* die Oxydase nicht (mehr?) nachweisbar ist. Die Rolle dieser Zylinder besteht einmal darin, daß sie eine Art Bauchpanzer bilden, der die Eingeweide schützt, dann aber auch darin, daß die Substanzen noch Schutzstoffe enthalten. Reizt man die Haut von *Helix* mit Anilinöl, worauf das Gewebe der Schnecke mit Ödem reagiert, so macht das Ödem an der Zylindergrenze halt. Es ist eine ähnliche Verbindung wie zwischen Knochen- und Blutbildung (mechanischer und chemischer Schutz).

Granula und Beizenbildung.

Aus den Granula von *Arion* und *Limax* lassen sich 2 verschiedene Beizen bilden, die man als Granula- und Kernkörperchenbeize bezeichnen kann, zunächst entstehen nur Beizen in den Schneckenextrakten, die von gleichartigen Granula adsorbiert werden, auch wenn diese an sich keine Oxydasereaktion geben. Hat man aber diese Granula vorher mit Auszügen von *Arion* oder *Limax* behandelt, so geben sie eine starke Oxydasereaktion in alkalischen Naphthollösungen. Wie diese Granula verhalten sich die scheibenförmigen und zylindrischen Gebilde¹⁾, die man bei vielen Mollusken findet (*Ancylus*, *Planorbis*, *Helix*, *Limnaea* u. a.). Man kann in der Regel zeigen, daß diese scheiben- oder zylinderartigen Gebilde aus Granula hervorgegangen sind, die dem Aussehen nach den Eiweißgranula bei *Arion* und *Limax* entsprechen. Sie sind meist kalkhaltig (Schwefelsäurereaktion).

Wenn die Schnecken längere Zeit in Formalin fixiert werden, verändern sich die Kernkörperchen der Zellen, so daß sie nunmehr, wie erst nur die Granula der Eiweißzellen, in einer alkalischen α -Naph-

¹⁾ *Folia haematol. Arch.* **27**, S. 181, und *Loele*, Phenolreaktion. Leipzig: Verlag Dr. W. Klinkhardt.

thollösung sich schwärzen. Auszüge aus solchen Schnecken enthalten nunmehr Beizen, mit denen man tierische wie pflanzliche Kernkörperchen darstellen kann. In der beifolgenden Zeichnung sind die Kernkörperchen des Keimblattes einer Maispflanze (nach Formolfixierung) auf diese Weise als schwarze Körnchen dargestellt. Völlig sichere Anweisungen für die Darstellung der Beizen lassen sich nicht geben, da wahrscheinlich die Zusammensetzung der Eiweißgranula in den Schnecken selbst nicht gleichmäßig ist. Es ist notwendig, daß man sich eine Anzahl der Schnecken in Formol einlegt. Man erhält oft nach

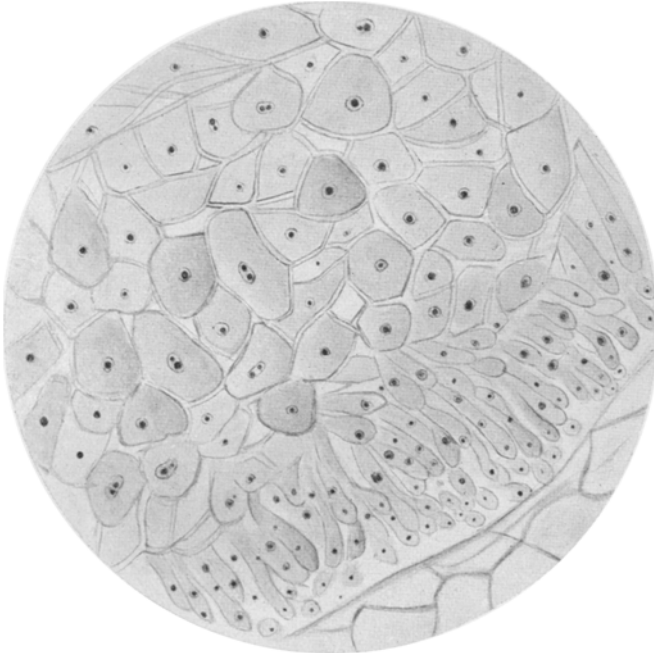


Abb. 2. Sekundäre Naphtholreaktion. Keimblatt vom Mais. (Kerngrenzen im Präparat undeutlicher als in der Zeichnung.)

monatelanger Formolfixation noch gute Ergebnisse. Versuche, durch Eintrocknenlassen der Schnecken die Substanzen zu konservieren, waren z. T. von Erfolg begleitet.

Beeinflussung der Löslichkeit von Strukturen durch oxydasehaltige Schneekenauszüge.

Auch hier lassen sich bestimmte Vorschriften nicht geben, doch ist soviel zu sagen: Je schneller eine sekundäre Oxydaseraktion der Kernkörperchen eintritt, um so größer ist die Wahrscheinlichkeit, daß man andere Strukturen mit den Extrakten beeinflussen kann.

Am deutlichsten ist dieser Einfluß auf die primären Oxydasen. Die oxydasetragenden Strukturen lösen sich oft auffällig schnell in einer alkalischen α -Naphthollösung auf, wenn sie vorher mit dem wirksamen Schneckenauszuge behandelt waren. Das gleiche Verhalten zeigten ganz verschiedene tierische und pflanzliche primäre Oxydasen. Das Umgekehrte, daß sonst leicht lösliche Granula durch die Behandlung mit Schneckenextrakten unlöslich werden, findet man an den Granula der menschlichen Mastzellen. Diese Granula sind sonst in alkalischen Lösungen leicht angreifbar und verschwinden. Haben aber die Granula die Oxydase der Schnecke gebunden, was man daran erkennt, daß sie in alkalischen α -Naphthollösungen sich schwarz färben, so tritt keine Lösung mehr ein.

Eine ganze Reihe wichtiger Eigenschaften zeigt diese anscheinend anfänglich so indifferente, der Färbung nicht zugängliche Substanz. Durch Einwirkung von Alkali entsteht ein säurelösliches Pigment, durch Vermittlung der sich hierbei absplittenden Oxydase kann ein Chromogen in einen chinoiden Farbstoff oxydiert werden und es bilden sich in Säure nicht lösliche Pigmente, durch gesteigerte Oxydation mit Säurebildung lösen sich die Granula zu einem Schleim, der fester wird, wenn gewisse basische Verbindungen anwesend sind (in dem oben erwähnten Versuche die Safraninfärbung). Ob hierbei ein Farbstoff entsteht, hängt lediglich von den Mengenverhältnissen ab. Der durch Alkaliwirkung aus den Granula von *Limax* entstehende Schleim ist gelb oder braun, bringt man lebende Exemplare von *Limax* in eine alkalische Formollösung, so färbt sich der austretende an sich farblose Schleim grünlich, das gleiche Verhalten, wie es manche pflanzliche peroxydasehaltige Schleime zeigen. Auch der Schleim von *Limax* enthält Oxydasen. Es läßt sich nachweisen, daß auch im tierischen Körper sich die Granula lösen (Oxydasereaktion der Umgebung mancher Granula); die aus ihnen hervorgehenden Stoffe werden wahrscheinlich sowohl die Granula wie die Kernkörperchen beeinflussen.) Die Kernkörperchensekrete müssen die Löslichkeit der Granula beeinflussen (steigern). Bei der Lösung werden Chromogene, oxydierende Fermente und, da die Granula selbst den Charakter von Basen haben, auch basische Verbindungen frei, die den Lösungszustand beeinflussen, so daß die Möglichkeit der Entstehung farbloser wie gefärbter Granula und Schleime gegeben ist. Zur Entstehung dieser Strukturen und Substanzen ist es nicht nötig, daß die Granula vorgebildet sind, sie ist auch intermediär möglich. Auch die Beobachtungen, die man bei der Autolyse der Granula im Schnitt ohne Behandlung oder nach Formolfixation machen kann, bilden zu den Beobachtungen über die Veränderung im Reagensglase eine Ergänzung. Die Granula haben das Bestreben zu quellen und hierbei oft ganz regelmäßige Scheiben

und mühlsteinartige Figuren zu bilden, die manchmal eine feine Querstreifung aufweisen und an die Bildung von Markscheiden erinnern, bisweilen lösen sich die Granula völlig auf und es bleiben würfelförmige Krystalle, manchmal bilden die halbgelösten Granula halb krystallinische, halb amorphe Massen. Es sind also folgende Bildungen aus den Granula möglich:

1. Lösungserscheinungen:
 - a) Völlige Lösung bis zum Verschwinden;
 - b) Krystallbildung;
 - c) Auftreten horniger Massen;
 - d) Bildung von regelmäßigen Figuren;
 - e) Bildung von farblosem Schleim von verschiedener Dichtigkeit;
 - f) Bildung von gefärbtem Schleim.
2. Farbstoffbildung:
 - a) Säurelöslicher Farbstoff;
 - b) säureunlöslicher Farbstoff.
3. Oxydierende Substanzen:
 - a) Naphtholoxidasen;
 - b) Naphtholperoxydasen;
 - c) Benzidinperoxydasen;
 - d) Indophenoloxidasen.
4. Farbstoffbindende Substanzen (insonst nicht-färbenden Lösungen):
 - a) Turacin;
 - b) wäßrige Hämateinlösung.
5. Reduzierende Substanzen (Schwarzfärbung in Silberlösung).
6. Beizen:
 - a) Granulabeize;
 - b) Kernkörperchenbeize.
7. Lösende und fixierende Substanzen.

Während bei diesen Granula der Eiweißzellen von *Arion* und *Limax* die Möglichkeit der Abspaltung einzelner für den Stoffwechsel zweifellos wichtiger Stoffe fast mathematisch klar liegt, ist das bei ähnlichen Stoffen anderer Zellen nicht der Fall. Man ist hier nur auf Vermutungen und auf eine Art Indizienbeweis angewiesen. Der Indizienbeweis kann wesentlich unterstützt werden durch gelegentliche Befunde unter besonderen Verhältnissen, nämlich dann, wenn abnorme Mischungen vorliegen. Es können dann Stoffe erhalten bleiben und nunmehr den Verdacht bestärken, daß sie auch im normalen Stoffwechsel intermediär auftreten. Erst wenn hier ein größeres Tatsachenmaterial aufgenommen ist, wird es möglich sein, einen besseren Einblick zu gewinnen, in welcher Weise in der Zelle Bildung und Lösung mancher lipoiden Granula und Membranen vor sich gehen.

Daß bestimmte gesetzliche Beziehungen bestehen zwischen Oxydase und Pigment, wenigstens in einer ganzen Anzahl von untereinander sehr verschiedenen Zellen, ist unzweifelhaft. Daß in manchen Zellen Beziehungen bestehen zwischen Oxydase und Verdauungsferment, steht fest. Daß in einigen Zellen die Kernkörperchen eine besondere Anziehungskraft auf primäre Oxydasen ausüben, läßt sich nachweisen, ja für die eigenartigen Nucleolarbeizen von *Arion* und *Limax* besteht diese Adsorption wohl für alle tierischen und pflanzlichen Kernkörperchen. Überall sieht man Fäden, die zusammengeknüpft das gleiche Bild geben, wie man es tatsächlich an den Granula der Eiweißzellen der Wegschnecke und Egelschnecke nachweisen kann, man muß sich nur immer vor Augen halten, daß die Beziehungen zwischen Pigment, Oxydase und Verdauungsferment in verschiedenen Zellen verschieden sind, schon weil die verschiedene Struktur der Zellen einen Einfluß auf die Mischungsverhältnisse hat und wesentliche Teile auch von außen in die Zelle eingeführt werden. Ein einheitliches Gesetz läßt sich nur für eine theoretische Zelle aufbauen, aber diese Theorie gibt einen Wink, worauf in der wirklichen Zelle zu achten ist; sie hat den Wert einer Arbeitshypothese. Nun sind allerdings alle bisherigen Untersuchungen über Vorkommen von Oxydasen bei Tieren fast ausschließlich an fixiertem Material gemacht, wenn man von den Untersuchungen über die labilen (Geweboxydasen) absieht, und ein Teil der Untersuchungen erforderte sogar erst eine Formolfixation. Man könnte also einwenden, daß, was für die durch Fixierung veränderte Zelle gilt, nicht auf die lebende Zelle anzuwenden sei. Es ist demnach nötig, Untersuchungsmaterial zu nehmen, das die Oxydationsreaktionen als Vitalreaktionen zeigt. Das ist bei Pflanzen tatsächlich bis zu einem gewissen Grade möglich. Die Beobachtungen über sekundäre Kernkörperchenreaktionen bei Verwendung pflanzlicher primärer Oxydasen sind allerdings noch Zufallsbefunde und beweisen nur die Möglichkeit ähnlicher Verhältnisse wie bei Tieren.

Bereits *v. Gierke* hat darauf hingewiesen, daß die Färbung bei der Oxydasereaktion an frischem Material an eine Supravitalfärbung erinnert. Bei Pflanzen ist die Naphtholreaktion tatsächlich eine Vitalreaktion, da sie eintritt, ohne das Leben der Pflanze zu schädigen. Es gibt Pflanzen, die so empfindlich gegen α -Naphthol sind, daß sie sich noch bei einer Verdünnung des Naphthols von über 1 : 1 000 000 in den oxydasehaltigen Teilen violett färben. Hierbei tritt sicher keine Schädigung ein. Es sind aber derartig starke Verdünnungen nicht einmal nötig, die Oxydationsreaktionen treten auf, ohne daß das Wachstum der Pflanze leidet, wenn man stärkere Naphthollösungen nimmt (1 : 5000 bis 30 000). Gemeinschaftlich mit den tierischen Oxydasen haben die pflanzlichen Oxydasen folgende Eigenschaften. Wie bei den Tieren,

sind die farbstofftragenden Zellen meist frei von Oxydasen, und es läßt sich manchmal die Verbindung Oxydase (Peroxydase) und farbstoffbildende Substanz nachweisen. Wie bei den Tieren ist die Naphtholxydase die verwickelteste Verbindung; mehr noch als bei den Tieren, ist die Bildung der oxydierenden Stoffe eine Funktion der Zelle, die Schwankungen unterworfen ist. Verwendet man zum Nachweis der Oxydasen junge Maispflanzen mit gut entwickelten Seitenwurzeln, so findet man, daß Zonen gesteigerten Wachstums wie die Spitzen der Wurzeln, oft bei den einen Pflanzen sehr starke Reaktion zeigen, wo die Pflanzen der gleichen Versuchsreihe keine Reaktion aufweisen; das Auftreten der Oxydasen muß demnach intermittierend erfolgen. Setzt man an etwa gleichen Pflanzen verschiedene Oxydationsreaktionen an, die Naphtholxydase- und Peroxydasereaktion, die Benzidinperoxydasereaktion und die Indophenolblaureaktion ohne Alkali (Nadireaktion), dann werden diese Reaktionen nicht gleichmäßig positiv. Ist z. B. die Nadireaktion negativ, wie oft an den oberen Seitenwurzeln, dann kann die Benzidinreaktion stark positiv sein. Die kleinen Haarwurzeln sind am besten mit der Indophenolblaureaktion darstellbar. Züchtet man die Pflanzen in der Naphthollösung weiter, so tritt nicht etwa eine Anreicherung von Naphtholviolett ein, sondern die Pflanze paßt sich der Umgebung an, genau so, wie man es bei Vitalfärbungen beobachten kann, die man an den Nahrungsvakuolen von Infusorien anstellt¹⁾. Jedenfalls zeigt die lebende Pflanze, daß die Naphthol- und ähnliche Reaktionen nicht erst das Absterben der Zellen erfordern. Auch bei einigen Tieren tritt die Reaktion, wenn die Tiere lebend in die Naphthollösung gebracht werden, so schnell ein, daß man wohl annehmen muß, die Naphtholxydase sei bereits in den Zellen vorhanden und werde nicht erst während des tödlichen Abbaues gebildet. Hierfür sprechen die Versuche am *Amphioxus*, an Seeanemonen, Wasserflöhen usw. Gerade bei Pflanzen hat man den Eindruck, daß die oxydierenden Stoffe im Zwischenstoffwechsel eine bedeutungsvolle Rolle spielen. Besonders klar tritt dieses intermediäre Auftreten der Oxydase in die Erscheinung bei der Bildung der Schraubentracheiden im Keimblatt vom Kürbis. Die folgende Zeichnung gibt sie etwas schematisch wieder. Härtet man noch wenig gekeimte Kürbissamen in Formol, fertigt Paraffinschnitte und färbt mit Safranin mit nachfolgender Differenzierung mit Pikrinsäure und Alkohol, so bleiben die in den Zellen liegenden großen Kugeln stark rot gefärbt, nur die Kernkörperchen behalten gleichfalls diese Färbung. Auch die Zellen der Gefäßbündel enthalten die Kugeln und zeigen noch keine Spiralbildung. Dann beginnt zunächst eine Quellung der Kugeln, die nunmehr zum Teil die Naphthol-Peroxydasereaktion (an unfixiertem Ver-

¹⁾ Loele, *Folia haematol.*, I. Teil 164, 311. 1912.

gleichsmaterial des gleichen Keimblattes nachgewiesen, in der Zeichnung kombiniert dargestellt) geben. Vor dieser Quellung lassen sich manchmal um die Kugeln herum kleinere Granula nachweisen, die zwar keine

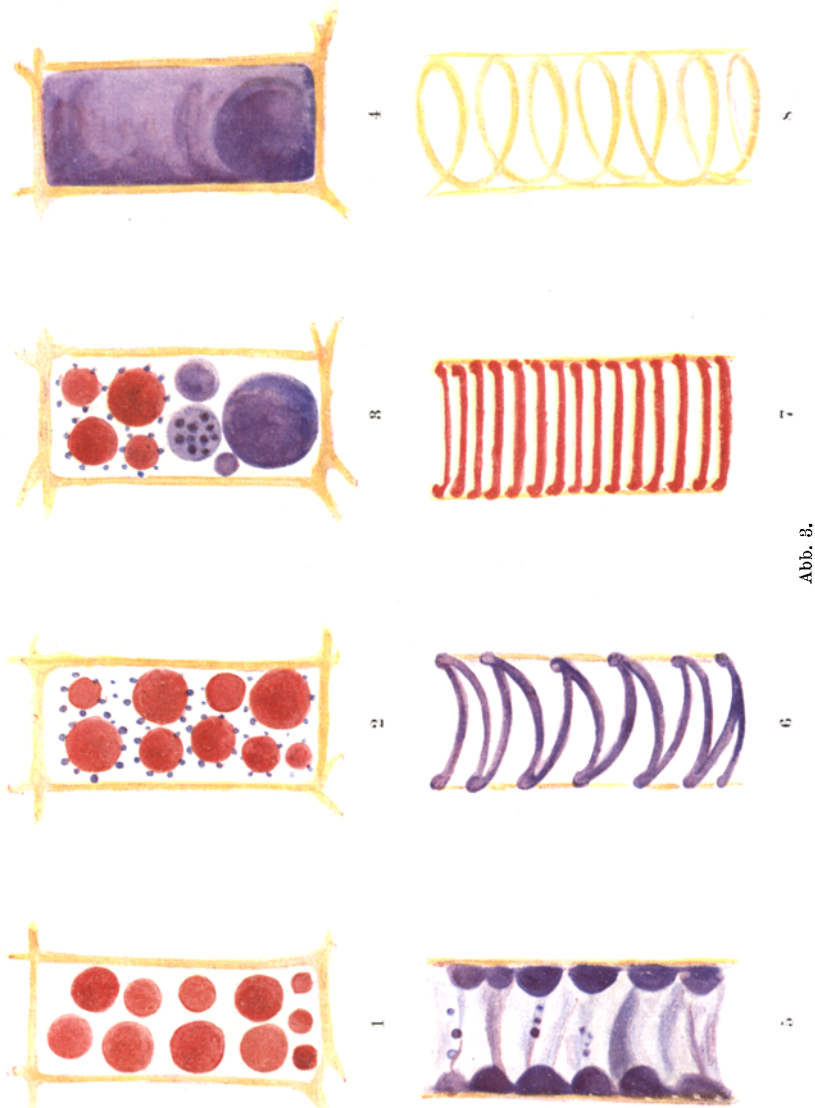
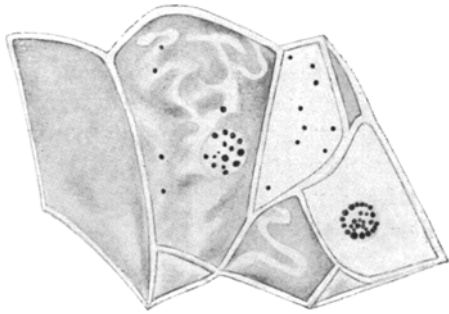


Abb. 3.

primäre Reaktion mit Naphthol geben, wohl aber, wenn die Keimblätter in Formol fixiert wurden, in dem gleichzeitig Arion-(Limax)exemplare gehärtet wurden. Es ist demnach eine sekundäre Reaktion dieser

kleinen Granula nachweisbar, ehe die Quellung der großen Kugeln beginnt. Dann verschwinden die kleinen Granula. Die großen Kugeln zerfallen in kleinere Granula und verschleimen ganz und die Zelle ist mit Peroxydasen angefüllt, die, oft von granulärem Charakter, sich allmählich wie die Sprossen einer Leiter gruppieren und besonders an den Zellwänden Verdichtungen bilden. Die Ursache dieser Lagerung ist wohl in den ruckweisen Wasser- bzw. Plasmabewegungen zu suchen. Schließlich entsteht ein Band, das noch die Peroxydasereaktion gibt, dann wird diese Reaktion negativ, aber die Bänder geben noch die Safraninreaktion der Kugeln, dann wird auch diese negativ und es bleibt vom ganzen Zellinhalt nur die Spiralfaser zurück, die sich lediglich wie Cellulose verhält. Es geht demnach ein sehr verwickelter Lösungsprozeß in der Zelle vor sich, dem auch der Kern zum Opfer fällt. Bei diesem Lösungsvorgang werden auch die verschiedenen oxydierenden Stoffe frei und sind eine Zeitlang in der Zelle nachweisbar. Der ganze Vorgang ist ein Analogon zur Bildung der kernlosen roten Blutkörperchen, bei deren Bildung auch eine tote Struktur zurückbleibt. Während des Abbaues der Zelle treten auch hier Peroxydasen, pathologischserweise auch Oxydasen auf. Die großen Kugeln der Kürbiszellen, die sich bei der Safraninfärbung wie die Kernkörperchen verhalten, haben die Eigenschaft, nach Behandlung mit Kernkörperchenextrakten von *Limax* oder *Arion*, eine sekundäre Naphtholreaktion zu geben. Die gleiche Erscheinung zeigen die roten Blutkörperchen; die Entstehung der Spiralfasern ist demnach, wie die Bildung der kernlosen roten Blutkörperchen das Werk teils chemischer, teils mechanischer geregelter Kräfte, die in einer bestimmten Reihenfolge angreifen. Welche Rolle den oxydierenden Stoffen bei diesem Vorgang zukommt, ist zunächst schwer zu sagen, es genügt ihre Anwesenheit festzustellen. Auffällig ist, daß diejenigen Substanzen, die von den Oxydasen wie von einem Mantel umgeben werden, am längsten erhalten und schließlich übrigbleiben, die oxydierenden Stoffe scheinen demnach sowohl für den Auflösungs Vorgang, wie für die Erhaltung wichtig zu sein. Sie stellen Schutzstoffe vor, bei deren Zersetzung Lösungssubstanzen frei werden. Die pflanzlichen Oxydasen verhalten sich also ähnlich wie die tierischen Oxydasen. Wäre es nicht bekannt, daß es fleischfressende Pflanzen gäbe, so müßte man aus theoretischen Gründen die Möglichkeit des Vorhandenseins fleischfressender Pflanzen zugeben. Während es bei verschiedenen Mollusken möglich ist, die primären Oxydasen als Kernkörperchenbeizen zu verwenden und auch bei höheren Tieren, wie bei dem Seepferdchen, gelegentlich ein Hineindiffundieren der Oxydase in das Kernkörperchen beobachtet wird, ist die sekundäre Kernkörperchenreaktion oder richtiger Granulareaktion mit pflanzlichen Oxydasen, eine außer-

ordentlich seltene Erscheinung. Sie ist mir erst einmal begegnet, erscheint aber so wichtig, daß sie kurz beschrieben werden soll. Es waren Rasiermesserschnitte von einer roten Rübe in eine wäßrige Naphthollösung (alkalische) 1 : 30 000 geworfen worden. Nach 24 Stunden waren die Schnitte violett gefärbt und in einzelnen Kernen waren *schwarze*, nicht violett gefärbte Granula nachweisbar, außerdem zeigte es sich, daß da, wo im Protoplasma schwarze Granula lagen, die Umgebung niemals eine primäre Oxydasereaktion gab, so daß man vielleicht annehmen kann, daß eigenartige, schraubenförmig gewundene Linien in den Zellen, innerhalb deren die Oxydasereaktion negativ ausfiel, dadurch entstanden sind, daß granuläre Stoffe aus dem Kern austraten und sich gelöst haben oder auch schon in gelöstem Zustande den Kern verließen. Nun sind es allerdings nicht die Kernkörperchen, die hier eine sekundäre Reaktion gaben, sondern Kerngranula, aber die Erfahrungen an Schneekenschnitten zeigten, daß auch im Schneekengewebe manche Kerne mit Körnern gefüllt sind, die wie die Kernkörperchen eine sekundäre Reaktion geben. Weiter ist zu berücksichtigen, daß bisher die Kernkörperchenreaktion nur an formolfixiertem Material gelang, während an pflanzlichem Material, auch bei Verwendung von Arionextrakten, nur Kerngranula, nicht die Kernkörperchen, darzustellen waren, wenn die Pflanzen nicht mit Formol fixiert waren. Es verhielten sich tatsächlich die primären Oxydasen der roten Rübe genau so, wie die der Schneekensextrakte, indem sie an anderen, an sich nicht positiven Stoffen niedergeschlagen, dort nicht eine violette Farbreaktion, sondern eine schwarze Oxydasereaktion hervorriefen.

Abb. 4¹⁾.

Die primären Oxydasen diffundieren meist leicht aus ihren Strukturen und wandern, wie die Versuche mit der Grüsschen Capillarisation zeigen, verhältnismäßig schnell. Filtriert man Pflanzenextrakte, die peroxydasehaltig sind, so findet man, wenn man die Benzidin-Peroxydasereaktion anstellt, daß die Mitte der Filterscheibe oft negativ ist, weil hier noch hemmende Stoffe vorhanden sind, daß dann die weitere Umgebung sehr bald aus Blau in Gelb umschlägt, während die äußersten Schichten den blauen Benzidinfarbstoff viel länger beibehalten; es muß demnach eine weitere Trennung und Reinigung der

¹⁾ Sämtliche Zeichnungen sind von der technischen Assistentin Frä. Winkler angefertigt.

Peroxydasen stattgefunden haben (die Peripherie ist stärker sauer als das Zentrum). Was aus den diffundierten Oxydasen oder Peroxydasen wird, läßt sich manchmal sowohl an lebenden wie am toten Gewebe feststellen. In der lebenden Pflanze findet man oft die Kernoberfläche mit Oxydasen überzogen, im fixierten tierischen Gewebe ziehen häufig im leukocytenreichen Gewebe die Oxydasen auf die Oberfläche der Kerne. Manche Kerne behalten die unzersetzte Oxydase, auch nachdem die Leukocyten schon verschwunden sind, so z. B. im menschlichen Gewebe die Kerne mancher Lungenalveolarepithelien, in der Niere die Kerne der gewundenen Harnkanälchen 1. Ordnung, in der Prostata die Kerne mancher Drüsenepithelien, häufiger die Kerne der Eiterzellen. An der Kernoberfläche bleiben sie also unter bestimmten Umständen länger erhalten, als anderswo. Sind die Oxydasen in das Gewebe diffundiert, so werden sie meist schnell abgebaut, elastische Fasern und kollagenes Gewebe konservieren sie im leukocytenreichen Gewebe oft länger und verändern dann ihre Färbbarkeit, auch an hornigen Ausscheidungen und in manchen Schleimen werden die Oxydasen nicht zerstört, auch die Granula der Tubuli contorti 1. Ordnung erhalten die Oxydase, es sind das alles Substanzen, die darin übereinstimmen, daß sie die sekundäre Kernkörperchen-Naphtholreaktion mit Arion- und Limalextrakten geben. Die Ausscheidung zersetzter Oxydasen geht wohl im lebenden Gewebe ständig vor sich. Es ist aber bekannt, daß der Leukocytengehalt des Gewebes innerhalb der Capillaren erheblichen Schwankungen unterworfen ist. Es ist demnach auch der Gehalt des Gewebes an gelösten Oxydasen den gleichen Schwankungen unterworfen, ein Umstand, der auf die Zellatmung von Einfluß ist, da bei genügender Sauerstoffzufuhr bei einem Überschuß von Oxydasen (Peroxydasen) die Verbrennung sich steigern muß.

Zusammenfassend läßt sich über die α -Naphtholoxydase und Peroxydase folgendes sagen:

1. Die Oxydasen sind meist an lipoiden Strukturen gebunden, die gleichzeitig auch Peroxydasen enthalten.

2. Die Oxydasen sind verhältnismäßig alkalifast, dagegen säureempfindlich, die Peroxydasen sind verhältnismäßig säurefest, wenn sie allein vorhanden sind.

3. Bei der Loslösung und Wanderung der Oxydasen und der sekundären Oxydasen, d. h. der Stoffe, die primäre Oxydasen an sich niederschlagen, finden meist entweder Lösungen oder Bildungen (in Form von Granula oder Membranen) statt. Beim Übergang der sekundären Oxydase des Kernkörperchens auf die Schleifen die Lösung der Kernmembran und umgekehrt beim Übergang der Schleifenoberflächen-substanzen auf das neugebildete Kernkörperchen die Bildung der Kernmembran. Beim Übergang der gelösten Nucleolarsubstanzen in

das Protoplasma die Bildung der Oxydasegranula, die oft nachweisbar lipoiden Charakter haben und bei der Lösung der Oxydasen von den Granula auch die Autolyse der Granula.

4. Durch Vermittlung des oxydierenden Fermentes werden phenolartige Verbindungen oxydiert und die Oxydationsstufen so an die Granula gebunden, daß Säurefestigkeit eintritt.

5. Gleichzeitig mit den abgespaltenen oxydierenden Fermenten bilden sich Stoffe, die die Löslichkeit mancher Strukturen entweder herbeiführen oder verhindern.

6. Die Naphtholoxidasen (d. h. der Oxydasekomplex) haben die Fähigkeit, Sauerstoff bei Gegenwart von Alkali in Peroxydform zu bringen.

7. Bei der Entstehung der Oxydasen wird wahrscheinlich Kohlensäure in Aldehyd reduziert und umgekehrt bei der Verbrennung Kohlensäure gebildet.

8. Bei der Zersetzung primärer Oxydasen durch Oxydation treten sekundäre Oxydasen auf; es ist nicht unwahrscheinlich, daß durch Reduktion sekundärer Oxydasen umgekehrt primäre Oxydasen entstehen oder wenigstens Teile der sekundären Oxydase zur Bildung primärer Oxydasen verwendet werden. Man sieht, daß in den Oxydasen eine Fülle von einzelnen noch nicht geklärten Aufgaben versteckt liegen. Wenn diese gelöst sind, dann werden wichtige physiologische Erscheinungen ihre Erklärung finden, von denen einige hier kurz erwähnt sein sollen.

Nach den Lehren der Physiologie ist die innere Atmung die Folge eines Spannungsausgleiches. Wo Sauerstoff verbraucht ist, wandert Sauerstoff hin. In den Alveolen wird Kohlensäure abgestoßen, an ihre Stelle tritt Sauerstoff. Diese Betrachtung vernachlässigt vollkommen die Rolle der Alveolarepithelien. Setzte man an Stelle der Alveolarepithelien Zylinderepithel, wie es in den Bronchien vorhanden ist, dann würde sofort Erstickung eintreten. Um den Sauerstoffaustausch zu ermöglichen, müssen die Alveolarepithelien eine ganz bestimmte Beschaffenheit haben und diesen Zustand dauernd beibehalten.

Die Neigung der Alveolarepithelien zur Phagocytose — und allerdings pathologischerweise zur primären und sekundären Oxydase-Reaktion zeigt, daß in ihnen Eigenschaften vorhanden sind, die man sonst an den Oxydasezellen findet.

Auch die Salzsäureausscheidung der Magenzellen verrät Beziehungen zur Oxydase in verschiedener Hinsicht. Die Salzsäureausscheidung im Magen erfolgt so, daß man mengenmäßig einen Austausch von Salzsäure gegen Natriumbicarbonat annehmen kann. *Beckhold* glaubt, daß die Trennung von Kochsalz in Base und Säure durch Adsorption

erfolgt, die älteren Physiologen sind der Ansicht, daß durch Austausch von Chlorionen gegen Kohlensäureionen durch nur für Anionen durchlässige Membranen die HCl-Bildung möglich ist. Nimmt man die Bechholdsche Ansicht an, dann ist zu erklären, wie adsorbierende Stoffe etwa in Gestalt adsorbierender Schleime gebildet werden, und man kommt auf das Gebiet der Autolyse, das auch in dem Oxydaseproblem gefaßt ist, nimmt man Anionenaustausch an, der eigentlich einleuchtender ist, so muß während des Anionenaustausches das Gewebe in der Umgebung der Magenzellen selbst den Sauerstoff in Beschlag nehmen, damit er nicht mit den Chlorionen konkurriert, das ist möglich durch eine stärkere Aufnahme von Leukocytensekreten; man muß also irgendwelche gesetzmäßige Beziehungen zwischen Leukocytengehalt der Gefäße und Salzsäureausscheidung feststellen. Die Beobachtungen, die man an den zelligen Oxydasen gemacht hat, sprechen für die Möglichkeit, daß auch in den Magenzellen ähnliche Vorgänge vor sich gehen. Alle Erscheinungen, die in den Magenepithelien nötig sind, die Aufspeicherung oxydabler Substanzen, die Bildung von Membranen, durchlässig nur für Anionen, die Bildung von durchlässigen oder undurchlässigen Membranen, alles das findet man auch an den Oxydasezellen, es braucht nur die Zusammensetzung und die Reihenfolge der Erscheinungen verändert zu werden. Magenepithelien, die Naphthol-oxydasen enthalten, gibt es bei Fischen. Es ist kein Grund vorhanden, warum sie intermediär nicht auch bei Warmblütern gebildet werden könnten. Weiterhin ist an die Fähigkeit der Wurzelspitzen, freie Säure zu bilden, zu denken. Die Wurzelspitzen enthalten manchmal besonders reichlich Oxydasen. Irgendwie greift hier die Oxydase in den Mechanismus der Säurebildung ein.

Daß die oxydierenden Substanzen mittelbar in Geschwulstzellen eine Rolle spielen, ist sehr wahrscheinlich. Die Geschwulstzelle unterscheidet sich von der normalen Zelle durch ihre größere Selbständigkeit, die sie befähigt, auch in einem fremden Gewebe sich zu vermehren, wenn ihr das nötige Nährmaterial zugeführt wird. Histologisch unterscheidet sich die Geschwulstzelle von der natürlichen Zelle durch den Reichtum des Kernes an sekundären Oxydasen. Wenn die Oberflächensubstanzen der Kernkörperchen den Ausgang der oxydierenden und lytischen Fermente sind, so ist die größere Selbständigkeit der Geschwulstzellen erklärt. Würden diese sekundären Oxydasen durch Oxydation zerstört, dann entstünden wieder normale Verhältnisse und die Zelle verlöre den Charakter der Geschwulstzelle.

Es ist wohl anzunehmen, daß diese verminderte Zellatmung der Geschwulstzelle, die ja nach *Warburg* nachgewiesen werden kann, nicht primär, sondern sekundär ist und ihre Ursache hat in einem fremden Virus unbekannter Natur, das seinen Sitz im Kerne hat, in der

Außenwelt in Kernsubstanzen vorkommt, vielleicht auch in Bakterien, wenn diese imstande sind, Geschwülste zu erzeugen.

Die Beziehungen der Oxydasen zur Immunität hat neuerdings wieder *Katsunuma* betont, es sprechen auch in der Tat viele Beobachtungen dafür, daß die oxydierenden Stoffe eine wichtige Rolle als Schutzstoffe spielen, auch dann noch, wenn die Oxydasen selbst zersetzt und nicht mehr nachweisbar sind.

Nun ist allerdings ein wichtiger Einwand gegen die Bedeutung des Nachweises von Oxydasen zu erheben. Wenn die Oxydase sich von den anderen Begleitsubstanzen völlig trennen kann, was ist dann aus dem Vorhandensein der Oxydase für ein Schluß zu ziehen? Wiederum, die anderen Stoffe könnten vorhanden sein und die Oxydase fehlen, also würde weder ein positiver noch ein negativer Befund etwas besagen. Das ist zweifellos richtig, wenn man lediglich die Oxydaseeigenschaft der Zelle feststellt und die anderen Eigenschaften übergeht. Die bisherigen Untersuchungen ergeben aber, daß die Oxydasen aus einem sehr vielseitigen Komplex abgespalten werden, den man als den Nucleolarkomplex bezeichnen kann. Gelingt es also durch irgendein Mittel, die Bildung dieser Ausgangsstoffe zu steigern, dann werden neben einer Vermehrung der Oxydasen auch die anderen wichtigeren Stoffe in erhöhtem Maße gebildet, darunter die allgemeinen Schutzsubstanzen, die vielleicht die Quelle der spezifischeren abgestimmten Schutzstoffe sind.

Um nur ein Beispiel herauszugreifen, so zeigten Exemplare von *Limnaea* (Schlammschnecke), die in einem Glase mit Teichmuscheln zusammengehalten wurden, eine besonders starke Oxydasereaktion der Schleimzellen der Haut, die gleichzeitig vermehrt waren; es ist klar, daß diese Schnecken gegen manche äußeren Einflüsse sehr viel besser geschützt sind, als Schnecken mit wenig Schleimzellen. Die Ursache für die Vermehrung der Oxydase ist wahrscheinlich die Ausscheidung von oxydasehaltigem Schleim durch die Teichmuschel, der in den Mechanismus der Schleimbildung der Schlammschnecke irgendwie eingreift.

In diesen Beobachtungen findet der Erfolg ganz unspezifischer Reizbehandlung eine Erklärung.
