

Die Enzyme der Lunge.

Von

N. Sieber und W. Dzierzowski.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Kaiserl. Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 4. August 1909.)

In der folgenden Mitteilung berichten wir über einige in der Lunge enthaltene Enzyme. Zum Nachweis und zur näheren Kenntnis derselben wurden die Lungen durch Blutentnahme getöteter Pferde entweder unausgewaschen, oder vollständig blutfrei gewaschen und gut ausgepreßt verwandt. Wir bedienten uns also eines vollständig frischen, gleich nach Einstellung des Atmungsprozesses gewonnenen Materials, von dem ein bestimmter Teil unausgewaschen zu gewissen Versuchen in bestimmten Gewichtsteilen verwandt wurde. Eine ganze rechte oder linke Lunge oder nur ein größerer Teil derselben wurde in eine große Waschschale übertragen und dann die größeren Blutgefäße durch Glaskanüle resp. Gummischlauch mit der Wasserleitung verbunden. Auf diese Weise wurde die Lunge vollständig blutfrei gewaschen und farblos gewonnen. Durch dieselbe Glaskanüle wurde nach der Entblutung zur Entwässerung ein lebhafter Luftstrom aus einer Handpumpe geleitet, die Lunge in einer Hackmaschine zerkleinert und zur vollständigen Entfernung der Flüssigkeit in einer Handpresse (amerikan. Syst. Dr. Klein) gut ausgepreßt. Diese Methode zur vollständigen Entblutung der Lunge wurde schon von uns mit Erfolg in einer früheren Arbeit angewandt,¹⁾ aber nicht beschrieben. Die so behandelte Lunge war grauweiß, marmorähn-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LV, S. 177.

lich und wurde sofort zum Nachweis der Enzyme oder Fermente angewandt. Die in den aus der Lunge ausgepreßten Flüssigkeiten gelösten Fermente wurden ebenfalls bestimmt.

Katalase.

Das ausgepreßte Lungengewebe wurde in mehreren Portionen zu 1—2 g möglichst aseptisch, d. h. in sterilen Gefäßen in einem Mörser mit ausgewaschenem Glassand bis zur salbenähnlichen Konsistenz verrieben und mit sterilem Wasser in einen graduierten Glaskolben hineingespült. Jeder Versuch war von einem Kontrollversuch begleitet. Vor Zusatz des Wasserstoffsperoxyds zu den für die Kontrollversuche bestimmten Kolben wurden dieselben zur Zerstörung der Katalase dreimal je 15 Minuten gekocht und dann in die Versuchs- und Kontrollkolben ein Überschuß (zu 50—100 ccm) einer 10%igen Wasserstoffsperoxydlösung (Merck) hinzugegeben, der Inhalt mit sterilem Wasser auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und alles in einen Thermostat bei 37,5° C. gestellt. Nach einer gewissen Zeit, d. h. nach 2, 4, 6, 12, 24, 48, 56 Stunden wurde in einem gewissen Teil eines jeden Versuchs- und Kontrollkolbens die durch die Katalase der Lunge zersetzte Wasserstoffsperoxydmenge bestimmt. Aus der Differenz der Wasserstoffsperoxydmenge in den Versuchs- und Kontrollkolben vor Beginn des Versuchs und nach einer bestimmten Zeit konnte über die Wirkung der Katalase ein Urteil gewonnen werden. Zur Bestimmung desselben bedienten wir uns des Kaliumpermanganats, indem zu 200 ccm Wasser im Erlenmeyerschen Kolben, welche mit 30 ccm (1:4) verdünnter Schwefelsäure angesäuert waren, mit einer Pipette 1 ccm der Versuchsflüssigkeit hinzugefügt wurde, dann wurde durchgeschüttelt und eine schwache (1 ccm = 0,001 H₂O₂) Kaliumpermanganatlösung bis zur beständigen schwachen Rosa-färbung zugesetzt. Zur Charakteristik der Lungenkatalasen führen wir zwei Tabellen an, von denen I. der Katalase des Lungengewebes, II. der aus der ausgepreßten Flüssigkeit erhaltenen, d. h. in Wasser löslichen entspricht.

Tabelle I.

Tabelle II.

Die Zersetzung der 1%igen H ₂ O ₂ -Lösung durch die Lungenkatalase.			Die Zersetzung der 1%igen H ₂ O ₂ -Lösung durch die wasserlösliche Katalase.	
Dauer des Versuchs Stunden	1 g des Lungen- gewebes mg	2 g des Lungen- gewebes mg	1 ccm der ausgepreßten Flüssigkeit mg	1 ccm der ausgepreßten Flüssigkeit mg
2	115	215	102	210
4	250	485	198	402
6	595	1100	215	550
12	865	1770	396	970
24	1060	2105	400	990
48	1420	2800	0	0
56	1600	3250		

Die Zersetzung des Wasserstoffsperoxyds durch das vollständig blutfreie Lungengewebe bestätigt das Vorkommen der Katalase daselbst und entspricht den von F. Batelli, Stern¹⁾ und anderen Forschern erhaltenen Resultaten, welche die Katalase in blutfreien Organen nachgewiesen haben, im Gegensatz zu Iscovesco,²⁾ der behauptet, daß die blutfreien Organe keine Katalase enthalten. Die Resultate der Wasserstoffsperoxydzersetzung sind bei Batelli und anderen Forschern nicht gravimetrisch, sondern volumetrisch durch Kubikzentimeter Sauerstoff angegeben und scheinen deshalb vielleicht mehr überzeugend, daher führen wir weiter unten eine dementsprechende Vergleichstabelle unserer Resultate an.

Van Stollie³⁾ bestimmte die Menge der zersetzten 1%igen Wasserstoffsperoxydlösung durch 1 ccm Blut verschiedener Tierarten und führt folgende Zahlen an: Menschenblut 710 ccm Sauerstoff, Affenblut 706 ccm, arterielles Pferdeblut 438 ccm,

¹⁾ Compt. rend. Soc. biolog., Bd. LIX, S. 300, und Archives di fisiologia, Bd. II, S. 471.

²⁾ Compt. rend. Soc. biolog., Bd. XXXIX, S. 574.

³⁾ Compt. rend. Soc. biolog., Bd. LX, S. 148.

venöses Pferdeblut 288 ccm, Rinderblut 131 ccm, Schafblut 58 ccm, Taubenblut 4 ccm.

Dauer des Versuchs mit 1 g des ausgewaschenen und ausgepreßten Lungengewebes in Stunden	Gravimetrische Bestimmung des 1%igen zersetzten Wasserstoff-superoxyds in mg	Volumetrische Bestimmung des 1%igen zersetzten Wasserstoff-superoxyds in ccm Sauerstoff
2	115	75,71
4	250	164,04
6	590	391,9
12	865	562,66
24	1060	698,07
48	1420	937,93
56	1600	1053,1

Peroxydase.

Zum Nachweis und zur Bestimmung der Peroxydaseenergie (Terminologie nach Bach und Chodat) in der Lunge wurde von uns eine ganze Reihe von Versuchen angestellt, indem wir die aus Pyrogallol durch die Lungenperoxydase erhaltene Menge Purpurogallin bestimmten. Zu diesen Versuchen dienten 1. eine unausgewaschene Lunge, 2. das vollständig ausgewaschene und blutfreie Lungengewebe, 3. die mit der Handpresse ausgepreßte blutfreie Flüssigkeit. Zur vorläufigen Beurteilung der fermentativen Kraft wurden die Versuche zunächst in verschiedenen Verhältnissen zwischen dem Versuchsobjekt und Pyrogallol in Gegenwart einer geringen Menge der 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung angestellt und daraufhin wandten wir folgende Mengenverhältnisse an, wobei alles vollständig aseptisch resp. steril ausgeführt wurde. In einen jeden Kolben wurden zu 100 ccm einer 1%igen Pyrogallollösung 2 ccm der 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung und 2, 4, 5 g des blutfreien Lungengewebes, oder 5, 15, 30 ccm der ausgepreßten Flüssigkeit hinzugetan. Die Kolben wurden in einen Thermostaten bei 37,5° gestellt und zu denselben einige Tropfen Chloroform zugefügt. Das Purpuro-

gallin wurde nach gewissen Stunden und Tagen bestimmt, indem es durch Äther extrahiert, der Äther abdestilliert und der Rückstand umkrystallisiert wurde. Der einem jeden Versuche entsprechende Kontrollkolben wurde jedesmal auf die Anwesenheit von Purpurogallin untersucht und dasselbe in mehreren Fällen, obwohl in sehr geringer Menge, auch hier nachgewiesen.

Die Wirkung der Lungenperoxydase auf das Pyrogallol ist von uns in einer ganzen Reihe von Versuchen angestellt worden, der Kürze wegen aber führen wir hier nur einige Tabellen an.

Tabelle I.

Unausgewaschene Lunge. — Dauer des Versuches: 72 Stunden.

Lunge	1%ige Pyrogallollösung	1%iges H ₂ O ₂	Erhaltenes Purpurogallin
2 g	+ 50 ccm	+ 2 ccm	5,7 mg
4 „	+ 50 „	+ 2 „	10,4 „
5 „	+ 50 „	+ 2 „	13,9 „

Tabelle II.

Ausgewaschenes und ausgepreßtes Lungengewebe.

Dauer des Versuches: 72 Stunden.

Lungen- gewebe	1%ige Pyrogallol- lösung	1%iges H ₂ O ₂	Erhaltenes Purpurogallin
2 g	+ 50 ccm	+ 2 ccm	3,3 mg
4 „	+ 50 „	+ 2 „	5,1 „
5 „	+ 50 „	+ 2 „	9,2 „

Tabelle III.

Aus der ausgewaschenen Lunge ausgepreßte Flüssigkeit.

50 ccm 1%ige Pyrogallollösung + 2 ccm 1%ige H ₂ O ₂ -Lösung	Dauer des Versuchs 24 Stunden mg Purpuro- gallin	Dauer des Versuchs 48 Stunden mg Purpuro- gallin	Dauer des Versuchs 72 Stunden mg Purpuro- gallin
+ 5 ccm der ausgepreßten Flüssigkeit	2,2	5,1	7,1
+ 15 „ „ „ „	4,9	15,1	17,2
+ 30 „ „ „ „	14,4	23,2	28,4

Tabelle IV.

Wirkung der 1%igen Wasserstoffsuperoxydmenge auf die erhaltene Purpurogallinmenge.

50 ccm 1%ige Pyrogallol- lösung + 15 ccm der ausgepreßten Flüssigkeit	Dauer des Versuchs		
	24 Stunden	48 Stunden	72 Stunden
	Erhalten mg Purpurogallin		
+ 1 ccm 1%iges H_2O_2	2,6	9,1	15,2
+ 2 „ „ „	5,2	14,3	17,0
+ 3 „ „ „	12,1	19,9	22,8

Glukase.

In einer ganzen Reihe von Versuchen haben wir nachgewiesen, daß die Lunge die Eigenschaft besitzt, Glukose zu zersetzen, daher interessierte uns die Frage, ob diese Erscheinung dem blutfreien Lungengewebe, oder dem Blute, welches diese Eigenschaft bekanntlich besitzt, zuzuschreiben ist. Es wurden daher Versuche mit der unausgewaschenen Lunge, dem blutfreien Lungengewebe und der ausgepreßten Flüssigkeit angestellt. Zur Übersicht sind hier vier Vergleichsversuche dargestellt.

Zersetzung der Glukose durch das ausgewaschene Lungengewebe und die nichtgewaschene Lunge.

10 g der unausgewaschenen Lunge + 100 ccm 2%ige Glukoselösung gaben 4,2 — 6,3 — 6,6 mg zersetzte Glukose.

10 g des ausgewaschenen Lungengewebes + 100 ccm 2%ige Glykoselösung gaben 1,3 — 5,5 — 0 mg zersetzte Glukose.

Zersetzung der Glukose durch die ausgepreßte Flüssigkeit.

50 ccm der ausgepreßten Flüssigkeit der unausgewaschenen Lunge + 50 ccm 4%ige Glukoselösung gaben 5,5 — 9,3 — 0 mg zersetzte Glukose.

50 ccm der ausgepreßten Flüssigkeit des ausgewaschenen und ausgepreßten Lungengewebes + 50 ccm 4%ige Glykoselösung gaben 3,5 — 7,2 mg zersetzte Glukose.

Diastase.

In dem blutfreien Lungengewebe wurde ein Stärke saccharifizierendes Ferment nachgewiesen und daraufhin in verschiedenen Richtungen eine ganze Reihe von Versuchen zur näheren Kenntnis des Einflusses der Dauer, der Konzentration und des Verhältnisses zwischen dem in dem Lungengewebe enthaltenen Ferment und der Stärkelösung angestellt. Auch hier wurde wie in allen Versuchen die Lunge mit Glassand fein verrieben, alles steril ausgeführt und eine bestimmte Menge des ausgepreßten blutfreien Gewebes in einen Kolben zu einer 1%igen Stärkelösung hinzugegeben und für 4 Stunden in einen Thermostaten bei 37° C. gestellt. Es wurde hier eine Verwandlung der Stärke in Zucker konstatiert; bei Beginn des Versuches konnte derselbe nicht nachgewiesen werden, negativ fiel auch das Resultat des Kontrollkolbens aus, in dem das Ferment durch dreimal 15 Minuten dauerndes Sieden zerstört war. Die mit Fehling, Barfoed, Böttger und Nylander ausgeführten Reaktionen sprachen für die Anwesenheit der Maltose oder Lactose. Die Fehlingsche Probe fiel positiv, die Barfoedsche negativ aus. Böttger und Nylander gaben nur eine schwache gelbe Färbung. Die Umwandlung in das Osazon, dessen Schmelzpunkt 207° betrug, und das optische Verhalten dienten zur Bestimmung der Zuckerart. Das Drehungsvermögen der Maltose $[\alpha]_D = +144,1$ nach Inversion $+53,8^\circ$, das Verhältnis ist also 3 : 1. In der von uns hier erhaltenen Zuckerart war das Drehungsvermögen vor und nach Inversion 3,12 und 1,02. Zur näheren Kenntnis der fermentativen Kraft, ihres Einflusses auf die Dauer wurden Versuche mit 25 g des blutfreien Lungengewebes und 25 ccm der ausgepreßten Flüssigkeit mit je 100 ccm einer 1%igen Stärkelösung, die ebenfalls von Kontrollversuchen begleitet waren, in denen das Ferment durch dreimal 15 Minuten dauerndes Sieden zerstört war, angestellt. Nach einer bestimmten Zeit wurde der Zucker nach Bang bestimmt und hier in der folgenden Tabelle die Resultate nur eines von vielen Versuchen dargestellt.

Dauer des Versuches in Stunden	Die Menge der bestimmten Maltose in mg	
	25 g des ausgepressten Lungengewebes + 100 ccm 1%ige Stärkelösung	25 ccm der aus- gepressten Flüssigkeit + 100 ccm Stärke- lösung
3	90	212
6	196	286
9	270	370
19	293	437
24	315	490
48	319	500
72	330	515
96	347	519
120	350	525

Ergebnisse.

Durch die von uns angestellten Untersuchungen sind also in der Lunge des Pferdes folgende Fermente nachgewiesen:

1. eine Katalase, welche durch ihre eigene Wasserstoff-superoxydzersetzungseigenschaft nachgewiesen und deren Menge durch Kaliumhypermanganat bestimmt wurde,

2. eine Peroxydase, welche das Pyrogallol in Purpurogallin verwandelt und daraus berechnet wurde,

3. eine Glukase, welche durch Zersetzung von Traubenzucker nachgewiesen wurde,

4. eine Diastase, welche Stärke in Zucker verwandelt, dessen optisches Vermögen und Schmelzpunkt des erhaltenen Osazons ihn als Maltose erkennen ließen.