

## Die durch Fermente bewirkten Umwandlungen bei der fettigen Degeneration.

Von  
Priv.-Doz. Dr. **Waldvogel**, Oberarzt der Klinik.

(Aus der Göttinger medizinischen Univ.-Klinik. Dir. Geh.-Rat. Prof. Dr. Ebstein.)  
(Der Redaktion zugegangen am 24. Juni 1904.)

Überläßt man Hundelebern der aseptischen Autolyse im Eisschrank, extrahiert mit absolutem Alkohol entweder das bei 50—60° getrocknete Organpulver oder die frische zerkleinerte Substanz — in letzterem Falle wird die Ausbeute im allgemeinen eine größere —, zerlegt den Alkoholrückstand durch aufeinanderfolgende Behandlung mit Äther, warmem Alkohol und Wasser, so kommt man zu bemerkenswerten Resultaten, vorwiegend betreffs der Fette und der lipoiden Substanzen. Ich habe in meiner letzten Arbeit<sup>1)</sup> das von mir angewandte Verfahren bis ins einzelne geschildert und dort eine größere Reihe von Bestimmungen aufgeführt. Hier also nur ein Beispiel.

Ich habe in diesem Versuch dieselbe Leber einmal frisch und dann in gleicher Weise nach verschieden langer Zeit der Autolyse untersucht. Die Zahlen geben die Prozente des feuchten Organs an.

Dauer der Autolyse	Wasser	Alkoholrückstand	Protogene	Jekorin	Ätherrückstand	Lecithine	Fettsäuren	Cholesterin	Neutralfette
%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
0 Tage	65,4	5,8 *	0,005	Unbestimmbar	4,61	4,05	0,18	0,024	0,021
13 "	65,8	8,98 *)	0,008	0,66	4,47	2,35	0,62	0,62	0,33
24 "	65,1	7,51 †)	0,026	1,01	3,49	0,77	0,84	1,51	
44 "	77,1	8,26 †)	0,007	1,20	3,62	0,24	0,85	1,23	0,82

\*) Feucht verarbeitet. †) Trocken extrahiert.

<sup>1)</sup> Virchows Archiv, Bd. 177, 1904.

Abgenommen haben also in diesem Versuch im Verlauf der Autolyse konstant die Lecithine, erst nach einer Neubildung die Protagone.

Konstant zugenommen, parallel mit der Dauer der Autolyse, haben alle übrigen bestimmten Substanzen, am spätesten das Wasser, also neben demselben Jekorin, Fettsäuren, Cholesterin, Fette. Die Protagone nehmen schon wieder ab, während die Lecithine noch konstant schwinden. Die Größe des Alkoholextrakts steht in keinem Verhältnis zur Menge des Ätherlöslichen, es müssen Substanzen entstanden sein, die nach einmaliger Lösung in warmem Alkohol im Äther nicht löslich sind. Ihre Hauptmenge wird gebildet von dem im Wasser übergehenden Jekorin, resp. von ihm nahestehenden Substanzen. Das Jekorin, stets wasserlöslich, läßt sich aus wässrigen Lösungen durch Aceton fällen, ohne bei öfterer Wiederholung des Lösens und Wiederausfällens seine reduzierende Eigenschaft zu verlieren. Es ist durch das Hinzukommen dieser Reaktion den Lecithinen nahegerückt, unterscheidet sich aber von ihnen durch eine ebenso große Anzahl von Merkmalen, wie sie den übrigen hierherzurechnenden Substanzen zukommen.

Der Alkoholauszug autolysierter Lebern unterscheidet sich von dem normaler durch einen höheren prozentischen N- und einen niedrigeren prozentischen P-Gehalt, wie Schulte<sup>1)</sup> unter meiner Leitung nachgewiesen hat.

Die Menge des Ätherlöslichen sinkt während der Dauer der Autolyse, da die starke Abnahme der Lecithine nicht durch eine entsprechende Quantität neu entstandener ätherlöslicher Produkte (Fettsäuren, Cholesterin, Neutralfette) kompensiert wird.

Die Zahl der bei der Autolyse aufgetretenen alkohollöslichen Substanzen ist mit den angegebenen nicht erschöpft, Übergangsstufen zwischen den reinen Lecithinen und dem Jekorin kommen noch in Betracht.

Tritt die Fermentwirkung in Kraft, nachdem die Leberzellen durch große P-Dosen abgetötet sind, so ergeben sich dieselben chemischen Prozesse. Ich habe 3 fast gleich schweren Hunden je 0,02, 0,04 und 0,06 g P subkutan injiziert und als der

<sup>1)</sup> Inaug.-Diss. Göttingen, 1904.

Hund mit 0,06 g starb, wurden auch die beiden andern getötet, sodaß bei gleicher Dauer der Einwirkung die Bildung neuer Substanzen und der Abbau anderer in direkte Beziehung zur Intensität der durch P ausgelösten Fermentation gebracht werden kann. Die Bestimmungen ergaben folgende Prozentzahlen für das feuchte Organ.

P-Dosis	Wasser %	Alkohol rück- stand %	Prot- agone %	Jekorin %	Äther- rück- stand %	Leci- thine %	Fett- säuren %	Chole- sterin %	Neutral- fette %
0 cg	67,1	4,90	0,006	0	4,15	3,86	0,06	0,03	0,02
2	69,7	5,11	0,006	0,0	3,45	1,26	0,69	0,11	0,31
4	71,1	8,61	0,135	0,004	6,26	2,61	0,88	0,19	1,83
6	74,4	10,89	0,010	0,58	4,96	1,31	0,83	0,22	2,06

Die Vermehrung des Wassers tritt schon früh ein, der ganze Prozeß läuft schneller ab, denn die Zersetzung geht bei Körpertemperatur und nach jähem Zelltod vor sich. So ist es zu erklären, daß die Lecithine ja zwar bedeutend im Vergleich zu der Menge in normalen Lebern in allen 3 Versuchen abnehmen, daß aber die niedrigste Zahl schon bei der geringsten Giftdosis erzielt ist, zu einer Zeit, in der Fettsäuren, Cholesterin und Neutralfette schon stark angewachsen sind, Protagon und Jekorin noch nicht nachgewiesen werden können. Nun kommt offenbar eine zweite Giftwirkung bei großer Dosis zustande, langsam wird von dem größtenteils im Blute zirkulierenden Phosphor an die Leber abgegeben, jetzt erfahren Protagone, Lecithine und schließlich das Jekorin eine beträchtliche Vermehrung. Fettsäuren, Cholesterin und Neutralfette nehmen konstant zu. Wir sehen also, daß die Ähnlichkeit im Ablauf der chemischen Prozesse zwischen Autolyse und P-Vergiftung eine ganz hervorsteckende ist, ja, daß ich es in der Hand habe, durch die Größe der P-Dosis bei gleich großen Tieren einmal eine protagonreiche, das andere Mal eine jekorinreiche Leber zu erzielen. Auch bei steigender P-Dosis wie bei längerer Dauer der Autolyse nehmen die mehr gebildeten Protagone schon wieder ab.

Bei lang ausgedehnter Autolyse habe ich auch eine Abnahme des Jekorins feststellen können.

Wir werden zur Klärung der Frage, woher die in so deutlicher Weise aus der Leber mehr gewonnenen Substanzen wie Protagon, Jekorin, Fettsäuren, Cholesterin, Neutralfette stammen, nur dann kommen, wenn wir die Fermente der Leber auf den normalen Bestandteil der Leber einwirken lassen, der für die Lebensvorgänge von großer Bedeutung bei Autolyse und Vergiftung zuerst und in solchem Maße zugrunde geht, daß die neugefundenen Substanzen aus ihm abgeleitet werden können, das ist das Lecithin.

Ich habe mir daher aus dem Alkoholätherauszug normaler Hundelebern das Lecithin durch Aceton gefällt, es wiederholt in Äther gelöst und die Fällung wieder vorgenommen. Dann wurden steril entnommene Hundelebern fein zerkleinert, der Brei mit Wasser unter Rühren ausgezogen, der Saft durch Kieselgurfilter keimfrei abgesogen. Da sich das Filter bald zusetzte, wurde zu einer Lecithinportion (Vers. 2) unfiltrierter Lebersaft zugesetzt, mit Toluol überschichtet und das sterilisierte Glasgefäß mit diesem Inhalt im Eisschrank aufbewahrt. Zu dem andern Versuch wurde kein Toluol verwandt: nachdem die ätherische Lösung des Lecithins in dem sterilen Glasgefäß bei 45° verdunstet war, wurde der klar filtrierte Lebersaft hinzugesetzt, das Glas zuparaffiniert und ebenfalls im Eisschrank aufgehoben. Bei der Eröffnung des Glases nach 20 Tagen erwies sich der Inhalt als steril.

### Versuch 1.

0,771 g Lecithin 20 Tage lang mit 20 ccm klarem Lebersaftes behandelt. Man sieht, wie das am Boden sitzende Lecithin gelöst wird, die Reaktion des Gemenges ist am Schluß deutlich sauer. Man behandelt nach der Öffnung des Glases den Inhalt folgendermaßen: Abdunsten des Wassers bei 50°, Aufnahme des Rückstandes mit warmem absoluten Alkohol, dann mit Äther. Der warme Alkohol wird 48 Stunden auf Eis gestellt, es ist keine Spur von Protagon ausgefallen. Wohl entstand eine Trübung, aber der Rückstand ging nach der

Filtration nicht in warmen Alkohol über, es fiel aus dem Alkohol während 24 stündigen Aufenthalts im Eisschrank nichts aus, sondern in Äther, der zusammen mit der zweiten Alkoholportion der ursprünglichen alkoholischen Lösung des Wasserrückstandes wieder zugesetzt wurde. Nach dem Verdunsten des Alkohols wurde das in ihn vom Wasserrückstand Übergegangene nacheinander mit Äther und Wasser behandelt. Aus diesem Äther ließen sich mit Aceton 0,397 g Lecithin gewinnen. In dem Wasser löste sich langsam eine gelbbraunliche Masse, die Lösung reduzierte, die Substanz konnte durch Aceton aus dem Wasser ausgefällt werden, ließ sich danach nicht in Alkohol und Äther, wohl aber wieder in Wasser lösen, nochmals durch Aceton fällen: sie betrug 0,015 g und mußte daher als Jekorin angesprochen werden. Die gleich nach dem Alkoholauszug hergestellte Ätherlösung des ursprünglichen Wasserrückstandes wurde nun ebenfalls mit dem 3fachen Aceton versetzt: man gewann so stets wieder in Äther lösliches Lecithin in der Menge von 0,053 g. Es waren also von den 0,771 g Lecithin nur  $0,397 + 0,053 = 0,450$  g wiedergewonnen, also 0,321 g umgesetzt. Nach der Acetonfällung wurden Äther und Aceton verdunstet, der Rückstand in Äther gelöst und nun die Fettsäuren abgespalten (Ausschütteln mit mäßig verdünnter Sodalösung, Ausschütteln der Seifenlösung mit Äther, Verdunsten des Äthers, nochmalige Aufnahme mit Äther). Man erhielt eine auf Fettsäuren zu beziehende Abnahme des Ätherextrakts von 0,108 g. Durch Erhitzen des Rückstandes mit alkoholischer Natronlauge auf dem Wasserbade, Eindampfen auf demselben, Lösen des Rückstandes in viel Wasser, Ausschütteln mit Äther gewann man 0,002 g einer wohl als Cholesterin anzusehenden Substanz, zumal sich beim zweiten Versuch größere Mengen sicheren Cholesterins finden ließen. Der Rest von 0,019 g war als Neutralfette anzusprechen.

### Versuch 2.

1,808 g Lecithin unter 31 tägiger Einwirkung von 30 ccm trübem Lebersaftes mit Toluolzusatz. Der nach dem Eindampfen bei 50° bleibende Rückstand wird diesmal zuerst mit Äther,

dann mit 50° warmem Alkohol, darauf mit Wasser behandelt. Im Ätherauszug fand sich durch Aceton fällbares Lecithin in der Menge von 0,995 g, in den Alkohol war kein Lecithin mehr übergegangen, sodaß 0,813 g durch Fermentwirkung verändert waren. In Äther gingen ferner über 0,121 g Fettsäuren, 0,157 g Neutralfette und 0,013 g Cholesterin, leicht löslich in Äther, Chloroform, nicht in Wasser, alle Farbennuancen der Salkowskischen Reaktion prachtvoll gebend.

In den warmen Alkohol ging eine Substanz über, die ich zunächst auch für Lecithin hielt. Sie fiel nach Zusatz der 2—3fachen Menge von Aceton aus, sah gelbbraun aus, war klebrig, löste sich nach dem Ausfall aus Alkohol weder in diesem noch in Äther, dagegen sofort in Wasser und reduzierte stark; sie war also als Jekorin anzusprechen und ihre Menge betrug 0,237 g. Ferner mußte sich in dem Alkoholauszuge, wenn soviel Lecithin zersetzt war, Cholin finden: ich fällte daher, nachdem alles, was durch Aceton ausfiel, entfernt war, mit alkoholischer Platinchloridlösung und bekam nach Auflösung des Doppelsalzes in Wasser und langsamem Verdunsten des Wassers monoklinische Kristalle und meist sechseckige gelbe Plättchen. Durch Waschen derselben mit Alkohol, Wiederauflösen in Wasser und Entfernung des letzteren im Exsikkator erhielt ich dann gelbrote, große, dicke monokline Tafeln.

In Wasser waren 0,539 g Substanz löslich, es entstand eine braune, stark reduzierende Flüssigkeit, nach Zusatz von Aceton jedoch war kein filtrierbarer Niederschlag zu erzielen. Die Reduktion kann auf den in dem Lebersafte gelösten Zucker bezogen werden, immerhin aber haben wir es mit wasserlöslichen Umsatzprodukten des Lecithins zu tun, die später, wie ich das auch früher für die Autolyse betont habe, zum Teil in echtes Jekorin übergehen: sie können hier wie auch in den Anfangsstadien der Autolyse und der P-Vergiftung einen beträchtlichen Teil des Alkoholextraktes ausmachen, im späteren Stadium aber nehmen sie ab. Vorläufig fehlt es noch an der Möglichkeit, sie näher zu identifizieren als durch die Merkmale, daß sie Abbauprodukte der Lecithine sind, daß sie in den Alkoholauszug autolysierter und fettig degenerierter Lebern übergehen und in

Äther unlöslich, in Wasser löslich sind. Dem Stadium der Löslichkeit in Wasser geht bei der Autolyse ein solches der Unlöslichkeit voraus. Hier wie bei allen derartigen Prozessen gilt der Satz πάντα ῥεῖ, sodaß eine Abtrennung schwieriger werden muß.

Es läßt sich also der Prozeß der Autolyse und der fettigen Degeneration chemisch durch Behandlung des Lecithins mit Leberfermenten soweit völlig nachahmen, als es sich um eine Vermehrung der Fettsäuren, des Cholesterins und der Neutralfette, des Jekorins und der diesem nahestehenden Substanzen handelt. Zur Bildung des Jekorins wird der im Lebersafte vorhandene Zucker notwendig sein. Unaufgeklärt ist dagegen noch die Abstammung des Protogons, das nach den Untersuchungen von Tintemann und mir<sup>1)</sup> in Phosphorlebern bis zu der Höhe von etwa 1% der feuchten Lebersubstanz anwachsen kann, und die Entstehung des nach der Zerstörung des vorhandenen neuauftretenden Lecithins, das, wie ich in meiner letzten Publikation<sup>2)</sup> hervorhob, nach einmaligem Übergang nicht in Äther, sondern in Alkohol löslich ist. Die Erklärung der Wasserzunahme wird nicht auf Schwierigkeiten stoßen. Die Summe der für die so ausgedehnten und intensiven Umsetzungsprozesse der Lecithine in Betracht kommenden Fermente wird eine Isolierung der einzelnen nicht leicht machen. Nachdem ich bei der Gleichheit der anatomischen Bilder autolysierter und fettig degenerierter Lebern dieselben Körper, deren physikalische Eigenschaften (Tropfenbildung, Wasserlöslichkeit) mit dem Wesen der fettigen Degeneration so gut vereinbar sind, habe zu- und abnehmen sehen, nachdem es mir gelungen ist, durch fermentativen Abbau der Lecithine den größten Teil dieser Substanzen zu erzeugen, wird das Problem der fettigen Degeneration als gefördert angesehen werden dürfen.

<sup>1)</sup> Zentralbl. f. allg. Path. u. pathol. Anat., Bd. XV, 1904.

<sup>2)</sup> Virchows Archiv, Bd. 177, 1904.