

Über die Beziehung der aus wässerigen Organextrakten gewonnenen Nucleinfermente zu den physiologischen Vorgängen im lebenden Organismus.

Von

Walter Jones.

(Aus dem Laboratorium für physiolog. Chemie, John Hopkins Universität.)
(Der Redaktion zugegangen am 31. Januar 1910.)

Alle diejenigen, welche sich mit der Frage des Nucleinstoffwechsels beschäftigen, teilen wohl mehr oder weniger entschieden die Auffassung, daß der Übergang von der Nucleinsäure in Harnsäure unter dem Einfluß der wässerigen Organextrakte durch vier voneinander unabhängige Fermente bewirkt wird: die Nuclease, die Guanase, die Adenase und die Xanthooxydase.¹⁾ Diese Fermente wurden durch Versuche mit wässerigen Organextrakten entdeckt und verdanken ihnen ihre Namen. Zugleich sind aber diese Bezeichnungen auch auf analoge Vorgänge, die sich möglicherweise in lebenden Organen abspielen, übertragen worden und gelegentlich hat man sogar diese Fermente mit dem Kollektivnamen «Fermente des Nucleinstoffwechsels» bezeichnet. Diese Ungenauigkeit in der Nomenklatur ist durch verschiedene Umstände veranlaßt worden. Erstens dadurch, daß keine Ausdrücke für die physiologischen Vorgänge im speziellen im Gebrauche sind; zweitens, weil gewisse Gründe (z. B. beim Menschen) die Annahme als berechtigt erscheinen lassen, daß die beiden Vorgänge identisch seien; drittens war auch wohl das Bestreben maßgebend, jeden Gedanken an eine «vitalistische» Auffassung auszuschließen. Jedermann betrachtet es als unstatthaft, aus Resultaten mit Organextrakten direkte Schlüsse auf die Tätigkeit im lebenden Organismus zu ziehen oder, kurz gesagt, von solchen Laboratoriumsexperimenten ohne weiteres auf physiologische Vorgänge zu schließen. Freilich scheint die Abneigung gegen diese Art von Schlussfolgerung weniger allgemein zu sein, wenn das logische Verfahren etwas weniger durchsichtig ist. Wenn es nicht erlaubt ist, den Laboratoriumsversuch, ohne Vorbehalt, auf physiologische Vorgänge zu beziehen, dann ist es sicher auch un-

¹⁾ Mendel und Mitchell, American Journ. Physiol., Bd. XX, S. 97. — Schittenhelm, Diese Zeitschrift, Bd. LXIII, S. 254. — Wells und Corper, Journ. of Biol. Chem., Bd. VI, S. 469. — Miller und Jones, Diese Zeitschrift, Bd. LXI, S. 395.

logisch, die Resultate der Laboratoriumsexperimente durch Überlegungen physiologischer Art in Zweifel zu ziehen; wie nahe ein solcher Irrtum liegt, zeigt folgendes Beispiel.

Es ist von Jones und Austrian¹⁾ gezeigt worden, daß ein wässeriges Extrakt von Kaninchenleber wohl eine Umwandlung von Guanin in Xanthin, aber nicht eine analoge Veränderung von Adenin in Hypoxanthin bewerkstelligen kann. Schittenhelm und Schmid²⁾ bestreiten den mit einem wässerigen Extrakt dieses Organs angestellten Versuch, weil, nach ihrer Meinung, seine Richtigkeit die Anwesenheit einer großen Menge Adenin im Urin des Tieres zur Folge haben müßte. Sie waren so fest davon überzeugt, daß der Vorgang im lebenden Organismus dem mit dem Extrakt des toten Organs entsprechen mußte, daß sie nach zweimaliger Wiederholung des Experiments von Jones und Austrian mit negativem Erfolg (wahrscheinlich mit dem von Jones und Austrian beschriebenen Resultat) ein drittes Experiment anstellten, welches vollständig ihren Voraussetzungen entsprach.

Schlagender noch ist das folgende Beispiel: Eine Untersuchung der wässerigen Auszüge einer Anzahl menschlicher Organe führte Winternitz und Jones³⁾ ebenso wie Miller und Jones⁴⁾ zu der Schlußfolgerung, daß das Extrakt der Leber eines erwachsenen Menschen sowohl Guanase wie Xanthooxydase enthält; ferner, daß in bestimmten anderen Organen Guanase vorhanden ist, aber die Xanthooxydase nur der Leber zukommt; daß Adenase allen Organen in charakteristischer Weise fehlt; daß schließlich in Übereinstimmung mit den früheren Ausführungen Wiechowskis⁵⁾ die menschliche Leber keine Uricolase zeigt. Das Fehlen von Adenase war gefolgert worden aus dem Wiederauffinden einer großen Menge des unveränderten Adenins nach der Digestion bei Körpertemperatur mit wässerigen Extrakten menschlicher Organe und ohne Rücksicht auf die Tatsache, daß eine Spur (wirklich nur eine Spur) von Hypoxanthin unter den Produkten gefunden wurde; diese letztere Substanz wurde aus guten Gründen als im Organextrakt vorgebildet angesehen und nicht als während der Digestion auf Kosten des Adenins entstanden. Ihr Vorhandensein wurde nämlich auf das Muskelgewebe der Drüse bezogen und sie wurde als «präformiertes Hypoxanthin» bezeichnet. Diese Schlußfolgerung wird auch von Schittenhelm⁶⁾ in

¹⁾ Diese Zeitschrift.

²⁾ Diese Zeitschrift.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LX, S. 180.

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LXI, S. 395.

⁵⁾ Arch. f. exp. Path. und Pharm., Bd. LX, S. 185.

⁶⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LXIII, S. 248. — Die erste Entdeckung der Xanthooxydase in der menschlichen Leber ist von Künzel und Schittenhelm gemacht. Zentralbl. für die ges. Phys. u. Path. des Stoffwechsels, 1908, Nr. 19.

seinen Untersuchungen über die Organe erwachsener Menschen anerkannt; er kann die Harnsäure nach der Digestion mit den Organen erwachsener Menschen bei Luftdurchleitung wiederauffinden; er glaubt, daß Xanthooxydase im wesentlichen auf die Leber beschränkt sei, und er stellt fest, daß die Umwandlung von Adenin in Hypoxanthin keineswegs so bequem oder so vollständig vor sich geht, wie die Ueberführung von Guanin in Xanthin. Dennoch behauptet er, daß Adenase, wenn auch in beschränktem Maße, von einer Anzahl menschlicher Organe erzeugt wird, und glaubt, daß die Behauptung des vollständigen Fehlens der Adenase in den wässerigen Organauszügen toter menschlicher Organe sich nicht vereinigen lasse mit der klassischen Analyse des menschlichen Urins durch Krüger und Salomon.¹⁾ Die folgenden Zeilen sind dem Artikel Schittenhelms²⁾ entnommen: »Legt man diese Jones'sche Feststellung als Maßstab an den menschlichen Purinstoffwechsel, so käme man zu der Ansicht, daß der Mensch Adenin überhaupt nicht angreifen kann. . . . Krüger und Salomon konnten in ihrer bekannten Arbeit aus 10000 l Urin 10,11 g Xanthin, 8,50 g Hypoxanthin und nur 3,54 g Adenin isolieren. Diese längst bekannten Tatsachen müssen doch unbedingt zu der Folgerung führen, daß das mit Organextrakten erhaltene Resultat des absoluten Fehlens der Adenase in den Versuchen von Jones und seinen Mitarbeitern nicht der Wirklichkeit, d. h. dem vitalen Stoffwechsel entsprechen kann.»

Was die Wiederholung der Versuche von Jones und seinen Mitarbeitern betrifft, ist Schittenhelm durchaus berechtigt, seinen eigenen Resultaten den Vorzug zu geben. Freilich sind die Versuche von Jones, Winternitz und Miller nicht gemacht im Hinblick auf irgend welche Betrachtung über den Stoffwechsel, wie er in der Zusammensetzung des Urins zum Ausdruck kommt. Man kann hier nur konstatieren, daß kein Gegensatz zwischen den Resultaten von Krüger und Salomon und dem totalen Fehlen von Adenase in den lebenden Organen des Menschen besteht. Bei der Untersuchung von 10000 l menschlichen Urins fanden sie 8,5 g Hypoxanthin und nur 3,04 g Adenin; aber vorher hatten sie zur Isolierung der Substanzen die Methode von Neubauer benutzt, bei der Hypoxanthin sowohl aus Carnin wie aus Adenin gebildet werden konnte, eine Möglichkeit, die von Krüger und Salomon festgestellt ist.³⁾ Guanin wurde nicht gefunden und die Anwesenheit des weniger widerstandsfähigen Adenins zeigt an, daß ersteres von vornherein nicht zugegen war. Diese bemerkenswerte Analyse führt zur Annahme, daß menschlicher Urin wohl Xanthin und Adenin enthält, aber weder Guanin noch Hypoxanthin, ein Ergebnis, das in vollkommener Übereinstimmung

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 367.

²⁾ loc. cit. S. 253.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 371.

steht mit dem Vorhandensein von Guanase und dem Fehlen der Adenase in den Körpergeweben.

Eine große Bedeutung für diese Frage hat auch die letzte Arbeit Saikis.¹⁾ Eine Analyse von 572 g carcinomatösen Materials aus der menschlichen Brust, Ovarien, Uterus und Rectum ergab an Harnsäure 0,1391 g, an Adenin 0,1866 g, an Hypoxanthin 0,0190 g, an Xanthin eine Spur, an Guanin ebenfalls eine Spur, und Saiki bemerkt hierüber: «Diese Zahlen sprechen für das Vorhandensein von Guanase und Xanthooxydase und das Fehlen von Adenase, ganz in Übereinstimmung mit den neuesten Arbeiten von Winternitz und Jones mit menschlichen Organen.»

Ich gehe nun über zu einer Betrachtung des «präformierten Hypoxanthins», eine Frage, welche im engsten Zusammenhang mit unserem Thema steht. In unserem Laboratorium wurde die Beobachtung gemacht, daß, während Adenin nach der Digestion mit gewissen wässerigen Gewebs-extrakten meistens unverändert wieder aufgefunden wurde, nur eine sehr kleine Menge Hypoxanthin aus den Produkten isoliert werden konnte. Aus mancherlei Gründen konnte diese minimale Menge von Hypoxanthin nicht als Beweis für das Vorhandensein einer Adenase im Gewebsextrakt betrachtet werden. So nahm zum Beispiel das Hypoxanthin nicht zu mit fortschreitender Digestion; es war ferner nachzuweisen in den Geweben mit und ohne Zusatz von Adenin und auch ohne Digestion. Ein gleichartiges anormales Erscheinen von Spuren von Xanthin habe ich nicht beobachtet. Schittenhelm²⁾ neigt dazu, die Frage unter einem anderen Gesichtswinkel anzusehen. Er faßt Spuren von Hypoxanthin als Beweis für eine geringe Menge von Adenase auf und erblickt darin ein Überleben einer Funktion, die wahrscheinlich in lebenden Organen in größerem Maßstabe auftritt. Seinen Standpunkt spricht er folgendermaßen aus:³⁾ «Die Sache liegt aber so, daß ich immer zugab, daß quantitative Unterschiede in der Umsetzungskraft einzelner Organe dem Guanin (z. B. der Schweineleber und Schweinemilz) und dem Adenin gegenüber bestehen. Ich konnte aber auch in den Organen, wo Jones z. B. die Umsetzung von Adenin leugnet, Hypoxanthin, wenn auch in kleinen Mengen, finden, und ich freue mich, daß Jones dasselbe Resultat berichtet (präformiertes Hypoxanthin). Ich meine, diese Feststellung ist von großer Wichtigkeit, wie ich schon oben ausgeführt habe; ähnlich erging es mit Xanthin. Ich habe nun auch noch die meisten Organe des Schweines und des Hundes zu Versuchen benutzt und in der Tat stößt man da auf Organe, welche, z. B. beim Hunde die Muskeln, die Funktion der Umsetzung von Adenin in Hypoxanthin nahezu völlig vermissen lassen.»

¹⁾ Journ. of Biol. Chem., 411, 25.

²⁾ loc. cit.

³⁾ loc. cit. S. 254.

Es besteht da eine gute Übereinstimmung, da die Hundemuskulatur das Gewebe ist, dessen Untersuchung gerade zu dem Ausdruck «präformiertes Hypoxanthin» geführt hat. Dieser Muskel ist, wie die Muskeln der Säugetiere, überhaupt reich an Hypoxanthin, aber besitzt nicht die Funktion der Adenase. Leonard und Jones¹⁾ setzten einem Extrakt dieses Muskels Adenin zu und unterwarfen die Mischung der Digestion bei 40°. Nach 2 Tagen wurde die Hälfte entfernt und untersucht, während die andere Hälfte 23 Tage länger im Brutofen blieb. Die Analyse der Produkte zeigte, daß nach 25 Tagen das Adenin nicht weniger und das Hypoxanthin nicht mehr geworden war als nach 2 Tagen, und diese Feststellung gilt auch für die Muskeln von Schwein und Kaninchen. So ist wohl ein Hundemuskelextrakt reich an Hypoxanthin, enthält aber keine Adenase; der Rindsmuskel hingegen liefert Adenase in einem bedeutenden Maße, aber unterscheidet sich in seinem Gehalt an Hypoxanthin kaum von anderen Säugetiermuskeln. «Präformiertes Hypoxanthin» ist ein charakteristischer Muskelbestandteil und sein Gehalt in den verschiedenen Tiermuskeln verändert sich nicht mit dem verschiedenen Gehalt an Adenase, welche diese Muskeln enthalten; auch sind diese Beobachtungen nicht auf willkürliche Muskeln beschränkt, denn Saiki²⁾ hat gefunden, daß ebenso wie die quergestreiften auch die glatten Muskeln als hauptsächlichste Base Hypoxanthin enthalten. Ist nun vorgebildetes Hypoxanthin ein Muskelbestandteil, dann kann man wohl erwarten, daß, wo immer Muskelgewebe vorhanden ist, auch der Gehalt an Hypoxanthin dem vorhandenen Muskelgewebe entspricht; aus diesem Grunde ist es nicht überraschend, daß Spuren von Hypoxanthin in tierischen Drüsen gefunden werden.

Diese Schlussfolgerung ist wohl eher anzuerkennen, als die ziemlich unbestimmte Hypothese, daß eine Spur von Hypoxanthin in einer Drüse die Überreste einer Lebensfunktion beweist oder, um mich deutlicher auszudrücken, als Wirkung kleiner Reste eines Ferments, der Adenase, welches in anderen Fällen zeigt, daß es den Tod der Gewebe überdauert, welches aber in den besprochenen Fällen nur sehr schwach und kaum wirksam sein soll.

Auf eine ähnliche Anomalie stießen wir bei Versuchen über Nucleinfermente in wässerigen Organauszügen von Ratten.³⁾ Wir stellten fest, daß diese Extrakte eine gleichmäßige und kräftige Guanasewirkung zeigen; aber es konnte weder Adenase noch Xanthooxydase nachgewiesen werden. Nun hätten diese beiden Fermente in einigen kleineren, nicht untersuchten Organen vorhanden sein können, auch hätte man an-

¹⁾ Journ. of Biol. Chem., Bd. VI, S. 453.

²⁾ Journ. of Biol. Chem., Bd. IV, S. 483.

³⁾ Die ausführliche Publikation erfolgt demnächst durch Rohde und Jones in dem Journal of Biological Chemistry.

nehmen können, daß den vereinigten Organextrakten eine Fermentwirkung zukäme, die als solche in keinem einzelnen Organ zu finden wäre; deshalb wurden diese Experimente mit wässerigen Extrakten sämtlicher Organe und Eingeweide einer ganzen Ratte gemacht. Nach der Digestion mit einem derartigen Auszug wurden verhältnismäßig kleine Mengen des zugesetzten Adenins unverändert wieder aufgefunden, während große Mengen von Guanin vollständig und schnell in Xanthin verwandelt waren. In einigen dieser Versuche mit Guanin wurde Luft durchgeleitet, aber Harnsäure konnte nicht unter den Produkten gefunden werden; schließlich wurde ein wässriger Auszug einer ganzen Ratte bei 40° mit Hypoxanthin unter Luftdurchleitung digeriert; nach der Digestion wurde das Hypoxanthin quantitativ unverändert aufgefunden, und zwar so vollständig frei von Xanthin, daß die empfindliche Farbstoffreaktion dieser Substanz ausblieb. So sind wässrige Extrakte der Organe dieses Tieres zusammen oder einzeln nicht fähig, Harnsäure zu bilden, weder aus Adenin noch aus Guanin. Trotzdem enthält der Urin der Ratte Harnsäure, und es ist anzunehmen, daß Spuren dieser Substanz im Körper sein müßten; dies könnte aber nur entschieden werden, wenn wir genügende empfindliche Reaktionen zum Nachweis besäßen.

Das Vorhandensein von Hypoxanthin im Hundemuskel und das Vorkommen von Harnsäure im Rattenharn sind zwei offenbare Anomalien derselben Art; zur Erklärung ergeben sich drei Hypothesen von selbst:

1. Wanderung. Diese Annahme ist durch die Untersuchungen von Burian¹⁾ und Schur als erledigt zu betrachten.

2. Die in lebenden Organen tätigen Nucleinfermente zeigen sich nicht in wässerigen Extrakten der Organe. Dieser Hypothese steht der Einwand entgegen, daß Nucleinfermente wirklich in Extrakten ihre Wirksamkeit entfalten, sonst würden sie ja unbekannt sein.

3. Die Nucleinfermente sind nicht die einzige Ursache des Auftretens von Hypoxanthin und Harnsäure im lebenden Körper. Daß Harnsäure aus Nucleinsäure gebildet werden kann und muß (bei fast allen Tieren), kann wohl kaum bezweifelt werden. Aber es erhebt sich auch die Frage, kann Harnsäure nicht auf anderem Wege entstehen? Burian und Schur fanden, daß die verhältnismäßig große Menge von Harnsäure im Urin nicht auf das Zugrundegehen von Leukocyten im Körper als einzige Quelle zurückgeführt werden kann. Man kann viel zur Stütze beider Hypothesen beibringen; da sie sich beide gegenseitig nicht ausschließen, können sich beide schließlich als wahr erweisen.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 533.