

# Das Verhalten von Blutserum und Harn gegen Glycyl-l-tyrosin unter verschiedenen Bedingungen.

Von

**Emil Abderhalden und Peter Rona.**

---

(Aus dem chemischen Institute der Universität Berlin und dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Urban, Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 11. August 1907.)

---

Durch die Untersuchungen des einen von uns mit Berthold Oppler<sup>1)</sup> ist der Nachweis geführt worden, daß dem Plasma des Pferdes zugesetztes Glycyl-l-tyrosin gar nicht oder doch nur in Spuren angegriffen wird. Wie das Plasma verhält sich das Serum. Es ließen sich bei dessen Verwendung stets nur ganz geringe Mengen von Tyrosin und Glykokoll nachweisen. Es ist leicht möglich, daß das im Serum offenbar in kleiner Menge vorhandene Glycyl-l-tyrosin spaltende Ferment nicht diesem selbst zukommt, sondern durch den Zerfall von weißen und roten Blutkörperchen und namentlich von Blutplättchen<sup>2)</sup> in dieses hineingelangt. Diese Herkunft würde auch die schwankenden Resultate der einzelnen Versuche erklären, denn bald beobachtete man eine geringe, aber deutliche Hydrolyse, bald fiel der Versuch ganz negativ aus. Ohne Ausnahme zeigten dagegen die roten Blutkörperchen des Pferdeblutes und die Blutplättchen eine intensive Einwirkung auf Glycyl-l-tyrosin.<sup>2)</sup> Nach kurzer Zeit ließ sich Abscheidung von Tyrosin und damit der

---

<sup>1)</sup> Emil Abderhalden und Berthold Oppler, Über das Verhalten einiger Polypeptide gegen Blutplasma und -Serum vom Pferde, Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 294, 1907.

<sup>2)</sup> Emil Abderhalden und H. Deetjen, Über den Abbau einiger Polypeptide durch die Blutkörperchen des Pferdes, Diese Zeitschrift, Bd. LI, S. 334, 1907. — Weitere Studien über den Abbau einiger Polypeptide durch die roten Blutkörperchen und die Blutplättchen des Pferdeblutes, Ebenda, Bd. LIII, S. 280, 1907.

Eintritt der Hydrolyse des angewandten Dipeptids nachweisen. Es schien uns auf Grund dieser Erfahrungen nicht ohne Interesse, das Blut und speziell das Serum des Menschen unter normalen und pathologischen Bedingungen auf das Verhalten gegenüber Glycyl-l-tyrosin zu untersuchen. Wir betrachten diese Untersuchung nur als orientierenden Vorversuch. Es handelte sich einmal darum, festzustellen, ob bei verschiedenen Krankheiten Unterschiede zu finden sind, und ferner, inwieweit die angewandte Methode einwandfreie Resultate liefert. Wir können gleich betonen, daß wir die am Pferdeblut gewonnenen Resultate durchaus bestätigen konnten. Das Serum zeigte fast durchweg keine, resp. eine nur sehr geringe Spaltung von Glycyl-l-tyrosin. Waren rote Blutkörperchen in gelöstem Zustand vorhanden, dann ließ sich stets eine intensivere Spaltung des angewandten Dipeptids nachweisen. Es dürfen somit nur diejenigen Beobachtungen als einwandfreie und beweisende angesehen werden, bei denen mit Sicherheit die Anwesenheit von Blutkörperchen und bei Anwendung von Plasma vor allem auch von Blutplättchen ausgeschlossen ist. Findet eine Spaltung von Glycyl-l-tyrosin in größerem Umfange statt, dann ist es durchaus erforderlich, durch weitere Versuche und durch eine genaue mikroskopische Untersuchung des Serums resp. Plasmas den Befund sicherzustellen. Nach unseren Erfahrungen müssen wir jedenfalls davor warnen, positive Resultate ohne weiteres als Beweis für das Vorhandensein eines peptolytischen Fermentes im Plasma des zirkulierenden Blutes anzusehen. Wir haben wiederholt Spaltung von Glycyl-l-tyrosin gefunden und dann bei genauer Untersuchung die Anwesenheit von roten Blutkörperchen und von gelöstem Hämoglobin festgestellt. In solchen Fällen muß man vor allen Dingen sicherstellen, ob das Hämoglobin schon in der Blutbahn frei vorhanden war, oder ob es erst beim Defibrinieren frei geworden ist. Es ist wohl möglich, daß man imstande sein wird, den Zerfall roter und wahrscheinlich auch weißer Blutkörperchen in der Blutbahn direkt mit Hilfe von Glycyl-l-tyrosin nachzuweisen. Ist das Serum vollkommen frei von Blutkörperchen und hat auch kein Zerfall solcher in erheblicher Menge stattgefunden, dann wird man dem

positiven Ausfall des Versuches, das heißt dem Eintritt der Spaltung von Glycyl-l-tyrosin eine Bedeutung zuweisen dürfen, wenn der wiederholte Versuch ebenfalls positiv ausfällt. Am besten wird man gleich zwei an verschiedenen Körperstellen entnommene Blutproben prüfen. Im allgemeinen fällt, wenn man nicht zu verdünnt arbeitet, das abgespaltene Tyrosin aus. Aus der beobachteten Menge des ausgefallenen Tyrosins auf dessen wirkliches Gewicht zu schließen, wäre ein grober Fehler. Das Tyrosin fällt recht verschieden aus, bald in kleinen festen Krusten, bald in voluminösen Krystallmassen. Letztere täuschen oft große Tyrosinmengen vor, während in Wirklichkeit nur relativ sehr geringe Mengen frei geworden sind. Es kann auch der Fall eintreten, daß Tyrosin frei geworden ist und doch nicht zur Abscheidung gelangt. Wir sind diesem Verhalten sehr selten begegnet. Jedenfalls wird es in jedem Falle geboten sein, das Tyrosin direkt zu isolieren. Da der Nachweis des Glykokolls und des nicht gespaltenen Glycyl-l-tyrosins zeitraubend und umständlich ist, dürfte bei derartigen Untersuchungen der Nachweis des Tyrosins als Beweis für eine stattgefundene Hydrolyse genügend sein. Am einfachsten erscheint uns folgender Weg zur Bestimmung des Tyrosins. Das Serum resp. Plasma wird in zugespitzten Reagenzgläsern zentrifugiert, falls während des Versuches eine Abscheidung erfolgt ist. Der Niederschlag wird dann für sich unter Kochen in Wasser gelöst und die Lösung mit Tierkohle gekocht. War Tyrosin vorhanden, so scheidet es sich beim Abkühlen ab. Eventuell engt man die Lösung gleich von Anfang an ein. Aus der Mutterlauge der ersten Krystallisation lassen sich durch Einengen weitere Tyrosinmengen gewinnen. Das vom Niederschlag abgehobene klare Serum resp. Plasma gießt man am besten nach Abhebung des zur Verhinderung von Fäulnis zugesetzten Toluols in feinem Strahle in siedendes Wasser und filtriert dann nach etwa 5 Minuten langem Aufkochen und engt, falls die Lösung klar ist, nun auf dem Wasserbade ein, bis Krystallisation eintritt. War die Lösung noch opaleszierend, so wird sie unter Zusatz von etwas Tierkohle nochmals aufgeköcht und wiederum filtriert. Das erhaltene Tyrosin ist meist schon ganz rein. Wir haben in jedem Falle

diesen Nachweis des Tyrosins zu führen gesucht, auch dann, wenn nichts ausgefallen war. Nach unseren Erfahrungen genügen 3 Tage zur sicheren Entscheidung, ob peptolytische Fermente vorhanden sind oder nicht. Sehr oft findet man im positiven Fall schon innerhalb der ersten 24 Stunden Abscheidung von Tyrosin. Um jedoch genügend Tyrosin zum Nachweis zu erhalten, ist es am besten, auf alle Fälle drei Tage zu warten. Die Versuche länger auszudehnen, ist nicht empfehlenswert. Wir haben, gestützt auf die Erfahrungen des einen von uns mit B. Oppler,<sup>1)</sup> nur dann den Ausfall des Versuches als positiv angenommen, wenn wenigstens 15—20% des angewandten Glycyl-l-tyrosins gespalten waren. Spuren von Tyrosin findet man oft. Es ist ja auch gar nicht zu vermeiden, daß bei Anwendung von Serum Produkte aus zerfallenen Blutkörperchen und vor allem von Blutplättchen in wechselnden Mengen diesem beigemischt werden. In keinem Fall erhielten wir bei Anwendung von Pferdeserum und auch bei Verwendung von Serum des normalen Menschen eine erheblichere Hydrolyse von Glycyl-l-tyrosin. Verfügt man über eine gute Zentrifuge, so dürfte es empfehlenswerter sein, direkt Plasma zu benützen. Die Möglichkeit, aus Blutkörperchen und Blutplättchen stammende Fermente beigemischt zu erhalten, ist geringer.

Im folgenden geben wir eine Übersicht über die ausgeführten Versuche (s. Tab. auf S. 312).

Wir wagen es nicht, aus den vorliegenden Resultaten irgendwelche Schlüsse zu ziehen. Die Zahl der Fälle ist noch viel zu gering. Besonders interessant erscheint es uns, daß in den untersuchten Fällen von Carcinom das Serum Glycyl-l-tyrosin mit Ausnahme eines Falles nicht spaltete. Wir hatten speziell bei kachektischen Fällen mit der Möglichkeit gerechnet, im Plasma resp. Serum Fermenten zu begegnen, welche Glycyl-l-tyrosin angreifen. Es wird auch hier nur möglich sein, zu einer Entscheidung zu kommen, wenn viele Fälle zur Beobachtung kommen und vor allem, wenn ein bestimmter Fall über eine längere Zeitepoche zur Untersuchung herangezogen wird. Wir betonen jedoch gleich, daß auch dann, wenn es nicht gelingt, im Plasma

<sup>1)</sup> l. c.

Datum	Fall	Ange- wandte Flüssig- keits- menge ccm	Glycyl- l-tyro- sin in g	Iso- liertes Tyro- sin in g	Bemerkungen
I. 23./5.	Schwere Anämie	3 Serum	0,5	0,15	Serum frei von Hämoglobin
II. 24./5.	Krise bei Pneumonie	2 »	0,4	0	» » » »
III. 25./5.	Hammelblutserum	3 »	0,3	0,11	» » » »
IV. 29./5.	Pneumonie (Krise)	4 »	0,4	0,05	Hämoglobin im Serum
V. »	Nephritis	5 »	0,4	0	Serum frei von Hämoglobin
VI. »	Carcinom (Kachexie)	5 »	0,4	0	» » » »
VII. 6./6.	Nephritis	4 »	0,4	0,10	» » » »
VIII. »	Perniciöse Anämie	5 »	0,4	0,12	» » » »
IX. 7./6.	Carcinom (Kachexie)	4 »	0,4	0,15	» » » »
X. 10./6.	Typhus	4 »	0,4	0,08	» » » »
XI. »	»	4 »	0,4	0,15	» » » »
XII. 13./6.	Phthise (fieberfrei)	5 »	0,5	0	» » » »
XIII. »	» (Fieber)	5 »	0,5	0	» » » »
XIV. »	Chr. Gelenkrheumat.	5 »	0,5	0	» » » »
XV. »	Carcinom	5 »	0,5	0	» » » »
XVI. »	Pseudoleukämie	4 »	0,4	0	» » » »
XVII. »	Phthise (Anfangstad.)	5 »	0,5	0	» » » »
XVIII. »	» (Fieber)	5 »	0,5	0	» » » »
XIX. 15./6.	Meningitis	4 »	0,4	0	» » » »
XX. 20./6.	Gesund. Individuum	4 »	0,4	0	» » » »
XXI. »	» »	4 »	0,4	0,10	Serum rot gefärbt
XXII. »	Urämie	4 »	0,4	0	Serum frei von Hämoglobin
XXIII. »	Gesund. Individuum	3 »	0,3	0	» » » »
XXIV. »	Nephritis	2 »	0,2	0,02	» » » »
XXV. »	Pneumonie	4 Harn	0,4	0	» » » »
XXVI. »	»	2 Serum	0,2	0	» » » »
XXVII. »	Gicht	2 Harn	0,2	0	» » » »
XXVIII. »	»	2 Serum	0,4	0	» » » »
XXIX. 27./6.	Nephritis	4 »	0,4	0	» » » »
XXX. 28./6.	Hämorrhag. Diathese	2 »	0,2	0,06	» » » »

resp. Serum des Carcinomatösen und speziell des Kachektischen ein Glycyl-l-tyrosin spaltendes Ferment nachzuweisen, trotzdem die Möglichkeit vorhanden sein kann, daß ein proteolytisches Ferment, das sog. heterolytische, im Blute zirkuliert. Wir müssen mit dem Umstande rechnen, daß für die verschiedenen Abbaustufen der Proteine verschiedene Fermente vorhanden sind, und die Aufgabe des sog. heterolytischen, Organeiß angreifenden Fermentes wäre in erster Linie, Proteine selbst zu spalten. Ist einmal der Abbau eingeleitet, dann treten vielleicht die wahrscheinlich in jeder Zelle vorhandenen peptolytischen Fermente in Wirksamkeit. Wir betonen diese Möglichkeit, um etwaigen zu weit gehenden und sicher verfrühten Deutungen unserer Versuche vorzubeugen.

Wir haben in einigen Fällen auch den Urin untersucht, jedoch mit negativem Erfolg. Schließlich haben wir Versuche am Hunde über die Resorption von Pankreatin (Rhenania) und dessen Ausscheidung angestellt. Es zeigte sich, daß kurze Zeit nach der Einführung von Pankreatin per os der Urin Glycyl-l-tyrosin spaltet. Der Versuch, auch im Serum resobiertes Trypsin nachzuweisen, ist bis jetzt nicht einwandfrei gelungen, weil das erhaltene Serum hämoglobinhaltig war. Wir geben im folgenden eine Übersicht über diese Versuche und bemerken noch, daß auffallenderweise nach Verabreichung von Pankreon (Rhenania) der Urin Glycyl-l-tyrosin nicht spaltete.

#### 1. Verfütterung von 10 g Pankreatin.

Harn nach einer Stunde: Zusatz von 0,5 g Glycyl-l-tyrosin zu 5 ccm Harn. Isoliert 0,05 g Tyrosin.

Harn nach 6 Stunden: Zusatz von 0,5 g Glycyl-l-tyrosin zu 5 ccm Harn. Isoliert 0,15 g Tyrosin.

Harn nach 24 Stunden: Zusatz von 0,5 g Glycyl-l-tyrosin zu 5 ccm Harn. Isoliert 0 g Tyrosin.

#### 2. Verfütterung von 5 g Pankreatin:

Harn nach 6 Stunden: Zusatz von 0,5 g Glycyl-l-tyrosin zu 5 ccm Harn. Isoliert 0,10 g Tyrosin.

Harn nach 20 Stunden: Zusatz von 0,5 g Glycyl-l-tyrosin zu 5 ccm Harn. Isoliert 0 g Tyrosin.

Nach Zusatz des Glycyl-l-tyrosins und Toluols blieb der Harn jeweilen 3 Tage im Brutraum.

### 3. Verfütterung von 15 g Pankreon:

Harn nach 5 Stunden: Zusatz von 0,5 g Glycyl-l-tyrosin zu 5 ccm Harn. Kein Tyrosin aufgefunden.

Harn nach 9 Stunden: Zusatz von 0,5 g Glycyl-l-tyrosin zu 3 ccm Harn. Kein Tyrosin aufgefunden.

Harn nach 24 Stunden: Zusatz von 0,5 g Glycyl-l-tyrosin zu 3 ccm Harn. Kein Tyrosin aufgefunden.

### 4. Verfütterung von 15 g Pankreon:

Harn nach 3 Stunden: Zusatz von 0,5 g Glycyl-l-tyrosin zu 5 ccm Harn. Kein Tyrosin aufgefunden.

Harn nach 8 Stunden: Zusatz von 0,5 g Glycyl-l-tyrosin zu 5 ccm Harn. Kein Tyrosin aufgefunden.

### 5. Verfütterung von 10 g Pankreatin:

5 ccm des Harns der ersten 12 Stunden nach der Fütterung spalteten nach erfolgter Filtration durch eine Chamberlandkerze aus 0,4 g Glycyl-l-tyrosin 0,12 g Tyrosin ab.

### 6. Verfütterung von 10 g Pankreatin:

Der Harn wurde auch hier durch ein Chamberlandfilter gesaugt.

Harn unmittelbar nach der Fütterung gelassen. Zusatz von 0,5 g Glycyl-l-tyrosin zu 52 ccm Harn. 0 g Tyrosin.

Harn nach 8 Stunden: Zusatz von 0,4 g Glycyl-l-tyrosin zu 52 ccm Harn. 0,12 g Tyrosin.

Harn nach 20 Stunden: Zusatz von 0,4 g Glycyl-l-tyrosin zu 52 g Harn. 0 g Tyrosin.

Wir hoffen Gelegenheit zu finden, diese noch recht lückenhaften Versuche nach verschiedenen Seiten zu ergänzen und zu erweitern.

