

Ueber das Vorkommen des Albumosen resp. Pepton spaltenden Fermentes (Erepsin von Cohnheim) in reinem Darmsafte von Hunden.

Von
S. Salaskin.

Aus der chemischen Abtheilung des Institutes für experimentelle Medicin in
St. Petersburg.)

(Der Redaction zugegangen am 20. Mai 1902.)

Im vorigen Jahre machte Cohnheim¹⁾ die interessante Mittheilung, dass es ihm gelungen sei, in Extracten aus der Dünndarmschleimhaut ein besonderes proteolytisches Ferment, welches er als Erepsin bezeichnet, zu finden. Dieses Ferment wirkt auf Fibrin nicht verändernd ein, wohl aber spaltet es Albumosen resp. Pepton ziemlich energisch, wobei krystalinische Produkte gebildet werden. Vor Kurzem ist wiederum eine Mittheilung²⁾ von ihm über das nämliche Erepsin erschienen. Ob das Erepsin intracellular wirkt, oder in das Darmlumen secernirt wird, kann der Verfasser noch nicht sagen.

Es wäre also von Interesse und Wichtigkeit, die Wirkung von reinem Darmsaft in dieser Richtung zu untersuchen; eine solche Untersuchung ist noch in dem Sinne von Bedeutung, als durch sie, falls das Vorhandensein von Erepsin im Darmsafte sich bewahrheitet, verschiedene Zweifel darüber, ob nicht etwa die Wirkung von Darmextracten in Cohnheim's

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 451. 1901.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 134. 1902.

Versuchen von dem denselben in geringer Quantität beige-mengten Trypsin abhängt, aus dem Wege geschafft würde.

Dank der liebenswürdigen Zuvorkommenheit des Herrn Prof. J. Pawlow, in dessen Abteilung sämtliche natürliche Verdauungssäfte stets vorrätzig sind, war ich im Stande, eine für meine Untersuchungen genügende Menge reinen Darmsaftes zu erhalten.

Der Darmsaft war aus einer nach der Methode von Thiry angelegten Fistel gewonnen worden; ich erprobte seine Wirkung auf Amphopepton nach Kühne (von Grübler bezogen), auf Amphopepton von Fibrinverdauung durch Magensaft und auf Deuteroalbumosen, welche aus Pepton Witte ausgeschieden worden waren. In sämtlichen Versuchen fand die Verdauung bei schwach alkalischer Reaction in Gegenwart von Thymol und Chloroform statt.

Versuch I. In 4 Proben reinen Darmsaftes, von denen eine jede 8 bis 10 ccm. misst, werden je 0,5 g Grübler'schen Amphopeptons hinzugethan und die 4 Gemische in den Brutschrank gestellt. Nach 20 Stunden werden die Gemische schwach angesäuert und hierauf das coagulirende Eiweiss durch Erhitzen ausgeschieden. Die Filtrate sämtlicher Proben zeigen deutliche Biuretreaction und werden mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Nach 24 Stunden wird der Niederschlag abfiltrirt, aus dem Filtrat der Ueberschuss an Phosphorwolframsäure in üblicher Weise entfernt und dann dasselbe stark eingedickt. Hierbei bildete sich in sämtlichen Proben ein aus Leucin- und Tyrosinkrystallen bestehender Niederschlag.

Um den Einwand, dass die erwähnten krystallinischen Produkte in dem Darmsafte bereits präformirt vorhanden seien, zu beseitigen, stellte ich in Folgendem auch Parallelversuche mit aufgekochtem Darmsaft an.

Versuch II. Darmsaft und aus Fibrin dargestellte Amphopeptonlösung werden in 2 Portionen eingetheilt.

- | | |
|-------------|----------------------------|
| 1. Portion: | 35 ccm. Darmsaft, |
| | 10 Amphopeptonlösung, |
| 2. Portion: | 15 Darmsaft, |
| | 5 Amphopeptonlösung. |

Ehe die Gemische in den Brutschrank kommen, wird die 2. Portion aufgeköcht. Nachdem beide Portionen 43 Stunden im Thermostaten gestanden haben, wird eine jede von ihnen in folgender Weise bearbeitet. Das bei Hitze coagulirende Eiweiss wird durch Aufkochen ausgefällt, abfiltrirt, ausgewaschen und dann durch Verbrennen nach Kjeldahl sein N-Gehalt bestimmt. Filtrat und Spülwasser ausgemessen, ein Theil hiervon wird zur Biuretreaction, welche positiv ausfällt, ein anderer zur Bestimmung des Gesamtstickstoffes verwandt; das Uebrige wird mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, der Niederschlag mit angesäuertem Wasser ausgewaschen, durch Verbrennen nach Kjeldahl sein N-Gehalt bestimmt; die abfiltrirte Flüssigkeit wird wiederum gemessen, in einem Theil derselben der N-Gehalt bestimmt, der übrige aber in üblicher Weise behandelt, um die Ausscheidung von krystallinischen Produkten zu erzielen. Die in folgender Tabelle gegebenen Zahlenwerthe sind für jede Portion auf ihr Gesamtvolumen berechnet.

	1. Portion (nicht aufgekocht)	2. Portion (aufgekocht)
Darmsaft	35 ccm.	15 ccm.
N-Gehalt des bei Hitze coagulirenden Eiweisses	0,0316 g	0,0130 g
N-Gehalt der vom Eiweissniederschlage abfiltrirten Flüssigkeit	0,1953 „	0,0988 „
N-Gehalt der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen	0,0540 „	0,0846 „
N-Gehalt der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Substanzen	0,1400 „	0,0130 „
Derselbe N-Gehalt in Procenten ausgedrückt	71,6	13,2

Versuch 3. 10 ccm. Darmsaft + 30 ccm. Lösung von Deuteroalbumosen werden in zwei gleiche Portionen eingetheilt; die eine von diesen wird, ehe sie in den Brutschrank kommt, aufgeköcht. Nachdem beide Portionen 43 Stunden lang im Brutschrank gestanden haben, werden sie wie oben in Versuch 2 behandelt. Die Reaction auf Pepton fällt in beiden Portionen positiv aus.

	1. Portion (nicht aufgekocht)	2. Portion (aufgekocht)
N-Gehalt des bei Hitze coagulirenden Eiweisses	0,0134 g	0,0175 g
N-Gehalt der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen	0,0221 „	0,0391 „
N-Gehalt der durch Phosphorwolframsäure nicht- fällbaren Substanzen	0,0260 „	0,0056 „
Derselbe N-Gehalt in Procenten ausgedrückt	54,0	12,5

Versuch 4. 9 ccm. Darmsaft + 41 ccm. Deuteroalbumosenlösung werden in zwei Portionen eingetheilt, von denen die eine vor dem Versuch aufgekocht wird. Nachdem beide Portionen 42 Stunden im Brutschrank gestanden haben, werden sie, wie in den vorhergehenden Versuchen, verarbeitet. Die Reaction auf Pepton fällt in beiden Portionen positiv aus.

Erste Portion: 25 ccm. des Gemisches von Darmsaft + Albumosenlösung.

Zweite Portion: 20 ccm. desselben Gemisches (vor dem Versuch aufgekocht).

	1. Portion (nicht aufgekocht)	2. Portion (aufgekocht)
Quantität der Portionen	25 ccm.	20 ccm.
N-Gehalt der ganzen Portionen	0,1140 g	0,0912 g
N-Gehalt des coagulirenden Eiweisses	0,0093 „	0,0088 „
N-Gehalt der von diesem Eiweiss abfiltrirten Flüssig- keit (berechnet)	0,1047 „	0,0824 „
N-Gehalt der durch Phosphorwolframsäure fäll- baren Substanzen	0,0502 „	0,0748 „
N-Gehalt der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Substanzen	0,0530 „	0,0054 „
Derselbe N-Gehalt in Procenten ausgedrückt	50,6	6,5

Versuch 5. 7,5 ccm. Darmsaft + 7,5 ccm. einer gesättigten $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung; der Niederschlag wird abfiltrirt,

mit halbgesättigter $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung ausgewaschen und im Laufe von drei Tagen dialysirt. Dem Inhalte des Dialysators werden 0,5 g Deuteroalbumosen zugesetzt, das Ganze kommt auf 68 Stunden in den Brutschrank. Nach Verarbeitung des Gemisches, wie in Versuch 1, werden Leucin und Tyrosin gefunden.

In Versuch 2 und 4 wurden aus dem Theile des Filtrates, welcher nicht zur Bestimmung des N-Gehaltes verwandt worden war, gleichfalls Leucin und Tyrosin gewonnen; im Versuch 3 war sämtliche abfiltrirte Flüssigkeit zur quantitativen Bestimmung verwandt worden.

Die eben erwähnten Ergebnisse meiner Versuche berechtigen mich zu der Behauptung, dass der Darmsaft auf Albumosen in gleicher Weise einwirkt, wie Extracte der Dünndarmschleimhaut, d. h. dass er Erepsin enthält.

Ich muss jedoch darauf hinweisen, dass die Wirkung des Darmsaftes in allen meinen Versuchen eine bedeutend schwächere war, als die der von Cohnheim dargestellten Extracte; trotzdem in meinen Versuchen die Wirkung des Darmsaftes länger dauerte, konnte ich in keinem einzigen Versuche ein Verschwinden der Biuretreaction erzielen.

Zum Schlusse noch einige Worte über die Mittheilungen von Kutscher und Seemann¹⁾ und von Loewi.²⁾

Kutscher und Seemann untersuchten den Dünndarminhalt nach Fleischfütterung und fanden stets krystallinische Produkte der Eiweisspaltung (Mono- und Diaminosäuren), die Reaction auf Pepton blieb entweder ganz aus, oder war nur sehr schwach ausgeprägt. Hieraus schliessen sie, dass im Darmcanal der Eiweisszerfall bis zur Bildung von krystallinischen Produkten fortschreitet.

Loewi, welcher einem Hunde im Laufe von 25 Tagen neben stickstofffreier Stärke und Rohrzucker als einzigen Stickstoffträger die löslichen Produkte einer bis zum völligen Verschwinden der Biuretreaction fortgesetzten Pankreasselbst-

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV, S. 528, 1902.

2) Centralbl. f. Physiol., Bd. 15, S. 590, 1902.

verdauung verfütterte, fand, dass das Thier 120 g an Gewicht zunahm, und stellte durch Stickstoffbestimmungen im Harn im Laufe von 5 Tagen fest, dass das Thier sich im Stickstoffgleichgewichte befand. Damit ist, seiner Meinung nach, bewiesen, dass das Thier aus den oben genannten Endprodukten Eiweiss synthetisch bildete. Ich will gern zugeben, dass dem thierischen Organismus diese Thätigkeit zukommen kann, doch reichen die Versuchsergebnisse von Loewi selbst noch nicht aus, um diese Behauptung aufzustellen. Zur Beurtheilung der Versuchsergebnisse Loewi's möchte ich der Aeusserung, welche Voit über die Versuche von Plosz seiner Zeit gethan hat, gedenken: letzterer Autor fütterte einen zehntägigen Hund mit einer Nahrung, in welcher Eiweiss durch Pepton ersetzt war, und fand hierbei, dass der Hund im Laufe von 18 Tagen 501 g an Gewicht zugenommen hatte; Voit äussert in Betreff dieses Versuches ganz richtig, dass die Gewichtszunahme auch von der Anspeicherung von Wasser und Fett im Körper des Hundes abhängen konnte. Das Stickstoffgleichgewicht, auf welches Loewi hindeutet, ist nicht von Werth, denn es bezieht sich nicht auf die ganze Versuchsperiode, sondern nur auf die 5 Tage, wo kein Erbrechen stattfand; der Hauptwerth muss also auf die Gewichtsveränderung gelegt werden. Leider gibt Loewi nicht an, wie viel Stärke und Zucker er dem Thiere eingab, so dass die Kalorienwerthe der eingegebenen Nahrung nicht berechnet werden können; dieser Umstand erschwert aber die Beurtheilung seiner Versuchsergebnisse.

Was die Versuche von Kutscher und Seemann anbetrifft, so berechtigen sie nicht zu dem Schlusse, dass sämtliches Eiweiss in Form von krystallinischen Produkten resorbirt wird.

Die sehr wichtige Frage, welche in den interessanten Mittheilungen benannter Autoren aufgeworfen wird, steht also immer noch offen. Ich will nicht leugnen, dass die thierische Zelle im Stande ist, aus einfachen Körpern Eiweiss synthetisch aufzubauen. Pflüger hat ja schon längst, von theoretischen Anschauungen ausgehend, eine ähnliche Meinung geäußert: so sagt er in seiner Abhandlung «Ueber die synthetischen

Processe und den Bildungsact des Glycogens etc. *) 1) Nachdem wir uns überzeugt haben, dass in dem Organismus der höheren Thiere eine Synthese von Fett und Kohlehydrat existirt, wird man geneigter sein, aufs Neue die von mir vor langer Zeit vertretene Annahme zu prüfen, ob nicht auch innerhalb gewisser beschränkter Grenzen eine Synthese der Eiweisssubstanzen angenommen werden dürfe.

Ich will nur bemerken, dass das Material, über welches wir heutzutage verfügen, uns noch nicht zu kategorischen Schlussfolgerungen berechtigt und dass zur Lösung dieser Frage, welche zur Beurtheilung des im thierischen Organismus stattfindenden Eiweissumsatzes von so capitaler Bedeutung ist, noch weitere Forschungen nothwendig sind.

Noch eine Bemerkung in Betreff der Arbeit von Glaessner²⁾. Seine Versuche in Uebereinstimmung mit den früheren Angaben von Hofmeister stellen Anhäufung von Albumosen in der Magenschleimhaut während der Verdauung und ihre Rückverwandlung in dem ausgeschnittenen Magen bei Bruttemperatur fest. Aber weshalb soll man denn annehmen, dass diese Albumosen aus der Magenhöhle stammen? Vielleicht bilden sie sich in situ in Folge der Eiweissverwandlung der thätigen Zellen bei Fermentbereitung? Warum sollten sich nicht auch in den thätigen Drüsen neben Ammoniak und CO_2 noch Albumosen bilden? Ihre Rückverwandlung in dem ausgeschnittenen Magen wäre also das Resultat einer Zellenrestitution in dem überlebenden Organe. Solche Deutung würde in Uebereinstimmung mit den mikroskopischen Beobachtungen sein.

1) Pflüger's Archiv, Bd. 22 (1888), S. 153.

2) Beitr. zur chem. Phys. Bd. I, 328, 1901.