

Über das Vorkommen von peptolytischen Fermenten im Mageninhalte und ihr Nachweis.

Von

Emil Abderhalden und Florentin Medigreceanu, Bukarest.

(Aus dem physiologischen Institute der tierärztlichen Hochschule, Berlin.)

Der Redaktion zugegangen am 26. August 1908.

Vor kurzem hat W. Boldyreff¹⁾ die wichtige Beobachtung gemacht, daß beim Hunde unter bestimmten Bedingungen sich eine Mischung von Darm- und Pankreassaft und Galle aus dem Duodenum in den Magen ergießt. Es ist dies besonders dann der Fall, wenn die Nahrung sehr fettreich ist. Uns interessierte die Frage, ob beim Hunde die in diesen Fällen über tretenden peptolytischen Fermente im Magen zur Wirkung gelangen, und auf welchem Wege sie sich am raschesten und einwandfreiesten nachweisen lassen. Wir arbeiteten mit einem Magenfistelhunde. Nach Brot-, Milch- und Fleischnahrung (mageres Pferdefleisch) war das aus der Fistel fließende Sekret fast immer farblos. Es ließ sich kein Gallenfarbstoff nachweisen. Nur dann, wenn speziell Milch nach reicher Fetteingabe verabreicht wurde, war das Fistelsekret mit Galle vermischt. Wurde nur Fett gegeben, dann trat regelmäßig binnen kurzer Zeit Darminhalt in den Magen über. Zur Entscheidung der Frage, ob den in den Magen gelangenden peptolytischen Fermenten eine Bedeutung für die Verdauung der Proteine im Magen zukommt, schien uns das Verhalten des jeweiligen gewonnenen Magensaftes gegen Polypeptide von größter Bedeutung. Wir verwendeten Glycyl-l-tyrosin. Wir überzeugten uns, daß dieses Dipeptid von reinem Hundemagensaft nicht angegriffen wird.

¹⁾ W. Boldyreff, Der Übertritt des natürlichen Gemisches aus Pankreassaft, Darmsaft und Galle in den Magen. Pflügers Archiv, Bd. CXXI, S. 13, 1907.

Wir wählten zwei Wege zur Feststellung dieser Tatsache. Einmal setzten wir zu Glycyl-l-tyrosin Magensaft und ließen das Gemisch 4 Tage bei 37° stehen. Wir fahndeten dann auf etwa vorhandene Aminosäuren. Der Erfolg war immer vollständig negativ. Wir konnten das unveränderte Dipeptid stets quantitativ wiedergewinnen. Wir verfolgten ferner das Drehungsvermögen einer Lösung von Glycyl-l-tyrosin in Magensaft. Es blieb konstant. Auch der aus der Magenfistel nach Verfütterung von Brot, Milch, Fleisch und Fett gewonnene Magensaft spaltete in keinem Falle Glycyl-l-tyrosin. Wir überzeugten uns nun, daß die peptolytischen Fermente des Pankreassaftes und Darmsaftes sehr rasch durch den sauren Magensaft geschädigt werden. Schon nach fünf Minuten langem Stehen mit der gleichen Menge Magensaft war das Spaltungsvermögen der genannten Säfte für Glycyl-l-tyrosin stark abgeschwächt und beinahe vernichtet. Nach 10 Minuten trat keine Spaltung von Glycyl-l-tyrosin mehr ein. Es stimmen diese Resultate mit Beobachtungen überein, die der eine von uns gemeinschaftlich mit Koelker gemacht hat.¹⁾ Jedenfalls dürften die aus dem Darm in den Magen übertretenden peptolytischen Fermente bei normaler Magenfunktion nicht zur Wirkung gelangen. Anders liegen die Verhältnisse, wenn die Säureproduktion des Magens eingeschränkt oder gar ganz aufgehoben ist. In solchen Fällen wäre es sehr einfach, mit Hilfe von Glycyl-l-tyrosin oder einem anderen optisch-aktiven Polypeptid den Übertritt von Pankreas- und Darmsaft in den Magen festzustellen. Wir haben bei unserem Versuchshunde nach Fettfütterung durch Eingabe von Natriumcarbonat die Hauptmenge der vorhandenen Salzsäure neutralisiert und konnten dann im Fistelsekret peptolytische Fermente nachweisen. Wir zweifeln nicht daran, daß die von uns angewandte Methode zur klinischen Untersuchung des Mageninhaltes von Wert ist.

Um in exakter Weise festzustellen, ob der Übertritt von peptolytischen Fermenten aus dem Darm in den Magen an ganz bestimmte Bedingungen geknüpft ist, haben wir folgende

¹⁾ Emil Abderhalden und A. H. Koelker, Weiterer Beitrag zur Kenntnis des Verlaufs der fermentativen Polypeptidspaltung unter verschiedenen Bedingungen. Diese Zeitschrift, Bd. LIV, S. 363, 1908.

Versuche ausgeführt. Wir fingen zunächst Magensaft nach Eingabe von Brot, Milch, Fleisch und Fett auf und lösten in einer bestimmten Menge des Saftes Glycyl-l-tyrosin auf ($\frac{1}{1000}$ Mol.). Wir bestimmten sofort das Drehungsvermögen der Lösung und verfolgten es nun bei 37° durch mehrere Stunden hindurch. In keinem Fall trat eine nennenswerte Änderung auf. Durch Kontrollversuche mit den Säften allein stellten wir fest, daß diese zwar je nach der Art der Nahrung eine ganz verschiedene Eigendrehung besitzen, daß sie hingegen ihr Drehungsvermögen in engen Grenzen beibehalten. Nun fingen wir die Säfte bei verschiedener Art der Ernährung direkt in einer Natriumcarbonatlösung auf. Am besten läßt man sie aus einer Bürette direkt in das Gefäß einfließen, in das der Magensaft aus der Fistel fließt. Es muß selbstverständlich verhütet werden, daß zuviel Alkali zugegeben wird. Wir kontrollierten die Reaktion der Flüssigkeit im Auffanggefäß mit Lackmuspapier und fingen stets nur soviel Magensaft auf, als wir zu unseren Untersuchungen brauchten, um möglichst rasch arbeiten zu können.

Das erhaltene Resultat ist eindeutig. Nach Eingabe von Brot und magerem Fleisch beobachteten wir nie eine Hydrolyse von Glycyl-l-tyrosin durch den sofort neutralisierten Magensaft. Der nach Fetteingabe ausfließende, durch Galle grün gefärbte Magensaft spaltete in allen Fällen Glycyl-l-tyrosin. Mit Milch erhielten wir schwankende Werte. Wurde sie wenige Stunden nach dem Fettversuche eingegeben, so ergoß sich eine grüngefärbte Flüssigkeit aus der Fistel. In diesen Fällen waren auch peptolytische Fermente vorhanden.

Unsere Versuche beweisen, daß nach Fetteingabe Darminhalt und damit auch peptolytische Fermente in den Magen übertreten. Sie werden normalerweise durch die Salzsäure des Magens sehr leicht zerstört resp. in ihrer Wirkung vollständig gehemmt. Ihr Nachweis gelingt nur, wenn die Säure des Magens sofort mit Alkali neutralisiert wird.

Experimenteller Teil.

Wir führen hier nur diejenigen Versuche an, die mit Hilfe der Polarisationsmethode durchgeführt worden sind. Wir

haben außerdem Parallelversuche mit direkter Isolierung der Spaltprodukte durchgeführt. Die Resultate dieser Versuche entsprechen genau den mit der genannten Methode erhaltenen. War eine Abnahme des Drehungsvermögens der Glycyl-l-tyrosinlösung nachweisbar, dann konnten auch l-Tyrosin und Glykokoll nachgewiesen werden.

1. Versuche mit reinem Magensaft aus einem kleinen Magen (nach Pawlow).

Versuch 1:

5,50 ccm Magensaft + 1,0 ccm
Glycyl-l-tyrosinlösung ($\frac{1}{1000}$ -Mol.).

Zeit	Abgelesener Winkel
0 Minuten	+ 1,50°
10 »	+ 1,50°
60 »	+ 1,48°
2 Stunden	+ 1,49°
5 »	+ 1,50°
8 »	+ 1,48°
16 »	+ 1,47°
20 »	+ 1,47°
34 »	+ 1,46°

Versuch 2:

6,5 ccm Magensaft.
Ohne Zusatz.

Zeit	Abgelesener Winkel
0 Minuten	— 0,08°
10 »	— 0,08°
60 »	— 0,07°
2 Stunden	— 0,09°
6 »	— 0,09°
10 »	— 0,08°
24 »	— 0,09°
34 »	— 0,09°

Versuch 3:

4,5 ccm Magensaft nach Neutrali-
sation mit Natriumcarbonat
+ 2,0 ccm Glycyl-l-tyrosinlösung
($\frac{1}{1000}$ Mol.).

Zeit	Abgelesener Winkel
0 Minuten	+ 1,45°
60 »	+ 1,42°
2 Stunden	+ 1,40°
6 »	+ 1,40°
8 »	+ 1,38°
14 »	+ 1,40°
24 »	+ 1,40°

Versuch 4:

6,5 ccm Magensaft
nach Neutralisation mit
Natriumcarbonat.
Ohne Zusatz.

Zeit	Abgelesener Winkel
0 Minuten	— 0,12°
60 »	— 0,13°
2 Stunden	— 0,14°
6 »	— 0,12°
8 »	— 0,13°
14 »	— 0,14°
24 »	— 0,14°
32 »	— 0,13°

Die Versuche sind sehr oft wiederholt worden. Das Resultat war stets dasselbe. Glycyl-l-tyrosin wurde auch dann nicht gespalten, wenn die Reaktion der Lösung schwach alkalisch war.

2. Versuche mit Pankreassaft, der mit Darmsaft aktiviert worden war.

Versuch 1:

1,0 ccm Glycyl-l-tyrosinlösung ($\frac{1}{1000}$ -Mol.).
 1,0 » Pankreassaft.
 4,5 » Wasser.

Zeit	Abgelesener Winkel
0 Minuten	+ 1,65°
60 »	+ 1,30°
2 Stunden	+ 1,30°
5 »	+ 1,30°
7 »	+ 1,10°
21 »	+ 0,90°
25 »	+ 0,87°
28 »	+ 0,75°

3. Versuche mit aktiviertem Pankreassaft nach Zusatz des gleichen Volumens Magensaft.

1. Versuch:

Die Mischung blieb 5 Minuten stehen und wurde dann mit Soda neutralisiert.

5,5 ccm dieser Mischung.
 1,0 » Glycyl-l-tyrosinlösung ($\frac{1}{1000}$ -Mol.).

Zeit	Abgelesener Winkel
0 Minuten	+ 1,60°
60 »	+ 1,59°
2 Stunden	+ 1,58°
4 »	+ 1,55°
6 »	+ 1,50°
8 »	+ 1,50°
24 »	+ 1,49°
26 »	+ 1,51°
30 »	+ 1,52°
48 »	+ 1,52°

Wir haben noch eine große Zahl derartiger Versuche durchgeführt. Das Resultat war stets dasselbe. Die Wirkung des aktivierten Pankreassaftes gegenüber Glycyl-l-tyrosin wird sehr rasch durch Zusatz von Magensaft aufgehoben.

4. Versuche mit Magensaft nach Verabreichung von Brot, Milch, Fleisch und Speck.

Wir begnügen uns mit der Erwähnung, daß in allen Fällen ohne sofortige Neutralisation die gewonnenen Säfte Glycyl-l-

tyrosin nicht angriffen, und führen hier nur einige Versuche an, bei denen der Magensaft sofort nach seinem Austritt aus der Fistel neutralisiert wurde.

1. Versuche mit Brot.

250 g Brot verfüttert.

Versuch 1:

3,5 ccm Magensaft + $\frac{1}{1000}$ -Mol.
Glycyl-l-tyrosin.

Zeit	Abgelesene Drehung
0 Minuten	+ 1,41°
60 »	+ 1,40°
2 Stunden	+ 1,39°
3 »	+ 1,40°
4 »	+ 1,38°
12 $\frac{1}{2}$ »	Die Lösung war trüb geworden.

Versuch 2:

3,5 ccm Magensaft
ohne Zusatz.

0 Minuten	+ 0,11°
60 »	+ 0,11°
2 Stunden	+ 0,11°
12 $\frac{1}{2}$ »	Die Lösung war trüb geworden.

Versuch 3:

5,5 ccm Magensaft.

1,0 » Glycyl-l-tyrosinlösung ($\frac{1}{1000}$ -Mol.).

Zeit	Abgelesene Drehung
0 Minuten	+ 1,68°
60 »	+ 1,66°
2 Stunden	+ 1,68°
4 »	+ 1,67°
6 »	+ 1,66°
8 »	+ 1,66°
12 »	+ 1,65°
24 »	+ 1,68°
30 »	+ 1,68°

2. Versuche mit Milch.

250 ccm Milch verfüttert.

Versuch 1:

5,5 ccm Magensaft.
1,0 » Glycyl-l-tyrosin-Lösung
($\frac{1}{1000}$ -Mol.).

Zeit	Abgelesene Drehung
0 Minuten	+ 1,76°
60 »	+ 1,76°
2 Stunden	+ 1,78°
4 »	+ 1,80°
6 »	+ 1,78°

Versuch 2:

5,5 ccm Magensaft.
1,0 » Wasser.

Zeit	Abgelesene Drehung
0 Minuten	+ 0,12°
60 »	+ 0,10°
2 Stunden	+ 0,10°
4 »	+ 0,08°
6 »	+ 0,08°

Zeit	Abgelesene Drehung	Zeit	Abgelesene Drehung
8 Stunden	+ 1,76°	8 Stunden	+ 0,09°
12 »	+ 1,66°	12 »	+ 0,08°
24 »	+ 1,64°	24 »	+ 0,07°
36 »	+ 1,60°	36 »	+ 0,07°

Versuch 3:

5,5 ccm Magensaft. (Er war grün gefärbt und enthielt Galle.)
1,0 ccm Glycyl-l-tyrosin-Lösung
($\frac{1}{1000}$ -Mol.).

Zeit	Abgelesene Drehung
0 Minuten	+ 1,82°
60 »	+ 1,75°
2 Stunden	+ 1,75°
3 »	+ 1,70°
5 »	+ 1,72°
7 »	+ 1,65°
12 »	+ 1,40°
24 »	+ 1,21°
28 »	+ 1,21°
30 »	+ 1,08°

Versuch 4

5,5 ccm Magensaft.
1,0 » Wasser.

Zeit	Abgelesener Winkel
0 Minuten	+ 0,23°
60 »	+ 0,25°
2 Stunden	+ 0,28°
6 »	+ 0,30°
8 »	+ 0,25°
12 »	+ 0,22°
24 »	+ 0,20°
30 »	+ 0,18°

3. Versuche mit Fleisch.

250 g ganz mageres Pferdefleisch verfüttert.

Versuch 1:

5,5 ccm Magensaft.
1,0 » Glycyl-l-tyrosin-Lösung
($\frac{1}{1000}$ -Mol.).

Zeit	Abgelesene Drehung
0 Minuten	— 0,38°
60 »	— 0,40°
2 Stunden	— 0,37°
3 »	— 0,36°
4 »	— 0,38°
5 »	— 0,36°
8 »	— 0,36°
12 »	— 0,34°
24 »	— 0,36°

Versuch 2:

5,5 ccm Magensaft.
1,0 » Wasser.

Zeit	Abgelesene Drehung
0 Minuten	— 1,84°
60 »	— 1,84°
2 Stunden	— 1,80°
4 »	— 1,75°
6 »	— 1,75°
8 »	— 1,78°
12 »	— 1,77°
24 »	— 1,80°

4. Versuche mit Speck.

250 g Speck verfüttert.

Versuch 1:

5,5 ccm Magensaft (gallehaltig).
1,0 » Glycyl-l-tyrosin-Lösung
($1/1000$ -Mol.).

Zeit	Abgelesener Winkel
0 Minuten	— 0,45°
60 »	— 0,45°
2 Stunden	— 0,50°
4 »	— 0,62°
6 »	— 0,70°
8 »	— 0,82°
12 »	— 0,98°
24 »	— 1,25°

Versuch 2:

5,5 ccm Magensaft.
1,0 » Glycyl-l-tyrosin-Lösung
($1/1000$ -Mol.).

Zeit	Abgelesener Winkel
0 Minuten	— 1,95°
60 »	— 1,95°
2 Stunden.	— 1,90°
4 »	— 1,92°
8 »	— 1,85°
12 »	— 1,85°
24 »	— 1,88°
36 »	— 1,90°

Versuch 3:

5,5 ccm Magensaft (gallehaltig).
1,0 » Glycyl-l-tyrosin-Lösung
($1/1000$ -Mol.).

Zeit	Abgelesener Winkel
0 Minuten	— 0,35°
60 »	— 0,32°
2 Stunden	— 0,48°
3 »	— 0,46°
4 »	— 0,46°
5 »	— 0,50°
6 »	— 0,58°
7 »	— 0,65°
8 »	— 0,75°
9 »	— 0,75°
10 »	— 0,82°
18 »	— 0,98°
24 »	— 0,96°

Versuch 4:

5,5 ccm Magensaft
1,0 » Glycyl-l-tyrosin-Lösung
($1/1000$ -Mol.).

Zeit	Abgelesener Winkel
0 Minuten	— 1,80°
60 »	— 1,79°
2 Stunden	— 1,78°
3 »	— 1,75°
4 »	— 1,76°
6 »	— 1,75°
8 »	— 1,75°
12 »	— 1,76°
24 »	— 1,80°
30 »	— 1,78°

