

Zur Physiologie der Zellatmung in ihrer Beziehung zu neuen histologischen Befunden.

(Nach Untersuchungen an der weißen Blutzelle und dem Herzmuskel.)

Von
Dr. E. Sehrt (Freiburg).

(Eingegangen am 9. April 1929.)

I. Physiologie.

Während die Physiologie der Zellatmung in den letzten 16 Jahren bedeutende Fortschritte der Erkenntnis durch die klassischen Arbeiten von *O. Warburg*⁶⁷ erfahren hat, sind scheinbar die histologischen Ergebnisse hinter jenen weit zurückgeblieben. Das mag daran liegen, daß die Physiologie sich auf Versuchsergebnisse stützt, die durch chemische, physikalische und biologische Beobachtungsmethoden an oft lebenden Zellen gewonnen sind, die an und für sich Untersuchungen vieler Abschnitte des sich abspielenden Lebens in einer gewissen Breite zulassen, während die Histologie sich naturgemäß mit Zuständen befaßt. Über den Weg, der zu diesen Zuständen führt, scheinen auf den ersten Blick mehr theoretische bzw. spekulative Überlegungen notwendig zu sein wie in der Biologie. Immerhin ist die theoretische Vor- und Zwischenphase vor und zwischen Versuch und Versuchsergebnis in der Biologie doch auch nicht immer so viel kleiner als man gemeinhin annehmen möchte, hier und da sogar größer, meist ist aber die Fehlerquellenbreite weiter, wie es bei der enger gebundenen Histologie der Fall ist.

Einer der Hauptgrundsätze der Physiologie ist, daß Leistung an bestimmten Bau gebunden ist. Wie *Rona*⁴⁹ ausführt, stützte man sich früher bei Beurteilung des Baues auf mikroskopische Bilder, also auf Gebilde ganz anderer Größenordnung als es bei den Elementarteilen der Physik und Chemie der Fall ist. Erst das Studium kolloidaler Systeme, der Sole und Gele, brachte unter Anwendung des Polarisations- und Ultramikroskops, der Röntgenspektroskopie die Erkenntnis, daß wir bei den protoplasmatischen Strukturen mikroheterogene, mehrphasige Gebilde vor uns haben, *Micellen* (Moleküllaggregate), durch Häutchen flüssiger Intermicellarsubstanz voneinander getrennt. Oder auch eine emulsionsartige Verteilung, in der eine „innere Phase“ und eine zusammenhängende „äußere Phase“ zu unterscheiden ist. Letztere

Anordnung mit ihrer leichten Phasenumkehr hat wohl die strukturelle Grundlage mancher Erscheinungen der Durchlässigkeit solcherart aufgebauter Membranen. Es häufen sich Beobachtungen, die den Micellen eine gerichtete (krystallinische) Struktur zu erkennen. Die Doppelbrechung mancher organischer Stoffe ist ein sicherer Beweis für den krystallinischen Bau solch kleinster Strukturbestandteile. Sie ähneln den flüssigen Krystallen mehr, und so ergibt sich eine ununterbrochene Stufenfolge vom Atom bis zur histologischen Struktur. Auch die histologischen Strukturen entstehen wahrscheinlich durch eine Art Krystallisationsvorgang, durch Micellarkrystallisation. Bei den einfachen Emulsionen haben wir es, wie bei den Wasser- und Ölgemischen, mit einem mehrphasigen System einfacher Ordnung zu tun, gewissermaßen mit einem Modell der höheren cellulären Zerteilung. Ein in der wässrigeren oder in der Ölphase nicht mischbarer Emulgator trennt beide Phasen und bildet eine Art Membran, die die Selbständigkeit des Chemismus der getrennten Phasen gewährleistet. In der höheren Organisation der Zelle wird diese durch die „Membran“ weitgehend unabhängig gemacht, jedoch wird ihr Chemismus von der chemisch-physikalischen Beschaffenheit der Membran weitgehend beeinflußt. Die Durchlässigkeit der Membran wird von ihrer jeweiligen Phasenanordnung bestimmt. Die Grenzfläche der Phasen wird weiterhin infolge der sehr entwickelten Oberfläche derselben, teils der molekular-chemischen Natur der Oberflächenanlage wegen, teils als Sitz elektrischer Phasengrenzkräfte maßgebend sein für alle physiologischen Zelleistungen.

Es ist kein Zweifel, daß durch die neuen physiologischen Betrachtungsweisen eine großartige Vertiefung unserer Erkenntnismöglichkeit vom Bau und Leben der Zelle gegenüber der Forschungsmethode, die sich auf das durch das Mikroskop feststellbare histologische Bild stützt, zustande gekommen ist. — Wie schon eingangs erwähnt, hat vor allem Warburg⁶⁵ in seinen an Klarheit und Exaktheit der Gedankenführung klassischen Arbeiten auf die Beeinflussung des Funktionsmechanismus der Zelle durch die Struktur hingewiesen.

In dieser Beziehung kann zusammenfassend als sicher festgestellt werden: Die Strukturteile der lebenden Zelle, an die die Funktionen der Zelle also auch die Oxydationen gebunden und ohne die sie nicht möglich sind, wirken einerseits rein physikalisch durch ihre Oberfläche, andererseits chemisch durch ihre Substanz. Die Oberflächenkräfte einer Struktur, z. B. eines Granulums, wirken physikalisch adsorptiv. Die Wirkungsgrenze dieser Adsorption bedingt den Adsorptionsraum. Leicht werden Narkotica adsorbiert, ebenso sicher ist das von den Endabbaustufen des Eiweißes, den Aminosäuren bekannt. Warburg hat nachgewiesen, daß zwischen diesen beiden Körpern Unterschiede insofern bestehen als das Narkoticum oberflächenaktiver als

die Aminosäure ist, d. h. wenn die Oberfläche irgendeiner Struktur durch Aminosäuren besetzt ist, und man fügt nun der Lösung, in der die Struktur sich befindet, Narkotica hinzu, so verdrängen diese die Aminosäuren von der Strukturoberfläche. Die Aminosäuren erscheinen wieder in der Lösung, wo man sie chemisch nachweisen kann. — Die Oberflächenkräfte der Strukturen wirken aber nicht nur adsorptiv, sondern in geringem Grade auch *katalytisch*, d. h. sie beschleunigen chemische Vorgänge an der Oberfläche, die sonst unmeßbar langsam verlaufen würden. Im allgemeinen haben jedoch die Oberflächenkräfte die Bedeutung, chemische Körper (Eiweiße usw.) aus einer Lösung herauszureißen, sie zu konzentrieren oder zu dissoziieren, d. h. ihr Molekulargefüge zu lockern und sie auf diese Weise für die eigentliche Katalyse geeignet zu machen. — Diesen rein physikalischen Oberflächenkräften stehen die rein chemisch wirksamen Kräfte der Struktur gegenüber, die in dem chemischen Gefüge derselben ruhen. Sie sind die eigentlichen *Katalysatoren*, die die chemischen Vorgänge, die sich an der Oberfläche abspielen, so stark beschleunigen, also fermentativ wirken, wie es für die energetischen Leistungen und den Stoffwechsel der Zelle zu ihrem Leben notwendig ist. So werden z. B. Eiweiße in wenigen Minuten oxydiert, deren Oxydation im verschlossenen Reagensglas Monate brauchen würde.

Hiermit kommen wir zu den eigentlichen Arbeiten *Warburgs*, auf welche in dem Maße eingegangen werden muß, wie es zum Verständnis der Verbindung der physiologischen Erkenntnisse mit denen der Histologie, die im zweiten Abschnitt erörtert werden, notwendig ist.

*Warburg*⁶⁶ führte den Nachweis, daß in der lebenden Zelle ein Kreislauf vorliegt in der Form eines Systems, in dem der molekulare Sauerstoff mit zweiwertigem Eisen reagiert, wobei eine höhere Oxydationsstufe des Eisens entsteht, die ihrerseits mit der organischen Substanz unter Rückbildung zweiwertigen Eisens reagiert. Diese Reaktion ist die Verbrennung bzw. Oxydation des Eiweißes usw., die Summe dieser Oxydationen (und der sie vorbereitenden Vorgänge) macht die Zellatmung aus. Die organische Substanz reagiert ebensowenig in der Zelle unmittelbar mit molekularem Sauerstoff wie außerhalb der Zelle, sie ist also nicht autooxydabel. Autooxydabel ist ein Stoff, der ohne Vermittlung eines anderen mit molekularem Sauerstoff reagiert. Schwierig gestaltete sich die ganze Frage insfern, als nicht jede Form zweiwertigen Eisens mit molekularem Sauerstoff und nicht jede Form höherwertigen Eisens mit der organischen Substanz reagiert.

Damit Eisen katalytisch wirkt, müssen gewisse Bedingungen der *Form, in der Eisen vorliegt*, erfüllt sein. Darin liegt der Kernpunkt der Warburgschen Arbeiten, daß neben der katalysatorischen Wirkung der Oberflächen zur Oxydation der Aminosäuren vor allem Eisen not-

wendig ist. Er zeigte nun, daß diese verschwindend kleinen Mengen Eisen imstande sind, den im Atmungsversuch verschwindenden Sauerstoff zu übertragen, daß also das Eisen ein Katalysator allerersten Ranges ist, wobei man unter Katalysator einen Stoff versteht, der eine chemische Reaktion, die an und für sich äußerst träge verläuft, allein durch seine Gegenwart einleitet und beschleunigt, und der im Endprodukt der betreffenden Reaktion nicht erscheint. *Warburg* konnte zeigen, daß sich durch Zuführung kleinster Mengen Eisen im Reagensglasversuch die Oxydation von Cystein zu Cystin genau so beschleunigen läßt, wie sie in der lebenden Zelle verläuft und daß aus dem Vergleich der hierzu notwendigen Eisenmengen zu dem natürlichen Eisengehalt der Zelle geschlossen werden muß, daß der Eisengehalt der Zelle mehr als ausreicht, um ihren Sauerstoffverbrauch zu erklären.

Es zeigte sich nun ferner, daß jede Substanz, die mit Eisen reagiert (d. h. wenn sie in die Zelle eindringt), die Atmung bzw. die Sauerstoffübertragung stören kann, wenn ihre Affinität zu Eisen ausreicht, um die natürlichen Bindungen desselben mit der organischen Substanz zu lösen. So ist vor allem *Blausäure* in einer Verdünnung von $n/10000 - n/100000$ imstande, die Atmung zu hemmen, wobei die Zelle nur ganz wenig Blausäure aus der Lösung herausnimmt. Für *Warburg* folgerte nun, daß, da eine stöchiometrische Beziehung zwischen der gebundenen Blausäure und dem Stoff, der sie bindet, bestehen muß, die Zelle nur kleinste Mengen dieses Stoffes enthalten muß, der einerseits Blausäure bindet, andererseits Sauerstoff übertragen kann. Von allen bekannten Stoffen der Zelle erfüllt diese Bedingungen aber nur das Eisen.

Warburg bewies weiter, daß Eisen in der Zelle wirklich Sauerstoff überträgt: setzte er zu zerriebenen, unbefruchteten Seeigeleiern Eisen hinzu in der Menge, wie sie dem natürlichen Gehalt der Flüssigkeit entsprach, so steigt der Sauerstoffverbrauch genau in dem Maße des zugesetzten Eisens. — *Warburg* kam nun zu seinen lehrreichen Modellversuchen, die oben schon kurz erwähnt wurden, die frei vom Ballast der Zelle waren. Er versuchte Sauerstoff mit Hilfe von Eisen auf die bekannten Brennstoffe der Zelle im Reagensglas zu übertragen, um zu zeigen, daß es sich in beiden Fällen in der Hauptsache um eine Angelegenheit des Eisens und, zwar um einen Valenzwechsel dieses Schwermetalls handele. — Fügt man zu gewissen Ferrooverbindungen (zweiwertiges Eisen), die schnell mit molekularem Sauerstoff reagieren, Aminosäuren oder Zuckerlösungen, so erfolgt keine Sauerstoffübertragung. Oxydationsbeschleunigend wirkt erst die Ferriverbindung in einer an und für sich noch unbekannten Bindung. Diese Bindung entsteht im Reagensglase, wenn man reines, krystallisiertes Hämin, eine Pyrroleisenverbindung, zur Rotglut erhitzt. Es bleibt dann eine schwarz gefärbte, kohlige Substanz zurück, die nach Extraktion mit heißer Salzsäure neben

Kohlenstoff 3% Stickstoff und ebensoviel Eisen enthält. Diese Kohle wirkt als *Oxydationskatalysator*, d. h. schüttelt man diese Häminkohle in wässrigeren Aminosäurelösungen mit Luft, so wird Sauerstoff absorbiert und es entsteht wie in der lebenden Zelle Kohlensäure, Ammoniak und Schwefelsäure. *Warburg* zieht hieraus, wie gesagt, den Schluß, daß das Eisen der Häminkohle als Katalysator wirkt, weil es an nicht-flüchtigen Stickstoff gebunden ist. Daß Eisen, genau wie in der lebenden Zelle, der katalysierende Faktor ist, wird dadurch bewiesen, daß Blausäure in Verbindung von $\frac{1}{1000}$ die Verbrennung hemmt und in Verdünnung von $\frac{1}{1000}$ zum Verschwinden bringt.

Wenn nun zweiwertiges Eisen mit Sauerstoff, höherwertiges Eisen mit der organischen Substanz reagiert, so sind die spezifisch treibenden Kräfte *chemische*. Zu diesen chemischen oder neben ihnen wirken die bekannten unspezifischen Oberflächenkräfte, die rein physikalisch sind. Bei der Atmung wirken also die spezifisch chemischen Kräfte einerseits und die unspezifisch physikalischen Oberflächenkräfte andererseits ganz genau in der lebenden Zelle wie im Häminkohlenmodell in einem festen Zusammenspiel. Der spezifische (chemische) *Antikatalysator* ist die Blausäure, der nichtspezifische (physikalische) durch Oberflächenverdrängung wirkende, bekannte Antikatalysator ist das Narkoticum.— Faßt man nun den Begriff der Atmung nach *Warburg* genügend weit, ist also das Eisen höherer Oxydationsstufen „aktivierter Sauerstoff“, die Atome der aufgelockerten organischen Moleküle „aktivierter“ Kohlenstoff, Wasserstoff, Schwefel usw., d. h.: der Sauerstoff wird durch chemische, die organischen Moleküle dagegen werden durch unspezifische physikalische Kräfte aktiviert. — Insofern sind nach *Warburg* die früheren Atmungstheorien zum Teil falsch, zum Teil richtig. Die Theorien von *M. Traube*^{58, 66} und *Bach*^{9, 66} waren richtig insofern, als sie die Aktivierung des Sauerstoffs annahmen, unrichtig als sie die Aktivierung der organischen Moleküle übersahen. Die Theorien von *Pfeffer*^{45, 66} und *Wieland*^{68, 66} waren richtig insofern sie die Aktivierung der organischen Moleküle annahmen, unrichtig als sie die Aktivierung des Sauerstoffs übersahen. —

Im Reagensglasversuch greift das Eisen der Häminkohle *nur* die Eiweißkörper bzw. ihre bekannten Endabbaustufen, die Aminosäuren, aber nicht die Kohlehydrate und Fette an, im Gegensatz zur lebenden Zelle, wo auch diese Hauptbrennstoffe ja verbrannt werden. Da aber auch ihre Verbrennung durch Blausäure typisch gehemmt wird, so muß auch hier das Eisen als Katalysator angenommen werden. Offenbar reagieren Kohlehydrate und Fette nicht unmittelbar, sondern in Form noch unbekannter Abkömmlinge, die durch Spaltungen und Verdichtungen entstanden sind. Diese Spaltungen usw. gehören ebenso wie die mehrfach erwähnten Oberflächenkräfte, obwohl sie keine Oxydation

an sich bewirken, sondern nur oxydationsfördernde Vorgänge sind, zur Zellatmung. — Zucker brachte *Warburg* nun dadurch in eine gewisse reaktionsfähige Form, daß er Fruktose in Phosphat löste. Es bildet sich dann eine Substanz, die Eisen katalytisch wirksam bindet.

Das Problem, Fette im Reagensglase durch Eisen angreifen zu lassen, wie es in der lebenden Zelle sicher geschieht, harrt ebenfalls noch der Lösung. Weniges ist insofern schon erreicht, als die in allen Zellen vorkommende Sulfhydrylgruppe imstande ist, wenn auch nicht tiefgreifende Oxydation im Atmungsröhrchen zu bewirken.

Das Wesentliche, was die Warburgschen Arbeiten brachten, ist eine weitgehende Klärung der Eiweißverbrennung der lebenden Zelle. Hier ist es wahrscheinlich das an Stickstoff gebundene Eisen, das den Sauerstoff überträgt, wobei der Valenzwechsel des Eisens im Mittelpunkt der Vorgänge steht. Ob dieser Wechsel aber erfolgt und wie schnell er erfolgt, hängt von der *Bindung des Eisens* ab. Warum das Eisen in der einen Bindung schnell, in der anderen langsam reagiert, ist ebensowenig erklärbar, wie die Geschwindigkeit irgendeines chemischen Vorganges. Der Mechanismus der chemischen Vorgänge ist unbekannt. — Bei der Frage nach der Natur des sog. *Atmungsfermentes* kommt es darauf an, wieweit man den Begriff der Atmung faßt. Auf den Begriff der Oxydation beschränkt, ist das Atmungsferment die Summe aller katalytisch wirkenden Eisenverbindungen der Zelle. Faßt man ihn weiter, so sind die physikalischen Oberflächenkräfte, oder z. B. bei der Zuckerverbrennung (Fruktoselösung in Phosphat) die Phosphorsäure, oder all die die Oxydation vorbereitenden Spaltungen und Kondensationen der Kohlehydrate, Eiweiße und Fette Bestandteile des Atmungsfermentes. Immer aber steht nach *Warburg* das Eisen im Mittelpunkt der ganzen Frage als der eigentlich sauerstoffübertragende Faktor.

In seinen Arbeiten der allerletzten Jahre suchte *Warburg*⁶⁷ offenbar und natürlicherweise die Bindung des Eisens, wie sie in der lebenden Zelle selbst vorliegt, festzustellen. Er hat dies mit einem Erfolg getan, der sich nicht messen kann mit der klassischen Schlüssigkeit und Beweiskraft seiner exakten Kohlemodellversuche, die ja wohl überhaupt zu dem Besten gehören, was die physiologische Wissenschaft aller Zeiten je hervorgebracht hat. Er befaßte sich bei diesen letzten Untersuchungen mit dem *Hämoglobin* und dem Einfluß des Kohlenoxyds auf das Hämoglobin und die Atmung. — Bekanntlich besteht Hämoglobin aus einer ungefärbten Eiweißkomponente, die bei den vorliegenden Untersuchungen nicht interessierte, und einer Farbstoffkomponente, einer Eisenpyrrolverbindung, in der das Eisen an Stickstoff gebunden ist. Das Eisen des Hämoglobins vereinigt sich in den Lungencapillaren mit dem Sauerstoff zu einer dissoziierenden Verbindung und gibt ihn in den Gewebscapillaren, wo der Sauerstoffdruck niedriger ist, wieder ab. Von hier

diffundiert der Sauerstoff in die Körperzellen, in denen er veratmet wird. Das Hämoglobin überträgt also den Sauerstoff von den Lungen zu anderen Stellen des Körpers, es kann aber nicht den Sauerstoff auf das organische Molekül übertragen. Hämoglobin ist kein Katalysator, sondern ein Transportmittel.

Wenn Liebig^{35, 67} 1843 die Theorie aufstellte, daß das Atmungsferment und Hämoglobin dasselbe sei (eine Annahme, die er bald wieder aufgab), so haben die neuesten Untersuchungen, besonders über das Verhalten des Hämoglobins Kohlenoxyd gegenüber, gezeigt, daß das Atmungsferment dem Hämoglobin zum mindesten nahe verwandt ist.

Läßt man Sauerstoff und Kohlenoxyd gleichzeitig auf Hämoglobin einwirken, so verteilt sich das Eisen des Hämoglobins zwischen Sauerstoff und Kohlenoxyd nach Maßgabe des Partialdruckes. Belichtet man Kohlenoxydhämoglobin, so wird es nach John Haldane^{21, 67} in Kohlenoxyd und freies Hämoglobin gespalten. Sauerstoffhämoglobin reagiert aber nicht auf Belichtung. Bei Belichtung ändert sich also die Verteilung des Eisens zwischen Sauerstoff und Kohlenoxyd. — Bringt man Hämoglobin im Dunkeln mit Sauerstoff und Kohlenoxyd zusammen ins Gleichgewicht und belichtet dann, so stellt sich ein neues Gleichgewicht ein, dessen Konstante größer ist als im Dunkeln. Dies ist eine ganz spezielle Eigenschaft des Hämoglobins; in der Chemie gibt es keinen anderen Fall reversibler photochemischer Kohlenoxydabspaltung. — Seit der Kenntnis der Wirkung des Kohlenoxyds auf das Hämoglobin (Claude Bernard^{12, 67}) galt das Kohlenoxyd als reines Blutgift und nicht als Gift, das auch auf andere Körperzellen wirkt. Allerdings treibt das Kohlenoxyd von einigen $1/_{1000}$ Atmosphären Druck, der Atmungsluft beigemischt, nur den Sauerstoff aus dem Hämoglobin aus; wächst aber der Kohlenoxyddruck auf eine Atmosphäre, so wird die Atmung der Körperzellen ebenfalls gehemmt, das Atmungsferment bildet eine dissoziierende Kohlenoxydverbindung. Erhöht man nun den Sauerstoffdruck, so wird die Atmungshemmung der Körperzellen wieder zum Verschwinden gebracht, das Kohlenoxyd wird also aus seiner Verbindung mit dem Atmungsferment durch Sauerstoff ausgetrieben. — Im allgemeinen besteht eine ähnliche Gleichung der Verteilung von Sauerstoff und Kohlenoxyd auf das Eisen des Hämoglobins wie auf das Atmungsferment. Auch für das Atmungsferment gilt der Satz: Bringt man Zellen im Dunkeln mit einem Kohlenoxyd-Sauerstoffgemisch zusammen ins Gleichgewicht, das die Atmung hemmt, und belichtet, so erscheint die normale Atmung wieder und verschwindet wieder beim Verdunkeln. Die Kohlenoxydverbindung des Atmungsferments dissoziert also genau so wie das Kohlenoxydhämoglobin im Licht. — Eine weitere sehr bemerkenswerte Beziehung zwischen dem Hämoglobin und dem Atmungsferment ergibt sich, wenn man durch Kohlenoxyd in ihrer Atmung gehemmte Körper-

zellen durch Licht gleicher Stärke aber verschiedenartiger Wellenlänge belichtet. Blau wirkt stark, grün und gelb schwächer, rot gar nicht. Da das Licht photochemisch nur dann wirkt, wenn es absorbiert wird, so folgt, daß das Atmungsferment (wie das Hämoglobin) in seiner Verbindung mit Kohlenoxyd ein gefärbter Stoff ist, und zwar wie das Kohlenoxydhämoglobin von roter Farbe. Obwohl nun die Menge des Fermentes in den Körperzellen zu klein ist, als daß man seine Farbe erkennen oder die Lichtabsorption messen könnte, so kann man also trotzdem die Farbe bestimmen. — Da nur Schwermetalle mit Kohlenoxyd bei gewöhnlicher Temperatur reagieren, so ist bei diesen zweifellos sehr lehrreichen Feststellungen die Schwermetalltheorie der Atmung neu bewiesen. — Aus all den Beziehungen, die sich aus den Kohlenoxydversuchen ergeben, schließt nun *Warburg*⁶⁷:

„Endlich ist aus der Häufung gleicher und spezieller Eigenschaften (von Hämoglobin und Atmungsferment; d. Verf.), die hier vorliegt, zu schließen, daß das Atmungsferment eine Eisenpyrrolverbindung ist, in der das Eisen wie im Hämoglobin an Pyrrolstickstoff gebunden ist. Nun existiert in den tierischen Zellen eine weitverbreitete, dem Blutfarbstoff verwandte Eisenpyrrolverbindung, das *Cytochrom*, die rot ist wie Hämoglobin.“

Das Cytochrom kann man nur spektroskopisch untersuchen und so oxydiertes von reduziertem Cytochrom unterscheiden. Sättigt man mit Sauerstoff, so oxydiert sich reduziertes Cytochrom. — Nun reagiert Cytochrom nicht wie Hämoglobin und das Atmungsferment, mit Kohlenoxyd, andererseits verhindert Kohlenoxyd die Reoxydation des Cytochrom, woraus folgt, daß das Cytochrom nicht autooxydabel ist. Es ist der schon aktivierte Sauerstoff, der das Cytochrom in der Zelle oxydiert, nicht der molekulare Sauerstoff.“ *Warburg* meint zum Schluß:

„Es ist möglich (gesperrt, d. Verf.), daß sie (die Eisenpyrrolverbindung, das Cytochrom; d. Verf.) in der Atmung als Peroxydase wirkt, indem sie aktivierten Sauerstoff auf das organische Molekül überträgt.“

Auf diese neuesten Forschungen ist etwas näher eingegangen worden, um zu zeigen, wie schwierig das ganze Problem zur Zeit vom physiologischen Standpunkte aus geworden ist und wie die Frage der Bindung des Eisens in der Zelle selbst nur sehr vermutungsweise der Lösung näher geführt erscheint. Jedenfalls ist von den bekannten Eisenpyrrolverbindungen der Zelle weder das Hämoglobin noch das Cytochrom die gesuchte Eisenbindung, in der das Schwermetall erst seine katalytische Fähigkeit gewinnt.

Nun ist man im allgemeinen zu der Ansicht gekommen, daß in der lebenden Zelle das einfache System: Eisenkatalysator, Brennort, Brennstoff, Sauerstoff nicht ausreicht, um die in der Zelle hauptsächlich vorhandenen Brennstoffe zu verbrennen. *Hopkins*^{24, 25} gelang es, einen die Sulphydrilreaktion gebenden Körper aus Hefe und Muskulatur zu isolieren und als Dipeptid der Cystein-Glutaminsäure festzustellen. Er wies nach, daß diese Verbindung zur Sauerstoffübertragung befähigt ist dadurch, daß sie bei geringer Verschiebung der Wasserstoffzahl um

den Neutralpunkt herum sich entweder in Gegenwart von Gewebe zum Disulfid oxydiert oder aber von Disulfid zum Ausgangskörper wieder reduziert wird. Dieses *Glutathion* ist in allen Zellen vorhanden und wirkt nach *Hopkins* als ein richtiger Katalysator (Koferment der Atmung). Es ist übrigens nicht bekannt, auf welchen Gewebesteil die Reduktion einmal oxydierter Glutathions zurückzuführen ist. Es liegt also hier ein autooxydables System in der Zelle vor, das vom Atmungsenzym unabhängig ist. Wesentlich ist nach *Hopkins*, daß das Glutathion den Sauerstoff auf ein kochbeständiges System der Zelle überträgt. Jedenfalls besteht die Tatsache: Kocht man Muskpulver mehrstündig mit Alkohol und extrahiert dann mit Äther, so beträgt nachher der Gesamtverbrauch von Sauerstoff nur noch einen kleinen Bruchteil der Anfangsgröße, manchmal ist er überhaupt nicht mehr nachzuweisen. Bestimmte Gründe lenken die Aufmerksamkeit auf die große Rolle, die die *Phosphatide* bei der Atmung spielen.

*Meyerhof*⁴⁰ führte nun folgende Versuche aus:

Extrahiert man Muskpulver mehrere Tage in der Kälte mit Alkohol-Äther und fällt dann mit Aceton, so enthält die Acetonfällung den überwiegenden Teil der Phosphatide. Stellt man hiervon eine Emulsion her, so nimmt die Emulsion für sich nicht erkennbar Sauerstoff auf. Das System Phosphatide + Thioglykolsäure verbraucht dagegen Sauerstoff in einer Menge, die das 10—15fache derjenigen beträgt, die der Übergang des Sulphydryl zum Disulfid erfordert. Im Prinzip ähnlich verliefen die Versuche statt mit Thioglykolsäure mit Cystein. Bei den Versuchen wurde Herzmuskelextrakt, das besonders reich an ungesättigten Phosphatiden, vor allem an Cuorin ist, verwandt. Ganz ähnlich verhielten sich die Versuche mit Lecithin (*Merck*). Und zwar zeigt sich beim Lecithin wirksam allein die Linolensäure, während die anderen Lecithinkomponenten wie die ungesättigten Fettsäuren oder sonst in Betracht zu ziehende Stoffe: Glycerin, Glycerinphosphorsäure, Cholin, Ölsäure, Ricinolsäure, Cholesterin, nucleinsaures Natrium, Aminosäuren unwirksam sind.

Wie gesagt, haben *Warburg* und *Meyerhof* gezeigt, daß reine Lecithinpräparate kaum merkbar Sauerstoff in der Versuchszeit aufnehmen. Durch Zusatz von 0,1—1 Millimol. Eisen wird die Oxydation 100 mal so schnell oder gesteigert. Das genaue Studium dieser Vorgänge durch *Warburg* zeigte ebenfalls, daß von allen Lecithinkomponenten und allen geprüften ungesättigten Fettsäuren (über 1 Dutzend) nur die Linolensäure das gleiche Verhalten wie Lecithin zeigt. — *Meyerhof* glaubt nun nachgewiesen zu haben, daß es bei der Sauerstoffübertragung der Systeme ungesättigte Phosphatide + Thioglykolsäure und ungesättigte Phosphatide + Cystein auf die *Sulphydrylgruppe* als übertragenden Faktor ankommt. Diese hier untersuchten Systeme haben nach ihm die große Ähnlichkeit mit dem System Eisen + Lecithin. Sie unterscheiden sich jedoch hauptsächlich dadurch, daß die oxydierte Verbindung nicht entsprechend dem Ferrisalz zur Sauerstoffübertragung befähigt ist. Bei spontaner Oxydation des S-H-Katalysators zum Disul-

fid hört die Sauerstoffübertragung auf! — Ebenso wie bei dem System Lecithin + Eisen verschwinden auch hier bei der Oxydation Fettsäuredoppelverbindungen. — Wenn also bei dem Glutathion *Hopkins* und dem Cystein *Meyerhofs*, nach deren Ansichten die Sulphydrilgruppe das Wesentliche der Sauerstoffübertragung ist, so schien es, als ob die Ansicht *Warburgs*⁶⁶, daß das Eisen der einzige sauerstoffübertragende Faktor der Zelle sei, nicht mehr zuträfe. *Warburg* wies nun nach, daß es sich auch bei dem Cystein um eine Eisenkatalyse handelt. Er konnte durch langdauernde Reinigung des Cysteins in Quarzgefäßen ein Präparat gewinnen, das nicht mehr oder in kaum noch in Betracht kommenden Mengen Sauerstoff übertrug. — Deswegen behält nach *Warburg* die Sulphydrilgruppe immer noch ihre große Bedeutung, weil das Eisen durch Bindung an sie eine besonders große Reaktionsfähigkeit zu gewinnen scheint. Eisen, an die Sulphydrilgruppe gebunden, reagiert 10 mal schneller als das Eisen der Häminkohle. Daß im allgemeinen die Wirkungen, die man in dieser Bindung des Eisens im Reagensglas bei der Oxydation der Fettkörper gewinnt nach *Warburg* unbedeutend sind, spricht seiner Ansicht nach nicht dagegen, daß diese in der lebenden Zelle tiefgreifender sich gestalten.

Wichtig erscheint nun, daß weder in dem System Lecithin + Thioglykolsäure, noch in dem System Linolensäure + Thioglykolsäure, noch in dem System Lecithin (Linolensäure) + Cystein Kohlensäure als Endprodukt gebildet wird, obwohl Sauerstoff in erheblichem Maße, wie wir oben gesehen haben, verbraucht bzw. absorbiert wird. Dies scheint mir ein sehr wichtiger Gegensatz zu dem System Stickstoff-eisen + Aminosäuren zu sein, in dem das katalytische Eisen eine richtige Verbrennung im Sinne der Kohlensäureabgabe und der Bildung von Ammoniak und Schwefelsäure bewirkt. Offenbar wirkt das System S-H-Gruppe (des Glutathion bzw. Cystein) + ungesättigte Phosphatide im Sinne der *Affinitätssteigerung* der Phosphatide, also der *Lipoide zu Sauerstoff*.

Während in dem Vorhergehenden im wesentlichen der Mechanismus der Eiweißoxydation im Kohlemodell bzw. die Eiweißverbrennung in der lebenden Zelle, die durch *Warburgs* Untersuchungen auffallend weit geklärt erscheint, erörtert wurde, soll im Nachfolgenden besprochen werden, an welche Strukturteile nach *Warburgs* Ansicht die Funktion der Atmung gebunden ist. Es ist hier gar kein Zweifel, daß, dadurch daß der Physiologe nach allen seinen Äußerungen, die das histologische Gebiet betreffen, zu wenig Histologe war, der Fortschritt der ganzen Untersuchungen eine gewisse Hemmung erfahren hat. — Im Kohlemodell ist die funktionstragende Struktur das Kohleteilchen der Häminkohle in der wässerigen Aminosäurelösung. In der lebenden Zelle ist es, wie *Warburg*^{62, 63} sich ausdrückt, das *Körnchen*, also das Granulum. *War-*

burgs Untersuchungen befassen sich sowohl mit dem Seeigelei als auch mit dem der Säugetierleber. Es wurde beim Seeigelei von *Warburg* ein Verfahren angewandt, daß von den Eiern die Hüllen, Gallerthüllen oder Befruchtungsmembranen entfernt werden und dann zu einem dichten Sediment zusammen zentrifugiert werden. Beim Schütteln fließt die Masse zusammen, wobei reine „Körnchenemulsionen“ entstehen. Der Sauerstoffverbrauch wurde in 1,5—2,0 Eisuspension nach *Warburg-Siebeck* bestimmt. Das Volumen der Schüttelgefäße, in denen die Druckverminderung auftrat, war etwa 11 ccm. Der Sauerstoffverbrauch wurde am *Barkroftschen* Manometer gemessen. Die Kohlensäurebildung wurde festgestellt als Differenz der abgegebenen + präformierten weniger der präformierten Kohlensäure. — Bei diesen Versuchen am Seeigelei zeigte sich nun, daß *der größte Teil der Atmung an abzentrifugierbare Körnchen gebunden ist*.

Ganz die gleichen Ergebnisse wurden für die Atmung der Leberzelle der höheren Tiere festgestellt. *Warburg* nimmt an, daß es sich bei diesen Körnchen um *vorgebildete intracelluläre Körnchen* bzw. *Granula* handelt, wobei er schon damals auf die von *Gierke* ausgesprochene Meinung hinweist, daß das durch oxydative Synthese intracellulär entstehende Indophenol besonders in den Granula der Zelle erscheint. *Warburg* erwähnt weiter, daß nach *A. van Herweden*^{22, 63} auch im Seeigelei das durch Oxydation entstehende Indophenolblau in den Granula auftrete, was wahrscheinlich mache, daß die Oxydation vorwiegend an oder in den Granula vor sich gehe. Aus all diesen Befunden geht wohl zwanglos hervor, daß es sich bei den Warburgschen Körnchen um die vorgebildeten, die *Altmannschen* Granula handelt.

Hiermit kommen wir zum zweiten Abschnitt der vorliegenden Abhandlung, den Beziehungen zwischen geweblichem Bau und Zellatmung.

II. Histologie.

Im Gegensatz zur physiologischen Betrachtungsweise über den Bau der Zelle unterscheiden wir histologisch drei wesentliche Bestandteile: den *Zelleib*, den *Zellkern* und das *Zentralkörperchen*. Die Membran gehört dagegen nicht histologisch zum Wesentlichen der Zelle, da man sie bei den meisten tierischen Zellen nicht nachweisen kann. — Für die vorliegenden Erörterungen oxydativer Vorgänge der Zelle kommt praktisch nur der Bau des *Protoplasmas* in Frage. — Histologisch haben sich im Laufe der Zeit 4 Hauptansichten über die Struktur des Zelleibs gebildet: *Fromann*, *Schmitz* und *Leydig* nehmen einen spongiösen Bau an, *Bütschli* eine Wabenstruktur, *Flemming* spricht von Fäden und Zwischenfadensubstanz und endlich *Altmann* stützt sich auf den Nachweis von kleinen kuglichen Gebilden, die er als *Granula* bezeichnet. Sie sind nach ihm die eigentlichen Elementarorganismen oder Bioblasten

der Zelle und das Protoplasma ist nicht als eine Kolonie dieser Gebilde, deren einzelne Elemente in Gruppen oder Fäden durch eine gallertige Ausscheidungsmasse voneinander getrennt und zugleich miteinander verbunden sind (*Rauber*). Die Granula sind nach neueren anatomischen Untersuchungen ebenso wie der Kern und das Zentralkörperchen *beständige Teile* der Zelle.

Wohl allgemein angenommen ist anatomischerseits die Theorie, daß das Protoplasma eine wabige Struktur mit Einlagerung von Granula besitzt. Kern und Kernkörperchen sowie die Granula scheinen Strukturen zu sein, ebenso natürlich das Zentralkörperchen, die verhältnismäßig beständig sind im Gegensatz zu den sie umgebenden Eiweiß und anderen Körpern der protoplasmatischen Substanz, die sich in einem steten Wechsel des An- und Abbaues befindet. Diese Ansicht kommt auch zweifellos der physiologischen Betrachtungsweise, wie sie oben skizziert wurde, am nächsten.

Histologisch lassen sich nun mit großer Genauigkeit die Strukturen der Zelle, an oder in denen oxydative Prozesse vor sich gehen, feststellen, die wir als Zentralpunkte für die beschleunigte Oxydation der sonst Sauerstoff gegenüber beständigen Eiweiß- und anderer Körper (Fette und Kohlehydrate) betrachten müssen. Diese histologischen Reaktionen der Sauerstoffübertragung, der *Oxydasen*, sind die bekannten Oxydasereaktionen. Für die Oxydasen und Peroxydasen sind die verschiedensten Bezeichnungen im Schrifttum angegeben worden: *Unna*^{59, 38} nennt sie Sauerstofforte, *Gräff*³⁸ spricht von einem oxydationsbeschleunigenden Agens, *Raciborski*^{46, 38} nennt die pflanzlichen Naphtolperoxydase Lep-tomine, *Löle*³⁸ hat die Bezeichnung „phenolbindende Substanz“ vorgeschlagen und die ganze Gruppe Aldamine bezeichnet, um die Wichtigkeit der Stickstoff- und Aldehydgruppen für den Ausfall der Reaktion hervorzuheben. Im allgemeinen hat *Neumann*⁴³ sehr recht, wenn er sagt, daß unserer Kenntnisse von dem tieferen Wesen des tierischen, oxydativen Prinzips recht dürftige sind, daß dies auch von allen Forschern zugegeben wird. Von den Sauerstofforten der Zelle kommt wohl der Kern, soweit sich histologisch feststellen läßt, für die An- und Abbauvorgänge der umlaufenden Nähr- und Brennstoffe nicht so sehr in Frage. Immerhin hat *Unna*^{59, 36} nachgewiesen, daß die eigentliche Kernsubstanz oxydierende Fähigkeiten insofern besitzt, als sie das Vermögen hat, aus durch Reduktion des Methylenblaus entstandenem Methylenweiß durch Oxydation wieder Methylenblau zu bilden. Gewebsfriesschnitte weisen, in Methylenweißlösungen gebracht, an der Luft bald eine Bläbung der Kerne auf.

Der Hauptoxydationsort ist dagegen der Zelleib.

Es kann an dieser Stelle nicht auf das ganze große Gebiet der tierischen Zelloxydasen eingegangen werden. Den vorliegenden Unter-

suchungen liegt aus der Zahl der verschiedenen Oxydasereaktionen die intracelluläre Indophenolblausynthese-Reaktion zugrunde. Es soll versucht werden, aus der Unsumme der Theorien und Kleinarbeiten, die sich an die Erkenntnis der Oxydase geknüpft haben (*Katsunuma*²⁸ gibt in seinem mit japanischer Genauigkeit verfaßten Buche über die intracelluläre Indophenolblausynthese allein 18 Seiten Schrifttum an!), das herausgeschält werden, was wir wirklich wissen.

Durch *F. Winkler*⁶⁹ wurde die intracelluläre Indophenolblausynthese-Reaktion in die Histochemie eingeführt, durch *W. H. Schultz*^{51, 52}, *Gierke*¹⁹, *Gräff*²⁰ u. a. wurde sie weiter ausgebaut. Die Reaktion besteht im wesentlichen darin, daß Gefrierschnitte, die in eine Mischung von einer 1 proz. alkalischen a-Naphtollösung und einer 1 proz. Dimethyl-paraphenyldiaminbasenlösung (die Mischung ist fast klar, hat nur einen leicht violettbräunlichen Farbenton) gebracht werden, in kürzester Zeit in bestimmten Zellarten zahlreiche tiefblau gefärbte Granula aufweisen. Diese Blaufärbung entsteht dadurch, daß durch Einwirkung von aktiviertem Sauerstoff Indophenolblau entsteht, und zwar muß man annehmen, daß das präformierte Granulum der Ort der Sauerstoffübertragung ist. Unter dem Mikroskop kann man die fortschreitende Bläbung der schon vorher sichtbaren Granula verfolgen. Diese Blaufärbung wurde von *Winkler* und *Schultz* an allen reifen und unreifen Zellen der myeloischen Leukocytenreihe und an den Zellen der Tränen- und Speicheldrüsen festgestellt, während sie in allen anderen Körperzellen fehlten, d. h. nicht nachweisbar waren. Zu den wenigen — im Verhältnis zu den großen mit Veröffentlichung der *Virchowschen „Cellularpathologie“* einsetzenden Aufschwung der 50er und 60er Jahre des letzten Jahrhunderts — bedeutenden, ausgesprochen tatsächlichen Erkenntnissen auf pathologisch-anatomischem Gebiet der letzten Jahre gehört in erster Linie der Nachweis, den *Gierke*¹⁹ erbrachte, daß auch die präformierten Granula der verschiedensten Körperzellen die Fähigkeit der Indophenolblausynthese besitzen, wenn man auf jegliche Fixierung der Gewebe verzichtet und das Alkali der *Winkler-Schultzeschen Flüssigkeit* vermeidet und Lösungen der beiden Reagentien in physiologischer Kochsalzlösung verwendet. Seit diesem Befunde unterscheidet man *stabile* und *labile* Oxydasen. Jene sind außerordentlich beständig, die Reaktion läßt sich selbst an jahrelang formolfixierten Geweben ausführen und dann noch, wenn man die Schnitte mit Alkohol entfärbt, wieder wässert, beliebig oft fast wiederholen. Die labilen Oxydasen dagegen sind äußerst unbeständig, sie werden von den verschiedensten Umständen grundlegend beeinflußt (Alter, Krankheitszustand, Funktionsgröße, Autolyse, Temperatur, Medium [p_H des Substratsaftes] Trypsineinwirkung, Säuren und Alkalien usw.). Worauf der Unterschied von labiler und stabiler Oxydase beruht, ist bis jetzt nicht nach-

gewiesen. Eine Theorie, die wohl erschüttert ist, meint, daß die stabilen Oxydasen deswegen stabil sind, weil hier eine hypothetisch schützende Lipoidhülle des Granulums eine Rolle spielt. Die stabilen Oxydasen finden sich in neutro- und eosinophilen Leukocyten, Übergangszellen und teilweise auch an den Einzelligen, den Zellen der Speichel- und Tränen-drüsen und den Syncitialzellen, die labilen Oxydasen in den meisten Körperzellen; frei scheinen sicher die Lymphocyten des Blutes zu sein. Vernichtet werden beide Oxydasearten durch schwache Säuren, durch Kochen und durch Blausäure. Diese Eigenschaften sind der stabilen wie der labilen Oxydase gemeinsam.

Warburgs physiologische Arbeiten haben zweifellos die histologische Forschung der letzten 7 Jahre stark beeinflußt, ohne eigentlich zu neuen Erkenntnissen von richtunggebender Bedeutung die Histologie befruchtet zu haben. — So befaßte sich Gräff²⁰, dem wir wertvolle Arbeiten auf dem Gebiet der Oxydase verdanken, mit der für jede Art von Fermentwirkung sehr wichtigen Frage der Wasserstoffionenkonzentration von Substratsaft und Gewebe. Er fand, daß das Wirkungsoptimum der Oxydasereaktion für die tierische Zelle auf der schwach alkalischen Seite, für die Pflanze auf der schwach sauren Seite liegt. Für Muskel, Herzmuskel, Niere, Leber stellte er das Optimum um p_H 8—9, für die pflanzliche Zelle um p_H 3—6 fest. Er kommt ferner zu dem Schluß, daß, obwohl er einen Beweis nicht erbringen konnte, sein „oxydationsbeschleunigendes Agens“ der Eisenkatalysator Warburgs sei. Das Verhalten Blausäure gegenüber läßt ja einen anderen Schluß wohl kaum zu. — Sehr eingehend befaßte sich Katsunuma in seinem Buche mit der Indophenolblausynthese der tierischen und pflanzlichen Zelle. Seine Arbeiten gipfeln in dem Versuche, das katalysatorische Eisen, das Funktionseisen, nachzuweisen und so den Zwiespalt zwischen dem Ergebnis der chemischen Untersuchung des Gewebes und der histochemischen Untersuchung zu beseitigen. Während sich das aus dem Blute stammende Zerfallseisen natürlich seit je gut histologisch nachweisen läßt, ist dies bei dem „Funktionseisen“, das sich in jeder Zelle befindet, nie möglich gewesen. Er stellte neben den histologischen auch immer rein chemische Untersuchungen auf Eisen an und konnte im normalen Gewebe 90—30 mg Eisen in 100 g fetthaltigen, trockenen Substanzen durchschnittlich nachweisen. Um dies histologisch nicht darstellbare Eisen nachweisen zu können, bediente er sich vor allem des nichtfixierten Materials, bei dem er sowohl die Berlinerblaureaktion, wie die Schwefelammoniummethode, die Turnbullblau- und die Rhodankaliummethode anwandte. Es gelang ihm eigentlich nur an zwei Zellarten etwas nachzuweisen, was einerseits sicher Eisen ist, auf der anderen Seite der Art und Verteilung der Oxydasegranula entspricht: einmal in der Muskulatur der Scheide der schwangeren Frau, das andere Mal in den Pur-

kinjeschen Ganglienzellen des Kleinhirns des Menschen. Nicht gelang es ihm bei den Hauptvertretern, weder der stabilen noch der labilen Oxydase, den neutrophilen Leukocyten und der Herzmuskelzelle. — Es ist gar kein Zweifel, daß das mikroskopische Bild der Scheidenmuskulatur sehr überzeugend ist, während dies von der Ganglienzelle nicht gesagt werden kann. *Katsunuma* gibt an, daß das Verhalten dieser unfixierten supravitalen Eisenreaktion gegen Autolyse, Salzsäure, Blausäure und Wasser im allgemeinen fast gleich ist, wie das der Indophenolblaureaktion. Ob *Katsunuma*²⁸ nicht vielleicht etwas zu weit geht, wenn er sagt, daß er glaube, durch seine histologischen Befunde die Beziehungen zwischen Gewebseisen und Indophenolblaureaktion histochemisch sichergestellt zu haben, lasse ich dahingestellt. Jedenfalls nimmt er an, daß die intracelluläre Indophenolblausynthese als ein histochemisch vorzüglicher Maßstab der intracellulären Oxydationsvorgänge mittels des Eisenkatalysators dient. Sehr wichtig ist, daß *Katsunuma* betont:

„Das Eisen ist intracellulär an die Zellgranula (vielleicht an die Plasmosomen) gebunden, und zwar als Funktionseisen (Gewebseisen, Histosiderin) sehr verbreitet in den Geweben. Es wirkt wahrscheinlich als Sauerstoffüberträger.“ Auch für *Katsunuma* ist es zweifellos sicher, daß die Oxydasegranula *präformierte* Granula sind. Er nimmt jedoch an, daß es sich um supravitale Granula, nicht um die vital sich färbenden (also nicht um die Altmannschen ?) handelt. Die Namengebung ist insofern etwas verwirrend, als wir anatomisch die Granula, die wir am Gefrierschnitt des nicht fixierten Gewebes mikroskopisch feststellen können, als vitale Granula bezeichnen. Diese Granula sind dieselben wie die Altmannschen Granula, deren Gleichheit mit den Chondriosomen oder Plasmosomen anatomischerseits als höchst wahrscheinlich bezeichnet wird.

Während im Laufe der Zeit die meisten der außerordentlich zahlreichen Arbeiten über die Oxydasereaktion Klärung zu bringen suchten in das biochemische Geschehen der intracellulären Indophenolblaubildung, wurde eigentlich die Frage nach der chemischen Natur der Oxydasegranula, die doch die eigentlichen Träger der Fähigkeit, Oxydase zu bilden, sind eigentlich nur im Anfange gestreift, als *Dietrich*^{14, 15} einen Zusammenhang zwischen Indophenolblausynthese und Fettfärbung annahm. Er behauptete, daß wohl der Farbstoff in der Zelle durch Sauerstoff entstehe, daß er, da er ein guter Fettfarbstoff sei, nun aber die in der Zelle vorhandenen Fettröpfchen färbe. *Schultze* erledigte diese Ansicht mit der Feststellung, daß Fett sich niemals blau, sondern immer rötlich färbe. — *Dietrich* nimmt zuletzt einen vermittelnden Standpunkt ein, wenn er sagt, daß immer noch die Möglichkeit ist, daß das Naphtolblau ein feineres Reagens auf die in allen Granula wenigstens als Ober-

fläche anzunehmenden Lipoidstoffe darstellt. Hier stellt er also einen Ort der Fermentwirkung dem der Färbung gleich.

Überhaupt seit *Virchow* hat man immer wieder an die fettartige Beschaffenheit wenigstens der Granula der neutro- und besonders der eosinophilen Zellen gedacht, ohne daß je eine Fettfärbung der Granula gelungen wäre, mit Ausnahme der eosinophilen Zellen, an denen 1913 *H. Müller*⁴¹ durch die Lorrain-Smithsche Färbung eine lipoide Hülle nachgewiesen zu haben glaubt. Überhaupt beeindruckt die von dem Physiologen *Overton*^{44, 10} hauptsächlich betonte Gegenwart einer lipoiden Membran der Zelle stark die histologisch spekulativen Überlegungen, ohne daß es je gelungen wäre, am roten Blutkörperchen oder sonst wo eine solche Membran nachzuweisen. — Der Erste, der sichere chemische Befunde brachte, war *Neumann*⁴³ (1926). Er stellte fest, daß die eosinophilen Granula einen Lipoidkörper enthalten, der beim Pferde wenigstens den eigentlichen, formgebenden Kern des Granulums darstellt und der nur unter besonderen Bedingungen, vor allem bei Behandlung mit schwachsalszaurem, wasserarmem Alkohol abgespalten werden kann. *Neumann* nimmt die aktive Beteiligung des Lipoids dieser Granula an dem Oxydationsprozeß an, da eine Isolierung dieser Lipoidsubstanz nicht ohne Zerstörung des oxydativen Prinzips des Granulums möglich war. *Neumann* kommt zum Schluß, daß es sich bei dem Lipoid der alpha-Granulation um eine phosphorhaltiges Lipoid handelt.

Die vorliegenden Untersuchungen, die schon in das Jahr 1924 zurückreichen, befassen sich nun mit der Frage, welch chemischer Stoff den Hauptteil der Oxydasegranula der *stabilen* und der *labilen* Oxydase ausmacht. Und zwar wurden die beiden Hauptvertreter der stabilen wie der labilen Oxydase zur Untersuchung herangezogen, das Granulum der weißen Blutzellen der myeloischen Reihe und das Granulum der Herzmuskelzelle von Säugetier und Mensch.

In bezug auf die Untersuchung des stabilen Oxydasegranulums verweise ich auf meine früheren Arbeiten^{53, 54} und fasse nur folgendes zusammen: Durch sechs Methoden gelingt es, den lipoiden Charakter des Granulums der weißen Blutzellen nachzuweisen, von denen ich die erste Hauptmethode hier anführe:

Hauptmethode.

Vorbedingung bei dieser Cuvettenfärbung ist, daß mit der peinlichsten Sauberkeit vorgegangen wird, daß z. B. die Sudanlösung bei jedem neuen Einlegen der Präparate immer wieder filtriert wird, daß man jede Erhitzung der Objektträger z. B. bei der Kernfärbung vermeidet. Hier sei erwähnt, daß man die einmal gebrauchte Sudanlösung, wenn sie filtriert ist, mehrere Male verwenden kann.

1. Gutes, gleichmäßiges Ausstrichpräparat, lufttrocken.
2. Einlegen in 68 proz. Alkohol (spez. Gew. 0,8955) $\frac{1}{2}$ Minute.
3. Einlegen in eine Cuvette einer gesättigten Lösung von Sudan III in 68 proz. Alkohol, 3—4 Stunden. (Man verwende von den ungleichmäßigen *Grüblerschen* Präparaten nur den tiefdunkelrotbraunen Farbstoff.)

4. Alkohol, 68 proz., 15 Sekunden.
5. Abspülen in Wasser, 1—2 Minuten.
6. Färben in Delafieldscher Hämatoxylinlösung, 1 Minute.
7. Abspülen in Wasser.
8. Einlegen in Petrischale von 40 ccm Wasser und 5 Tropfen frischen Salmiakgeist, $\frac{1}{2}$ Minute.
9. Abspülen in Wasser.
10. 68 proz. Alkohol, $\frac{1}{4}$ Minute.
11. Einlegen in filtrierte Sudanlösung, 3—4 Stunden.
12. 68 proz. Alkohol, $\frac{1}{4}$ Minute.
13. Abspülen in Wasser.
14. Nachfärben mit alter Delafieldscher Hämatoxylinlösung, 3 Minuten.
15. Einlegen in Petrischale mit 40 ccm Wasser und 5 Tropfen Salmiakgeist, 1 Minute.
16. Abspülen in Wasser.
17. Glyceringelatine.

Die Ergebnisse der Sudanfärbung sind nun im wesentlichen folgende:

Die neutrophilen Leukocyten weisen einen tiefdunkelblauen Kern mit deutlicher Kernstruktur auf. Der Zelleib ist prall gefüllt mit scharf umrissenen Körnern, die in Größe, Form und Aussehen völlig mit den durch die üblichen Färbungen kenntlichen Granula der neutrophilen Leukocyten übereinstimmen. Die Granula zeigen ein tiefdunkles Rot, das teilweise mit einem tiefen Gelbrot, teils mit einem helleren Rotgelb abwechselt, wobei aber bei allen Granula die leuchtend rote Farbe in den Vordergrund tritt. Leider lassen sich diese leuchtenden Farben im Bilde nicht wiedergeben. Der Kern ist nicht von Granula überlagert, sondern in die Granulamasse eingelagert. Wichtig ist nun die Verteilungsart der Granula in den einzelnen weißen Blutkörperchen. Bei weitem die größte Anzahl ist prall gefüllt mit Granula, sodann folgt ein kleiner Teil, der leichte Lücken in der Granulamasse aufweist. Als dritte Gruppe fanden sich Leukocyten mit wenig Granula, und zwar sind diese in Häufchen entweder dicht um den Kern oder verstreut im Zelleib angeordnet. In den Häufchen liegen die Granula besonders dicht gedrängt, so daß sehr lehrreiche Bilder entstehen. Die letzte Gruppe, die praktisch kaum in Betracht kommt, und nur häufiger sich bei Infektionskrankheiten findet, ist frei von Granula.

Die *eosinophilen* Zellen fallen besonders deutlich auf und unterscheiden sich scharf von den neutrophilen, so daß man, wenn man auch keine große Übung in der Beurteilung dieser Sudanblutbilder hat, sofort die eosinophilen Zellen erkennt. Die bläschenförmigen alpha-Granulationen zeigen ein viel helleres, sehr leuchtendes Gelbrot. Kleinere, kompaktere Körnchen (Lipoidstoffe anderer Art) konnten in den eosinophilen Zellen nicht nachgewiesen werden. Nicht selten finden sich zerquetschte Zellen. Hier liegen die leuchtend roten bläschenförmigen alpha-Granulationen neben dem zerrissenen Zelleib zerstreut.

Die *Übergangszellen* weisen im ganzen weniger und spärlichere Granula in ihrem Zelleib auf. Form und Größe gleichen ganz derjenigen der neutrophilen Leukocyten. Auch in der leuchtend roten Farbe ähneln sie ihnen. Ganz besonders auffallend ist nun die Lokalisation der Granula. Gar nicht selten findet sich bei den Übergangszellen mit ausgesprochen nierenförmigem Kerne die Hauptmasse der feinen roten Körnchen in die Einbuchtungsstelle lokalisiert, wo sie dichtgedrängt liegen. Im übrigen erscheint der Zelleib wie mit roten Granula bestäubt. Auffallend ist, daß 39% der Übergangszellen von Granulationen frei sind. (Durchschnitt von ca. 100 Krankheitsfällen.) Das Verhalten der *Mastzellen* konnte am besten am leukämischen Blut, das ja mehr Objekte bietet, studiert werden. Hier finden sich zwei Arten von Granula, einmal solche, die ganz denen der neutrophilen in Größe, Form und Aussehen und Farbe gleichen und dann die plumpen leuchtend roten, klumpigen Granula, die ja auch im anders gefärbten (*May-Grünwald*) Präparat sofort in die Augen fallen. Die *Mononucleären* weisen neben dem tiefblau gefärbten Kern den Zelleib prall gefüllt mit leuchtend roten Granula vom Aussehen der neutrophilen auf. 6% sind granulafrei, bei Ausscheidung der Infektionskrankheiten 0%.

Ganz anders wie die beschriebenen weißen Blutzellen verhalten sich alle Lymphocytenarten. In Tausenden von genau untersuchten Zellen waren die großen wie die kleinen Lymphocyten von jeglicher Granulabildung frei. Die beschriebenen Lipoidgranula der Blutzellen der myeloischen Reihe sind unlöslich in: kaltem Alkohol, kaltem Aceton, siedendem Aceton (56°), Äther (in der Kälte), Benzin (in der Kälte), Chloroform (in der Kälte); leicht löslich in: Xylool, heißem Alkohol absol.; etwas löslich: bei sehr lange dauernder Acetonwirkung.

Nach ihren Lösungsverhältnissen, die im wesentlichen denen der gesättigten Phosphatide und Cerebroside entsprechen, ist zu schließen, daß die Lipide der weißen Blutzellen diesen Lipoidgruppen angehören.

Sudan- und *Oxydasegranula* sind dasselbe.

1. Weil sie morphologisch gleich sind.

Ein Unterschied im morphologischen Verhalten beider Granula ist nicht nachweisbar. Besonders auffällig ist u. a. bei beiden Färbungen die Lokalisation der Granula auf die Einbuchtungsstelle der nierenförmigen Kerne der Übergangszellen. Ebenso entspricht auch das Verhalten der Sudangranulation von Monocyten und Übergangszellen ganz dem der Oxydasegranula beider Zellarten (6 bzw. 0% der Monocyten und 39% der Übergangszellen sind sudannegativ, weil sie wahrscheinlich lymphatischen oder histocytischen Ursprungs sind).

2. Weil Menge und Verteilungsart beider Granulaarten in den neutrophilen Leukocyten übereinstimmen.

Naegele⁴² gibt folgende 4 Gruppen für die Oxydasegranulation der neutrophilen Leukocyten an:

I. Gruppe: Neutrophile ohne Granula.

II. Gruppe: Neutrophile mit Gerippe an 2—3 Stellen Granula.

III. Gruppe: Leichte Granulationslücken.

IV. Gruppe: Neutrophile mit vielen Granula.

Für die Norm: Gruppe IV 98%

Gruppe III 11%

Bei Infektionskrankheiten sollen die Gruppen I und II erscheinen, was sogar prognostisch verwandt werden könne.

Die Prozentzahlen der Sudangranulationen (deren Betrachtung im Laufe der Zeit ohne Kenntnis der Nägelischen zur gleichen Einteilungsweise führte) ergaben:

Gruppe I 2,084 %

Gruppe II 1,395 %

Gruppe III 16,410 %

Gruppe IV 80,147 %

Die Zahlen verschieben sich bei der Ausscheidung der Infektionskrankheiten und der abzehrenden Erkrankungen im Durchschnitt der 100 beobachteten Krankheitsfälle auf:

Gruppe I 0,942 %

Gruppe II 0,000 %

Gruppe III 15,557 %

Gruppe IV 83,550 %

Beim sog. Normalen fand sich im allgemeinen:

Gruppe IV 90—91 %

Gruppe III 9—10 %

Die fast völlige Parallelie liegt auf der Hand. Die Unterschiede in den Zahlen liegen durchaus innerhalb der Fehlergrenzen solcher Beobachtungen.

3. Weil das Verhalten der Lymphocyten als indirekter Beweis gelten kann.

4. Weil nach Einwirkung fettlösender Mittel sich Sudan- und Oxydasereaktion völlig gleichlaufend verhalten.

Xylo- und Heiß-Alkoholbehandlung heben beide Reaktionen auf, während die anderen fettlösenden Mittel keinen Einfluß haben. Ganz interessant und folgerichtig ist es jedoch, daß die Oxydasereaktion bei den Präparaten, die mit kochendem Aceton vorbehandelt sind, schwächer ausfällt als die Sudanreaktion. Offenbar wirkt die höhere Temperatur, Aceton siedet bei 56°, auf die Sauerstoffübermittlungsfähigkeit (allgemein gesprochen) des Lipoides schon etwas ein, während noch höhere Temperaturen sie ja zerstören, ebenso wie das Lipoid selbst (Kochen). Man muß also annehmen, daß die Sauerstoffverhältnisse bei Temperaturen schon gestört sind, bei denen das Lipoid selbst noch keine nachweisbaren Schädigungen aufweist.

Sehr schwierig gestaltete sich der Nachweis, daß auch den *labilen* Oxydasegrana ein lipoider Stoff als wesentlicher Bestandteil zugrunde liegt. Als Untersuchungsobjekt diente der hervorragendste Vertreter der labilen Oxydase, die *Herzmuskelzelle* von Säugetier und Mensch. Bei der Sudanfärbung der Lipide kommt es auf verschiedene Umstände an. Während das Neutralfett und die meisten Cholesterinester sich in Sudanlösungen von 70—80 proz. Alkohol anstandslos färben,

ist es seither nicht möglich gewesen, wie *Kutschera-Aichbergen*³³ erwähnt, die Phosphatide und Cerebroside mit Sudan zu färben und die Unstimmigkeit, die zwischen den Ergebnissen der chemischen Untersuchung und der histochemischen Feststellung besteht, histologisch zu beseitigen. Er kommt zum Schluß, daß nur die primäracetonlöslichen Lipoide der histologischen Darstellung zugänglich sind, daß dagegen die primäracetonunlöslichen, erst durch Äther und Alkohol (meist in der Hitze) extrahierbaren Lipoide durch keine einzige Lipoidfärbung dargestellt werden können. Nach seiner Ansicht kann also nach der histologischen Untersuchung allein kein Urteil über die acetonunlöslichen Lipoide (Lecithin, Kephalin und die Cerebroside) abgegeben werden.

Ich glaube, in dieser straffen Fassung trifft dies Urteil nicht das Richtige, wenn es auch im allgemeinen seither wohl zugetroffen haben mag.

Bestimmte Lipoidfärbungen oder gar besondere Farbtönungen dieser Färbungen für das Vorliegen irgendeines Lipoids anzuführen, ist abwegig. Meistens liegen Lipoidgemische im Organismus vor. Auch der negative Ausfall einer Lipoidfärbung läßt im Grunde nicht einmal den Schluß zu, daß kein Lipoid vorliegt. Denn die Färbbarkeit hängt weitgehend von der Löslichkeit des Lipoids ab. Ist sie leicht, gelingt die Färbung, ist sie schwer, gelingt sie nicht.

Die ganze Frage der Lipoidlöslichkeit wird von dem wohl hervorragendsten Kenner der Lipoide, *Ivar Bang*¹⁰, scharf beleuchtet, indem er z. B. über die Löslichkeit der wichtigsten Lipoide, der Phosphatide ausführt (nachdem er auf die große Hinfälligkeit dieser Stoffe, auf ihre Autoxydabilität, ihre Empfindlichkeit gegen Salze, Alkalien und Wasser, ihre Widerstands unfähigkeit gegen Wärme, die sie leicht zerstört, hingewiesen hat):

„Drittens kann die Gegenwart anderer Körper die Löslichkeitsverhältnisse der Phosphatide ganz erheblich verändern. Es ist demgemäß gar nicht gesagt, daß ein Darstellungsverfahren, das sich für gewisse Organe bewährt hat, nun auch allgemeine Gültigkeit besitzt; im Gegenteil: man muß für jedes bestimmte Organ erst die Versuchsbedingungen ausprobieren. Auch kann dasselbe Organ unter wechselnden Verhältnissen sich recht verschieden verhalten. Nicht unwahrscheinlich ist, daß bei tierischen Organen ähnliche Verhältnisse vorliegen; der Ernährungszustand, das Alter, der Tätigkeitszustand usw. können sehr wohl einen Einfluß ausüben. — Die Phosphatide kommen schließlich in den Zellen mit anderen Körpern verbunden vor und es ist bisweilen schwer, sie aus diesen Verbindungen zu lösen.“ Hier sei nur kurz bemerkt, daß *Katsunuma* ganz ähnliche Momente für die schädigenden Einflüsse, die auf die labile Oxydase wirken, geltend macht (Alter, Funktionszustand usw.). In einer Monographie über die Lipoide der weißen Blutzellen habe ich aus dem *Bangschen* Werke eine Tabelle über die Löslichkeit der reinen Lipoide zusammengestellt und verweise auf sie.

Der *Mechanismus der Sudanfärbung* hängt von fünf Hauptumständen ab, und zwar sind dies 1. die Affinität des Fettfarbstoffes zu dem seines

Lösungsmittels (Alkohol usw.), 2. die Löslichkeit des lipoiden Stoffs in diesem Farbstofflösungsmittel, 3. die Löslichkeit von Sudan III in dem betreffenden, zu färbenden Lipoid und 4. die Frage, ob die Affinität von Sudan III zu dem histologischen Lösungsmittel größer ist als zu dem in diesem Lösungsmittel zu färbenden Lipoid; 5. das Vorhandensein von chemischen (Eiweißverkettungen) und physikalischen Einflüssen (Wasser) kann die Angriffsmöglichkeit des Fettfarbstoffes von vornherein ausschließen. Aus diesen Überlegungen geht hervor, daß ein Lipoid sich dann mit Sudan färbt, wenn 1. eine Lösung des Lipoids in der Farbstofflösung ausgeschlossen ist und 2. die Verwandtschaft des Farbstoffes des Lösungsmittels zu dem Lipoid größer ist als zu seinem Lösungsmittel. Weiter geht daraus hervor, daß alle die Punkte, die die Löslichkeitsfrage der Lipoide (*Bang*) beeinflussen (Alter, Krankheitszustand, Funktion, Temperatur, Eiweißverkettungen) auch beim Zustandekommen der Sudanfärbung eine hervorragende Rolle spielen. Vor allem aber, daß für jedes einzelne Organ erst die besten Bedingungen für seine Lipoidfärbung ausgeprobt werden müssen.

Für die bei der üblichen Sudan- und irgendeiner anderen Fettfärbemethode nicht färbbaren Lipoide des Herzmuskels wurde folgende Methode ausgearbeitet, die wohl den besten Bedingungen gerecht wird.

1. Gefrierschnitt frischen, nicht fixierten Materials kurz in destilliertem Wasser belassen.

2. Ausbreiten desselben auf Objektträger und antrocknen lassen.

3. Einbringen in Cuvette mit Sudanacetonlösung 2—3 Stunden. (Die Sudanolösung wird hergestellt: Tiefdunkelrotes Grüblersches Sudan III wird in Aceton unter kurzem Aufkochen im Überschuß gelöst [Lösung I].)

Sudan wird in gleicher Weise im Überschuß in 68 proz. Alkohol (spez. Gew. 0,8955) gelöst (Lösung II).

Nach dem Erkalten und Filtrieren 40 Teile Lösung I auf 50—55—60—100 Teile Lösung II, kurz aufkochen, erkalten, filtrieren. Nach 1—2 Tagen ist diese Sudanolösung gebrauchsfertig.

4. Kurzes Abspülen in 68 proz. Alkohol.

5. Abspülen in Wasser.

6. Färben mit altem Delafieldschen Hämatoxylin, 5 Minuten.

7. Einbringen in Petrischale mit 40 ccm Wasser und 4 Tropfen frischen Salmiakgeistes, 1—2 Minuten.

8. Wässern.

9. Glyceringelatine.

Die angegebene Methode hat mancherlei große Vorteile. Nach der Antrocknung erhält man Objektträgerpräparate, die kaum von Paraffinschnitten zu unterscheiden sind und die man so gut wie allen Färbungen unterziehen kann. Dadurch, daß die Schnitte sich, wie es sonst beim frischen Material der Fall ist, beim längeren Verweilen in Alkohol und dergl. nicht zusammenfalten, wirken die Farblösungen stark auf alle Teile des Schnittes ein. Der ausgetrocknete Gefrierschnitt, der keinerlei

durch die Trocknung bedingte kleine Zerreißungen aufweist und sich so gut wie nie löst, bietet nun alle Vorteile, deren wir bei Untersuchungen an Zellstoffen unbedingt bedürfen, die durch Fixierungsverfahren vernichtet oder verändert werden. Vor allem eignet sich der fest haftende Schnitt zur Behandlung mit fettlösenden Mitteln. Gerade hier stören oft dem Gefrierschnitt anhaftende Wasserspuren die Einwirkung der fettlösenden Mittel, zumal sich der seither übliche, frische Schnitt in Benzin, Äther, Xylo sofort zu einem Klümppchen zusammenballt. — Nachdem am lufttrockenen, nicht fixierten Blutpräparat die Darstellung der Lipoide gelungen war, wurde versucht, das Gewebe unter denselben Bedingungen zu untersuchen. Aus dieser Überlegung heraus entwickelte sich die in dieser Form wohl noch nicht angewandte Methode, die alle Vorteile des Paraffin- und des Gefrierschnittes nichtfixierten Materials bietet.

Der auf diese Weise behandelte und mit dem oben angegebenen Sudanverfahren gefärbte Schnitt des menschlichen Herzmuskels (die erste Darstellung der Lipoide war am Säugetierherz gelungen) zeigt folgendes Bild, wobei zu betonen ist, daß die Färbung beim formalinfixierten Gewebe nicht gelingt, ebenso wie sich auch im frischen wie fixierten Gewebe bei der sonst üblichen Sudanbehandlung eine Färbung nicht erreichen läßt. Ganz wie bei dem Präparat der labilen Oxydase des Herzmuskels (dort blau) ist das ganze Gewebe besetzt mit kleinsten, in ihrer Größe wechselnden, besonders leuchtend roten Körnchen. Diese Körnchen folgen sowohl der Längsstreifung, wo sie dicht nacheinander und voneinander meist scharf und deutlich getrennt liegen, als auch der Querstreifung, wo sie zu beiden Seiten der anisotropen Scheibe liegen, so daß ein ungemein ausgesprochenes histologisches Bild entsteht. An manchen Stellen tritt dabei die Querstreifung durch diese feinsten, roten Granula so deutlich hervor, daß das Präparat wie quer schraffiert erscheint. Sehr feine Bilder entstehen dort, wo sich die Muskelfaser in das die Hohlräume des Muskelgitterwerkes erfüllende Bindegewebe verliert, und zwar zeigen hier die feinen, längsgerichteten Körnchenreihen, die in vier, drei, zwei und zuletzt einer Reihe sich in das Bindegewebe verlieren, ungemein deutlich an, wo noch Muskelsubstanz ist und wo Bindegewebe. Auf dem Querschnitt lassen sich diese roten Granula — die bei Betrachtung mit schwacher Vergrößerung das Muskelgewebe leuchtend rot erscheinen lassen im Gegensatz zu dem granulafreien Bindegewebe, Gefäßen usw., wo nur hier und da ein mit großen leuchtend roten Granula erfülltes, weißes Blutkörperchen zu sehen ist — in das *Sarkoplasma* lokalisieren. Ganz wie bei der Oxydasereaktion kann man auch hier Muskelabschnitte erkennen, die besonders reich an diesen Granula sind im Gegensatz zu anderen, die ärmer, schon bei schwacher Vergrößerung dies erkennen lassen.

Diese Granula entsprechen durchaus denen, die man schon größtentheils mit Ölimmersion am frischen Schnitt nachweisen kann, worauf auch Gierke schon hingewiesen hat:

„Hinsichtlich der Präexistenz der Granula in den ungefärbten Zellen ist zu bemerken, daß ein großer Teil der Körnchen auch ohne Färbung (gemeint ist Oxydasereaktion) mit Immersionen sichtbar ist und daß beim Verfolgen der Reaktion unter dem Mikroskop eine sich allmählich verstärkende Blaufärbung auftritt. Damit erscheint gesichert, daß es sich nicht um körnige Farbstoffniederschläge handeln kann, sondern daß präexistente Granulationen den Farbstoff aufspeichern. Sehr interessant ist die Übereinstimmung mit den Granulationen durch vitale und supravitale Färbung (Neutralrot und Methylenblau), wie sie besonders von Arnold untersucht sind. — Die von mir in normalen Zellen nachgewiesenen blauen Granula (gemeint ist die labile Oxydase) weisen keine Sudan-, Scharlach- oder Osmiumfärbung auf.“

Im Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie (Bergmann, Bethe, Embden, Ellinger 1927, Bd. 8) äußern sich im Kapitel Muskelphysiologie Hürthle und Wachholder²⁷ bei Besprechung der histologischen Struktur des quergestreiften Skelett- und Herzmuskels:

„Ferner hat man im Protoplasma fixierter Muskeln mehr oder weniger körnige Einlagerungen gefunden, die man als interstitielle oder Sarkoplasmakörper bezeichnet. Sie sind nicht einheitlicher Natur, denn neben Glykogen (Arnold) haben sich auch Lipoide und eiweißartige Strukturen nachweisen lassen (Knoche³⁰ 1909). Diese Körnchen sollen nun eine charakteristische Verteilung auf die Fibrillen haben, ja es ist sogar von manchen Autoren die Ansicht vertreten worden, daß die Querstreifung gar nicht der Fibrille selber angehöre, sondern durch Auflagerung von Körnern zustande kommt (Marcus, v. Ebner). Die Folgerung, die Holmgreen²⁴ aus seinen Untersuchungen zog, daß nämlich dem Sarkoplasma und seinen körnigen Einlagerungen eine besondere Bedeutung für den Stoffwechsel und die Ernährung bei Kontraktionsvorgängen zukommt, bedarf demnach wohl noch weiterer histologischer Stützung. Dies ist besonders darum nötig, weil alle diese Untersuchungen am fixierten Material angestellt sind und weil sich bezüglich der Körper wieder ein erheblicher Unterschied zwischen überlebendem und fixiertem Material ergeben hat. Körper sind zwar auf Querschnitten lebender Fasern mehrfach beschrieben, dagegen ist an Längsschnitten lebender Fasern so gut wie nichts von ihnen zu sehen, auch nicht an Herzmuskeln, die besonders reich an Körnern sein sollen.“

Sobotta⁵⁷ sagt 1911: Das Sarkoplasma enthält regelmäßig, namentlich an den Knotenpunkten zwischen den Muskelsäulchen feine stark lichtbrechende Körnchen, die interstitiellen Körnchen. Diese bestehen vielleicht (wenigstens zum Teil) aus feinen Fetttropfen. — Wie man sieht, spricht die anatomische Forschung der letzten 20 Jahre, ebenso wie man es schon viel länger von den Granula der weißen Blutkörperchen getan hat, die Vermutung aus, daß es sich hier um lipoide Bauten handele, ohne einen sicheren Beweis dafür erbracht zu haben. Vor allem aber hat Kölliker^{31, 32}, der die interstitiellen Körper zum ersten Male beschrieb, selbst immer wieder auf den möglichen Fettgehalt dieser Körper hingewiesen. E. Albrecht^{1, 2} hat sich in seiner Liposomentheorie dafür ausgesprochen. Arnold⁴⁻⁸ hat durch seine klassischen Unter-

suchungen die Beziehung der Altmannschen Granula im allgemeinen zum Fettstoffwechsel greifbar gemacht und endlich Bell¹¹ hat die Beziehung dieser Gebilde zu Scharlachrot nachdrücklichst betont. Sicher ist jedenfalls: Die interstitiellen Körner des Sarkoplasmas (*Kölliker*) der Herzmuskelzelle sind gleich den vitalen und supravitalen Granula (*Altmann*), deren Gleichheit oder zum mindesten Wesensgleichheit mit den Mitochondrien, Chondriosomen, Plasmosomen von den Anatomen als höchsthwahrscheinlich angenommen wird (*Sobotta*⁵⁷).

Bekanntlich nimmt man an, daß die Muskelfibrille aus Differenzierung der Chondriosomen entsteht. In dieser Beziehung ist folgende Beobachtung wertvoll und zum ersten Male gemacht: Bei genauer Durchsicht der Schnitte finden sich Stellen, wo in den längsgerichteten Reihen die leuchtend roten Körner etwas weiter auseinander rücken und durch feinste, sudanfärbbare, fädige Bildungen miteinander verbunden sind. Solche Körnerreihen können mehrere Zellgrenzen durchlaufen und müssen als Chondriokonten bzw. als richtige Fibrillenanlagen aufgefaßt werden. Weiter ist sichergestellt, daß die interstitiellen Körner des Sarkoplasma gleich sind den Granula der labilen Oxydase. — Durch die vorliegenden histologischen Untersuchungen ist bewiesen, daß eine Lipoidsubstanz ein wesentlicher, wenn nicht der wesentlichste Bestandteil der Granula ist. Daß die neue Methode der Sudanfärbung lipoide Strukturen nachweist, ergibt sich daraus, daß nach Einwirkung fettlösender Mittel die Sudanfärbung negativ ausfällt.

Daß die interstitiellen Körner des Herzmuskels lipoide Strukturen sind, konnte auch indirekt, in neueren noch nicht veröffentlichten Arbeiten über die *Adsorptionsfähigkeit des Granulums*, die ein typischer Vorgang der unbelebten Natur ist, nachgewiesen werden. Läßt man auf einen nach der oben genannten Methode hergestellten Trockengefrierschnitt 2 Stunden flüssiges Menschen-, Rinder- oder Schweinefett bei 40° einwirken, streicht dann das Fett mit der trockenen Fingerbeere und dann mit einem feinen Läppchen ab, so daß eben der Schnitt makroskopisch vollkommen fettfrei und trocken ist und färbt dann mit irgendeiner beliebigen konzentrierten Sudanlösung, so erhält man ausgezeichnete Sudanbilder der interstitiellen Körner. Entfettet man aber vor der Behandlung mit den genannten Fetten den Schnitt einige Tage mit den in Frage kommenden Fettlösungsmittern, dann sind die Körner durch Sudan nicht mehr darstellbar. — Aus diesen Versuchen geht hervor: 1. daß das interstitielle Körnchen in seinem Hauptbestandteil ein Lipoid ist und 2., daß das Körnchen offenbar infolge seines Lipidgehaltes die Fähigkeit, Neutralfett zu adsorbieren, in hohem Grade besitzt. — Ebenso sicher gelingt der Nachweis der Adsorptionsfähigkeit für Eiweiß, jedoch nicht für Kohlehydrate trotz verwickelter und wechselvoller Versuchsanordnung. Diese am „toten“ Gefrierschnitt erhobenen Befunde stimmen auffallend mit den biologischen Feststellungen Warburgs überein, nach dem für die Kohlehydrate eine Sonderstellung anzunehmen wäre. In seinem Fructose-Phosphat-Eisenmodell fehlen bekanntlich die Oberflächen⁶⁶ (s. oben). Der oft schon gebrachte Nachweis von Glykogen am interstitiellen Körnchen spricht jedoch, wenn auch zurzeit die Versuchsanordnung für den experimentellen Beweis noch nicht gefunden wurde, unbedingt dafür, daß auch die Kohlehydratverbrennung nicht im Adsorptions-

raume des Körnchens, sondern auf der Oberfläche desselben stattfindet. — Jedenfalls scheinen obige Versuchsergebnisse imstande zu sein, die Frage der degenerativen Vorgänge im Zelleib von einem neuartigen Gesichtspunkt aus zu behandeln.

Physikalische Eigenschaften dieser Lipoidkörper sind: halbstündiges Kochen in Wasser läßt die einzelnen Körnchen näher aneinanderrücken, so daß das einzelne Körnchen oft nicht mehr von seinem Nachbar zu trennen ist.

Physikalisch-chemische Eigenschaften sind: Die Lipoide lösen sich in Alkohol absolut., Xylol, Äther, Chloroform, Aceton und Benzin (bei zweitägiger Behandlung).

Aus dem Verhalten fettlösenden Mitteln gegenüber ist zu schließen, daß die Lipoide der Herzmuskelzelle aus ungesättigten Phosphatiden und zwar den *Monaminomonophosphatiden* bestehen. Es sind dies dieselben Lipoide, die man chemisch in großer Menge in der Acetonfällung des Alkohol-Ätherauszugs des Herzmuskels (*Meyerhof*⁴⁰) nachweisen kann.

Das Wesentliche der vorliegenden Untersuchung ist, daß das stabile Oxydasegranulum der weißen Blutzelle der myeloischen Reihe und das labile Oxydasegranulum als wesentlichen Hauptbestandteil Phosphatide enthält, und zwar jenes gesättigte Phosphatide und Cerebroside, dieses ungesättigte Phosphatide. Entfernt man diese Körper aus der Zelle bzw. dem Granulum, so findet keine Indophenolblausynthese statt. Daraus folgt bindend der Schluß, daß ohne diese Lipoidkörper die Oxydasereaktion, die der Ausdruck der Übertragung aktivierten Sauerstoffs ist, nicht möglich ist.

III. Zusammenfassung.

Fassen wir die seitherigen Hauptergebnisse der *Physiologie der Zellatmung* und ihrer Beziehungen zum geweblichen Bau zusammen, so ergibt sich:

Die Hauptnahrungs- und Brennstoffe des tierischen Organismus und somit der Zelle sind die *Eiweiße*, die *Fette* und die *Kohlehydrate*. Diese drei Stoffe durchlaufen im Organismus zum Teil recht gut erforschte Abbaustraßen. Bei allen kommt als einleitende chemische Reaktion zunächst die hydrolytische Spaltung in Betracht. Hydrolyse der Eiweißstoffe führt über die Peptone und Polypeptide zu den *Aminosäuren*, Hydrolyse der Fette führt zu Glycerin und den *Fettsäuren*, Hydrolyse der Kohlehydrate führt zu Glykogen, den Polysacchariden und Monosacchariden, den *Hexosen* (Glucose). — Aminosäuren, Fettsäuren und die Hexosen sind die eigentlichen Energiespender der lebendigen Substanz. Der Mechanismus des Abbaus der verschiedenen Körper ist jedoch nicht übereinstimmend in den verschiedenen Zellarten. Die Endabbaustufen der drei Hauptgruppen werden in der Zelle endgültig

und weitgehend verbrannt, oxydiert. Die Summe aller Oxydationen und der sie vorbereitenden Vorgänge macht die *Zellatmung* aus. —

Die Oxydationen sind wie alle Funktionen physiologischer Art der Zelle an Strukturen gebunden, mögen sie nun sichtbarer, d. h. mikroskopisch feststellbarer oder unsichtbarer, mit dem gewöhnlichen Mikroskop nicht feststellbarer Art (Micellen, Emulsionen) sein. Ein wesentlicher Bestandteil der Struktur ist ihre Oberfläche, der andere wesentliche Teil ist ihre chemische Substanz. Die Oberflächenkräfte ebenso wie die chemischen Kräfte der Struktur haben die Eigentümlichkeit, auf die Endabbaustufen der drei Hauptbrennstoffe des Organismus, die außerhalb der Zelle mehr oder minder beständig gegen Sauerstoff sind, derart einzuwirken, daß sie dieselben in der Zelle gegen Sauerstoff unbeständig machen, ihre Oxydationen *katalysieren*. *Warburg* hat dies auf klassische Weise, vor allem für die Oxydation der Aminosäuren nachgewiesen. Er zeigte, warum Eiweißlösungen, die im Reagenglas jahrelang unverändert bleiben, in der Zelle in kürzester Zeit verbrennen. In der Zelle wirken die Oberflächenkräfte der Strukturen auf physikalischem Wege katalytisch, indem sie die Aminosäuren an sich ziehen, die organische Substanz also sammeln, ihre Konzentration erhöhen, evtl. ihre Dissoziation vermehren bzw. ihr Molekulargefüge lockern und sie so der eigentlichen Oxydation zugänglich machen. Diesen unspezifischen, physikalischen, katalytischen Oberflächenkräften der Struktur stehen die spezifischen, chemischen Kräfte der Substanz gegenüber, die die eigentliche Oxydation bewirken. Bei den Oxydationsvorgängen können die Oberflächenkräfte der Struktur narkotisiert werden, d. h. Narkotica haben die Eigentümlichkeit, schnell die Oberfläche zu besetzen und die organische Substanz, die die Oberfläche auf sich gesammelt hat, *adsorbiert* hat, zu verdrängen, also physikalisch antikatalytisch zu wirken. Chemisch spezifisch antikatalytisch wirkt dagegen die Blausäure auf die Oberfläche. Aus dem Einfluß der Narkotica einerseits und der Blausäure andererseits ergab sich für *Warburg* die Vorstellung, daß die Oberfläche der Struktur aus einem Mosaik gleichsam von Bezirken besteht. In dieses Mosaik sind sozusagen eingestreut solche Bezirke, die metallhaltig sind. Daß es sich bei diesem Metall um *Eisen* handelt, ergab sich einmal aus der chemischen Untersuchung der Zellen und dann aus dem Grad des Verbrauchs von Blausäure, der dazu gehörte, um die Atmung der Zellsubstanzen zu hemmen. Die chemische Untersuchung ergab, daß jede tierische Zelle kleinste Mengen von Eisen enthält. Auf der anderen Seite ergab sich, daß, da kleinste Mengen von Blausäure genügen, um physiologisch die Atmung zu hemmen und ferner eine stöchiometrische Beziehung zwischen diesen kleinsten Mengen gebundener Blausäure und dem Stoff, der sie bindet, bestehen muß, die Zelle nur kleinste Mengen dieses Stoffes enthalten

muß, der einerseits Blausäure bindet, andererseits Sauerstoff übertragen kann, d. h. die Atmung bewirkt. Von allen Stoffen erfüllt diese Bedingung aber nur das Eisen. Daß Eisen in der Tat die Atmung bewirkt, sie steigert, d. h. die Sauerstoffübertragung erhöht, konnte *Warburg* exakt zahlenmäßig durch seine bekannten Versuche am Seeigelei beweisen.

Warburg fand nun, daß die in der lebenden Zelle bei der Verbrennung des Eiweißes wirkenden, spezifisch chemischen Kräfte sich abspielen in einem festen Kreislauf, und zwar von der Form des Systems, in dem der molekulare Sauerstoff mit zweiwertigem Eisen reagiert, wobei eine höhere Oxydationsstufe des Eisens entsteht, die ihrerseits erst mit der organischen Substanz unter Rückbildung zweiwertigen Eisens reagiert. Er wies also nach, daß das Eisen bzw. der Valenzwechsel des Eisens immer im Mittelpunkt des Oxydationsvorganges der lebenden Zelle steht, daß das Wesen der Oxydationsvorgänge der Zelle eine Eisenkatalyse ist. — Frei vom Ballast der Zelle wies *Warburg* an seinem Kohlemodell nach, daß hierbei ebenfalls das Eisen der spezifische Katalysator ist. In dem Kohlemodell (feinst verteilte Häminkohle [stickstoffhaltig] in wässriger Aminosäurelösung) spielt sich die Oxydation der Aminosäure genau so ab wie in der lebenden Zelle, sie wird durch Narkotica genau so gehemmt und durch Blausäure genau so beeinflußt wie in der lebenden Zelle.

In seinen Versuchen wies *Warburg* nach, daß es vor allem auf die Bindung des Eisens ankommt, ob Eisen überhaupt Sauerstoff übertragen kann und wie schnell die Übertragung vor sich geht. Für das Reagensglas bzw. das Atmungsröhrchen ist die Bindung des Eisens an nicht-flüchtigen Stickstoff es allein, die bei der Verbrennung des Eiweißes wirksam ist. Für die Verbrennung des Zuckers und der Fettsäuren sind die Verhältnisse im Reagensglas wenig geklärt. *Warburg* zeigte, daß bei Lösung von Fructose in Phosphat eine unbekannte Bindung des Eisens entsteht, die in geringem Grade auf die Kohlehydrate oxydierend einwirkt. Für die Fettsäuren scheint die Bindung an die Sulfhydrylgruppe die einzige zu sein, die Sauerstoff im Versuch übertragen kann.

Für die tierische Zelle ist physiologisch die Bindung, in der das Eisen erst katalytisch wirksam ist, weder für die Oxydation, der Aminosäuren, noch für die der Hexosen, noch für die der Fettsäuren bekannt. Um so auffälliger ist dies, als die einzige sicher und genau bekannte $C, N < Fe$ -Verbindung des Organismus, das Hämoglobin, nicht imstande ist, Sauerstoff zu aktivieren bzw. Sauerstoff auf das organische Molekül zu übertragen: es überträgt bekanntlich nur vermittels des Eisens den Sauerstoff von den Lungen zu anderen Stellen des Körpers. *Warburg* bemühte sich in seinen neueren Arbeiten, die Bindungsart des Eisens in der lebenden Zelle zu finden, kam aber dabei über mehr als Analogie-

schlüsse nicht hinaus. — Bekanntlich stellte *Liebig* 1843 die Theorie auf, der Blutfarbstoff sei das Atmungsferment. Diese Theorie gab er jedoch bald wieder auf. Aus den Versuchen mit Kohlenoxyd bzw. aus dem Verhalten von Atmungsferment und Hämoglobin Kohlenoxyd gegenüber muß man nach den neusten Ergebnissen der Biologie schließen, daß beide zwar nicht gleich, aber nahe verwandt sind, was auch aus den Arbeiten von *M. E. Robinson* und *A. V. Hill* hervorgeht. — Durch die Kohlenoxydversuche ist zunächst jedenfalls die Schwermetalltheorie der Atmung ebenfalls bewiesen. Weiter meint *Warburg*: „Endlich ist aus der Häufung gleicher und spezieller Eigenschaften, die hier vorliegt, zu schließen, daß das Atmungsferment eine Eisenpyrrolverbindung ist, in der das Eisen wie im Hämoglobin an Pyrrolstickstoff gebunden ist.“ (Bekanntlich besteht die Kohle von *Warburgs* Kohlemodell ebenfalls aus einer Pyrroleisenverbindung; sie wird dadurch erhalten, daß man reines krystallisiertes Häm in Rotglut erhitzt.) Zum Schlusse äußert sich *Warburg* dahin, daß vielleicht das von *Kellin*^{29, 67} gefundene Cytochrom, eine in den tierischen Zellen weit verbreitete Pyrroleisenverbindung für die Übertragung des *schon* aktivierte Sauerstoffs in Frage kommt. „Es ist möglich, daß sie in der Atmung „als Peroxydase wirkt, indem sie aktivierte Sauerstoff auf organische Moleküle überträgt.“

Die neusten Arbeiten *Warburgs* ergeben: Ebensowenig wie das Hämoglobin ist die andere Eisenpyrrolverbindung, das Cytochrom, imstande, Sauerstoff auf das organische Molekül zu übertragen, die Oxydation des organischen Moleküls zu katalysieren. Die Möglichkeit besteht, daß Cytochrom schon aktivierte Sauerstoff auf das organische Molekül überträgt. *Vielelleicht* ist das Atmungsferment, also das katalytisch wirksame Eisen, eine Pyrrolstickstoffverbindung, von der man aber nicht viel mehr weiß, als daß sie wie das Hämoglobin von roter Farbe sein muß, wie sich aus den Belichtungsversuchen durch Kohlenoxyd in ihrer Atmung gehemmter Körperzellen ergibt. Wenn auch die Oxydation der Kohlehydrate und Fettsäuren viel weniger erforschbar waren, wie die Verbrennung der Aminosäuren, so ist jedenfalls das eine sicher, daß auch hier das Eisen der sauerstoffübertragende Faktor ist, denn auch diese Verbrennungen werden durch Blausäure typisch gehemmt.

Unter den Physiologen besteht nun kein Zweifel, daß das einfache System: Eisenkatalysator, Brennstoff, Brennstoff, Sauerstoff nicht ausreicht, um die in der Zelle hauptsächlich vorhandenen Brennstoffe zu verbrennen. *Hopkins* gelang es, einen die Sulfhydrilreaktion gebenden Körper aus Hefe und Muskulatur zu isolieren, das *Glutathion*, und ihn als Glutaminsäure-Cystein-Dipeptid zu bestimmen. Er wies nach, daß diese Verbindung, die in allen Zellen vorkommt, zur Sauerstoffübertragung befähigt ist und als richtiger Katalysator wirkt (Koferment der

Atmung). Das Glutathion überträgt den Sauerstoff auf ein noch unbekanntes, kochbeständiges System der Zelle. Extrahiert man den Muskel mit Alkohol und Äther und macht ihn lipoidfrei, so ist das Glutathion nicht mehr imstande, Sauerstoff auf ihn zu übertragen. Damit war die Aufmerksamkeit auf die *Phosphatide* gelenkt. *Meyerhof* wies ähnlich nach, daß sowohl die Thioglykolsäure wie das Cystein ganz gleichartig sich verhalten wie das Glutathion. In beiden ist die Sulfhydrilgruppe der eigentlich übertragende Faktor. Extrahierte er Herzmuskel mit Alkohol und Äther und fällt dann mit Aceton, so erhielt er in der Acetonfällung den größten Teil der ungesättigten Phosphatide des Muskels. Die Emulsion dieser Acetonfällung nimmt nun allein nicht erkennbar Sauerstoff auf. Dagegen verbraucht das System Thioglykolsäure + Phosphatide und Cystein + Phosphatide, ebenso wie das System Thioglykolsäure (Cystein) + Linoleinsäure (der einzige angreifbare Anteil des Lecithins) erhebliche Mengen Sauerstoff. Während aber bei dem System Stickstoffeisen + Aminosäuren als Endprodukte Ammoniak, Schwefelsäure und vor allem Kohlensäure auftreten, findet sich bei der Sauerstoffaufnahme der Phosphatide, die durch die Sulfhydrilgruppe bedingt wird, die Kohlensäure nicht als Endprodukt. Aus den *Hopkinsschen* und *Meyerhofschen* Untersuchungen geht jedenfalls hervor, 1. die große Bedeutung der Phosphatide für den Sauerstoffhaushalt der Zelle im allgemeinen und 2. die Tatsache, daß die Affinität der Phosphatide zu Sauerstoff durch die nach *Hopkins* in jeder tierischen Zelle vorhandene Sulfhydrilgruppe — allgemein ausgedrückt — erheblich gesteigert wird. — Nebenbei sei nur erwähnt, daß *Warburg* für Cystein ebenfalls Spuren von Eisen als den eigentlich sauerstoffübertragenden Faktor nachgewiesen zu haben glaubt, daß er die Bindung des Eisens an die Sulfhydrilgruppe für um das Vielfache reaktionsfähiger hält wie die Bindung des Eisens an Stickstoff; wenn die Wirkungen im Versuch auch nur sehr oberflächliche sind, können nach ihm deswegen doch die Wirkungen dieser Eisenbindung in der lebenden Zelle sehr tiefgreifende sein.

Nach *Warburgs* Untersuchungen am Seeigeli und der Säugetierleber, die im Atmungsröhrchen gemacht wurden, ist die Atmung größtenteils an Körnchen, an *intracelluläre, abzentrifugierbare, präformierte Granula* gebunden. *Warburg* erwähnt hier selbst die Übereinstimmung mit den Befunden *Gierkes* und *A. van Herwedens*, von denen jener die labile Oxydase auf vorgebildete, vitale (supravitale) Granula in allen untersuchten Organen, dieser die intracelluläre Indophenolblausynthese ebenfalls auf präformierte Granula, und zwar des Seeigeleis lokalisiert. *Gierke* sowohl wie *v. Herweden* betonen in ihren Arbeiten beide, daß diese Oxydasegranula sich sowohl mit Neutralrot wie Methylenblau vital färben.

Aus der großen Anzahl histologischer Arbeiten über die Oxydasereaktion geht sicher und einwandfrei hervor — abgesehen von einer Meinung, die die Oxydase wohl an eine granuläre Struktur nicht aber an präformierte Granula und im wesentlichen als eine Wirkung der Wasserstoffionenkonzentration von Substratsaft und Gewebe aufgefaßt haben will —, daß das präformierte Granulum die Struktur ist, in oder an der die Sauerstoffübertragung vor sich geht und an der sich das entstandene Indophenolblau niederschlägt. Dies vorgebildete Granulum ist im wesentlichen dasselbe wie die unter dem Sammelbegriff des Altmannschen Granulums oder Bioblasten bekannten, dessen Übereinstimmung und jedenfalls so gut wie sichere Wesensgleichheit mit den Mitochondrien, Chondriosomen, Plasmosomen, Sarkosomen, Sarkoplasma-körnern, interstitiellen Körnchen des Sarkoplasma von den Anatomen als höchstwahrscheinlich angenommen wird. Über die chemische und physikalische Beschaffenheit der Substanz dieser Altmannschen Bioblasten ist bekannt: Mikroskopisch weisen sie eine stärkere oder schwächere Lichtbrechung auf. Chemisch hat man zu den verschiedensten Zeiten auch an die lipoide Beschaffenheit dieser wichtigen Zellbestandteile gedacht. Das beweisen die anatomischen Arbeiten von *Arnold*, *Holmgreen* u. a. — *Gierke* denkt auch an die lipoide Struktur, ohne sie allerdings nachweisen zu können, wie auch *Katsunuma* für die stabilen Oxydasegranula der Tränen- und Speicheldrüsen sowie der Syncytiazellen ihre morphologische Übereinstimmung mit den sudanfarbbaren Granula dieser Zellarten betont.

Ist nun auf der einen Seite die Gleichheit der Oxydasegranula von stabiler wie labiler Oxydase mit dem Altmannschen Granulum weitgehend geklärt, so ist die Frage der chemischen Substanz des Granulums, an dem die Sauerstoffübertragung vor sich geht, bisher noch unklar gewesen. Nur daß auch bei der Behandlung der Oxydasefrage für sich im allgemeinen die Lipoidfrage immer einen spekulativen Faktor abgegeben hat. Man sprach davon, daß der Unterschied zwischen stabiler und labiler Oxydase dadurch bedingt sei, daß das Granulum der stabilen Oxydase durch eine (vermutete) Lipoidhülle, die dem labilen Granulum fehle, gegen den Einfluß von Schädlichkeiten geschützt sei (*Gräff*, *Katsunuma* u. a.). — *Löle* spricht davon, daß die Oxydase meistenteils an lipoide Strukturen gebunden sei. *Katsunuma*, der versuchte, das — im Gegensatz zum Hämosiderin, das ja immer gut nachweisbar war — histochemisch nicht darstellbare Funktionseisen (Gewebeseisen, Histosiderin), histologisch in den Granula supravital nachzuweisen, fand bei seinen rein chemischen Vergleichsuntersuchungen das Zelleisen (*Warburgs*) an fettartigen Stoffen gebunden. — Klar war histochemisch die ganze Frage seither keineswegs, denn weder konnte bis jetzt das Altmannsche Granulum einwandfrei mit einer Fettfärbemethode als

Lipoid bestimmt werden, und wenn es ausnahmsweise geschehen war, war nicht der Nachweis erbracht, daß und wieweit nach Behandlung mit fettlösenden Mitteln die Fettfärbung negativ ausfällt. Das ist aber die ganz notwendige Bedingung für den Beweis, wenn man sich nicht dem allerdings nicht gut begründbaren Einwand aussetzen will, daß durch die Fettfärbemethode andersartige Stoffe sichtbar gemacht wurden. Den ersten sicheren Nachweis brachte in der neusten Zeit (1926) *Neumann* durch seine chemischen Untersuchungen. Er wies für das Altmannsche Granulum der eosinophilen Zelle des Pferdebluts ein phosphorhaltiges Lipoid als den eigentlichen formgebenden Kern des Granulums nach. — Durch meine vorliegenden Untersuchungen ist nachgewiesen, daß die Substanz des mit dem Altmannschen Bioblasten übereinstimmenden Oxydasegranulums sowohl der stabilen wie der labilen Oxydase ganz oder zum größten Teil aus Lipoiden besteht. Und zwar konnte nachgewiesen werden, daß der wichtigste Vertreter der stabilen Oxydase, das Körnchen der weißen Blutzelle der myeloischen Reihe im wesentlichen aus gesättigten Phosphatiden und Cerebrosiden, der wichtigste Vertreter der labilen Oxydase, das interstitielle Sarkoplasma körnchen des Herzmuskelns aus ungesättigten Phosphatiden besteht. Ob neben diesen Lipoiden noch Eiweißkörper am Aufbau des Granulums beteiligt sind, wie das *Knoche* für die interstitiellen Körner der Flügelmuskel der Insekten vermutet, war nicht nachzuweisen mit Ausnahme der alpha-Granulation der eosinophilen Zelle des strömenden Blutes, deren Eiweißkern schon lange bekannt ist. — Die schwere Löslichkeit der gesättigten Phosphatide und Cerebroside einerseits und die leichte Löslichkeit der ungesättigten Phosphatide andererseits bieten eine auffallende Parallele zu der großen Widerstandsfähigkeit der stabilen Oxydase auf der einen und Widerstandsunfähigkeit der labilen Oxydase auf der anderen Seite. Die wichtigsten Merkmale der Unbeständigkeit der labilen Oxydase sind zugleich auch die der ungesättigten Phosphatide, auf die *Ivar Bang* nachdrücklich hinweist.

Entsprechend der Gleichhäufigkeit des Gesetzmäßigen im Naturgeschehen ist anzunehmen, daß die Zellatmung und deren histologischer Ausdruck, die Oxydasereaktion, der tierischen Zelle unbedingt abhängig von dem Vorhandensein von Lipoiden ist.

Ist das lipoidnaturbesitzende Altmannsche Granulum der Ort der Sauerstoffübertragung der Zelle, so ist der Mechanismus der Sauerstoffübertragung auch histologisch zweifellos eine Eisenkatalyse, denn dieselbe bzw. die intracelluläre Indophenolblausynthese wird genau wie im physiologischen Versuch durch Blausäure typisch gehemmt. Nicht daß eine Eisenkatalyse vorliegt, dürfte histologisch etwa durch den histochemischen Nachweis des Funktionseisens, wie es *Katsunuma* versucht hat, der näheren Begründung bedürfen, sondern auch hier

steht wie in der Physiologie die Frage, *warum* das Eisen katalytisch wirkt, durchaus im Mittelpunkt der Erörterung. Physiologisch ist die Frage der Bindung in der das Eisen Sauerstoff auf das organische Molekül übertragen kann, nur für den Reagensglasversuch teilweise und bedingt gelöst, nicht für die Zelle selbst. *Histologisch ist das unbedingte Nebeneinander von Eisenkatalyse und Lipoid erwiesen, so daß histologisch für die Zelle selbst die Frage der Bindung des Funktionseisens — mag das Lipoid nun mittel- oder unmittelbar das Schwermetall katalytisch wirksam machen — weitgehender geklärt erscheint wie in der Physiologie.* — Hierzu muß ausdrücklich betont werden, daß die Frage, ob durch die in Betracht kommenden Lipoide das Zelleisen in der Tat katalytisch gemacht wird, chemisch noch *nicht* gelöst ist. Diese chemische Feststellung liegt, wie aus eingehenden Erörterungen mit maßgebenden chemischen Stellen hervorgeht, zurzeit noch außerhalb chemischer Erkenntnismöglichkeit. Die Tatsache jedoch, daß nach vorheriger Entfernung der Lipoide aus dem Granulum durch fettlösende Mittel histologisch eine Eisenkatalyse nicht mehr eintritt, was auch dem physiologischen Versuch, in dem der seiner Lipoide beraubte Herzmuskel keinen Sauerstoff mehr verbraucht, in gewissem Grade entspricht, kann, wenn auch das Bindeglied des chemischen Beweises zur Zeit noch unmöglich ist, nur sehr schwer in einem anderen Sinne gedeutet werden. Zum mindesten als Forschungshypothese erscheint die Überlegung erlaubt: Der Stickstoff der Lipoide gestattet eine Parallele zum System Eisenstickstoff + Aminosäure des physiologischen Atmungsmodells, die Phosphorsäure der Phosphatide erlaubt die Parallele zur großen Bedeutung des Phosphates für die Zuckerverbrennung des Reagensglasversuches. Die große Wichtigkeit der Phosphatide für den Sauerstoffhaushalt der Zelle beruht daneben in ihrer großen Affinität zu Sauerstoff, die schon an und für sich durch die längstbekannte (eisenfreie) Autoxydabilität dieser Lipoide sich kundgibt, die aber offenbar durch die nach Hopkins in allen Zellen vorhandene Sulfhydrilgruppe bedeutend erhöht wird. — Die drei Einflüsse, die die intracelluläre Indophenolblausynthese bei stabiler und labiler Oxydase in gleicher Weise verhindern, die Vorbehandlung mit Blausäure, Kochen in Wasser, schwachen Säuren erklären sich: Blausäure bindet das Eisen direkt und schaltet seine Wirksamkeit durch Bildung reversibler Komplexverbindungen aus, Kochen (Hitze) vernichtet die Lipoide bzw. löst ihre chemisch-physikalische Bindung an das Eisen, durch die dasselbe erst katalytisch zu werden scheint, und die schwache Säure endlich wirkt nicht wie die beiden ersten Faktoren auf die Sauerstoffübertragung selbst und direkt, sondern mehr auf den Ablauf der Farbstoffbildung allein ein. Wir wissen, daß die Reaktionsgeschwindigkeit der extracellulären Indophenolblausbildung mit zunehmender Alkaliescenz steigt, daß bei neutraler und ganz schwach

saurer Reaktion keine Blau-, sondern eine Rotfärbung eintritt, daß bei stark saurer Reaktion sich nicht Indophenolblau, sondern Indophenol-weiß bildet (*Neumann*).

Dürfen wir die Ergebnisse physiologischer und histologischer Forschung verbinden, so ergibt sich: Jedes Altmannsche Granulum, das wie der Kern und das Zentralkörperchen zu den verhältnismäßig beständigen Bestandteilen der Zelle gehört, im Gegensatz zu dem in stetem An- und Abbau befindlichen Protoplasma, stellt jeweils ein Oxydationszentrum des Zelleibs mit eigner Wirkungssphäre, seinem Adsorptionsraum, dar. Es wirkt einerseits durch seine Oberflächenkräfte, die die zu verbrennende organische Substanz konzentrieren, dissoziieren, in ihrem Molekulargefüge lockern und sie so oxydationsbereit machen. Andererseits wirkt es, wahrscheinlich durch seine chemische Substanz (Eisen, Stickstoff, Phosphorsäure) in Wirklichkeit die Oxydation katalysierend. Ähnlich wie die Oberflächenkräfte die organische Substanz aus der „Lösung“ an sich reißen, scheinen die Phosphatide, neben der wichtigsten Funktion, das Eisen erst unmittel- oder mittelbar katalytisch zu machen, durch ihre durch die Sulfhydrilgruppe gesteigerte Affinität zu Sauerstoff seine Konzentration zu erhöhen und auf diesem Wege die Reaktionsgeschwindigkeit der oxydativen Vorgänge zu steigern.

Von diesen Gesichtspunkten aus betrachtet gewinnen die Lipoide die Bedeutung wichtigster Faktoren der Zellatmung. Notwendigerweise beeinflußt die quantitative und qualitative Änderung ihrer Struktur auch die katalysatorische Kraft des Eisens, die ja im Mittelpunkt aller Atmungsvorgänge der Zelle steht. Veränderung der chemischen Struktur dieser Lipoide werden Steigerung oder Senkung der oxydativen Vorgänge bewirken können, deren letztere sich durch den unterbrochenen Abbau der Hauptbrennstoffe in dem Erscheinen der Eiweißkörnchen, von Glykogen und Fetttröpfchen ausdrückt und den degenerativen Vorgang im Zelleib anzeigen. Wie weit die Lipoide im Geschwulstproblem eine Rolle spielen und ob in dem speziellen Problem (primär [?]) verminderde Zellatmung, vermehrte Gärung, Kernreizung, überstürzte Kernteilung), sofern es sich hier überhaupt schon um ein Zentralproblem handelt, ist Gegenstand der Untersuchung. Jedenfalls haben sich aus einer ganz neuen Fragestellung — zu den bereits bekannten — beachtenswerte neue Beziehungen zwischen Lipoid und Geschwulst ergeben.

Schrifttum.

¹ *Albrecht, Eugen*, Neuere Beiträge zur Pathologie der Zelle. Verh. dtsch. path. Ges. **1902**. — ² *Albrecht, Eugen*, Die Bedeutung myelogener Stoffe im Zellenleben. Verh. dtsch. path. Ges., 6. Tag., Kassel 1903. — ³ *Altmann*, zit. nach *Rauber-Kopsch*, Lehrbuch der Anatomie des Menschen, 8. Aufl. S. 42—44. — ⁴ *Arnold, J.*, Zur Morphologie und Biologie der Zellen des Knochenmarkes. *Virchows Arch.* **140**

(1895). — ⁵ Arnold, J., Fettkörnchenzelle und Granulalehre. Anat. Anz. **1900**, 18, 585—591. — ⁶ Arnold, J., Zur Kenntnis der Granula der Leberzellen. Anat. Anz. **20** (1901). — ⁷ Arnold, J., Glykogen. Arch. mikrosk. Anat. **70**, 265—275 (1909). — ⁸ Arnold, J., Plasmastrukturen und ihre funktionelle Bedeutung. Jena: 1914. — ⁹ Bach, zit. nach Warburg. — ¹⁰ Bang, Ivar, Chemie und Biochemie der Lipoide. Wiesbaden: 1911. — ¹¹ Bell, E. T., J. Med. Res. **24**, Nr 3. — ¹² Bernard, Claude, zit. nach Warburg. — ¹³ Bütschli, zit. nach Rauber-Kopsch, Anatomie des Menschen. 8. Aufl. — ¹⁴ Dietrich, A., Naphtholblausynthese und Lipoidfärbung. Zbl. Path. **19**, 3 (1908). — ¹⁵ Dietrich, A., Die Störungen des cellulären Fettstoffwechsels. Erg. Path. **1910**, 13, 283. — ¹⁶ Dietrich, A., und Kleeberg, Die Störungen des cellulären Fettstoffwechsels. Erg. Path. **1923/24**, 20, 2. — ¹⁷ Flemming, zit. nach Rauber-Kopsch. — ¹⁸ Fromann, zit. nach Rauber-Kopsch. — ¹⁹ Gierke, E., Die oxydierenden Zellfermente. Münch. med. Wschr. **1911**, Nr 44. — ²⁰ Gräff, S., Die physikalisch-chemischen Grundlagen des Mi-Effektes der Nadireaktion. Zbl. Path. **1922**. — ²¹ Haldane, zit. nach Warburg. — ²² Herweden, van, zit. nach Warburg. — ²³ Hill, A. V., Lancet **206** (1924). — ²⁴ Holmgreen, Arch. mikrosk. Anat. **75** (1909). — ²⁵ Hopkins, F. G., Biol. J. **15**, 286 (1921). — ²⁶ Hopkins, F. G., Bull. Hopkins Hosp. **32**, 321 (1921). — ²⁷ Hürthle und Wachholder, Muskelphysiologie. Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie (Bethe, Bergmann, Embden, Ellinger) 8. Berlin: 1925. — ²⁸ Katsunuma, Intracelluläre Oxydation und Indophenolblausynthese. Jena: Fischer 1924. — ²⁹ Kellin, zit. nach Warburg. — ³⁰ Knoche, Über die Struktur der sog. interstitiellen Körner (Kölliker) der Flügelmuskulatur der Insekten. Anat. Anz. **34** (1909). — ³¹ Kölliker, Zur Kenntnis der quergestreiften Muskelfasern. Z. Zool. **47** (1888). — ³² Kölliker, Handbuch der Gewebelehre. 5. Aufl. S. 156. — ³³ Kutschera-Aichbergen, Beiträge zur Morphologie der Lipoide. Virchows Arch. **246**. — ³⁴ Leydig, zit. nach Rauber-Kopsch. — ³⁵ Liebig, J. v., zit. nach Warburg. — ³⁶ Löle, Histologischer Nachweis und biologische Bedeutung oxydierender und reduzierender Substanzen innerhalb der Zelle. Erg. Path. **16**, 2 (1912). — ³⁷ Löle, Untersuchungen über intracelluläre oxydierende Substanzen. Virchows Arch. **262**, H. 1. — ³⁸ Löle, Über einige Beziehungen oxydierender Substanzen. Virchows Arch. **264**, H. 3. — ³⁹ Löle, Beziehungen zwischen Oxydasen, Vitalfärbung, Postmortalfärbung und Morphologie der Zelle. Virchows Arch. **265**, H. 2 (1927). — ⁴⁰ Meyerhof, O., Über ein neues autoxydables System der Zelle. (Die Rolle der Sulphydrylgruppe als Sauerstoffüberträger.) Pflügers Arch. **199** (1923). — ⁴¹ Müller, H., Zur Frage der chemischen Konstitution der eosinophilen Granula. Münch. med. Wschr. **1910**, 2171. — ⁴² Nägeli, O., Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. Berlin: 1923. — ⁴³ Neumann, Die eosinophile Granulasubstanz des Blutes und ihre Darstellung. III. Mitt. Zur Kenntnis des oxydativen Prinzips der eosinophilen Granula. Fol. haemat. (Lpz.) **32** (1926). — ⁴⁴ Overton, zit. nach Warburg und Bang. — ⁴⁵ Pfeffer, cit. nach Warburg. — ⁴⁶ Raciborski, zit. nach Löle. — ⁴⁷ Rauber-Kopsch, Handbuch der normalen Anatomie des Menschen. 8. Aufl. — ⁴⁸ Robinson, M. E., Biochemic. J. **18** (1924). — ⁴⁹ Rona, P., Die Fermente. Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie (Bethe, Bergmann, Embden, Ellinger) **1** (1927). — ⁵⁰ Schmitz, zit. nach Rauber-Kopsch. — ⁵¹ Schultze, Die Oxydasereaktion an Gewebsschnitten und ihre Bedeutung für die Pathologie. Beitr. path. Anat. **1909**. — ⁵² Schultze, Weitere Mitteilungen über die Oxydasereaktion an Gewebsschnitten. Münch. med. Wschr. **1910**. — ⁵³ Sehrt, E., Die histologische Darstellung der Lipoide der weißen Blutzellen (neutro-eosinophile Leukocyten, Übergangszellen, Mastzellen und Mononucleäre) und die Beziehung dieser Lipoide zur Oxydasereaktion. Münch. med. Wschr. **1927**, 4. — ⁵⁴ Sehrt, E., Histologie und Chemie der Lipoide der weißen Blutzellen und ihre Beziehung

zur Oxydasereaktion, sowie über den Stand der modernen Histologie der Zell-lipoide. Leipzig: Thieme 1927. — ⁵⁵ Sehrt, E., Zellipoid und Zellatmung. Med. Klin. **1928**. — ⁵⁶ Sehrt, E., Die Lipoide des Herzmuskels. Zbl. Path. **1928**. — ⁵⁷ Sobotta, Atlas und Lehrbuch der Histologie und mikroskopischen Anatomie. München: 1911. — ⁵⁸ Traube, zit. nach Warburg. — ⁵⁹ Unna, zit. nach Löle. — ⁶⁰ Warburg, O., Untersuchungen über Oxydationsprozesse in Zellen. Münch. med. Wschr. **1911**, 289. — ⁶¹ Warburg, O., Untersuchungen über Oxydationsprozesse in Zellen (II). Münch. med. Wschr. **1912**, 2550. — ⁶² Warburg, O., Über sauerstofffattmende Körnchen aus Leberzellen und über Sauerstoffatmung in Berkefeld-filtraten wässriger Leberextrakte. Pflügers Arch. **154**, 19 (1913). — ⁶³ Warburg, O., Zellstruktur und Oxydationsgeschwindigkeit nach Versuchen am See-igelei. Pflügers Arch. **158**, 189 (1914). — ⁶⁴ Warburg, O., Über die Empfindlichkeit der Sauerstoffatmung gegenüber indifferentem Narkotica. Pflügers Arch. **158**, 19 (1914). — ⁶⁵ Warburg, O., Physikalische Chemie der Zellatmung. Biochem. Z. **118**, 119 (1921). — ⁶⁶ Warburg, O., Über Eisen, den sauerstoffübertragenden Bestandteil des Atmungsfermentes. Biochem. Z. **152**, 478 (1924). — ⁶⁷ Warburg, O., Über die katalytischen Wirkungen der lebendigen Substanz. Berlin: 1928. — ⁶⁸ Wieland, zit. nach Warburg. — ⁶⁹ Winkler, F., Der Nachweis der Oxydase in den Leukocyten mittels der Dimethylparaphenyldiamin-Reaktion. Fol. haemat. (Lpz.) **1907**, Nr 3.
