

Zur synthetisierenden Wirkung der Endolipasen.

Von

Ant. Hamsik.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institute der böhmischen Universität in Prag.)

(Der Redaktion zugegangen am 4. April 1914.)

Über die fettspaltende Wirkung der Organfermente liegt eine große Anzahl von Untersuchungen vor, deren Resultate für die Spaltung einiger niederer Ester zwar entschieden sprechen, über die Spaltung neutraler Fette dagegen noch different lauten. Saxl¹⁾ gelangte bei der Nachprüfung diesbezüglicher Angaben zu dem Ergebnis, daß sowohl in den Organen enthaltenes, als zu denselben hinzugefügtes Neutralfett während der postmortalen Autolyse, insoweit Bakterienwirkungen ausgeschlossen werden, nur in sehr geringem Grade einer Spaltung unterliegt. Demgegenüber stehen neuere positive Befunde anderer Autoren: Pagenstecher,²⁾ Juschtschenko,³⁾ Izar,⁴⁾ Berzceller,⁵⁾ Freudenberg;⁶⁾ zu diesen sind auch diejenigen von Rona⁷⁾ zu zählen, da der genannte Autor das tributyrinspaltende Ferment als eine echte Lipase bezeichnet. Thiële⁸⁾ konnte in den Geweben ein echtes lipolytisches Ferment nachweisen, das mit alleiniger Ausnahme der pankreatischen Lipase nur Phosphatide und Jecorine, dagegen nicht die gewöhnlichen Fette zu spalten vermag.

Wenn auch nach Oppenheimer⁹⁾ die Fermente, welche echte Fette zu spalten imstande sind (also echte Lipasen), von

¹⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. 12, S. 343, 1908. Dort auch die ältere Literatur.

²⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. 18, S. 285, 1908.

³⁾ Ibid., Bd. 25, S. 49, 1910.

⁴⁾ Ibid., Bd. 40, S. 390, 1912.

⁵⁾ Ibid., Bd. 44, S. 185, 1912.

⁶⁾ Ibid., Bd. 45, S. 467, 1912.

⁷⁾ Ibid., Bd. 32, S. 482, 1911.

⁸⁾ Ref. Chem. Zentralbl., 1914, Bd. 1, S. 559.

⁹⁾ Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen, 4. Aufl. 1913, S. 156.

denen, die nur auf einfachere Ester wirken (also von den Esterasen im engeren Sinne), nicht verschieden sind, sodaß, wenn man irgendwo bisher nur die Spaltung einfacherer Ester beobachten konnte, dies nur an der schwachen Wirkung des Fermentes überhaupt liegt, ist doch die tatsächliche Konstatierung der echten Fette spaltenden Eigenschaften der Organfermente von Bedeutung.

Bei der im Nachfolgenden mitgeteilten Untersuchung wurden die Organfermente nicht auf ihre fettspaltende, sondern auf ihre synthetisierende Fähigkeit untersucht. Enzymatische Synthesen niederer Ester sind seit längerer Zeit¹⁾ bekannt; auch enzymatische Synthesen der echten Fette wurden (abgesehen von Phytolipasen) durch die Pankreaslipase²⁾ und auch durch die Darmlipase (einiger Tiere, besonders des Schweines)³⁾ erzielt.

Im folgenden wurden die übrigen Organe auf ihre liposynthetische Wirkung untersucht. Da die fettspaltende Kraft der Organfermente (mit Ausnahme des Pankreas) unbedeutend ist, konnte ihre synthetisierende Wirkung noch schwächer erwartet werden, weil die synthetisierende Wirkung der Fermente gegenüber der spaltenden überhaupt immer zurücktritt. Negative Resultate schließen also nicht das Vorhandensein kleiner Lipasemengen aus, und zwar um so weniger, als auch die angewandte Methodik nicht genug empfindlich ist; die positiven Resultate deuten dagegen auf einen schon etwas größeren Lipasegehalt der betreffenden Organe.

Mit den untersuchten Organen wurden positive Resultate — abgesehen von Pankreas bzw. der Dünndarmschleimhaut, die zur Kontrolle dienten — nur mit der Leber vom Rind und mit der Lunge vom Hund erzielt. Die synthetisierende Wirkung dieser Organe tritt gegenüber der des Pankreas stark zurück und konnte erst bei länger dauernden

¹⁾ Seit Kastle und Loevenhart, Am. chem. Journ., Bd. 24, S. 491, 1900.

²⁾ Pottevin, C. R., Bd. 138, S. 378, 1904. Ann. Inst. Pasteur, Bd. 20, S. 901, 1906.

³⁾ Hamsik, Diese Zeitschrift, Bd. 59, S. 1, 1909.

Versuchen konstatiert werden. Die synthetisierende Wirkung der Dünndarmschleimhaut vom Schwein ist zwar auch viel schwächer als diejenige des Pankreas, aber doch viel stärker als diejenige der Rindsleber und der Hundelunge. Der Reihe nach kommen: Pankreas, Darmschleimhaut vom Schwein, Leber vom Rind, Darmschleimhaut vom Pferd, Lunge vom Hund; die a. a. O.¹⁾ untersuchte Darmschleimhaut vom Hammel kann gleich hinter diejenige vom Schwein eingereiht werden.

Bei Verwendung von anderen Organen konnte die liposynthetische Wirkung nicht bestimmt konstatiert werden, da die Aciditätsverminderung auch in lange dauernden Versuchen zu gering war; dies schließt jedoch nicht, wie schon oben erwähnt wurde, das Vorhandensein von kleinen Lipasemengen in diesbezüglichen Organen aus. Es ist auch nicht außer acht zu lassen, daß nach Pagenstecher (l. c., S. 286) und auch Berzceller (l. c., S. 192) die gleichen Organe nicht nur verschiedener Tiergattung, sondern auch derselben Tiergattung in bezug auf ihren Gehalt an Lipasen verschieden sind.

Versuchsmethodik: Frische Organe wurden zerkleinert, mit Alkohol und Äther behandelt, zerrieben und gesiebt; die resultierenden Organpulver wurden zu den Versuchen direkt benutzt. Eine Anzahl von Kölbchen wurde mit einer abgemessenen Menge von Ölsäure, Glycerin (event. Amylalkohol) und event. $\frac{n}{10}$ -Sodalösung beschickt; zuletzt wurde das Organpulver hinzugefügt. Alsdann wurde die Acidität des Gemisches in einer Reihe von Kölbchen sofort bestimmt; die anderen kamen in den Thermostaten ($T. = 37^{\circ}$ während des Tages) und wurden erst nach Verlauf einer bestimmten Zeit auf ihre Acidität geprüft. Zu dem Zwecke wurde die Ölsäure aus der Mischung nach dem Verfahren von Kreidl und Donath²⁾ mit zusammen 150 ccm heißen $\frac{96}{100}$ -igen Alkohols extrahiert und das Filtrat mit wässriger $\frac{n}{10}$ -Kalilauge (Indikator Phenolphthalein) titriert.

Die Versuche wurden doppelt, mit und ohne Toluolzusatz, angestellt. Da das Organmaterial durch die Behand-

¹⁾ Ibidem, S. 11.

²⁾ Zentralbl. f. Physiol., Bd. 24, S. 1, 1910.

Nr.	Art und Menge des Organpulvers g	Öl-säure ccm	Gly-cerin ccm	Amyl-alko-hol ccm	n/10-Soda-lö-sung ccm	To-luol ccm	Acidität in ccm n/10-KOH				Aciditäts-verminde-rung in ccm n/10-KOH
							so-fort	nach 3 Tagen	nach 3 Wochen	nach 4 Wochen	

1. Ohne Organpulver:

1	—	—	2	10	—	—	—	64,1	—	63,5	63,1	0,6, 1,0
2	—	—	2	—	10	—	—	64,2	—	58,1	57,8	6,1, 6,4

2. Organpulver vom Schwein:

3	Pankreas	0,1	1	5	—	—	5	32,6	19,3	—	—	13,3
4	„	0,1	2	10	—	0,5	—	64,3	—	—	19,5	44,8
5	Darm-schleimhaut	0,3	2	10	—	0,5	—	64,5	43,6	—	26,5	20,9, 38,0
6	Leber	1	2	10	—	—	—	64,6	—	65,2	—	0
7	„	1	2	10	—	—	2,5	64,6	—	63,4	—	1,2
8	„	1	2	—	10	—	—	64,6	—	56,9	—	7,7
9	Niere	1	2	10	—	—	—	64,6	—	64,6	—	0
10	„	1	2	—	10	—	—	64,6	—	58,2	—	6,4
11	Milz	1	2	10	—	—	—	64,6	—	63,0	—	1,6
12	„	1	2	—	10	—	—	64,6	—	57,4	—	7,2
13	Thymus	1	2	10	—	—	—	64,6	—	62,0	—	2,6
14	„	1	2	—	10	—	—	64,6	—	57,3	—	7,3

3. Organpulver vom Hund:

15	Pankreas	0,2	1	5	—	—	5	32,5	nach 10 Tagen 14,0	—	—	18,5
16	„	0,1	2	10	—	0,5	—	64,3	—	—	21,1	43,2
17	„	0,1	2	—	10	0,5	—	64,3	—	—	6,5	57,8
18	Darm-schleimhaut	0,5	2	10	—	0,5	—	64,3	—	—	62,4	1,9
19	„	1	2	10	—	—	—	64,3	—	61,9	—	2,4
20	„	1	2	10	—	—	2,5	64,3	—	63,9	—	0,4
21	„	0,5	2	—	10	0,5	—	64,3	—	—	55,4	8,9
22	Magen-schleimhaut	0,5	2	10	—	0,5	—	64,3	—	—	61,1	3,2
23	„	0,5	2	—	10	0,5	—	64,3	—	—	58,6	5,7
24	Lunge	0,5	1	5	—	—	5	32,3	31,4	—	—	0,9
25	„	0,5	2	10	—	0,5	—	64,3	—	—	59,8	4,5

Fortsetzung.

Nr.	Art und Menge des Organpulvers g	Öl-säure ccm	Gly-cerin ccm	Amyl-alko-hol ccm	N/10-Soda-lö-sung ccm	To-luol ccm	Acidität in ccm N/10-KOH			
							so-fort	nach 10 Tagen	nach 3 Wochen	nach 4 Wochen

3. Organpulver vom Hund:

26	Lunge	1	2	10	—	—	—	64,3	—	56,4	—
27	"	1	2	10	—	—	2,5	64,3	—	56,2	—
28	"	0,5	2	—	10	0,5	—	64,3	—	—	41,9
29	Leber	0,5	1	5	—	—	5	32,5	32,4	—	—
30	"	0,5	2	10	—	0,5	—	64,3	—	—	62,4
31	"	1	2	10	—	—	—	64,4	—	62,9	—
32	"	1	2	10	—	—	2,5	64,4	—	62,9	—
33	"	1	2	—	10	—	—	64,4	—	58,9	—
34	Niere	0,5	1	5	—	—	5	32,5	32,2	—	—
35	"	0,5	2	10	—	0,5	—	64,4	—	—	61,4
36	"	1	2	10	—	—	—	64,4	—	60,8	—
37	"	1	2	10	—	—	2,5	64,4	—	62,8	—
38	"	0,5	2	—	10	0,5	—	64,4	—	—	56,3
39	Milz	0,5	1	5	—	—	5	32,5	32,1	—	—
40	"	0,5	2	10	—	0,5	—	64,5	—	—	60,1
41	"	1	2	10	—	—	—	64,5	—	63,8	—

4. Organpulver vom Rind:

42	Leber	0,5	1	5	—	—	—	32,5	nach 3 Tagen 31,4	—	—
43	"	0,5	2	10	—	0,5	—	64,5	—	—	28,8
44	"	0,5	5	2,5	—	0,25	2,5	157,6	—	—	120,0
45	"	1	2	10	—	—	—	64,5	—	48,4	—
46	"	1	2	10	—	—	2,5	64,5	—	58,0	—
47	"	0,5	2	—	10	0,5	—	64,5	—	—	18,3
48	Darm-schleimhaut	1	2	10	—	—	—	64,5	—	60,0	—
49	"	1	2	10	—	—	2,5	64,5	—	62,2	—
50	"	1	2	—	10	—	—	64,5	—	57,4	—

5. Organpulver vom Hund:

51	Darm-schleimhaut	1	2	10	—	—	—	64,5	—	40,2	—
----	------------------	---	---	----	---	---	---	------	---	------	---

lung mit Alkohol sterilisiert war und das Gemisch reichlich Glycerin enthielt, war Bakterieneinwirkung nicht zu befürchten: ohne Toluol wurde die eine Versuchsreihe deshalb angestellt, weil z. B. die synthetisierende Wirkung des klaren, wirksamen Pankreasglycerinextraktes bei größerem Toluolzusatz unter Umständen nicht zum Vorschein kommt. Als Beispiel soll hier angeführt werden: Es wurden 3 Kölbchen mit je 2 ccm Ölsäure beschickt; außerdem enthielt 1. das erste Kölbchen: 10 ccm Glycerin, 0,1 g Pankreaspulver vom Schwein und 5 ccm Toluol; 2. das zweite: 10 ccm Glycerinextrakt, der durch Extraktion von 1 g Pankreaspulver mit 100 ccm Glycerin und nachfolgende klare Filtration bereitet war, und 5 ccm Toluol, während 3. das dritte Kölbchen ebenso wie das zweite, jedoch ohne Toluol, beschickt wurde. Die Anfangsacidität entsprach 64,3 ccm n_{10} -KOH; nachdem die Kölbchen 10 Tage im Thermostaten standen, wurden bei der Titration folgende Zahlen erhalten: 1. 19,5 ccm, 2. 64,00 ccm, 3. 20,3 ccm n_{10} -KOH. — In Analogie damit konnte die synthetisierende Wirkung des Pankreasglycerinextraktes auf ein Gemisch von Stearinsäure, Glycerin und Toluol nicht beobachtet werden, während sie bei Verwendung von Pankreaspulver selbst sehr deutlich war.¹⁾

Die Ergebnisse der Versuche sind in der Tabelle zusammengestellt. Die Versuche mit Pankreaspulver und diejenigen mit Amylalkohol (anstatt Glycerin) dienen zur Kontrolle der Versuchsanordnung. Die Aciditätsverminderung ist am größten bei Verwendung von Pankreas (Nr. 3, 4, 15—17), bei Verwendung von Dünndarmschleimhaut vom Schwein ist sie schon kleiner (Nr. 5); dann kommen der Reihe nach: die Leber vom Rind (Nr. 42—47) und die Dünndarmschleimhaut vom Pferd (Nr. 51). Die kleinste, aber doch noch unzweifelhafte Verminderung wurde bei Verwendung der Lunge vom Hund (Nr. 25—28) erzielt. Die mit den übrigen Organpulvern erzielte Aciditätsverminderung liegt schon innerhalb der Fehlergrenzen.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 71, S. 245, 1911.