

# Über den Gehalt blutfreier Organe an Erepsin.

Von

Otto Cohnheim und Dimitri Pletnew (Moskau).

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Heidelberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 4. August 1910.)

Salkowski<sup>1)</sup> als erster und später Jacoby<sup>2)</sup> haben mit der von ihnen angewandten Methode der «Autodigestion» oder «Autolyse» gefunden, daß in den Organen und Geweben Endoenzyme vorhanden sind, vermittelt deren eine Eiweißspaltung zustande kommt. Auf anderem Wege ist es Vernon<sup>3)</sup> gewesen, der die Anwesenheit des von einem von uns<sup>4)</sup> im Jahre 1901 in der Darmschleimhaut gefundenen Erepsins in verschiedenen Geweben festgestellt hat. Es erwies sich bei seinen Versuchen, daß am erepsinreichsten die Darmschleimhaut und davon die Duodenalschleimhaut ist, während alle anderen Gewebe bedeutend im Gehalt des Erepsins nachbleiben, mit Ausnahme nur der Nieren, die ungefähr doppelt so reich an dem Ferment sind, wie jedes andere Organ. Die letzte Stelle in der Reihe gehört dem Blut und Serum, die nur kleine Mengen Erepsin enthalten.

Abderhalden<sup>5)</sup> und seine Mitarbeiter haben das Vor-

<sup>1)</sup> E. Salkowski, Zeitschrift f. klin. Med., Bd. XVII, Supplem., S. 77, 1891.

<sup>2)</sup> M. Jacoby, Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 158, 1900; Bd. XXXII, S. 126, 1901; Hofmeisters Beiträge, Bd. III, S. 446, 1903.

<sup>3)</sup> H. M. Vernon, Journal of Physiol., Bd. XXX, S. 330, 1903; Bd. XXXII, S. 33, 1904; Bd. XXXIII, S. 81, 1905.

<sup>4)</sup> O. Cohnheim, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 451, 1901; Bd. XXXV, S. 134, 1902.

<sup>5)</sup> E. Abderhalden und Y. Teruuchi, Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 466, 1906; Bd. XLIX, S. 1, 1906. — E. Abderhalden und A. Hunter, ebenda, Bd. XLVIII, S. 537, 1906. — E. Abderhalden und P. Rona, ebenda, Bd. XLIX, S. 31, 1906. — E. Abderhalden und O. Prym, ebenda, Bd. LIII, S. 320, 1907. — E. Abderhalden und F. Lussana, ebenda, Bd. LV, S. 390, 1908. — E. Abderhalden und P. Rona, ebenda, Bd. LX, S. 415, 1909. — E. Abderhalden, A. H. Koelker und F. Medigreceanu, ebenda, Bd. LXII, S. 145, 1909. — E. Abderhalden und F. Medigreceanu, ebenda, Bd. LXVI, S. 265, 1910. — E. Abderhalden und J. Pincussohn, ebenda, Bd. LXVI, S. 277, 1910. — E. Abderhalden, ebenda, Bd. LXVI, S. 137, 1910.

handensein proteolytischer Fermente in verschiedenen Organen verschiedener Tiere an einem ausgedehnten Material bestätigt. Indessen bleibt immer noch der Einwand möglich, daß es sich hier nicht um reine Organ- und Gewebsfermente handelt, daß vielmehr eine Beimischung der Fermente der verschiedenen Blutkörperchen vorliegt. Es ist nämlich von verschiedenen Beobachtern<sup>1)</sup> gefunden worden, daß im Gegensatz zu Plasma und Serum Leukocyten, rote Blutkörperchen und Blutplättchen reich an Fermenten sind. Vernon sagt in seinen Arbeiten nichts über die Art, wie er die Organe vom Blut befreit hat. Abderhalden mit seinen Mitarbeitern befreite zwar «tunlichst» die von ihnen untersuchten Organe vom Blut, aber über die Methode ist nichts angegeben, und es war das meiste von ihnen benutzte Material vom Schlachthaus bezogen. Befreit man die Organe aber erst extra corpus von Blut, so kann man nicht vollkommen sicher sein, daß Blutkörperchen, besonders Blutplättchen nicht an den Geweben haften und ihre fermentative Wirkung bei den Versuchen ausüben. Nur Bloch,<sup>2)</sup> der in Jacobys Laboratorium arbeitete, hat die Leber im blutfreien Zustande untersucht, und Autolyse beobachtet.

Wir hielten es deshalb für zweckmäßig, den Gehalt der Organe an Erepsin nachzukontrollieren. Um möglichst die Beimischung der Blutfermente zu vermeiden, haben wir die Tiere — Katzen — lebend mit erwärmter Ringerscher Lösung ausgewaschen und zwar auf folgende Weise.<sup>3)</sup> Es wurde eine

<sup>1)</sup> E. Müller und Jochmann, Münch. med. Wochenschr., 1906, S. 1393, 1507, 1552 und 2002. — E. Abderhalden und H. Deetjen, Diese Zeitschrift, Bd. LI, S. 334, 1907; Bd. LIII, S. 280, 1907. — E. Abderhalden und B. Oppler, ebenda, Bd. LIII, S. 294, 1907. — E. Abderhalden und P. Rona, ebenda, S. 380. — E. Abderhalden und J. S. McLester, ebenda, Bd. LV, S. 371, 1908. — E. Abderhalden und W. H. Manwaring, ebenda, Bd. LV, S. 377, 1908. — E. Abderhalden und L. Pincussohn, ebenda, Bd. LXI, S. 200, 1909; Bd. LXII, S. 243, 1909. — E. Abderhalden und W. Weichardt, ebenda, Bd. LXII, S. 120, 1909. — E. L. Opie, The Journ. of exper. Med., 1905; Rockefeller Instit., Bd. IV, 1905; Bd. VI, 1906. — H. Deetjen, Diese Zeitschrift, Bd. LXIII, 1909.

<sup>2)</sup> E. Bloch, Biochem. Zeitschrift, Bd. XXI, S. 519 (1909):

<sup>3)</sup> Vgl. O. v. Fürth, Archiv f. exper. Path. u. Pharmak., Bd. XXXVI, S. 231 (1895).

Carotis geöffnet, aus welcher das Blut hinausstritzte, während zur gleichen Zeit in die Vena jugularis die Ringersche Lösung unter ständigem Druck hineinflöß. Man konnte dabei beobachten, daß die aus der Carotis ausströmende Flüssigkeit allmählich ganz klar wurde, bei noch schlagendem Herzen. Nachdem das Tier auf solche Weise entblutet war, wurden die zur Untersuchung genommenen Organe noch einzeln mit Ringerscher Lösung ausgewaschen auf die Weise, daß die Ringersche Lösung durch das zuführende Gefäß unter Druck durchgeleitet wurde und vermittelst der Vene das Organ verließ. Nach dieser gründlichen Durchspülung wurden die Organe mit der Schere zerkleinert, mit Quarzsand sorgfältig zerrieben und mit Wasser aufgenommen. Der Hauptteil löste sich, doch nicht alles. Die Emulsion wurde ohne Filtration verwendet.

Zur Prüfung auf das Vorhandensein von Erepsin hat Vernon das Verschwinden oder Schwächerwerden der Biuretreaktion von Witte-Pepton benutzt. Abderhalden<sup>1)</sup> und seine Mitarbeiter beobachteten die Abspaltung von Tyrosin aus Glycyltyrosin oder die Spaltung anderer bekannter Dipeptide oder sie verfolgten die Spaltung von Seidenpepton in Aminosäuren, die sich durch Änderung der Drehung kundtut. Diese Methoden sind für bestimmte Fragestellungen von Wert oder wenn es sich darum handelt, den Verlauf einer größeren Reihe von Spaltungen zeitlich zu verfolgen. Uns kam es nur darauf an, die An- oder Abwesenheit eines Pepton spaltenden Ferments festzustellen und eine angenäherte Vorstellung der Fermentmenge zu erhalten. Wir haben daher einfach Pepsinpepton zu den Organextrakten hinzugesetzt und nach Ablauf bestimmter Zeiten in dem enteweißten Extrakt die Biuretreaktion geprüft. Das Pepton wurde durch weitgehende, in Dialysierschläuchen erfolgende Verdauung von ausgekochtem Fleisch mit Pepsinoxalsäure gewonnen.<sup>2)</sup> das Pepsin stellten wir uns durch Ex-

<sup>1)</sup> E. Abderhalden und H. Koelker, Diese Zeitschrift, Bd. LI, S. 294 (1907). — E. Abderhalden und A. Gigon, *ibid.*, Bd. LIII, S. 251 (1907). — E. Abderhalden und A. Schittenhelm, *ibid.*, Bd. LXI, S. 421 (1909).

<sup>2)</sup> O. Cohnheim, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 451 (1901); Bd. XLIX, S. 65 (1906).

traktion der Schleimhaut des Fundusteils von Schweinemagen selbst dar. Die Oxalsäure wurde mit Kreide entfernt, die Lösung aufgeköcht und filtriert. Die Peptonlösung enthielt im Kubikzentimeter 25,7 mg N, also ungefähr 0,16 g Pepton, gab eine starke, rein rote Biuretreaktion, enthielt keine Oxalsäure, Spuren von Kalk und reagierte auf Lackmus neutral.

Dies Pepton wurde zu den Organlösungen zugesetzt, die Lösung mit Toluol versetzt in den Brutschrank gestellt. Dann wurden Proben entnommen, mit Kochsalz und Essigsäure aufgeköcht, filtriert und in dem Filtrat die Biuretreaktion geprüft.

### 1. Versuchsreihe.

2 Katzennieren, 11 g schwer, wurden in der geschilderten Weise behandelt und auf 300 ccm Wasser gebracht, das Gemisch wurde in 2 Teile geteilt:

a) 150 ccm Lösung, 10 ccm Peptonlösung mit 1,6 g Pepton, 10 ccm defibriertes Blut von demselben Tier.

b) 150 ccm Lösung, 10 ccm Pepton, kein Blut, 10 ccm Wasser.

c) 150 ccm Wasser, 10 ccm Blut, 10 ccm Pepton.

Nach 2 Stunden zeigen alle 3 deutliche Biuretreaktion, nach 7 Stunden c unverändert, a und b schwache Biuretreaktion, in b anscheinend schwächer, nach 20 Stunden a ganz schwache Reaktion, b keine Biuretreaktion, c anscheinend unverändert.

Nach 24 Stunden wurden zu a und b weitere 10 ccm Peptonlösung hinzugesetzt; in weiteren 32 Stunden wird die Biuretreaktion in b sehr schwach, in a bleibt sie erhalten, wenn auch wohl abgeschwächt.

Die Peptonspaltung durch Nierenextrakt geht also auch bei vollständiger Entfernung des Blutes vor sich, ja sie scheint durch Hinzufügung von Blut verlangsamt zu werden.

### 2. Versuchsreihe.

Es wurden von einer Katze beide Nieren, 10 g schwer, von einer anderen Katze Lungen, 16 g schwer, und von den quergestreiften Muskeln desselben Tieres 45 g genommen und auf beschriebene Weise verarbeitet. Die Nieren wurden auf

160 ccm Emulsion gebracht, also 10 : 160, die Lungen 16 : 200, die Muskeln 45 : 250. Von allen diesen Lösungen wurden 20, 40 und 60 ccm genommen, je mit 3 ccm unserer Peptonlösung gemischt und unter Toluolzusatz in den Brutschrank gesetzt. Wie in der ersten Versuchsreihe, so auch hier, wurde die Biuretprobe 4 mal täglich vorgenommen. Es erwies sich dabei, daß nach 6 Stunden in der Nierenemulsion bei 60 ccm Emulsion kaum Spuren von Pepton noch vorhanden waren, bei 40 ccm deutliche Spuren und bei 20 ccm schwache, aber doch deutliche (qualitativ stärker als bei 40 ccm) Biuretreaktion zu sehen war. 20 Stunden nach Anfang des Versuches, am Morgen des nächsten Tages, fiel in 40 und 60 ccm Nierenemulsion die Biuretprobe negativ aus, während bei 20 ccm sie noch spurenweise vorhanden war.

Bei der Muskelemulsion fiel die Biuretreaktion bei 60 ccm nach 68 Stunden, bei 40 ccm nach 76 Stunden und bei 20 ccm nach 86 Stunden nach Beginn des Versuches negativ aus.

Bei der Lungenemulsion ist die Biuretreaktion nach 58 (?) Stunden bei 60 ccm negativ, bei 40 ccm ist sie nach 62 Stunden und bei 20 ccm nach 76 Stunden negativ.

Aus dieser Versuchsreihe geht hervor, daß die Quantität des proteolytischen Fermentes am stärksten in der Niere ist, weiter folgen die Lungen, und noch weiter stehen die quergestreiften Muskeln zurück. Berechnen wir die angegebenen Zahlen auf Organgewicht in jeder Emulsion, so ergibt es sich, daß 3 ccm Peptonlösung oder etwa 0,5 g Pepton von

3,7 g Nieren in 20 Stunden,

4,8 g Lungen in 58 Stunden,

10,8 g quergestreiften Muskeln in 68 Stunden

gespalten werden. Die Reihenfolge der Organe ist dieselbe wie in Vernons Versuchen.

Das Erepsin, oder jedenfalls ein Ferment, das Pepton wie Erepsin spaltet, kommt also nicht etwa dem Blute zu, sondern den Organzellen selbst.