

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Berlin
[Direktor: Prof. Dr. R. Rössle].)

Das Blutserum als hämoglobinotoxischer Faktor*.

Von

L. Doljanski und O. Koch.

Mit 1 Abbildung im Text.

(Eingegangen am 1. August 1933.)

Das Blut ist ein in sich fein abgestimmtes, biologisches System, in dem die verschiedensten chemischen und zelligen Individuen zu einer höchst leistungsfähigen, funktionellen Einheit zusammengeschlossen sind. Die Betrachtung der Beziehungen der einzelnen Elemente dieses Systems zueinander in ihrer gegenseitigen Abhängigkeit ist Grundbedingung für die Kenntnis seiner Gesamtfunktion. In einer Störung des Gleichgewichtes dieser Funktionseinheit könnten die Ursachen für die verschiedensten Schädigungen der Blutbestandteile und insbesondere des Hämoglobins wurzeln.

Die Krankheiten, welche mit einer Störung des Blutfarbstoffwechsels einhergehen, sind in ihrer Ätiologie größtenteils ungeklärt geblieben. Die Annahme von spezifischen, direkt gegen den Blutfarbstoff gerichteten Noxen erwies sich meist als unberechtigt. So tauchten auch vereinzelt Vermutungen auf, daß das gegen das Hämoglobin gerichtete Prinzip nicht von außen zu kommen brauchte, sondern die Blutelemente selbst unter gewissen Bedingungen die Hämoglobinerstörung bewirken könnten. *Bingold*¹ sprach z. B. die Vermutung aus, daß bei der perniziösen Anämie ein Blutbestandteil die Eigenschaft haben könnte, das Hämoglobin anzugreifen. Er ließ Leukocyten, Blutplasma sowie Serum perniziös-anämischer auf rote Blutkörperchen einwirken, ohne daß es ihm gelungen wäre, eine Blutzerstörung im Sinne der bekannten Hämatinabspaltung bei *Biermerscher Krankheit* (*Schumm*²) zu erreichen. *Haselhorst* und *Papendieck*³ versuchten, die physiologische Hämatinämie der zweiten Fetalperiode und des Neugeborenen durch eine Plasma- oder Serumwirkung zu erklären, ohne daß sie in entsprechenden Experimenten *in vitro* den Zerstörungsmechanismus nachahmen konnten.

* Ausgeführt mit Unterstützung der *Goldmann-Stiftung*.

Zu diesen Ergebnissen steht eine Beobachtung *Bingolds* ⁴ in ausgesprochenem Gegensatz. Er beschreibt, daß schon im normalen Blut, das 24 Stunden im Brüt-
ofen steht, regelmäßig eine geringgradige Hämatinbildung auftritt. Nach den
Beobachtungen von *Haselhorst* und *Papendiek* ³ ist dieses jedoch eine Seltenheit.
Sie sahen nach der Bebrütung von Normalblut bis zu 314 Stunden nie eine Ab-
spaltung der prostetischen Gruppe.

Diese wenigen hier angeführten Versuche, krankhafte Zustände durch
Störungen der Beziehungen der einzelnen Blutelemente zueinander zu
erklären, entbehrten als Grundvoraussetzung die Kenntnis der normalen
Wechselwirkung der einzelnen Blutbestandteile überhaupt.

Es schien uns daher wichtig, die Beziehungen des Blutfarbstoffes
zu anderen Blutbestandteilen und zuvorderst zur normalen Blutflüssigkeit
zu untersuchen.

In der ersten Reihe unserer Untersuchungen konnten wir feststellen,
daß Blutserum dem Hämoglobin gegenüber durchaus nicht indifferent
ist. *Beim Zusammenbringen einer Blutfarbstofflösung mit Serum wird
das Hämoglobin weitgehend verändert. Das Oxyhämoglobinspektrum ver-
schwindet zunehmend, es treten beträchtliche Methämoglobinemengen auf,
und als Zeichen einer tiefer greifenden Zerstörung des Hämoglobinemoleküls
wird die abgespaltene, eisenhaltige Gruppe als Hämatin nachweisbar. Diese
Fähigkeiten sind dem Menschenserum in höchstem Maße eigen; Tierseren
(Hühner- und Kaninchenserum) besitzen sie in geringerem Grade.*

Eine Methämoglobinbildung findet in jeder Blutfarbstofflösung, die
mit Sauerstoff bei Lichtzutritt in Berührung kommt, sowie in ein-
trocknendem Blut, statt (*Hoppe-Seyler* ⁵, *Neill* ⁶). Während diese
„spontane“ Methämoglobinbildung als eine langsam verlaufende Autoxy-
dation des Hämoglobins aufzufassen sein dürfte, wobei dem Eisen des
Hämoglobins die Rolle eines Katalysators zukommt ⁶ bedarf die Tatsache,
daß unter der Einwirkung von Serum eine beschleunigte und verstärkte
Methämoglobinbildung stattfindet, einer weiteren Klärung. Wir möchten
jedenfalls annehmen, daß dem Serum spezifische methämoglobinbildende
Eigenschaften zukommen. Die Frage, ob dieses methämoglobinbildende
Prinzip des Serums mit dem in Organ- und Bakterienextrakten ^{7, 8, 9}
vorkommenden übereinstimmt, bleibt weiteren Arbeiten vorbehalten.
Es ist aber hier besonders zu betonen, daß dem Blutserum methämo-
globinbildende Eigenschaften, wie es zahlreiche von uns bis jetzt aus-
geführte Vergleichsversuche mit Gewebsextrakten zeigen, in besonderem
Maße zukommen.

Was die Abspaltung des Hématins aus dem Blutfarbstoff betrifft,
so liegt es nahe anzunehmen, daß die Sprengung des Hämoglobinemoleküls
ein fermentativer Vorgang ist. Die Fermente der Blutflüssigkeit sind
anscheinend instande den Blutfarbstoff unter gewissen Bedingungen
weitgehend abzubauen.

Es ist uns lange bekannt, daß die Spaltung des Hämoglobins in
seine zwei Komponenten durch Fermente bewirkt werden kann. Zuerst

zeigte *v. Zeynek*¹⁰, daß die Abspaltung des Hämatins nicht nur durch Säuren und Laugen, sondern auch durch Fermente möglich ist. Durch Salzsäure-Pepsinwirkung trennte er den eisenhaltigen Blutfarbstoffanteil als „Verdauungshämatin“ ab. *Haurowitz* fand Pankreasextrakt, bzw. das Trypsin¹¹ in demselben Sinne wirksam und konnte zuletzt auch durch Papain¹² — eine allgemein verbreitete pflanzliche Proteinase — die prostetische Gruppe aus ihrer Bindung mit dem Globin lösen.

Die Annahme eines allein gegen den Blutfarbstoff gerichteten, spezifischen Fermentsystems entbehrt vorläufig jeder Berechtigung. Viel wahrscheinlicher ist, daß die proteolytischen Fermente der Blutflüssigkeit das Hämoglobin anzugreifen imstande sind.

Welcher Art diese Wirkung aber auch sein mag, es tritt die Frage in den Vordergrund, warum das dem Blutfarbstoff gegenüber *in vitro* stark aktive Serum seine Wirksamkeit in der Blutbahn wo das Hämoglobin sich innerhalb der roten Blutkörperchen befindet, nicht entfaltet oder entfalten kann. Da die Bedingungen für das Wirksamwerden der hämoglobinotoxischen Eigenschaft des Serums auch im Organismus weitgehend gegeben zu sein scheinen, müssen wir das Vorhandensein einer Hämoglobin-Schutzvorrichtung annehmen. Wir hoffen, daß weitere Versuche einige Erkenntnis über Art und Wirksamkeit dieses Schutzes, der Schranke zwischen Blutfarbstoff und Blutflüssigkeit, bringen können.

Experimenteller Teil.

Technik.

Herstellung der Hämoglobininlösung: In paraffinierten, eisgekühlten Röhrchen aufgefangenes Blut wurde sofort nach der Entnahme zentrifugiert und die Blutkörperchen 8mal mit Tyrodelösung gewaschen, um sie von jeder Plasmabeimengung sicher zu befreien. Die Erythrocyten wurden nach Aufschwemmung in Tyrodelösung zur Hämolsierung kräftig mit Glasperlen längere Zeit geschüttelt und nach Zentrifugieren die Hämoglobininlösung abpipettiert. Die Konzentration der Ausgangslösungen wechselte in engen Grenzen; für einen Versuch wurde selbstverständlich immer ein und dieselbe Lösung verwendet. Alle Vorbereitungen und Versuche wurden unter streng aseptischen Bedingungen durchgeführt.

Die Veränderungen des Hämoglobins wurden spektroskopisch verfolgt. Wir benutzen ein Gittermeßspektroskop nach *Löwe* und *Schumm* (C. Zeiß, Jena), mit dem wir bei stets gleichbleibendem, möglichst engem Spalt — 0,03—0,06 mm — arbeiteten. Als Lichtquelle diente eine Punktlichtlampe in konstantem Abstand von der Spaltebene. Zur Untersuchung wurden die Flüssigkeiten in die üblichen Absorptionsröhrchen mit einer Schichtdicke von 5—20 mm gefüllt.

Eine quantitative Erfassung der Abbauvorgänge an unserem Substrat bietet große Schwierigkeiten. So versuchten wir tägliche Messungen der Extinktionskoeffizienten mit dem *König-Martensschen* Spektralphotometer durchzuführen. Die im Verlaufe der Versuche auftretenden

Trübungen der Flüssigkeit stören aber genaue Bestimmungen und überlagern schließlich die Veränderungen der spezifischen Auslöschungen weitgehend.

Wir entschlossen uns deshalb uns mit einer annähernden, keinen Anspruch auf quantitative Genauigkeit machenden Schätzung der sich abspielenden Abbauvorgänge zu begnügen und beurteilten die Konzentrationsveränderungen und die Stärke neuer Auslöschungen bei konstanter Schichtdicke (5 oder 10 mm) an der Stärke und Breite ihrer Streifen selbst. Um einen sicheren Vergleichswert zu haben, wurde täglich — also auf jeder Entwicklungsstufe — ein Versuchsröhrchen in den Eisschrank gebracht, das am nächsten Tage zur Kontrolle neu eingetretener Veränderungen diente. Auf diese Weise glauben wir, sichere Darstellungen der *Wirkungsrichtung* und der augenfälligen Unterschiede im Wirkungsgrade der untersuchten Seren geben zu können, auf die es uns allein ankam.

Zur Charakterisierung der Auslöschungsstärke bedienten wir uns folgender Bezeichnungen:

+++	sehr starke Streifen
++	starker Streifen
+	gut sichtbarer Streifen
±	schwach sichtbarer Streifen
±	sehr schwacher Streifen
S	Spuren = gerade sichtbarer Streifen.

Versuche.

In eine Reihe von Versuchsröhrchen wurde 1 ccm Hühnerhäoglobinlösung gegeben und je drei Tropfen Serum desselben Blutes zugesetzt. Eine ebenso große Zahl von Versuchsröhrchen blieb ohne Serumzusatz, bzw. es wurden der Blutfarbstofflösung drei Tropfen Tyrodelösung zugefügt. Nach der Beschickung wurden die Röhrchen verkorkt, paraffiniert und bei 37° bebrütet. Täglich zu bestimmter Stunde wurden die Versuchsflüssigkeiten spektroskopisch untersucht und ihr Aussehen aufgezeichnet.

Nach 24 Stunden erscheint der Inhalt der Röhrchen bei Betrachtung fast unverändert: Die Flüssigkeiten sind blutrot und klar. Am 2. Tag ist der frischroten Blutfarbe schon ein deutlicher, leicht bräunlicher Ton beigemischt. Am 3. und 4. Tage wird die Färbung schmutzigbraun bis leicht grünlich; während der nächsten Beobachtungen verstärken sich diese Farbtöne weiter, das ursprüngliche Rot verschwindet mehr und mehr, so daß die Flüssigkeiten am 7.—8. Tage eine braune, leicht schmutzige Farbe haben. Mit der Veränderung der Farbe geht die Bildung eines Niederschlages einher; während nach 24 Stunden kaum ein Bodensatz sichtbar ist, ist schon nach 48 Stunden die Grundfläche der Röhrchen mit einem deutlich grauweißen, manchmal vollkommen porzellanweißen Schleier bedeckt. Mit der Vertiefung der Braunfärbung der Flüssigkeit

vermehrt sich in den nächsten Tagen auch der Niederschlag. Am 7. bis 9. Versuchstage schließlich ist der ganze Boden mit einer grauen bis porzellanweißen Schicht bedeckt.

Die Blutlösungen ohne Serumzusatz zeigen alle diese regelmäßig zu beobachtenden Veränderungen nicht. Ihr Inhalt blaßt etwas ab, und nimmt einen leicht violetten Farbton an mit einer ganz geringen braunen Tönung. Ein Bodensatz ist nicht zu beobachten. Zeigte sich eine stärkere Farbveränderung ihres Inhaltes oder ein deutlicher Niederschlag, so konnte immer eine Verschmutzung oder Infektion nachgewiesen werden.

Hämoglobinabbau unter Serumeinwirkung. Die täglich zu bestimmter Stunde vorgenommene spektroskopische Untersuchung läßt schon nach 24 Stunden eine geringe Abblassung der beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins in den serumhaltigen Röhren erkennen. Diese Abnahme der Streifenstärke läßt sich im Verlauf der folgenden Versuchstage fortschreitend beobachten. Schon nach 48 Stunden sind die Auslösungen blaß, etwas verschwommen und schmaler. Am 6.—7. Versuchstage schließlich ist der erste Hämoglobinstreifen nur noch sehr schmal oder nicht mehr sichtbar. Das Spektrum der ohne Serumzusatz gebliebenen Blutfarbstofflösungen wird während der ganzen Versuchsdauer nur wenig blasser. Zu einem Zeitpunkt, an dem der α -Streifen des Oxyhämoglobins nur noch schwach zu sehen ist, zeigt er sich in den Kontrollröhren noch als massive Auslöschung. Der tägliche Vergleich der Versuchsröhren mit solchen, die sowohl von Versuchsbeginn an im Eisschrank verblieben, als auch täglich dem Versuch entnommen und in den Eisschrank gebracht wurden, zeigt, daß die Abnahme der Hämoglobinstreifen eine gleichmäßig zunehmende ist.

Dieselbe Beeinflussung des Oxyhämoglobinspektrums konnte sowohl unter der Einwirkung von Menschen-, als auch Hühner- und Kaninchen-serum beobachtet werden — die Schnelligkeit aber, mit der die Oxyhämoglobinstreifen unter der Einwirkung dieser Seren verschwinden, ist durchaus nicht die gleiche.

Die folgenden Versuche wurden zum Vergleich der Wirkung mit Hühner-, Kaninchen- und Menschenserum durchgeführt. Sie ergaben, daß jedes Serum ein charakteristisches Verhalten dem Blutfarbstoff gegenüber zeigt.

Unter genau den gleichen Bedingungen wie oben ausgeführt, wurde der Blutfarbstofflösung drei Tropfen Menschen-, Kaninchen- und Hühnerserum zugeführt. Wir geben die Resultate mehrerer Versuchsreihen in Abb. 1 wieder, die das unterschiedliche Verhalten am klarsten zeigt.

Die spektroskopische Beobachtung zeigt uns deutlich die Unterschiede zwischen der Wirksamkeit der einzelnen Blutseren gegenüber Lösungen von Hühnerhämoglobin. Die Streifen des Oxyhämoglobins verschwinden in unterschiedlicher Geschwindigkeit und in abgestuftem Maße.

Diese Unterschiede, die uns die spektroskopische Untersuchung ergibt, lassen sich auch schon bei Betrachtung mit unbewaffnetem Auge ablesen.

Nach 24 Stunden sind die Versuchsflüssigkeiten der drei angesetzten Versuchsreihen noch fast völlig gleich. Aber schon am 2. Tage bemerkt man Unterschiede. Die mit Menschenserum vermischte Hämoglobinlösung zeigt bereits eine deutliche Abblässung und braunen Farbton, der sich in geringerem Maße auch in der mit Kaninchenserum beschickten Reihe bemerkbar macht. Das Hühnerserum konnte bis dahin die Blutfarbstofflösung nur sehr wenig verändern, sie erscheint nur wenig blasser. Gleichzeitig sahen wir auch jetzt schon ganz geringe Niederschläge auftreten. Die Grundfläche der mit Menschenserum beschickten Röhrchen zeigte einen stärkeren porzellanweißen Niederschlag als den schleierartigen der Hühner-serumreihe. Während der nächsten Versuchstage treten die erst jetzt angedeuteten

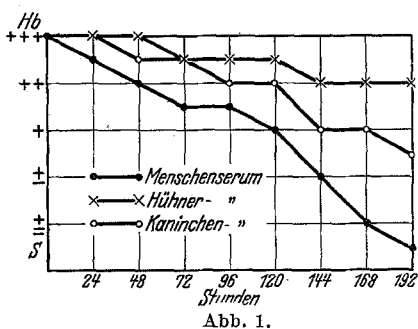


Abb. 1.

Unterschiede in den drei Versuchsreihen immer stärker hervor, um etwa am 7. bis 8. Tage am ausgeprägtesten zu sein. So erscheint am letzten Versuchstage die mit Menschenserum vermischte Blutfarbstofflösung als tiefbraungrüne, leichtschmutzige Flüssigkeit, ein starker grauweißer Niederschlag bedeckt den Boden des Versuchsröhrchens. Dieselbe Farbe, nur schwächer, mit noch einer Beimengung eines rötlichen Farbtons, zeigen die Hämoglobinlösungen, die unter der Einwirkung von Kaninchenserum standen. Am wenigsten konnte das Hühner-serum den Blutfarbstoff verändern: Die Farbe der Versuchslösung ist zu dieser Zeit noch am deutlichsten rot, wenn auch die schmutzigbraune Farbe im Vordergrund steht.

Das Blutserum ist imstande Hämoglobin weitgehend anzugreifen. Sein Spektrum wird durch die Einwirkung der Seren von verschiedenen Tierarten in unterschiedlicher Schnelligkeit zum Verschwinden gebracht.

Methämoglobinbildung unter Serumeinwirkung: Gleichzeitig mit dem Verblassen der Oxyhämoglobinstreifen zeigt das Spektrum der Versuchsflüssigkeiten eine zuerst als feiner Schatten, nach 3—4 Tagen als deutlicher Streifen erscheinende Auslöschung im Rot. Das gesamte übliche Spektrum erfährt entsprechende, weitgehende Veränderungen. Der α -Streifen des Oxyhämoglobins nimmt an Stärke ab, wie der Streifen im Rot zunimmt. Im Bereich des β -Streifens bleibt eine massive Auslöschung erhalten, die nach dem violetten Ende des Spektrums hin sehr unscharf begrenzt ist und in einen allmählich zunehmende allgemeine Verdunkelung übergeht, in der um das Maximum 500,0 ein vierter stärkerer Streifen sichtbar ist. Am 5. Versuchstage zeigt sich folgendes Spektrum:

I. <u>645—615</u> μ	II. <u>589—681</u> μ	III. <u>553—530</u> μ	IV. <u>500—470</u> μ
630	578	542	etwa 484
sehr schwach			

Diese Auslöschungen entsprechen im wesentlichen denen des Methämoglobinspektrums in neutraler Lösung. Dieses bestätigt die spektrochemische Untersuchung: Bei Alkalisierung der Flüssigkeit mit Soda-lösung verschwindet der größte Teil des Rotstreifens, und es erscheinen die Extinktionen des alkalischen Methämoglobins mit einem zarten Streifen um das Maximum $604 \mu\mu$ mit einer anschließenden leichten Verdunkelung, die nach Blau hin direkt in den Streifen im Gelbgrün (Maximum $542 \mu\mu$) übergeht und dem sich die Banden im Blau (Maximum $542 \mu\mu$ und $490 \mu\mu$) anschließen. Die Einwirkung eines Reduktionsmittels — Schwefelammonium oder Hydracinhhydrat — wandelt das Methämoglobin in reduziertes Hämoglobin mit seiner breiten, unscharf begrenzten Auslöschung um:

$$\frac{590 - 587 \mu\mu}{\text{etwa } 555}$$

Die entsprechenden Untersuchungen an einer Oxyhämoglobinlösung ausgeführt, der statt Serum drei Tropfen Tyrodelösung pro Kubikzentimeter zugesetzt wurden, lassen während der 1. Versuchstage keine Veränderungen des Blutfarbstoffes erkennen. Erst am 4.—6. Tage zeigt sich ein schwacher, bei engem Spalt eben sichtbarer Streifen im Rot, der sich als dem Methämoglobin allein zugehörig erweist.

Um die spektroskopischen Erscheinungen der Kontroll- und Versuchsflüssigkeiten quantitativ vergleichen zu können, sowie auch das erste Auftreten des Rotstreifens unter genau gleichen Verhältnissen prüfen zu können, mußten die Lösungen bei gleicher p_H untersucht werden, da sich das Methämoglobinspektrum einem Indicator gleich mit der p_H ändert. Wir pufferten deshalb unsere Flüssigkeiten mit einem Phosphatpuffergemisch nach *Sørensen* auf $p_H = 7.2$. Auch unter diesen Bedingungen zeigten sich die erheblichen Unterschiede in dem Zeitpunkt des Erscheinens des Methämoglobins und der Mengen, die einerseits unter der Einwirkung der verschiedenen Seren, andererseits durch spontane Autoxydation gebildet werden.

Die oxydierende Kraft des Serums ist nicht nur den verschiedenen untersuchten Tierseren grundsätzlich eigen, sondern — und dies scheint uns ein weiterer Beweis für die Aktivität des Serums zu sein — sie kommt, wie der Hämoglobinabbau, den Einzelseren in verschiedenem Maße zu. Während das Menschenserum schon nach 24—48 Stunden beträchtliche Mengen von Methämoglobin zu bilden vermag, ist nach derselben Zeit unter dem Einfluß des Hühnerserums nur ein erheblich schwächerer Streifen im Rot sichtbar. Die Wirksamkeit des Kaninchen-serums liegt zwischen der der beiden beschriebenen. Das wirksame Prinzip muß also in verschiedenem Maße in den einzelnen Seren enthalten sein.

Das Blutserum ist imstande das Hämoglobin in beträchtlichem Maße in Methämoglobin umzuwandeln. Die Eigenschaft kommt den verschiedensten

Seren zu, sie besitzen sei aber in unterschiedlichem Grade: Mensch > Kaninchen > Huhn.

Hämatinbildung unter Serumeinwirkung: Die weitere spektrochemische Analyse der Versuchsflüssigkeiten zeigte uns, daß der Blutfarbstoff durch das Serum nicht nur in die höhere Oxydationsstufe, das Methämoglobin, überführt werden kann, sondern das Hämoglobinmolekül tiefgreifendere Veränderungen erfährt.

Das oben genauer beschriebene Absorptionsspektrum eines Hämoglobin-Serumgemisches am 5. Versuchstage deutet darauf hin, daß noch ein weiterer Farbstoff neben dem Methämoglobin und Oxyhämoglobin vorhanden sein muß. Die breite Auslöschung in Rot: 645—615 $\mu\mu$ konnte kaum allein auf die Anwesenheit von Methämoglobin zurückzuführen sein, da sie erheblich weit zum Gelb hin reicht. Wir konnten nachweisen, daß nach Reduktion der Flüssigkeit mit Schwefelammonium oder Hydracinhydrazat innerhalb des breiten Bandes des reduzierten Hämoglobins bei geeigneter Schichtdicke deutlich der erste Streifen des *Hämochromogens* um 558 $\mu\mu$ sichtbar wird. An späteren Versuchstagen sind die Hämatinmengen so groß, daß nach Schwefelammoniumzusatz auch der zweite, schwächere Streifen des Hämochromogens sicher nachweisbar wird. Bei Alkalisierung des Röhrcheninhaltes mit Sodalösung verbleibt während der ersten Versuchstage kaum eine Auslöschung oder nur eine sehr schwache im Rot. Am 6.—8. Versuchstage dagegen ist nach Sodazusatz deutlich ein zurückbleibender Streifen zwischen etwa: 618—630 $\mu\mu$ zu sehen, nachdem die Auslöschung des Methämoglobins im Rot verschwunden ist.

Die Fähigkeit, den Blutfarbstoff in dem zuletzt beschriebenen Sinne der Hämatinabspaltung zu zerstören, kommt ebenfalls allen von uns untersuchten Seren zu. Wir vermögen aber nicht zu sagen, ob sich die Seren verschiedener Tierarten auch in der Fähigkeit der Abspaltung der eisenhaltigen Gruppe aus dem Blutfarbstoff unterscheiden. Die Überlagerung der Absorptionen des Hämochromogens durch die breite Verschattung des reduzierten Hämoglobins macht eine sichere mengenmäßige Beurteilung unmöglich.

Die eisenhaltige Gruppe wird in beträchtlichen Mengen abgespalten. Bei der quantitativen Schätzung des Hämatins unserer Versuchsflüssigkeiten nach *Schumm*¹³, d. h. der Bestimmung derjenigen Schichtdicke, bei der der erste Hämochromogenstreifen nach Reduktion einer Lösung mit Schwefelammonium eben noch sichtbar ist, konnten wir am 5. Versuchstage in einer Hühnerhämoglobinlösung, die zusammen mit Menschenserum bebrütet worden war, noch in 2 mm Schichtdicke den ersten Hämochromogenstreifen sicher sehen. Das würde nach *Schumm* einem Wert von Ht. 20 entsprechen, wobei Ht. 1 = 0,14 mg Hämatin in 100 ccm der untersuchten Lösung entspricht. Die aufgetretenen Hämatinmengen

sind selbstverständlich von dem Hb-Gehalt der Versuchsflüssigkeit abhängig.

Das Blutserum verschiedener Tierarten ist imstande, das Hämoglobin unter Abspaltung der eisenhaltigen Gruppe zu zerstören.

Schrifttum.

- ¹ *Bingold, K.*: Hämolyse, Blutfarbstoffabbau, Hämatinämie und Ikterus. Z. klin. Med. **97**, 257 (1923). — ² *Schumm, O.*: Über das Vorkommen von Hämatin im Serum bei toxischem Blutkörperchenzerfall. Münch. med. Wschr. **53**, 2923 (1912). — ³ *Haselhorst, G. u. H. Papendieck*: Hämatin als physiologischer Bestandteil des Blutes in der Fetalperiode und bei Neugeborenen. Klin. Wschr. **22**, 979 (1924). — ⁴ *Bingold, K.*: Über den Blutfarbstoffabbau. Klin. Wschr. **19**, 866 (1929). — ⁵ *Hoppe-Seyler, H.*: Das Hämoglobin als Reagens auf freien Sauerstoff. Hoppe-Seylers Z. **1**, 121 (1877). — ⁶ *Neill, J. M.*: Studies on the oxidation-reduction of hemoglobin and methemoglobin. IV. The inhibition of „spontaneous“ methemoglobin formation. J. of exper. Med. **41**, 561 (1925). — ⁷ *Ray, G. B. and L. A. Isaac*: Chemical studies on the spleen. III. The action of splenic and other tissues upon the removal of hemoglobin-methemoglobin-solution. J. of Physiol. **91** II, 377 (1930). — ⁸ *Duesberg, R. u. W. Koll*: Über Methämoglobinbildung durch antianämisch-wirkende Organextrakte. Arch. f. exper. Path. **162**, 296 (1931). — ⁹ *Schnabel, A.*: Die Blutgifte der Pneumokokken. Z. Hyg. **93**, 175 (1921). — ¹⁰ *v. Zeynek*: Über das durch Pepsin-Salzsäure aus Oxyhämoglobin entstehende Hämatin und Hämo-chromogen. Z. physik. Chem. **30**, 126 (1900). — ¹¹ *Haurowitz, F.*: Über die tryptische Verdauung des Blutfarbstoffes. Z. physik. Chem. **188**, 161 (1930). — ¹² *Haurowitz, F.*: Über die Darstellung von Methämoglobin, über Fluorhämoglobin, über Papainspaltung von Hämoglobin und über das Hämoglobin bei perniziöser Anämie. Z. physik. Chem. **194**, 98 (1931). — ¹³ *Schumm, O.*: Die spektrochemische Analyse. Jena 1928.
-