

Versuche zum Nachweis einer Buttersäuredehydrase im Normalserum.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von O. Hoffmann-Ostenhof und Gertrude Rada †.

Aus dem I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 23. Febr. 1948. Vorgelegt in der Sitzung am 11. März 1948)

In Arbeiten über den Mechanismus der Krebsentstehung schreibt *A. v. Christiani*¹ dem Buttersäureester des Cholesterins eine sehr wesentliche Rolle für die Karzinombildung zu. Diese Substanz, welche nur im Serum bzw. Gesamtorganismus des Krebskranken vorhanden sein soll, sei imstande, ein sogenanntes Lösungsferment, welches im Normalserum vorkomme und die Aufgabe habe, eventuell entstehende Karzinomzellen aufzulösen, in seiner Wirksamkeit zu hemmen. Nach den Angaben des Autors könnte sich der hemmende Buttersäureester des Cholesterins im gesunden Organismus deshalb nicht bilden, weil im Normalserum ein oxytropes Ferment dafür sorge, daß entstehende Buttersäure sofort abgebaut werde. Dieses Ferment wird von *A. v. Christiani* Buttersäuredehydrase genannt; sein Nachweis sei mit Hilfe der zytolytischen Reaktion von *Freund* und *Kaminer* durchgeführt worden, das Enzym sei thermolabil und seine Wirkung vom *pH* des Milieus abhängig.

Die Existenz eines derartigen Ferments wurde bereits von mehreren Seiten bezweifelt. *K. Hinsberg*² bemühte sich, auf chemischem Wege das Verschwinden der Buttersäure im Normalserum nachzuweisen; er konnte aber keine Abnahme des Buttersäuregehalts in seinen Serumproben nachweisen. *A. v. Christiani* bezweifelt allerdings die Beweiskräftigkeit der Versuche von *K. Hinsberg* mit der Begründung, daß durch die bei den Experimenten angewandten Bedingungen (große Serummengen) sehr bald anaerobe Verhältnisse geschaffen würden, wodurch das oxytropen Ferment nicht wirken konnte. Auch der eine von uns (O. H.-O.)³ hat im Verlauf von Diskussionen nach Vorträgen von *A. v. Christiani* mehrfach seine Bedenken gegen die Annahme eines solchen Ferments ohne chemischen oder enzymologischen Nachweis seiner Wirkung geäußert.

Die Frage der Existenz einer Buttersäuredehydrase im Normalserum erschien uns im Rahmen der Vorstellungen von *A. v. Christiani* über die Krebsätiologie so wesentlich, daß wir Versuche durchführten, das Enzym auf fermentchemische Weise nachzuweisen, worüber in der vorliegenden Mitteilung berichtet werden soll.

¹ *A. v. Christiani*, Biochemische Forschungen auf dem Gebiete der Krebskrankheit, Wien 1946, insbes. S. 2 ff, Kap. II, IV, V–VII; S. 79, Abschn. E.

² *K. Hinsberg*, Z. Krebsforsch. **54**, 270 (1943).

³ Vgl. z. B. Wien. Klin. Wschr. **60**, 24 (1948).

I. *Versuche in der Apparatur nach Warburg.* Es wurde eine Anzahl von Versuchsreihen unter verschiedenen Bedingungen durchgeführt. 7—10 ccm Normalserum⁴ wurden mit 0,6—13 mg mehrfach durch Umkristallisieren gereinigtem Natriumbutyrat mit oder ohne Zusatz von Pufferlösung ($p_H = 7,3$) sowie mit oder ohne vorherige Sättigung mit O_2 , in der Apparatur nach Warburg bis zu 48 Stunden lang bebrütet, wobei niemals die geringste Mehraufnahme an O_2 gegenüber den Kontrollen festgestellt werden konnte, was zu erwarten wäre, wenn eine oxytropie Buttersäuredehydrase das Butyrat dehydrieren würde. Selbst die geringste angewandte Substratmenge müßte unter diesen Bedingungen bei einer fermentativen Wirkung einen merklichen Manometerausschlag verursachen.

II. *Versuche mit der Methylenblaumethodik.* Dehydrasen sind allgemein imstande, eventuell unter Mitwirkung von Überträgersystemen, Akzeptorfarbstoffe, so insbesondere Methylenblau, bei Einhaltung bestimmter Bedingungen zu entfärben, wenn das entsprechende Substrat zugegen ist. Wir führten eine analoge Versuchsreihe zu der oben geschilderten mit der Methylenblaumethodik in der Thunberg-Apparatur durch, konnten aber auch hier niemals die Wirkung einer Dehydrase beobachten. —

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß es unmöglich ist, mit Hilfe der beiden enzymchemischen Methoden die Existenz einer Buttersäuredehydrase nachzuweisen, wodurch diese wohl weitgehendst in Frage gestellt wird. Weitere Versuche, einen eventuellen durch andere Fermente katalysierten Abbau der Buttersäure im Serum nachzuweisen, sind in Vorbereitung.

Bemerkungen zu der vorstehenden Arbeit von O. Hoffmann-Ostenhof und G. Rada

Von A. Christiani.

Aus dem Laboratorium für Krebsforschung am Krankenhaus der Stadt Wien-Lainz.

(Eingelangt am 17. März 1948. Vorgelegt in der Sitzung am 15. April 1948.)

Zu der vorläufigen Mitteilung von Hoffmann-Ostenhof und Rada über Versuche zum Nachweis einer Buttersäuredehydrase im Normalserum wäre folgendes zu bemerken:

Bei meinen biochemischen Untersuchungen ergab sich zwischen Carcinomserum und Normalserum ein stets reproduzierbarer Unterschied. Setzt man zu 2,5 ccm eines mit Äther ausgeschüttelten Carcinomserums 1 mg Cholesterin und $\frac{1}{2}$ mg Buttersäure, bebrütet es und schüttelt wieder mit Äther aus, so findet man im Extrakt einen Stoff, der in

⁴ Für die Überlassung von Normalserum (Pferdeserum) sind wir dem Staatlichen Serotherapeutischen Institut (Vorstand Prof. M. Eisler) zu Dank verpflichtet.