

Über die Wirkung einiger Gase auf die Autolyse.

(Untersuchungen zu den Stoffwechselfvorgängen
bei der Asphyxie.)

Von

stud. med. **Luigi Bellazzi.**

(Aus dem Institut für spezielle Pathologie der K. Universität Pavia: Professor M. A s c o l i.)
(Der Redaktion zugegangen am 2. September 1908.)

Auf die grundlegenden Versuche von Salkowski über die Autolyse folgte eine reiche Reihe von Beiträgen, welche, diese interessante Erscheinung von verschiedenen Gesichtspunkten aus analysierend, ihr Verhalten in bezug auf die Reaktion, auf den Einfluß, welchen verschiedene Stoffe auf sie ausüben, und auf die verschiedene Art und Weise, durch welche dieser Einfluß selbst sich vollzieht, studierten. Soweit mir bekannt, ist die Wirkung verschiedener Gase auf die Autolyse noch nicht näher untersucht worden; daher versuchte ich die angedeutete Lücke auf diesem interessanten Gebiete der Biochemie auszufüllen, umsomehr, als sich möglicherweise dabei Analogien, welche die Erklärung des Verhaltens des Stoffwechsels in gewissen pathologischen Zuständen anzubahnen geeignet wären, ergeben konnten.

Technik.

Ich benutzte folgende Technik: In eine Reihe von Kolben wurden 50 g frischen Kalbsleberbreies (mittels der Fleischhackmaschine zerkleinert, durch ein Sieb gepreßt) in 500 g destillierten Wassers gebracht. Eine dieser Proben wurde sofort zum Kochen erhitzt, wie ausführlich unten angegeben werden wird. Die anderen kamen auf 72 Stunden in einen auf 38° eingestellten Brutschrank und durch dieselben wurde ein Strom von Luft, Sauerstoff resp. Kohlensäure hindurchgeleitet; ausgenommen war eine Probe, die als Kontrolle dienen sollte und gut verschlossen zweimal täglich kräftig geschüttelt wurde; alle wurden mit 10 ccm Chloroform und 10 ccm Toluol versetzt.

Der Luftstrom wurde durch eine kleine Wasserstrahlluftpumpe, in Verbindung mit der Außenluft, unterhalten; der Sauerstoff wurde uns von der Spitalsapotheke geliefert. Die Kohlensäure wurde durch Einwirkung von HCl auf Calciumcarbonat entwickelt und mittels Durchleiten durch 2 Kaliumpermanganatlösungen gereinigt. Eine dieser Lösungen

war durch Zusatz von wenig H_2SO_4 angesäuert, die andere vor Beginn des Versuchs mit NaOH alkalisch gemacht. Schließlich passierte der Kohlen säurestrom noch eine Lösung von Natriumcarbonat. Die verschiedenen Gase wurden in kleinen Gasometern gesammelt und ungefähr in gleicher Menge (ca. 100 Liter) durch die respektiven Leberaufschwemmungen hindurchgeleitet. Nach 72 Stunden wurden die Kolben aus dem Brut schrank herausgenommen, der Inhalt in Porzellanschalen gegossen und die Kolben mit 50 ccm Aq. dest. nachgespült; nach Zusatz von 5,5 g sauren Natriumphosphats wurden die Flüssigkeiten zum Sieden erhitzt und 5 Minuten gekocht.

Nach Abkühlung wurde jede Probe mit Aq. dest. auf ihr ursprüngliches Volumen zurückgeführt, durch Leinwand (wobei das Gerinnsel gut ausgepreßt wurde) und dann durch Papier abermals filtriert. 450 ccm der so erhaltenen Flüssigkeit wurden in Porzellanschalen auf direktem Feuer unter Vermeidung des Kochens verdampft, bis die Flüssigkeit weniger als 250 ccm betrug. Nach Abkühlung wurde filtriert und auf genau 250 ccm gebracht. Der Stickstoff wurde in 25 ccm der Flüssigkeit nach Kjeldahl bestimmt, wobei die Oxydation mit 10 ccm konzentrierter H_2SO_4 , 1 g $CuSO_4$ und 5 g sauren Kaliumsulfats erfolgte. Die Destillation geschah in $n/10$ - H_2SO_4 und letztere wurde mit $n/10$ -NaOH titriert. Als Indikator wurde Rosolsäure benutzt.

Versuche.

Die in einer Reihe von Versuchen (wir verfügen über zahlreichere mit ähnlichen Resultaten) erhaltenen Resultate sind in Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.

| Versuchsnummer | N mg vor der Autolyse | N mg nach einfacher Autolyse | N mg nach der Autolyse bei Durchleitung von | | |
|----------------|-----------------------|------------------------------|---|--------|--------|
| | | | CO ₂ | Luft | O |
| I. | 162,86 | 331,34 | 766,58 | 638,82 | 432,43 |
| II. | 192,34 | 446,47 | — | 409,96 | — |
| III. | 202,17 | 349,19 | 500,02 | 433,83 | — |
| IV. | 226,04 | 331,34 | — | 398,73 | 346,78 |
| V. | 285,15 | 292,03 | 438,04 | 345,38 | — |
| VI. | 269,88 | 293,73 | — | 275,18 | 259,74 |
| VII. | 110,91 | 182,52 | — | 175,50 | 181,11 |
| VIII. | 127,76 | 217,62 | 328,53 | 219,02 | — |
| IX. | 126,36 | 216,21 | — | 311,68 | 210,60 |

Sie stimmen in Hinsicht auf die Wirkung der Kohlensäure, die den autolytischen Prozeß begünstigt hat, untereinander überein, während die Versuche mit O und Luft ganz unregelmäßig ausfielen und entgegengesetzte Resultate lieferten. Wir versuchten die Ursache dieser abweichenden Ergebnisse ausfindig zu machen. Von den in Betracht kommenden Fehlerquellen mußte in erster Linie die Verunreinigung durch Entwicklung von Keimen in Erwägung gezogen werden. Die Fäulnis kann in der Tat leichter vermieden werden, wenn die Autolyse in gut verschlossenen Gefäßen und unter einem gewissen Druck von CHCl_3 - oder Toluoldämpfen vor sich geht, während sich bei Durchleiten von Gasen die Verhältnisse in dieser Beziehung offenbar ungünstiger gestalten.

Tatsächlich konnte durch in Bouillon und Agar von den Kolben nach der Autolyse angelegte aerobe sowie anaerobe Kulturen leicht festgestellt werden, daß unter genannten Umständen in allen Proben Entwicklung von Mikroorganismen geschah, auch wenn die Gase vorher durch Watte filtriert waren.

Daher versuchte ich den Fäulnisvorgängen auf verschiedene Weise vorzubeugen: durch Zusatz von CHCl_3 in größerer Menge, von 1 % Natriumfluorid nach C. Biondi,¹⁾ ohne daß sowohl dadurch, als durch gleichzeitigen Zusatz von CHCl_3 und NaFl der Zweck erreicht werden konnte. Die diesbezüglichen Versuchsreihen sind auf Tabelle II verzeichnet.

Tabelle II.

| Versuchsnummer | N mg vor der Autolyse | N mg nach einfacher Autolyse | N mg nach der Autolyse bei Durchleitung von | | | Zusätze |
|----------------|-----------------------|------------------------------|---|--------|--------|--|
| | | | CO_2 | Luft | O | |
| I. | 171,28 | 265,35 | 405,75 | 382,29 | 228,85 | 20 ccm CHCl_3 + 10 ccm Toluol. |
| II. | 155,84 | 289,22 | 512,46 | 408,56 | 262,54 | 50 ccm CHCl_3 . |
| III. | 137,59 | 265,35 | 379,08 | 314,49 | 203,58 | Idem. |
| IV. | 123,55 | 286,41 | 640,22 | 356,61 | 247,10 | 1 % Natriumfluorid. |

¹⁾ Virchows Archiv, Bd. CXLIV.

Endlich gelang es mir, die Schwierigkeit dadurch zu überwinden, daß ich die Temperatur des Brutschrankes von 38° auf 53° brachte. Dadurch konnte jeder Zweifel und Verdacht der bakteriellen Verunreinigung auf die Autolyse beseitigt werden, da ebenso die aerobischen wie die anaerobischen Kulturen immer negativ ausfielen, sei es in den Versuchen mit Zusatz von Chloroform allein oder in Verbindung mit 1% Natriumfluorid.

Die Resultate dieser letzten Versuchsreihe sind in Tabelle III zusammengestellt.

Tabelle III.

| Versuchsnummer | N mg vor der Autolyse | N mg nach einfacher Autolyse | N mg nach der Autolyse bei Durchleitung von | | |
|----------------|-----------------------|------------------------------|---|--------|--------|
| | | | CO ₂ | Luft | O |
| I. | 168,48 | 325,72 | 543,34 | 390,31 | 318,70 |
| II. | 122,14 | 188,13 | 261,14 | 209,19 | 206,38 |
| III. | 141,80 | 245,70 | 305,07 | 255,52 | 235,87 |
| IV. | 136,18 | 252,72 | 268,16 | 238,68 | 210,60 |
| V. | 147,42 | 277,99 | — | — | 273,78 |
| VI. | 204,98 | 329,94 | 537,73 | — | — |

Aus derselben ersehen wir, daß

1. Die Kohlensäure einen entschieden günstigen Einfluß auf die Autolyse hat;

2. diese günstige Wirkung auch durch die Luft, aber in bedeutend schwächerem Grade hervorgerufen wird;

3. der Sauerstoff indifferent oder schwach hemmend wirkt.

Die beschleunigende Wirkung der Kohlensäure erinnert an das bekannte Verhalten des N-Stoffwechsels bei asphyktischen Zuständen. Die Versuche Gepperts, Fränkels und anderer Autoren haben in der Tat ergeben, daß Atmungshindernisse eine stärkere Zersetzung der Eiweißkörper und folglich größere N-Ausfuhr bewirken. Nun haben die Untersuchungen von Jakoby¹⁾ es wahrscheinlich gemacht, daß autolytische oder diesen ähnliche Vorgänge auch im lebenden Organismus sich abspielen. Es erscheint verlockend, die asphyktische Stoff-

¹⁾ Jakoby, Diese Zeitschrift, Bd. XXX.

wechselaktivierung mit der Begünstigung der Autolyse durch CO_2 in Parallele zu setzen und erstere von letzterer abzuleiten; oder wenigstens die Zunahme der N-Ausscheidung beim Asphyktiker von der Wirkung der CO_2 auf den autolytischen analoge Stoffwechselfvorgänge zurückzuführen.

Und nun noch einige Betrachtungen über die Wirkungsart der Kohlensäure. Ist dieselbe ausschließlich oder wenigstens zum Teil von der durch die CO_2 bedingten Aciditätszunahme bedingt?

Die Frage der Wirkung der Säuren auf die Autolyse ist systematisch von der Schule Salkowskis (M. Arinkin¹⁾ u. a.) studiert worden. Eine Reihe von Arbeiten dieser Autoren stellte fest, daß Säurezusatz die Autolyse beschleunigt, und daß es ein Optimum der sauren Reaktion gibt, von dem an Verzögerung eintritt.

Um der angedeuteten Frage näher zu treten, habe ich eine Reihe von Versuchen angesetzt, bei welchen zu Beginn Oxalsäure hinzugesetzt wurde; und zwar wurde die Menge so gewählt, daß die saure Reaktion ungefähr derjenigen gleichkam, welche die Titration mit $n/10$ -NaOH in den Kolben mit Leberbrei-aufschwemmungen, durch welche CO_2 hindurchgeleitet worden war, gezeigt hatte. In diesen übertraf der Säuregrad jenen der einfachen Autolyse um etwa 0,7—1 %.

Das Resultat dieser auf Tabelle IV niedergelegten Versuche zeigt, daß die günstige Wirkung der Kohlensäure wenigstens zum Teile von der stärker sauren Reaktion abzuleiten ist, die sie in den Lebersuspensionen hervorruft.

Tabelle IV.

| N mg vor der Autolyse | Einfache Autolyse | | Autolyse mit Oxalsäurezusatz | | Autolyse mit Durch- leitung von CO_2 | |
|-----------------------------|-------------------|---|---------------------------------|---|--|---|
| | N mg | zur Neutrali- sation er- forderlich | N mg | zur Neutrali- sation er- forderlich | N mg | zur Neutrali- sation er- forderlich |
| 240,98 | 329,94 | 0,8 % Soda $n/10$ | 650,05 | 2 % Soda $n/10$ | 537,73 | 1,8 % Soda $n/10$ |

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LIII.

Kann diese Tatsache mit der hervorgehobenen Analogie zwischen der Beschleunigung der Autolyse durch CO_2 und der Stoffwechselaktivierung in asphyktischen Zuständen im Einklang stehen? Ich erinnere daran, daß Zuntz, Hamburger und Lehmann die Blutalkalescenz unter der Wirkung von CO_2 zunehmen sahen; daß die klinischen Angaben, die wir über cyanotische Kranke besitzen (v. Jaksch und Pfeiffer, Lépine), nicht übereinstimmend sind. Diese Resultate betreffen aber die Titration der potentiellen Alkalescenz. Für den aktuellen Hydroxylionengehalt weisen die neueren experimentellen und klinischen Untersuchungen von E. Tedeschi¹⁾ darauf hin, daß die Kohlensäure fähig ist, die Hydroxylionen herabzudrücken. Es ist also möglich, daß die größere N-Ausscheidung in asphyktischen Zuständen von der verminderten aktuellen Alkalescenz des Blutes und der Säfte infolge Anhäufung von CO_2 abhängig ist, und daß, sofern zwischen Stoffwechsel und Autolyse die genannte Beziehung existiert, sie sich durch denselben Mechanismus der veränderten Reaktion vollzieht.

¹⁾ La clinica medica Italiana 1904.
