Über die Enzymwirkungen der Lungengewebe bei der allergischen Pneumonie des Kaninchens.

Von

Tadanari Oonisi.

(大西 忠成)

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Medizinischen Fakultät der Kaiserlichen Tohoku-Universität, Sendai.

Direktor: Prof. Dr. S. Utzino.)

Von dem Standpunkt der neuen Enzymologie der Gewebepro-
teolyse teilte Chen (1940)¹⁾ in hiesigem Institut über die patholo-
gische Biochemie der Leberschädigung mit, indem er dabei auf die Ver-
änderungen der Kathepsinwirkung der vergifteten Lebergewebe hin-
wies.

In Fortführung der Forschung auf diesem Gebiet hat Verf. hier
unter Leitung der Herren Prof. Dr. T. Kumagai und Prof. Dr. S.
Utzino sich mit dem enzymologischen Studium der Lungengewebe
beschäftigt, um Weiteres zur Kenntnis der Enzymologie der pneumo-
nischen Vorgänge in den Lungengeweben beizutragen. In der voran-
gegangenen Abhandlung betreffs der katheptischen Proteasenwirkung
der Schweinslunge hat Verf. darauf aufmerksam gemacht, dass in der
Mazeration der Schweinslungengewebe eine deutliche Kathepsinwir-
kung (pH 4,5–5,5), die auch durch Cysteinzusatz aktivierbar ist, und
auch eine Dipeptidase- wie Peptonasewirkung zutage traten, welche
letztere die stärkste Hydrolyse überhaupt bei pH 7,0–7,5 zeigte, nach
dem Cysteinzusatz aber eine erhöhte Aciditätszunahme nur bei pH 4, 0,
und daraus kann man wohl die Kathepsin-, Kathopeptonasewirkung als
saure Proteasen und auch ereptische Peptonase- und Dipeptidasewir-
kung als alkalische Proteasen der Lungengewebe annehmen. Auf
Grund dieser Beobachtungen wurden hier die Untersuchungen des
Verhaltens der diesbezüglichen Proteasenwirkungen neben der Amy-
lase- und Esterasewirkung der Lungengewebe bei den pneumonischen
Veränderungen in Angriff genommen. Als Versuchsmaterial bedient

man sich der Lungengewebe bei der allergischen Pneumonie, die nach der Angabe von Nomura (1938)²⁾ experimentell an Kaninchen durch die Reinjektion des Pferdserums nach der Sensibilisierung hervorgerufen wurde. In vorliegender Arbeit ist die Abhandlung in vier Kapiteln geteilt; nämlich 1. die autolytische Lungenkathepsinwirkung, 2. die heterolytische Lungenkathepsinwirkung, 3. die Lungenpeptidasewirkung und 4. die Lungenesterase- und Lungenamylasewirkung bei der allergischen Pneumonie, und auch die Literaturangaben wie die Ergebnisse sind in den einzelnen Kapiteln angegeben.

I. Teil: Die autolytische Lungenkathepsinwirkung bei der allergischen Pneumonie des Kaninchens.

Unter den zahlreichen Untersuchungen über den Mechanismus des Lösungsvorgangs bei der Lobärpneumonie finden wir viele Angaben betreffs der autolytischen Vorgänge im Lungengewebe. Fr. von Müller (1888)³⁾ hat schon seiner Zeit als Erster auf den autolytischen Abbau der pneumonischen Infiltration hingewiesen. Nach seinen Angaben verdaute sich das Lungengewebe, das sich in grauer Hepatisation befand, vollkommen selbst im Brutschrank und bis auf Reste von bindegewebigen und elastischen Stützsubstanzen auf. Er deutete also auf die fermentativen Träger der polynucleären Leukocyten hin. Darauf hat Jacoby (1901)⁴⁾ die Autolyse der normalen Lungengewebe studiert. Bei der Autolyse der grau hepatisierten Lunge fand Simon (1901)⁵⁾ die Abnahme des koagulierbaren Stickstoffs und die Zunahme des unkoagulierbaren Stickstoffs, indem er andererseits verschiedene Veränderungen in den entzündlichen Lungengeweben beobachtete, nämlich eine Erweichung der Konsistenz, eine starke Abnahme des Fibrins und eine Auflösung des protoplasmatischen Zelleibs der Leukocyten. Bei der Influenzapneumonie gab Hayasi (1921)⁶⁾ auch an, dass die autolytische Wirkung der pneumonischen Lunge sehr erhöht ist, da die Sputummenge und deren Reststickstoff kurz vor der Lyse das Maximum erreichte. Neuerdings haben Kubota (1934)⁷⁾ und Tsuzi (1939)⁸⁾ bei der durch Silbernitratlösung hervorgerufenen Kaninchenpneumonie in übereinstimmendem Sinne beobachtet, dass der Reststickstoff des Autolysates des Lungengewebes im Anfangsstadium abnahm und mit dem Verlauf zunahm.

In Hinsicht der Cysteinaktivierung des Kathepsins kommen die Aktivität und Vollaktivität der Gewebe in Frage. Also fand Chen (1940)¹⁾ eine stark gesteigerte Aktivität der autolytischen Kathepsin-

wirkung der Phosphorleber, während die Vollaktivität derselben nicht so stark erhöht war.

In dieser Hinsicht hat Verf. hier die autolytische Proteolyse der normalen und pneumonischen Lungengewebe unter Berücksichtigung der Cysteinaktivierung untersucht und in vorliegender Arbeit kamen zuerst die Aciditäts-, Reststickstoff- und Aminostickstoffzunahme in Betracht.

In Anlehnung an die Angaben von Nomura (1938)²⁾ hat man die allergische Pneumonie des Kaninchens experimentell hervorgerufen, und die autolytische Proteolyse in verschiedenen Stadien unter Cysteinaktivierung beobachtet, indem man auch gleichzeitig die Untersuchung betreffs der histologischen Befunde der Lungengewebe ausführte.

Da das histologische Bild der allergischen Pneumonie eine Reihe charakteristischer Einzelercheinungen, wie Beteiligung der Leukocyten, Histiocyten und der desquamierten Alveolarepithelzellen aufweist, kann die stärkere oder schwächere Ausprägung derselben eindeutige Unterlagen für die enzymologischen Beurteilung liefern. Ferner kann die allergische Pneumonie relativ aseptisch hervorgerufen werden und es scheint sehr zweckmässig zu sein, von solchem Material als Enzymquelle Gebrauch zu machen.

Die lobäre Pneumonie des Menschen wird einerseits als ein in der Lunge lokalisierter anaphylaktischer Shock betrachtet. In dieser Hinsicht kann man wohl erwarten, dass die enzymologischen Untersuchungen über die allergische Pneumonie beim Kaninchen auch Hinweise darauf geben können, wie die fermentativen Vorgänge sich bei der Lobärpneumonie des Menschen verhalten.

Versuchsergebnisse.

Bei der Autolyse der Lungengewebe des Schweins traten die höchste Zunahme der Acidität, des Aminostickstoffs sowie des Reststickstoffs bei pH 4,0–5,5 auf, und zwar liegt der Optimalpunkt derselben bei pH 4,6 (Tabelle 1). Weiter hat man bei der Lungenautolyse des normalen Kaninchens beobachtet, dass nach Zusatz von Cystein die Zunahme der Acidität, des Aminostickstoffs sowie des Reststickstoffs bei pH 4,6 deutlich erhöht wurde (Tabelle 2). Auf Grund dieser Beobachtung entspricht diese Wirkung der sog. Kathepsinwirkung der Lunge, die Willstätter und Bamann (1929)⁹⁾ für die bei schwach saurerer Reaktion Casein und Gelatine spaltende Protei-

nase vorschlugen. Und hier möchte man von einer autolytischen Kathepsinwirkung im Sinne von Chen (1940)¹⁾ sprechen, der sie bei der Phosphorleber studierte.

Bei der allergischen Pneumonie des Kaninchens hat man eine sehr interessante Tatsache beobachtet, dass ein Auf- und Abstieg der Acidität, des Reststickstoffs sowie des Aminostickstoffs mit dem Pneumoniestadium verlaufen (Tabelle 3). Kurze Zeit nach der intratrachealen Reinjektion setzt die allergische Pneumonie ein. Nach 24 Stunden blieb die autolytische Kathepsinwirkung der Lungengewebe fast gleichgradig wie die normale Lunge, nach 48 Stunden stieg sie allmählich an und wurde 3 Tage nach der Reinjektion nahezu verdoppelt erhöht gefunden. Nach 4–5 Tagen zeigt die Wirkung ihr Maximum. Seit 7 Tagen nach der Reinjektion steigt sie im Laufe der Resolution der Pneumonie ab und gegen 10 Tage nach dem Pneumoniebeginn kehrte sie wieder zum normalen Wert zurück. Also war der Spaltungswert in 2–6 Tagen nach der Reinjektion sehr gross; ihren Höhepunkt erreichte sie 5 Tage nach der Reinjektion.

Das histologische Präparat der experimentell hervorgerufenen allergischen Pneumonie, das von Herrn Prof. Dr. Nasu liebenswürdigerweise beurteilt wurde, zeigte im grossen und ganzen eine gute Übereinstimmung mit den Angaben von Nomura (1938)²⁾. Der Verlauf der allergischen Pneumonie nach der intratrachealen Reinjektion vollzog sich folgendermassen. Nach 24 Stunden war eine ausgedehnte Stase des Blutes und hochgradige Exsudation in den Alveolen erkennbar.

Um die Alveolen und in dieselben Lumen hat sich eine dichte Infiltration von polynucleären Leukocyten eingestellt. Nach 48–72 Stunden überwogen die massenhaft eingewanderten polynucleären Leukocyten, die den ganzen pneumonischen Bezirk durchsetzt hatten. Doch nach 4–5 Tagen ist die Zahl der massenhaft befindlichen Leukocyten ganz stürmisch zurückgegangen. Die Alveolarepithelien sind im Frühstadium gequollen und zum Teil abgestossen. Während die polynucleären Leukocyten im Alveolarlumen zurückgingen, begannen dagegen sog. mononucleäre Exsudatzellen—Histiocyten und desquamierte Alveolarepithelzellen—im Lumen zuzunehmen. Nach 5–6 Tagen erreichten sie ihren Höhepunkt. Zu diesem Zeitpunkt beherrschten die intraalveoläre desquamierte und infiltrierte Pneumonie und die histiocytäre interstitielle Pneumonie das Bild. Seit 1 Woche begann dieses Bild auf die regressive Veränderung und Resolution überzugehen.

Daher mag es denkbar sein, dass es innige Zusammenhänge zwischen dem histologischen Bild der allergischen Pneumonie und der charakteristischen autolytischen Kathepsinwirkung gibt. Die autolytische Kathepsinwirkung begann sich in derartigem Zeitpunkt zu verstärken, als die polynucleären Leukocyten das Bild beherrschten. Dann begann in Begleitung der Infiltration der Histiocyten und der desquamierten Alveolarepithelzellen die autolytische Proteolyse immer mehr aufzusteigen, bis sie gegen 4–5 Tagen nach der Reinjektion ihr Maximum erreichte. Nach 10 Tagen ging die autolytische Proteolyse unter regressiven Veränderungen bis zum normalen Wert zurück.

Versuchsteil.

Methodisches: In Anlehnung an die Angaben von Nomura (1938)⁹⁾ wurde die allergische Pneumonie an Kaninchen experimentell hervorgerufen, indem man zur maximalen Sensibilisierung den Kaninchen je 5 ccm normalen Pferdeserums am 1., 4. und 7. Tag intravenös und je 2,5 ccm desselben am 12., 17., 22., 27. und 32. Tag subcutan injizierte. Bei der Reinjektion spritzte man ca. 10 Tage nach der abgeschlossenen Sensibilisierung 5–10 ccm Pferdeserum in die Luftröhre des sensibilisierten Kaninchens sehr langsam ein. Die Tiere wurden am 1.–14. Tag nach der intratrachealen Reinjektion durch Verblutung abgetötet. Der makroskopisch-pathologisch veränderte Teil der pneumonischen Lunge wurde zur Untersuchung herangezogen und unter Berücksichtigung der verschiedenen Stadien der allergischen Pneumonie der enzymologischen und analytischen Untersuchung unterworfen.

Versuchsansatz: Je 5 g Lungenbrei des entweder normalen oder an allergischer Pneumonie erkrankten Kaninchens wurden nach Zufügen des 10fachen Volumens der Citratpufferlösung bei einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration unter Toluolzusatz bei 37° C digeriert. Für die Aktivierung wurde das Gewebe-Puffergemisch (pH 4,6) mit neutralisiertem Cysteinchlorhydrat, deren Konzentration ca. 0,05 Mol bei der Digestion beträgt, hinzugefügt und der pH-Wert mit Natronlauge, wenn nötig, kontrolliert. Nach den bestimmten Zeitabschnitten (48 und 96 Stunden) wurde die Digestionslösung zur Bestimmung der Aciditätszunahme in 4 ccm nach Sørensen und der Amino-N-zunahme in 1 ccm nach Van Slyke entnommen. Zur Analyse des Reststickstoffs und auch des Aminostickstoffs in den Autolysaten wurden je 8 ccm Autolysat mit der gleichen Volummenge 10 %iger Trichloressigsäure versetzt, der dabei ausgefällte Niederschlag durch ein trockenes Filterpapier filtriert und der Rest-N in 4 ccm Filtrat (= 2 ccm Autolysat) nach Kjeldahl und der Amino-N in 2 ccm Filtrat (= 1 ccm Autolysat) nach Van Slyke bestimmt.

Tabelle 1.

Optimalreaktion bei der Autolyse der Schweinslunge.

Zum Vergleichszweck wurde hier Schweinslungenbrei der Digestion bei verschiedenen pH-Werten unterzogen.

Std.	pH	3,0	3,5	4,0	4,6	5,0	5,5	6,0
Aciditätszunahme in 4 ccm Autolysat (=0,4 g Gewebe) (ccm 0,1 n-NaOH)	48	0	0,09	0,39	0,78	0,7	0,57	0,4
	96	0,05	0,2	0,79	1,04	0,9	0,74	0,46
Reststickstoffzunahme in 2 ccm Autolysat (=0,2 g Gewebe) (mg Rest-N)	48	0,231	0,396	1,207	1,646	1,244	0,583	0,524
	96	0,373	0,562	1,254	1,90	1,405	0,795	0,586
Aminostickstoffzunahme in 1 ccm Autolysat (=0,1 g Gewebe) (mg NH ₂ -N)	48	0	0,027	0,124	0,26	0,236	0,20	0,14
	96	0,014	0,036	0,234	0,367	0,361	0,243	0,17

Tabelle 2.

Lungenautolyse des normalen Kaninchens unter Berücksichtigung der Cysteinaktivierung.

Versuchsansatz: 5 g Lungenbrei + 50 ccm Citratpufferlösung (pH 4,6) + 0,44 g Cysteinchlorhydrat (neutralisiert) + Toluol; digeriert bei pH 4,6 und 37°C.

Zur Kontrolle wurde der gleiche Versuchsansatz ohne Cystein geprüft. Es ergibt die Zunahme bei der Cysteinaktivierung in Klammern.

Std.		Versuch I.		Versuch II.		Versuch III.	
Aktivierung		48	96	48	96	48	96
Aciditätszunahme in 4 ccm Autolysat (=0,4 g Gewebe) (ccm 0,1 n-NaOH)	ohne Cystein	0,82	0,9	0,89	1,18	1,07	1,09
	mit Cystein	1,3 (0,48)	1,51 (0,61)	1,31 (0,42)	1,69 (0,51)	1,24 (0,17)	1,48 (0,39)
Reststickstoffzunahme in 2 ccm Autolysat (=0,2 g Gewebe) (mg Rest-N)	ohne Cystein	1,201	1,468	1,251	1,574	1,561	1,567
	mit Cystein	1,759 (0,558)	2,026 (0,558)	1,586 (0,335)	1,908 (0,334)	1,823 (0,262)	2,022 (0,455)
Aminostickstoffzunahme in 1 ccm Autolysat (=0,1 g Gewebe) (mg NH ₂ -N)	Autolysat	ohne Cystein	0,258	0,288	0,225	0,361	0,305
		mit Cystein	0,45 (0,192)	0,502 (0,214)	0,356 (0,131)	0,511 (0,15)	0,421 (0,116)
	Filtrat	ohne Cystein	0,303	0,331	0,32	0,378	0,367
		mit Cystein	0,507 (0,204)	0,535 (0,204)	0,434 (0,114)	0,633 (0,255)	0,497 (0,13)

Tabelle 3.
Lungenautolyse bei verschiedenen Stadien der allergischen Pneumonie.
 Die Zahlen in Klammern geben die Zunahme-Werte bei der Cysteinaktivierung an.

Kaninchen Nr.														
Aktivierung	Std.	23	24	27	28	19	20	21	26	18	25	22		
		Tage nach Reinjektion												
		1	2	2	3	3	4	5	6	7	10	10		
Aciditätszunahme in 4 ccm Autolysat (= 0,4 g Gewebe) (ccm 0,1n-NaOH)	ohne Cystein	48	0,85	1,48	1,61	1,29	1,78	1,97	2,15	1,82	1,5	1,1	1,12	
		96	1,0	1,89	1,64	1,56	1,91	1,99	2,28	1,9	1,55	1,1	1,19	
	mit Cystein	48	1,45 (0,6)	2,12 (0,64)	2,42 (0,81)	2,4 (1,11)	2,35 (0,57)	2,35 (0,38)	2,78 (0,63)	2,5 (0,68)	2,04 (0,54)	1,81 (0,71)	1,86 (0,74)	
		96	1,49 (0,49)	2,1 (0,21)	2,2 (0,56)	2,5 (0,94)	2,4 (0,49)	2,35 (0,36)	2,89 (0,61)	2,35 (0,45)	2,1 (0,55)	1,75 (0,65)	1,9 (0,71)	
Reststickstoff- zunahme in 2 ccm Autolysat (= 0,2 g Gewebe) (mg Rest-N)	ohne Cystein	48	1,517	2,017	2,303	1,732	2,743	2,393	3,012	2,478	2,219	1,603	1,66	
		96	1,953	2,216	2,446	2,248	2,897	2,759	3,146	2,679	2,255	1,677	1,715	
	mit Cystein	48	2,271 (0,754)	3,128 (1,111)	2,881 (0,578)	2,792 (1,06)	3,051 (0,308)	2,801 (0,408)	3,231 (0,219)	2,785 (0,307)	2,429 (0,21)	2,196 (0,593)	2,129 (0,469)	
		96	2,105 (0,152)	2,911 (0,695)	2,744 (0,298)	3,264 (1,016)	3,244 (0,347)	2,944 (0,185)	3,405 (0,259)	3,231 (0,552)	2,835 (0,58)	2,104 (0,427)	2,203 (0,488)	
Aminostickstoff- zunahme in 1 ccm Autolysat (= 0,1 g Gewebe) (mg NH ₂ -N)	ohne Cystein	48	0,324	0,586	0,598	0,535	0,68	0,627	0,734	0,608	0,575	0,44	0,412	
		96	0,39	0,627	0,694	0,668	0,701	0,893	0,891	0,665	0,68	0,451	0,418	
	mit Cystein	48	0,54 (0,216)	0,918 (0,332)	0,983 (0,385)	0,835 (0,30)	0,802 (0,122)	0,728 (0,101)	0,764 (0,03)	0,719 (0,111)	0,703 (0,128)	0,554 (0,114)	0,549 (0,137)	
		96	0,519 (0,129)	0,95 (0,323)	0,827 (0,133)	0,914 (0,246)	0,808 (0,107)	0,812 (-0,081)	0,887 (-0,004)	0,852 (0,187)	0,71 (0,03)	0,54 (0,089)	0,558 (0,14)	
Gesamtstickstoff in 2 ccm Autolysat (mg Gesamt-N)	ohne Cystein		3,934	4,094	3,895	4,483	4,081	3,951	4,062	3,836	4,048	3,662	4,031	
	mit Cystein		5,32 (1,386)	5,41 (1,316)	5,368 (1,473)	5,516 (1,033)	5,471 (1,39)	5,152 (1,201)	5,74 (1,678)	4,97 (1,134)	5,289 (1,241)	5,147 (1,455)	5,27 (1,239)	

II. Teil: Die heterolytische Kathepsinwirkung bei der allergischen Pneumonie des Kaninchens.

In der vorigen Arbeit hat Verf. darauf aufmerksam gemacht, dass die autolytische Kathepsinwirkung der Kaninchenlunge schon im Frühstadium der allergischen Pneumonie deutlich anstieg und 4-5. Tage nach der Reinjektion das Maximum erreichte, indem sie doch in 10 Tagen wieder zum normalen Wert zurückkam. Diese Kathepsinwirkung wurde auch durch Cysteinzusatz bedeutend erhöht. Der Verlauf dieser autolytischen Lungenkathepsinsteigerung ging in Parallele mit den histologischen Befunden, besonders mit dem Infiltrationsgrad der polynucleären Leukocyten, Histiocyten sowie desquamierten Alveolarepithelzellen.

Dann ergab sich hier eine neue Aufgabe, festzustellen, wie sich diese Lungenkathepsinwirkung bei der allergischen Pneumonie gegenüber verschiedenen Proteinkörpern wie Gelatine, Casein, Edestin, Fibrin, Serum- und Eieralbumin verhält.

Wie die pathologische Anatomie lehrt, muss man auf die wichtige Rolle der Zellinfiltration bei der Lungenpneumonie Rücksicht nehmen, und zwar beanspruchen die Proteaseneigenschaften der infiltrierten Zellen grosses Interesse. Über die intrazelluläre Proteinase bei der Entzündung finden wir zahlreiche Angaben von mehreren Autoren. Die alten Angaben wie diejenige von Fr. von Müller (1888)³⁾ über tryptische Wirkung in weissen Blutkörperchen beschränken sich in der Hauptsache auf die Beschreibung über die tryptische Wirkung der Leukocyten (Erben (1903)¹⁰⁾, Pfeifer (1906)¹¹⁾, Jochmann und Ziegler (1906)¹²⁾, Eppenstein (1906)¹³⁾ und Hertz (1908)¹⁴⁾. Opie (1906)¹⁵⁾ meinte bei Hunden zwei Proteasen nachweisen zu können, Lymphoprotease, die in saurem Milieu wirkte und aus den Monocyten stammte, und Leukoprotease, die bei alkalischer Reaktion auftrat und den polynucleären Leukocyten gehört. Lord (1919)¹⁶⁾ fand, dass eine Fermentwirkung das koagulierte Serum bei pH 6,7-7,3 und das Pepton bei pH 4,8-8,0 (Optimal-pH 7,3) spaltete, wenn Menschenleukocyten aus grau hepatisierter Lungen als Fermentmaterial dienten. Nach der Angabe von Nye (1922)¹⁷⁾ trat die maximale Reststickstoffzunahme im Digestat des Pferdfibrins mit Menschenleukocyten aus Pneumonielunge bei pH 8,0 auf, Willstätter et al. (1929)¹⁸⁾ haben darauf über die Proteasen der Leukocyten aus dem Blute von Pferden, Schweinen und Hunden berichtet und auf die Anwesenheit von 2 Enzymen, d. h. Kathepsin und Trypsin wie Opie hingewiesen. Kleinmann und

Scharr (1932)¹⁹⁾ konnten weiter bestätigen, dass die polynucleären Leukocyten aus Pferdeblut die Träger eines echten Trypsins sind, und auch wie alle anderen tierischen Körperzellen Kathepsin enthalten. Neuerdings fand Charles Weiss (1939)²⁰⁾ in polynucleären Leukocyten, Monocyten und epitheloiden Zellen aus dem Aleuronat-, Stärke-, Petroleum- und Phosphatideexsudat eines Kaninchens je ein Kathepsin und eine Dipeptidase.

Heute stellte es sich heraus, dass diese intrazelluläre Protease der verschiedenen Tierarten untereinander different sind, besonders die polynucleären Leukocyten vom Kaninchen sich grundlegend anders verhalten und nur Kathepsin besitzen, indem Husfeldt (1931)²¹⁾ behauptet, dass dieses unterschiedliche Verhalten mit dem verschiedenartigen Charakter der Leukocytengranula, die beim Kaninchen eosinophil, bei den anderen Tieren neutrophil sind, in fermentativen Zusammenhängen gebracht werden muss. In dieser Hinsicht scheint die katheptische Wirkung der pneumonischen Kaninchenlunge insofern in Frage zu kommen, als man der Zellinfiltration wie der polynucleären Leukocyten, Monocyten und epitheloiden Zellen bei der allergischen Pneumonie des Kaninchens Rechnung tragen kann.

Versuchsergebnisse.

Um zu sehen, wie die heterolytische Kathepsinwirkung der Lungengewebe bei verschiedenen Stadien der allergischen Pneumonie sich verhält, stellte man die Digestionsversuche mit der Lungenmazeration und der Proteinlösung unter den bestimmten Bedingungen an (Tabelle 4-11).

Die Caseinhydrolyse, die bei normalen Lungen deutlich erkennbar ist und durch Cysteinzusatz erhöht wird, blieb 24 Stunden nach der intratrachealen Reinjektion fast im normalen Wert, begann aber schon nach 48 Stunden deutlich aufzusteigen, und der Hydrolysegrad verdoppelte sich 72 Stunden nach der Reinjektion. Etwa um 4-6 Tage nach der Reinjektion erreichte die erhöhte Kathepsinwirkung ihr Maximum, deren Spaltungsgrad das dreifache des normalen Wertes betrug. Gegen Ende der zweiten Woche ging die Caseinhydrolyse fast bis zum normalen Wert zurück. Durch Zusatz von Cystein trat die Beschleunigung der Hydrolyse ein, die ungefähr in Parallele mit der nicht aktivierten Hydrolyse verlief.

Die Gelatinehydrolyse, die bei der normalen Lunge eine geringfügige Spaltbarkeit zeigt, trat deutlicher mit fortschreitender Entzündung zutage, besonders stark erhöht nach Cysteinaktivierung, nach 2

Wochen ging sie aber zurück. Im Falle der Edestinhydrolyse konnte man auch ähnliche Beschleunigung wie Caseinhydrolyse bestätigen. Fibrin, Serumalbumin und Eieralbumin erwiesen sich als widerstandsfähig gegenüber der normalen Lungenkathepsinwirkung, indem das Digestat nur eine minderwertige Aciditätszunahme zeigte; während bei der allergischen Pneumonie 3–7 Tage nach der Reinjektion eine deutliche Hydrolyse zu erkennen war, die besonders durch Cysteinuzusatz bedeutend stark erhöht wurde, wie dies bei der Gelatinehydrolyse der Fall war. Ebenso wie bei der autolytischen Proteolyse der Pneumonielunge, dürfte man wohl die Zusammenhänge zwischen der heterolytischen Lungenkathepsinwirkung bei der allergischen Pneumonie des Kaninchens und den histologischen Befunden, besonders der Zellinfiltration in Betracht ziehen. Um 24 Stunden nach der Entstehung der allergischen Pneumonie traten die polynucleären Leukocyten auf und weiter nach 48–72 Stunden nahmen sie den grossen Raum des Alveolarlumens überwiegend ein, worin auch Lymphocyten und desquamierte Alveolarepithelzellen beigemischt waren. Die heterolytische Kathepsinwirkung begann gerade in diesem Zeitpunkt der Zellinfiltration aufzusteigen. Während die Leukocyten unter regressiver Veränderung gegen 4–5 Tage nach der Reinjektion meistens zugrunde gingen, begannen sog. mononucleäre Exsudatzellen wie Histiocyten und desquamierte Alveolarepithelzellen in den Alveolarlumen zuzunehmen. Und ungefähr 5–6 Tage lang beherrschten sie den pneumonischen Bezirk, während die beschleunigte heterolytische Kathepsinwirkung auf dem Gipfel der Erhöhung stand. Dann erfuhr diese Wirkung dasselbe Schicksal wie Histiocyten und Epithelzellen, die gegen 7 Tage allmählich regressiv zerfielen.

Aus dem Gesagten lässt sich mit grösster Wahrscheinlichkeit annehmen, dass auch die heterolytische Kathepsinwirkung bei der allergischen Pneumonie des Kaninchens in naher Beziehung nicht nur mit den polynucleären Leukocyten, sondern auch mit den Histiocyten und desquamierten Epithelzellen steht. Man kann auch wohl diese Annahme weiter durch das Experiment an der mit Silbernitrat hervorgerufenen Kaninchenpneumonie bestätigen, wobei die erhöhte Kathepsinwirkung sich in Parallele mit der histiocytären Infiltration und atypischen Epithelzellenwucherung verhält.

Versuchsteil.

Enzym: Den frisch aus dem erkrankten Teil bereiteten Lungengewebebrei, der von Gefässen und Bronchien befreit wurde, zerrieb man mit der 3fachen Volummenge Glycerin-Wasser (1:1) gut und verwendete ihn sogleich.

Zeitweise kam die Mazeration, die unter Toluol im Eisschrank aufbewahrt wurde, am folgenden Tag zur Verwendung.

Versuchsansatz: 18 ccm 2 %iger Substratpufferlösung wurden mit 4 ccm Lungenmazeration-Cysteinlösung oder mit 4 ccm Lungenmazeration-Wasser ohne Cystein zugesetzt und unter Toluol bei 37°C digeriert. Die Cysteinaktivierung geschah durch ½stündige Belassung von 2 ccm Lungenmazeration mit 2 ccm 0,1 Mol-Cystein HCl-Lösung (neutralisiert) bei 37°C und zur Kontrolle wurden 2 ccm Mazeration mit 2 ccm Wasser ohne Cystein angewendet. Nach Ablauf einer gewissen Frist wurde die Acidität in 4 ccm nach Sørensen formoltitriert. Zur Kontrolle prüfte man Enzympufferlösung mit oder ohne Cystein unter Fehlen von Substrat geprüft und zog diese Kontrollwerte von denjenigen des Hauptversuchs ab. Die Angaben bedeuten die nach 24, 72 und 120 Stunden gemessene korrigierte Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH) nach Sørensen.

Tabelle 4-a.

*pH-Optimum des Lungenkathepsins (normales Kaninchens)
bei der Casein- und Gelatinespaltung.*

Versuchsansatz: 20 ccm 2 %ige Substratphosphatpufferlösung von verschiedenen pH-Werten wurden mit 2 ccm Lungenmazeration des normalen Kaninchens unter Toluolzusatz bei 37°C digeriert. Zur Kontrolle wurde die Enzympufferlösung ohne Substrat unter den gleichen Bedingungen digeriert.

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)										
Substrate	Zeit (Std.)	pH	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	7,0	8,0	9,0
Casein (Hammarsten)	24		0,07	0,18	0,3	0,5	0,49	0,1	0,05	0,04
	72		0,51	0,41	0,73	0,97	0,98	0,36	0,18	0,09
	120		0,83	0,63	0,95	1,28	1,22	0,49	0,25	0,17
Gelatine K	24		0	0,08	0,1	0,06	0,1	0,04	0,02	0,04
	72		0,1	0,2	0,18	0,19	0,18	0,1	0,12	0,06
	120		0,16	0,28	0,28	0,25	0,25	0,19	0,15	0,1

Tabelle 4-b.

Heterolytische Kathepsinwirkung der normalen Kaninchenlunge.

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)								
Aktivierung	Std.	Substrat						
		Casein (Hammarsten)	Gelatine (Merck)	Fibrin (aus Ochsenblut)	Edestin	Serum- albumin (Merck)	Eier- albumin (Merck)	
		PH						
		4,8	5,5	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8
ohne Cystein	24	0,23	0,51	0,1	0	0	0,05	0,04
	72	0,61	1,05	0,13	0,05	0,1	0,07	0,04
	120	0,68	1,29	0,21	0,1	0,2	0,1	0,05
mit Cystein	24	0,26	0,49	0,27	0,03	0,09	0,04	0,05
		(0,03)	(-0,02)	(0,17)	(0,03)	(0,09)	(0,01)	(-0,01)
	72	0,81	0,93	0,6	0,04	0,46	0,29	0,15
		(0,2)	(-0,12)	(0,47)	(-0,01)	(0,36)	(0,22)	(0,11)
	120	0,16	0,16	0,83	0,2	0,51	0,3	0,18
		(0,49)	(-0,13)	(0,62)	(0,1)	(0,31)	(0,2)	(0,13)

Tabelle 5.
*Cascinspaltung (Hammarsten) durch die Lungenmaceration des Kaninchens bei verschiedenen Stadien
 der allergischen Pneumonie.*

Die Zahlen in Klammern bedeuten die Zunahme bei der Cysteinaktivierung.

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)																	
pH	Aktivierung	Std.	Kaninchen Nr.														
			Tage nach Reinjektion														
			1	12	4	14	9	6	17	3	16	11	2	5	15	8	7
4,8	ohne Cystein	0,5	1	2	2	3	3,5	4	5	5	6	6	7	7	14	14	
		0,1	0,2	0,49	0,78	1,3	1,18	1,17	1,24	1,25	0,7	0,77	0,84	0,4	0,39	0,32	
		0,39	0,2	0,85	0,68	2,03	1,89	1,99	1,82	1,96	1,21	1,37	1,62	0,77	0,8	0,69	
	120	0,51	0,22	1,04	1,98	2,28	2,13	2,09	1,94	2,16	1,33	1,69	2,06	0,94	0,96	0,93	
mit Cystein	24	0,28	0,37	0,69	1,33	1,86	1,97	1,79	1,87	1,54	1,31	1,05	1,18	1,7	0,57	0,49	
	72	(0,18)	(0,17)	(0,2)	(0,55)	(0,56)	(0,79)	(0,62)	(0,63)	(0,29)	(0,61)	(0,28)	(0,34)	(0,3)	(0,18)	(0,17)	
	120	0,62	1,0	1,54	2,52	2,6	2,81	3,15	2,66	2,77	2,38	2,21	2,58	1,74	1,52	1,37	
5,5	ohne Cystein	72	(0,23)	(0,8)	(0,69)	(1,84)	(0,57)	(0,92)	(1,16)	(0,84)	(0,81)	(1,17)	(0,84)	(0,96)	(0,97)	(0,72)	(0,68)
		120	0,87	1,31	1,89	2,62	2,7	3,1	3,32	2,75	3,01	2,75	2,56	2,97	2,08	1,85	1,83
		(0,36)	(1,09)	(0,85)	(0,64)	(0,42)	(0,97)	(1,23)	(0,81)	(0,85)	(1,42)	(0,87)	(0,91)	(1,14)	(0,89)	(0,9)	
mit Cystein	24	0,67	0,59	0,72	0,83	1,15	1,11	1,06	0,91	0,91	0,95	0,8	1,07	0,65	0,63	0,57	
	72	1,07	0,87	1,44	1,4	1,82	1,77	1,79	1,47	1,61	1,44	1,37	2,1	0,96	0,81	1,05	
	120	1,36	1,33	1,78	1,62	2,07	2,1	2,07	1,68	1,9	1,74	1,67	2,64	1,1	1,15	1,3	
5,5	ohne Cystein	24	0,5	0,69	0,77	1,25	1,43	1,89	1,4	0,98	0,91	1,09	0,94	1,27	0,74	0,65	0,55
		72	(-0,17)	(-0,18)	(0,05)	(0,42)	(0,28)	(0,78)	(0,34)	(0,07)	(0)	(0,14)	(0,14)	(0,2)	(0,09)	(0,02)	(-0,02)
		120	0,94	1,3	1,46	2,23	2,43	2,76	2,52	1,65	1,97	2,08	1,85	2,43	1,84	0,97	0,83
mit Cystein	72	(-0,13)	(0,43)	(0,02)	(0,83)	(0,61)	(0,99)	(0,73)	(0,18)	(0,36)	(0,64)	(0,48)	(0,33)	(0,38)	(0,16)	(-0,22)	
	120	1,01	1,49	1,72	2,27	2,64	3,24	2,83	1,85	2,2	2,51	2,15	2,96	1,59	1,16	0,99	
	(-0,35)	(0,16)	(-0,06)	(0,65)	(0,57)	(1,14)	(0,76)	(0,11)	(0,3)	(0,77)	(0,48)	(0,32)	(0,49)	(0,01)	(-0,31)		

Tabelle 7.

Edestinspaltung durch die Lungenmazeration des Kaninchens bei verschiedenen Stadien der allergischen Pneumonie (pH 4,8).

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)												
Aktivierung	Std.	Kaninchen Nr.										
		35	14	28	32	9	29	30	16	5	15	36
		Tage nach Reinjektion										
		2	2	3	3	3	4	5	5	7	14	
ohne Cystein	24	0,22	0,52	0,5	0,7	0,67	0,41	0,47	0,43	0,12	0,19	0,14
	72	0,54	1,27	0,86	1,16	1,27	0,79	0,77	0,68	0,24	0,33	0,24
	120	0,61	1,52	0,95	1,19	1,41	0,89	1,03	0,77	0,28	0,34	0,28
mit Cystein	24	0,57 (0,35)	0,79 (0,27)	0,95 (0,45)	1,17 (0,47)	1,08 (0,41)	0,76 (0,35)	0,75 (0,28)	0,76 (0,33)	0,24 (0,12)	0,19 (0)	0,14 (0)
	72	1,47 (0,93)	2,12 (0,85)	1,4 (0,54)	2,4 (1,24)	2,21 (0,94)	1,58 (0,79)	1,65 (0,88)	1,95 (1,27)	0,88 (0,64)	0,62 (0,29)	0,3 (0,06)
	120	1,7 (1,09)	2,52 (1,0)	2,0 (1,05)	2,2 (1,01)	2,54 (1,13)	1,82 (0,93)	1,94 (0,91)	2,32 (1,55)	1,2 (0,92)	0,77 (0,43)	0,45 (0,17)

Tabelle 8.

Fibrinspaltung (aus Ochsenblut) durch die Lungenmazeration des Kaninchens bei verschiedenen Stadien der allergischen Pneumonie (pH 4,8).

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)															
Aktivierung	Std.	Kaninchen Nr.													
		12	4	14	9	28	32	6	29	3	16	31	33	15	7
		Tage nach Reinjektion													
		1	2	2	3	3	3	3,5	4	5	5	6	7	7	14
ohne Cystein	24	0,03	0,04	0,24	0,14	0,16	0,17	0,17	0,1	0,09	0,06	0,17	0,03	0,02	0
	72	0,09	0,03	0,4	0,13	0,23	0,54	0,24	0,35	0,34	0,23	0,46	0,43	0,18	0,0
	120	0,1	0,04	0,35	0,25	0,23	0,65	0,24	0,44	0,42	0,33	0,63	0,56	0,22	0,01
mit Cystein	24	0,03 (0)	0,09 (0,05)	0,3 (0,06)	0,27 (0,13)	0,48 (0,32)	0,53 (0,36)	0,39 (0,22)	0,45 (0,35)	0,23 (0,14)	0,38 (0,32)	0,5 (0,33)	0,2 (0,17)	0,19 (0,17)	0,01 (0,01)
	72	0,18 (0,09)	0,13 (0,1)	0,66 (0,26)	0,7 (0,57)	0,84 (0,61)	0,99 (0,45)	0,85 (0,61)	0,7 (0,35)	0,42 (0,08)	0,96 (0,73)	0,86 (0,4)	1,08 (0,65)	0,52 (0,34)	0,1 (0,1)
	120	0,21 (0,11)	0,24 (0,1)	1,04 (0,69)	0,96 (0,71)	0,86 (0,63)	1,12 (0,47)	1,16 (0,92)	0,77 (0,33)	0,61 (0,19)	1,07 (0,74)	1,01 (0,38)	1,15 (0,59)	0,62 (0,4)	0,17 (0,16)

Tabelle 9.

Serumalbuminspaltung (Merck) durch die Lungenmazeration des Kaninchens bei verschiedenen Stadien der allergischen Pneumonie (pH 4,8).

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)										
Aktivierung	Std.	Kaninchen Nr.								
		4	14	9	28	6	29	16	15	7
		Tage nach Reinjektion								
		2	2	3	3	3,5	4	5	7	14
ohne Cystein	24	0,94	0,15	0,03	0,07	0,01	0,19	0,11	0,02	0,04
	72	0,05	0,34	0,26	0,22	0,08	0,38	0,36	0,1	0,05
	120	0,07	0,48	0,48	0,35	0,21	0,54	0,49	0,17	0,08
mit Cystein	24	0,08 (0,04)	0,35 (0,2)	0,45 (0,42)	0,49 (0,42)	0,26 (0,25)	0,54 (0,35)	0,61 (0,5)	0,16 (0,14)	0,05 (0,01)
	72	0,23 (0,18)	1,25 (0,91)	1,16 (0,9)	1,38 (1,16)	0,97 (0,89)	1,27 (0,89)	1,47 (1,11)	0,71 (0,61)	0,24 (0,19)
	120	0,28 (0,21)	1,83 (1,35)	1,51 (1,03)	1,65 (1,3)	1,29 (1,08)	1,63 (1,09)	1,86 (1,37)	0,97 (0,8)	0,36 (0,28)

Tabelle 10.

Eieralbuminspaltung (Merck) durch die Lungenmazeration des Kaninchens bei verschiedenen Stadien der allergischen Pneumonie (pH 4,8).

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)										
Aktivierung	Std.	Kaninchen Nr.								
		35	28	32	39	30	16	33	15	36
		Tage nach Reinjektion								
		2	3	3	4	5	5	7	7	14
ohne Cystein	24	0,02	0,07	0,15	0,17	0,16	0,14	0,04	0,01	0,03
	72	0,06	0,21	0,4	0,3	0,33	0,26	0,26	0,06	0,05
	120	0,09	0,29	0,45	0,49	0,45	0,44	0,41	0,1	0,08
mit Cystein	24	0,21	0,34	0,52	0,52	0,39	0,44	0,28	0,06	0,05
		(0,19)	(0,27)	(0,37)	(0,35)	(0,23)	(0,3)	(0,24)	(0,05)	(0,02)
	72	0,58	0,85	0,83	0,89	0,69	1,04	0,75	0,39	0,19
		(0,52)	(0,64)	(0,43)	(0,59)	(0,36)	(0,78)	(0,49)	(0,33)	(0,14)
	120	0,68	0,92	0,97	1,22	0,91	1,22	0,87	0,46	0,24
		(0,59)	(0,63)	(0,52)	(0,73)	(0,46)	(0,78)	(0,46)	(0,36)	(0,16)

Tabelle 11.

Lungenkathepsinwirkung bei dem normalen und dem mit Kohlensäuregas vergifteten Kaninchen.

Kaninchen A: Durch Luftembolie und darauf gefolgte Verblutung abgetötet.

Kaninchen B: Ebenso wie A.

Kaninchen C: Durch die 3stündige Zufuhr von Kohlensäuregas in einem geschlossenen Raum getötet.

Kaninchen D: Durch die Erstickung im geschlossenen Raum, 6 Stunden nach dem Versuchsbeginn getötet.

Versuchsansatz: 2 ccm Lungenmazerationssaft wurden entweder durch 1/2stündige Einwirkung von 2 ccm M/10 Cysteinchlorhydratlösung (neutralisiert) bei 37°C aktiviert oder mit 2 ccm Wasser ohne Cystein bei 37°C behandelt. Diese Enzymlösung wurde mit 18 ccm 2%ige Substratpufferlösung unter Toluol bei 37°C digeriert.

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)													
Aktivierung	Std.	Substrate											
		Gelatine				Casein							
		pH											
		4,8				4,8				5,5			
		Tod											
		Luft-embolie		CO ₂ -Vergiftung		Luft-embolie		CO ₂ -Vergiftung		Luftembolie		CO ₂ -Vergiftung	
		Kaninchen											
		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
ohne Cystein	24	0,08	0,09	0,11	0,12	0,28	0,16	0,36	0,19	0,44	0,4	0,53	0,44
	72	0,1	0,13	0,21	0,24	0,51	0,4	0,69	0,61	0,89	0,68	0,87	0,94
	120	0,21	0,16	0,22	0,28	0,7	0,54	0,99	0,8	1,02	0,88	1,23	1,31
mit Cystein	24	0,27	0,23	0,2	0,25	0,38	0,27	0,4	0,43	0,42	0,62	0,51	0,46
		(0,19)	(0,14)	(0,09)	(0,13)	(0,1)	(0,11)	(0,04)	(0,24)	(-0,02)	(0,22)	(-0,02)	(0,02)
	72	0,57	0,41	0,72	0,69	0,85	0,57	0,95	0,95	0,87	0,8	0,89	0,86
		(0,47)	(0,28)	(0,51)	(0,45)	(0,34)	(0,17)	(0,26)	(0,34)	(-0,01)	(0,18)	(0,02)	(-0,08)
	120	0,78	0,47	1,1	0,73	1,05	0,67	1,25	1,18	0,97	1,0	1,18	1,29
		(0,57)	(0,31)	(0,88)	(0,45)	(0,35)	(0,13)	(0,26)	(0,38)	(-0,05)	(0,12)	(-0,05)	(-0,03)

III. Teil: Die Lungenpeptidasewirkung bei der allergischen Pneumonie des Kaninchens.

Im Anschluss an die Untersuchung über die autolytische sowie heterolytische Lungenkathepsinwirkung bei der allergischen Kaninchenpneumonie hat Verf. hier weiter Versuche betreffs der Peptidasewirkung der pneumonischen Lungengewebe angestellt, um den biochemischen Vorgang in der Pneumonielunge zu erklären.

Simon (1901)⁵⁾ isolierte Tyrosin sowie Leucin aus dem Autolysat der pneumonischen Lungengewebe. Nach Rona u. Mislowitzer (1923)²²⁾ besteht der Rest-N bei kurzer Autolyse in der Hauptsache aus den peptidartigen Verbindungen, indem die abgespaltenen Aminosäuren etwas 25–35 Proz. des gesamten Rest-N belegen. Lord (1919)¹⁶⁾ war schon in Hinsicht auf den Lösungsvorgang der Pneumonie der Ansicht, dass die Fibrinolyse bei der Krise vorher vonstatten ging und dann die Peptonhydrolyse folgte. Nur das enzymologische Problem der Lösung der pneumonischen Hepatisation zu klären, kommt nun ferner das Verhalten der Peptidasewirkung der Lungengewebe bei der allergischen Pneumonie in Betracht. Darauf hat Verf. hier die Lungenpeptidasewirkung, nämlich ereptische sowie katheptische Peptonase, Carboxypolypeptidase, Dipeptidase, Acylase und Halogenacylase bei verschiedenen Stadien der allergischen Pneumonie studiert.

Utzino und Sakai (1941)²³⁾ schlugen der ereptischen Peptonase der Schweineleber gegenüber für die in sauerem Milieu wirkende Peptonase der Leber eine besondere Bezeichnung „katheptische Peptonase (=Kathopeptonase)“ vor, die durch das Säure-Verfahren von Ereptase getrennt und weiter durch das Alkali-Verfahren von Kathepsin (im engeren Sinne) befreit wurde. Die ereptische Peptonase ist schon nach Utzino u. Nakayama (1940)²⁴⁾ von Tri- und Dipeptidase der Schweineniere getrennt. In dieser Hinsicht wurden diese beiden Peptonasewirkungen betreffs der Peptonspaltung der normalen Lungenmazeration nachgewiesen, nämlich eine, die in alkalischem Milieu wirkte und ihr Optimum bei pH 7,5 zeigte, und eine andere, die bei saurerer Reaktion von pH 4,5–5,5 auftrat und durch Zusatz von Cystein aktivierbar ist. Es führt uns zu der sichergestellten Erkenntnis, dass beide Peptonasearten auch in Lungenmazeration existieren, ebenso wie in anderen tierischen Geweben.

Bei der allergischen Pneumonie des Kaninchens hat man interessante Ergebnisse bezüglich der Lungenpeptonase beobachtet, indem

man Pepton der Digestion bei pH 4,8 und bei pH 7,5 unterwarf. Gegen 3–7 Tage nach der Reinjektion wurde die Kathopeptonasewirkung der pneumonischen Lunge sehr stark erhöht und durch Zusatz von Cystein deutlich aktiviert.

Hier sei auch hervorgehoben, dass diese Kathopeptonasewirkung mit der Zellinfiltration des pneumonischen Bezirks parallel verlief, wie es bei der Kathepsinwirkung der Fall war. Mit dem Nachlassen der Zellinfiltration kehrt die katheptische Peptonasewirkung wieder zu ihrem Normalwert zurück. Im Gegenstaz zu diesen Befunden blieb die ereptische Peptonasewirkung verschiedene pneumonische Stadien hindurch fast unverändert.

Willstätter et al. (1929)¹⁸⁾ stellten fest, dass die farblosen Blutzellen aus Pferd, Schwein und Hund Leucylglycin oder Leucyldiglycin in deutlichem Masse anzugreifen imstande sind. Die Extrakte der Pferdleukocyten vermögen nach Kleinmann und Scharr (1932)¹⁹⁾ Leucylglycin (pH 8,0) und Glycylglycin (pH 7,2) deutlich zu spalten. Neuerdings hat Weiss (1938)²⁰⁾ neben Kathepsin die Existenz einer dl-Alanylglycin spaltenden Dipeptidase in Exsudatzellen des Kaninchens entdeckt (d. h. polynucleäre Leukocyten, Monocyten sowie epitheloide Zellen). Und nach Husfeldt (1931)²¹⁾ spaltet das Leukocytenmisch des Menschenblutes Alanylglycin, Leucylglycin, Alanylglycylglycin und Leucylglycylglycin.

Die Mazeration der normalen Kaninchenlunge kann Glycylglycin bei pH 7,5 deutlich hydrolysieren, ebenso wie bei der allergischen Pneumonie, wobei die Hydrolyse unabhängig von dem Pneumoniestadium aufzutreten schien. Leucylglycylglycin wurde auch gleichstark durch die Mazeration der normalen wie pneumonischen Kaninchenlunge angegriffen.

Diese Befunde der ereptischen Enzyme lassen an die Ergebnisse Chen's (1940)²⁵⁾ erinnern, dass Glycylglycin oder Pepton durch die Mazeration der Normal- wie Phosphorleber fast im gleichen Grade gespalten wurde.

Was nun Carboxypolypeptidase der Blutzellen betrifft, so fanden Willstätter und Mitarbeiter (1929)¹⁸⁾ eine deutliche Hydrolyse des Chloracetyltyrosins durch die Blutzellen des Schweins, nur spurenweise aber durch diejenige des Hundes und Pferdes, während nach Weiss (1938)²⁰⁾ das Chloracetyltyrosin durch Exsudatzellen des Kaninchens gar nicht hydrolysiert wurde.

Unter den geprüften Halogenacylamino-säuren wurde nur Chloracetyl-l-leucin durch die Mazeration der normalen und pneumonischen

Lunge angegriffen, während Chloracetyl-l-phenylalanin eine kaum merkbare NH_2 -N Zunahme zeigte, ebenso wie Bromisocapronylglycin und Bromisocapronyldiglycin. Benzoyldiglycin sowie Benzoylglycin widerstanden Lungenenzymen des normalen wie pneumonischen Kaninchens.

Übersichtlich gesagt, erwies sich die ereptische Lungenpeptidase-wirkung bei der allergischen Pneumonie in nichts von derjenigen des normalen Kaninchens; die Kathopeptonase jedoch verhält sich eigentümlich und anders als die Ereptase, indem sie in Parallele mit der Zellinfiltration deutlich erhöht wurde, ebenso wie die Kathepsinwirkung.

Versuchsteil.

Enzym: Zur Aktivierung der Katheptasewirkung wurden 2 ccm Lungenmazerationssaft durch $\frac{1}{2}$ stündige Belassung (37°C) von 2 ccm M/10 HCl-Cysteinlösung bewirkt, zur Kontrolle aber 2 ccm Wasser ohne Cystein gebraucht.

Versuchansatz: 4 ccm dieser Enzymlösung wurden mit 18 ccm Substratpufferlösung ($\text{pH}=4,8$) und etwas Toluol bei 37°C digeriert. Zur Kontrolle wurde die wie oben behandelte Enzymlösung mit Puffer aber ohne Substrat geprüft.

Im Falle der Ereptasewirkung wurden 2 ccm Lungenmazerationssaft mit 20 ccm Substratpufferlösung von bestimmten pH-Werten und etwas Toluol bei 37°C digeriert. Kontrolle mit Enzym-Puffer ohne Substrat. Formltitration in 4 ccm Digestat und Aminostickstoffbestimmung in 1 ccm nach Van Slyke.

Die Kontrollwerte wurden von denjenigen des Hauptversuchs abgezogen und die korrigierten Werte der Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH) und der Aminostickstoffszunahme in 1 ccm Digestat sind in der Tabelle angegeben.

Tabelle 12.

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)										
Substrate	pH Std.	Katheptische Peptonase pH=4,8						Ereptische Peptonase pH=7,5		
		ohne Cystein			mit Cystein					
		24	72	120	24	72	120	6	24	72
1 % Pepton (Witte)		0,2	0,34	0,42	0,54 (0,34)	0,88 (0,54)	0,99 (0,57)	0,49	0,96	1,42
2% Pepton K		0,26	0,37	0,5	0,41 (0,15)	0,69 (0,32)	0,95 (0,45)	0,35	0,64	0,95

Tabelle 13.

Katheptische Lungenpeptonasewirkung (pH 4,8) bei verschiedenen Stadien der allergischen Pneumonie (1% Papton-Witte).

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)												
Aktivierung	Std.	Normal		Kaninchen Nr.								
				34	35	28	32	29	30	31	33	36
				Tage nach Reinjektion								
				1	2	3	3	4	5	6	7	14
ohne Cystein	24	0,2	0,33	0,25	0,24	0,28	0,47	0,34	0,33	0,32	0,34	0,25
	72	0,34	0,33	0,29	0,35	0,32	0,52	0,46	0,54	0,38	0,56	0,4
	120	0,42	0,34	0,3	0,37	0,45	0,6	0,51	0,66	0,59	0,44	0,44
mit Cystein	24	0,54 (0,34)	0,54 (0,21)	0,6 (0,35)	0,93 (0,69)	1,04 (0,76)	1,25 (0,78)	0,91 (0,77)	1,08 (0,75)	0,93 (0,61)	1,08 (0,74)	0,55 (0,3)
	72	0,88 (0,54)	0,81 (0,48)	0,96 (0,67)	1,25 (0,9)	1,29 (0,97)	1,41 (0,89)	1,13 (0,67)	1,51 (0,97)	1,24 (0,86)	1,53 (0,97)	0,9 (0,5)
	120	0,99 (0,57)	0,96 (0,62)	1,0 (0,7)	1,27 (0,9)	1,36 (0,91)	1,49 (0,89)	1,31 (0,8)	1,59 (0,93)	1,32 (0,73)	1,42 (0,83)	0,97 (0,53)

Tabelle 14.

Katheptische Lungenpeptonasewirkung (pH 4,8) bei verschiedenen Stadien der allergischen Pneumonie (2% Pepton K).

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)											
Aktivierung	Std.	Kaninchen Nr.									
		12	14	9	6	38	39	3	16	15	7
		Getötet nach Tagen									
		1	2	3	3,5	4	4	5	5	7	14
ohne Cystein	24	0,27	0,43	0,49	0,4	0,57	0,56	0,49	0,43	0,36	0,33
	72	0,39	0,59	0,53	0,5	0,68	0,62	0,61	0,56	0,4	0,48
	120	0,58	0,57	0,71	0,54	0,67	0,64	0,81	0,62	0,46	0,6
mit Cystein	24	0,61 (0,34)	0,66 (0,23)	0,7 (0,21)	0,72 (0,32)	0,94 (0,37)	0,9 (0,34)	0,97 (0,48)	1,04 (0,61)	0,76 (0,4)	0,49 (0,16)
	72	0,86 (0,47)	1,04 (0,45)	0,92 (0,39)	1,0 (0,5)	1,08 (0,4)	1,07 (0,45)	1,16 (0,55)	1,39 (0,83)	0,93 (0,53)	0,73 (0,25)
	120	0,98 (0,4)	1,1 (0,53)	0,99 (0,28)	1,19 (0,65)	1,1 (0,43)	1,1 (0,46)	1,25 (0,44)	1,45 (0,83)	1,03 (0,57)	0,86 (0,26)

Tabelle 15.

Ereptische Lungenpeptonasewirkung (pH 7,5) bei der allergischen Pneumonie (1 % Pepton-Witte).

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)							
Std.	Kaninchen Nr.						
	35	37	38	39	16	36	
	Tage nach Reinjektion						
	2	4	4	4	5	14	Normal
6	0,36	0,39	0,39	0,48	0,48	0,44	0,49
24	0,75	0,83	0,89	0,96	0,98	0,8	0,96
72	0,98	1,15	1,15	1,1	1,4	1,06	1,42

Tabelle 16.

Ereptische Lungenpeptonasewirkung (pH 7,5) bei verschiedenen Stadien der allergischen Pneumonie (2% Pepton K).

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)															
Std.	Kaninchen Nr.														
	12	35	14	9	6	37	38	39	3	16	11	2	15	8	7
	Tage nach Reinjektion														
	1	2	2	3	3,5	4	4	4	5	5	6	6	7	14	14
6	0,44	0,42	0,43	0,34	0,44	0,49	0,43	0,46	0,45	0,32	0,42	0,48	0,47	0,34	0,38
24	0,86	0,89	0,8	0,8	0,8	1,01	0,92	1,12	0,86	0,79	0,8	0,72	0,65	0,83	0,7
72	1,14	1,11	1,09	1,0	1,1	1,35	1,18	1,11	1,03	1,15	1,13	0,89	0,92	1,14	1,1

Tabelle 17.

Dipeptidasewirkung (pH 7,5) der normalen und der an allergischer Pneumonie erkrankten Kaninchenlunge.

Versuchsanstz: 2 ccm Enzymlösung + 20 ccm M/20 Diglycinpufferlösung (pH 7,5) + Toluol; bei 37°C digeriert.

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)															
Std.	Normal				Kaninchen Nr.										
					4	9	40	6	37	38	39	3	2	33	109
					Tage nach Reinjektion										
					2	3	3	3,5	4	4	4	5	6	7	14
6	1,15	1,06	0,86	1,12	1,03	0,86	1,0	0,85	1,16	1,04	0,96	1,01	0,83	1,1	1,26
24	1,49	1,43	1,13	1,4	1,41	1,05	1,2	1,17	1,4	1,34	1,21	1,38	1,23	1,29	1,44
72	1,52	1,5	1,55	1,53	1,71	1,44	1,58	1,48	1,55	1,47	1,43	1,61	1,58	1,54	1,53

Tabelle 18.

Lungenpeptidase und -acylase bei der allergischen Pneumonie.

Versuchsansatz: 2 ccm Enzymlösung + 20 ccm Substratpufferlösung (Substrat enthaltend 1%, 2% oder M/20) von bestimmten pH-Werten + Toluol; bei 37°C digeriert.

	Substrate	Zeit (Std.)	Normal				Allergische Pneumonie (No 16) (Getötet nach 5 Tagen)			
			6	24	72	120	6	24	72	120
Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)	2% Pepton K pH 4,8	ohne Cystein	—	0,26	0,37	0,5	—	0,43	0,56	0,62
		mit Cystein	—	0,41	0,69	0,95	—	1,04	1,39	1,45
	1% Pepton (Witte)	pH 7,5	0,49	0,96	1,42	—	0,48	0,98	1,4	—
	2% Pepton K	pH 7,5	0,35	0,64	0,95	—	0,32	0,79	1,15	—
	M/20 Leucyl- glycylglycin	pH 7,5	0,82	1,02	1,29	—	0,78	0,99	1,26	—
	M/20 Glycylglycin	pH 7,5	0,86	1,13	1,55	—	1,01	1,38	1,61	—
	M/20 Benzoyl- diglycin	pH 7,5	—	0	0,01	0,01	—	0	—0,01	0
	M/20 Benzoyl- glycin	pH 7,2	—	0,01	0,01	0,02	—	0,02	0,02	0,03
NH ₂ -N Zunahme in 1 ccm Digestat (mg)	M/20 Chlor- acetyl-leucin	pH 7,2	—	0,166	0,372	0,435	—	0,13	0,262	0,408
	M/20 Chloracetyl- phenylalanin	pH 7,2	—	0,041	0,041	0,035	—	0,031	0,04	0,043
	M/20 Bromisoca- pronyldiglycin	pH 7,2	—	0,006	0,015	0,02	—	0,006	0,016	0,029
	M/20 Bromisoca- pronylglycin	pH 7,2	—	0	0,022	0,026	—	0	0,012	0,024

IV. Teil: Die Lungenesterasewirkung und -amylasewirkung bei der allergischen Pneumonie.

In den vorigen Abteilungen dieser Arbeit hat Verf. die gesteigerte Lungenkatheptasewirkung des Kaninchens bei der allergischen Pneumonie festgestellt, während die Ereptasewirkung fast unbeeinflusst blieb. Diese Beobachtung führt nun hier zur weiteren Fragestellung, wie sich Lungenesterase und -amylase bei der allergischen Pneumonie verhalten.

Seit längerer Zeit ist die Vermutung ausgesprochen worden, dass das Lungengewebe über die Erhaltungsstoffwechsel und die Gasaustauschfunktion hinaus auch wesentliche intermediärchemische Aufgaben und Fähigkeiten habe. Das Vorhandensein fettspaltender Fermente in der Lunge ist schon im Jahre 1908 von Sieber²⁶⁾ nachgewiesen und auch weiter von Saxl (1908)²⁷⁾ und Pagenstecher (1909)²⁸⁾

bestätigt worden. Der Fetthaushalt der Lungengewebe wurde vor allem von französischen Forschern eingehend untersucht, indem Roger und Binet (1922)²⁹⁾ in einer Reihe von Arbeiten darauf aufmerksam gemacht haben, dass das Blut des rechten Herzens etwa 10 Proz. mehr Fett enthält, als das arterielle Blut. Nach Schmitz und Peiser (1925)³⁰⁾ soll die gesunde Lunge eine grosse Rolle im Fetthaushalt des Körpers wie das Lebergewebe spielen.

Was den Fettumsatz bei der Pneumonie betrifft, so machte Kipp (1920)³¹⁾ interessante Befunde, nämlich eine frühere Hypcholesterinämie, sekundäre Hypercholesterinämie und endlich die Rückkehr zur Norm. Milbradt (1930)³²⁾ fand auch ein Ansteigen der Lipide besonders des Cholesterins bei Pneumonie. Nach der Angabe Hikosaka's (1927)³³⁾ enthält das Blut des rechten Herzens meistens mehr Fett, Cholesterin und Lezithin als das Blut des linken Herzens, während bei der Silbernitrat-Pneumonie des Kaninchens diese Lipoidkörper im Blut des linken und des rechten Herzens fast einen gleichen Wert betragen. Neuerdings beobachtete Kubota (1934)⁷⁾, dass Lungenesterasewirkung bei entweder Pneumokokken- oder Silbernitrat-Pneumonie des Kaninchens nur in geringerem Grade verändert ist.

Überblicken wir die Versuchsergebnisse an den normalen Kaninchen, so ergeben die Resultate, dass das Triolein der Lungenlipase widerstand, während die Lungenesterase das Mono- und Tributyrin in deutlichem Masse angreifen konnte, wobei ihr Optimalbereich bei pH 7,5-9,0 lag.

Die Lungenmonobutyrynasewirkung bei der allergischen Pneumonie des Kaninchens scheint verschiedene Stadien hindurch fast unverändert zu bleiben, indem sie in Hinsicht ihrer Aktivität fast keine Abhängigkeit von der entzündlichen Zellinfiltration zeigte. Dieser Befund lässt an die Angaben erinnern, die schon lange von verschiedenen Forschern über das Fehlen der Lipase in polynucleären Leukozyten berichtet worden sind (Mancini (1910)³⁴⁾, Fiesinger und Marie (1909)³⁵⁾, Tschernoruzki (1911)³⁶⁾ und Bergell (1909)³⁷⁾ u.a.).

Hinsichtlich der Amylasewirkung der Lungengewebe wurde schon im Jahre 1909 von Sieber³⁸⁾ ein Stärke saccharifizierendes Ferment nachgewiesen. Nach der Beobachtung Takano's (1938)³⁹⁾ kann das Schweinelungengewebe eine starke Amylasewirkung entfalten, indem das die Lunge passierende Blutserum des linken Herzens mehr Amylase als des Blutserum des rechten Herzens enthält.

In Hinsicht der Amylasewirkung der pneumonischen Lunge liegt

die Angabe von Kubota (1934)⁷⁾ vor, dass die Amylasewirkung des Lungengewebes bei der Silbernitrat-Pneumonie nur auf kurze Zeit wenig aufstieg, während sie bei der Pneumokokken-Pneumonie etwas herabgesetzt wurde. Zum Vergleichszweck hat Verf. zuerst die Stärkespaltung durch die Lungenmazeration des normalen Kaninchens untersucht. Aus der Tabelle 23 ist zu erwähnen, dass die Lungenmazeration die Stärkelösung deutlich zu verzuckern vermag, wobei ihr Optimum bei pH 6,8 liegt, wie schon Takano (1938)³⁹⁾ im Versuche mit der Schweinelungenmazeration beobachtet hat.

Bei der allergischen Pneumonie ersieht man aus Tabelle 24, dass die Stärke verzuckernde Kraft der Mazeration der Pneumonielunge auch in deutlichem und sogar gleichem Grad wie diejenige der normalen Lunge auftrat, indem sie fast keine Veränderung während der verschiedenen Stadien erfuhr.

Versuchsteil.

Tabelle 19.

Monobutyrynsplaltung (Kahlbaum) durch die Lungenmazeration des normalen Kaninchens bei verschiedenen pH-Werten.

Enzym: Der frische Lungengewebesbrei des entweder normalen oder pathologischen Kaninchens wurde mit der 3fachen Volummenge Glycerin-Wasser (1:1) in der schon beschriebenen Weise gut zerrieben und in Versuchen verwendet.

Versuchsansatz: 10 ccm 4 %iger Monobutyrimulsion (Kahlbaum), die durch Zusatz von Serumalbumin in einer Konzentration von 0,2 % emulgiert wurde, digerierte man mit 2 ccm Enzymlösung und 10 ccm Phosphatpufferlösung unter Toluol im Brutschrank (37°C). Als Kontrollversuch wurden 10 ccm Pufferlösung mit 10 ccm Wasser und 2 ccm Enzymlösung ohne Substrat der Digestion unter den gleichen Bedingungen unterworfen. Nach einer bestimmten Zeit wurden je 4 ccm Digestat mit 10 ccm neutralisierter phenolphthaleinhaltiger Alkohol-Äther-Mischung (2:1) versetzt und mit 0,1 n-NaOH titriert. Die Kontrollwerte wurden von denjenigen des Hauptversuchs abgezogen und die korrigierte Aciditätszunahme in der Tabelle angegeben.

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)							
Std.	pH	5,0	6,0	7,0	7,6	8,0	9,0
1		0,07	0,2	0,35	0,47	0,43	0,48
5		0,2	0,44	0,69	0,78	0,72	0,76
24		0,34	0,71	1,04	1,28	1,21	1,25
72		0,75	0,93	1,3	1,5	1,49	1,43

Tabelle 20.

Tributyrynspaltung (Merck) durch die Lungenmazeration des normalen Kaninchens bei verschiedenen pH-Werten.

Enzym: Ebenso wie in Tabelle 19.

Versuchsansatz: Ebenso wie in Tabelle 19.

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)								
Std.	pH	5,0	6,0	7,0	7,6	8,0	8,6	9,0
5		0,57	1,02	1,23	1,33	1,37	1,29	1,21
24		0,81	1,13	1,46	1,55	1,63	1,45	1,41
72		1,21	1,37	1,63	1,71	1,84	1,72	1,78

Tabelle 21.

Monobutyrynspaltung (Kahlbaum) durch die Lungenmazeration des Kaninchens bei verschiedenen Stadien der allergischen Pneumonie.

Versuchsansatz: 2 ccm Enzymlösung + 10 ccm 4 %iger Monobutyrimulsion (Kahlbaum) mit Serumalbumin in 0,2 %iger Konzentration + 10 ccm Phosphatpufferlösung (pH 7,6) + Toluol, bei 37°C digeriert.

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)															
Std.	Kaninchen Nr.														
	34	35	32	40	28	29	37	38	39	30	41	31	42	33	36
	Tage nach Reinjektion														
	1	2	3	3	3	4	4	4	4	5	5	6	6	7	14
1	0,37	0,33	0,38	0,38	0,31	0,42	0,3	0,42	0,4	0,34	0,43	0,32	0,46	0,31	0,46
5	0,86	0,8	0,8	0,82	0,84	0,93	0,84	0,8	0,79	0,78	0,8	0,85	0,88	0,81	0,86
24	1,43	1,37	1,23	1,32	1,35	1,42	1,37	1,44	1,36	1,24	1,3	1,25	1,46	1,42	1,47
72	1,83	1,84	1,62	1,77	1,7	1,8	1,81	1,96	1,98	1,59	1,79	1,72	1,95	1,89	1,97

Tabelle 22.

Trioleinspaltung (Kahlbaum) durch die Lungenmazeration des normalen Kaninchens und des allergisch pneumonischen Kaninchens.

Versuchsansatz: 2 ccm Enzymlösung + 10 ccm 4 %iger Trioleinemulsion mit Serumalbumin in 0,2% + 10 ccm Phosphatpufferlösung (pH 7,6) + etwas Toluol, bei 37°C digeriert.

Aciditätszunahme in 5 ccm Digestat (ccm 0,1 n-NaOH)														
Std.	I	II	III	IV	Kaninchen Nr.									
					34	32	37	38	39	41	31	42	34	36
	Normal				Tage nach Reinjektion									
					1	3	4	4	4	5	6	6	7	14
24	0,1	0,09	0,02	0,01	0,06	0	0,14	0,12	0,12	0,14	0,15	0,13	0,1	0,08
72	0,12	0,08	0,04	0,07	0,05	0,07	0,23	0,15	0,14	0,19	0,2	0,16	0,11	0,26

Tabelle 23.

Stärkespaltung durch die Lungenmazeration des normalen Kaninchens bei verschiedenen pH-Werten.

Enzym: Ebenso wie in Tabelle 19 bereitet.

Versuchsansatz: 2 ccm Enzymlösung + 10 ccm 4 %iger Stärkelösung (Kahlbaum) + 10 ccm Phosphatpufferlösung mit verschiedenen pH-Werten + Toluol; bei 37°C digeriert.

Zur Kontrolle wurde eine Stärke-Pufferlösung mit 2 ccm erhitzter Enzymlösung bei Siedehitze während 1 Stunde oder eine Enzym-Pufferlösung ohne Substrat unter den gleichen Bedingungen digeriert. Die gespaltene Zuckermenge in 10 ccm Digestat wurde nach der Pavy-Kumagawashen Methode bestimmt und in mg angegeben. In der Tabelle sind die korrigierten Werte verzeichnet.

Gespaltene Zuckermenge in 10 ccm Digestat (mg)								
Std.	pH	4,0	5,0	6,0	6,8	7,5	8,0	9,0
24		0	13,7	14,0	15,0	11,2	7,9	6,4
72		5,6	23,1	26,9	27,0	15,8	8,1	7,1

Tabelle 24.

Stärkespaltung durch die Lungenmazeration des Kaninchens bei der allergischen Pneumonie (pH 6,8).

Enzym und Versuchsansatz: Ebenso wie in Tabelle 23.

Gespaltene Zuckermenge in 5 ccm Digestat (mg)												
Std.	Kaninchen Nr.											Normal
	35	28	40	29	37	38	39	30	31	33	36	
	Tage nach Reinjektion											
	2	3	3	4	4	4	4	5	6	7	14	
24	7,5	7,4	7,1	7,0	7,3	6,2	7,4	7,7	6,3	7,2	7,0	7,1
72	17,2	17,5	16,3	14,5	13,0	16,3	14,7	14,7	13,7	13,2	13,2	13,7

Anhang: Analytische Belege.

Um die vergleichende Betrachtung der Enzymwirkungen der normalen wie pneumonischen Lunge zu kontrollieren, seien hier analytische Befunde derselben angegeben. Es ergaben sich die fast ähnlichen Analysenwerte von Wassergehalt, Gesamtstickstoff, Aschen und auch von Acetonfällung aus der Enzymlösung.

Tabelle 1.

Wassergehalt, Gesamtstickstoff- und Aschenmenge der normalen und allergisch-pneumonischen Kaninchenlunge.

Zur Bestimmung der Lungentrockensubstanz wurde ein kleines Stückchen der abgeschnittenen Kaninchenlunge in einem Wägegglas gewogen und im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet, nachdem man das noch nicht vollständig trockene Lungenstückchen vorsichtig zerkleinert hatte und weiter bis zur Gewichtskonstanz im Vakuum bei 100°C trocknete. Das bis zur Gewichtskonstanz getrocknete Lungengewebspulver wurde für die Gesamtstickstoffbestimmung nach Kjeldahl benutzt; und für die Aschenbestimmung in einem Porzellantiegel verascht und gewogen.

Kaninchen Nr.	Wassergehalt					Gesamtstickstoff- menge			Aschenmenge		
	Körper- gewicht (kg)	Tage nach Rein- jektion	Lungenstück		Wasser- gehalt (%)	Trocken- substanz (mg)	Stickstoff (mg)	Gesamt-N (in %)	Trocken- substanz (mg)	Asche (mg)	Asche (in %)
			Frish (g)	Trocken (g)							
12	2,45	1	0,6073	0,0972	83,99	33,0	4,07	12,34	32,8	2,3	7,01
4	2,24	2	0,4834	0,0970	83,58	31,7	3,92	12,39	18,8	1,4	7,44
9	2,15	3	0,7058	0,1225	82,64	30,3	3,88	12,79	109,6	8,3	7,56
6	2,35	3,5	1,6385	0,2682	83,62	44,0	5,46	12,40	115,2	8,1	7,03
17	2,60	4	0,7972	0,1417	82,22	28,5	3,22	11,38	49,9	3,9	7,81
13	2,61	4	0,6835	0,1273	81,37	19,0	2,08	10,97	27,2	1,4	5,14
16	2,05	5	1,2416	0,2275	81,67	30,2	3,47	11,49	124,3	8,3	6,68
11	2,34	6	1,2271	0,2328	81,02	39,4	4,53	11,51	125,7	8,7	6,91
5	2,25	7	1,0993	0,1913	82,59	20,9	2,15	10,28	32,5	2,5	7,69
15	2,35	7	0,8350	0,1514	81,86	26,2	3,01	11,52	42,0	2,6	6,19
8	2,64	14	0,9150	0,1789	80,44	27,2	3,20	11,78	70,0	5,0	7,14
7	2,45	14	1,0801	0,2066	80,87	24,6	2,65	10,79	105,0	6,4	6,10
76	1,95	Normal	0,7711	0,1434	81,40	25,0	3,05	12,20	25,0	1,8	7,20
77	2,70	Normal	1,1362	0,2056	81,90	31,0	3,68	11,87	84,3	5,6	6,49
78	1,90	Normal	1,0816	0,2085	80,72	22,6	2,59	11,46	126,4	8,2	6,64

Tabelle 2.

Acetonfällung der Enzymlyösung der normalen und allergisch-pneumonischen Kaninchenlunge.

Je 2 ccm Glycerinwassermazeration des Lungenbreis (1:3) wurden mit der 10fachen Menge Aceton versetzt und die Fällung durch ein aschenfreies Filterpapier abfiltriert, in Vakuumexsikkator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen.

Kaninchen Nr.	Tage nach Reinjektion	Acetonfällung (g)
12	1	0,0734
14	2	0,0790
9	3,0	0,0734
6	3,5	0,0762
16	5	0,0770
11	6	0,0727
8	14	0,0659
7	14	0,0759
76	Normal	0,0752
77	Normal	0,0739

Zusammenfassung.

(1) In vorliegender Arbeit wurde zuerst die autolytische Kathepsinwirkung der Lungengewebe bei der allergischen Pneumonie aus der Zunahme der Acidität, des Reststickstoffs wie des Aminostickstoffs im Lungenautolysat bei pH 4,6 ermittelt. Durch den Pneumonieverlauf hindurch beobachtete man diese Autolysenwerte einmal ohne Cystein und ein andermal nach der Cysteinaktivierung.

Am ersten Tag blieb die autolytische Kathepsinwirkung der pneumonischen Lunge fast unverändert; schon 48 Stunden nach der Reinjektion begann die Wirkung aufzusteigen und erreicht 4-5 Tage nach dem Pneumoniebeginn ihren Maximalwert, der mehr als den doppelten Wert des normalen betrug. Diese erhöhten Autolysenwerte begannen nach einer Woche abzusinken und kehrten zu ihren Normalniveau nach 10 Tagen zurück. Durch Cysteinzusatz wurden diese gesteigerten katheptischen Autolysenwerte deutlich aktiviert, und diese Aktivierbarkeit zeigte auch am 5. Tage nach der Reinjektion den Maximalwert.

(2) Andererseits kam auch die heterolytische Kathepsinwirkung (pH 4,8) der Kaninchenlunge bei der allergischen Pneumonie auf Casein, Gelatine, Fibrin, Albumine und Edestin in Betracht, indem man sich hier der Lungenmazeration als Enzym bediente. In guter Übereinstimmung mit dem Verlauf der autolytischen Kathepsinaktivität der pneumonischen Lungengewebe erfuhr auch die Caseinspaltung vom Tage an nach dem Pneumoniebeginn eine deutliche Erhöhung, die 4-6 Tage nach der Reinjektion den Maximalwert zeigte, der auch ungefähr einem dreifachen Wert des normalen entsprach. Der Normalwert wurde nach 2 Wochen wiederhergestellt. Durch Cysteinzusatz erfuhr diese gesteigerte Aktivität auch noch eine Erhöhung. Hier sei besonders betont, dass die Hydrolyse der resistenten Proteinen wie Gelatine, Edestins, Albumins und Fibrins, die fast keine oder sehr minderwertige Aciditätszunahme im Digestat mit dem normalen Lungengewebe zeigten, 2-3 Tage nach der Reinjektion bedeutend zutage trat und einige Tage lang andauerte, bis sie nach 2 Wochen zum Normalniveau wieder zurückkehrte. Dieses Erscheinen der heterolytischen Kathepsinwirkung war durch Cystein stark aktivierbar. Aus den mikroskopischen Befunden der pneumonischen Lunge möchte man wohl darauf aufmerksam machen, dass diese Erhöhung der autolytischen wie heterolytischen Kathepsinwirkung der pneumonischen Lungengewebe sich parallel mit der Zellinfiltration wie der Zeldesquamation von

polynucleären Leucocyten, Lymphocyten, Epithelzellen etc. im pneumonischen Herde verhält, und man hat auf die Beziehungen der Enzymwirkungen mit den infiltrierten Zellen hingewiesen.

(3) Auch in der Kaninchenlunge hat man die ereptische (pH 7,5) und die katheptische Peptonasewirkung bestätigt, welche letztere bei pH 4,8 wirksam und durch Cysteinzusatz deutlich aktivierbar ist. Bei der allergischen Pneumonie ist die katheptische Peptonspaltung durch die Lungengewebe auffallend gesteigert, besonders nach der Cysteinaktivierung, während die ereptische Peptonhydrolyse bei pH 7,5 fast unverändert blieb, wie Dipeptidase (Diglycinspaltung bei pH 7,5) und Tripeptidase (Leucyldiglycinspaltung bei pH 7,5). Diese erhöhte Katheptonasewirkung zeigte einen analogen Verlauf mit denjenigen der Kathepsinwirkung. Durch die normalen wie pneumonischen Lungengewebe wurde nur Chloracetyl-l-leucin fast in gleichem Grade angegriffen, während Benzoylglycin, Benzoyldiglycin, Chloracetyl-l-phenylalanin, Bromisocapronylglycin und Bromisocapronyldiglycin den beiden Lungenmazerationen widerstanden. Aus diesen Ergebnissen konnte man also kein besonderes Auftreten der Acylase- wie Halogenacylasewirkung bei der pneumonischen Lunge feststellen.

(4) Die Amylase- wie Butyrynasewirkung (Monobutyryn- und Tributyrinspaltung bei pH 7,5–9,0) der pneumonischen Lungengewebe scheinen fast im normalen Grade aufzutreten.

(5) Zuletzt seien die Analysenwerte von Wassergehalt, Gesamtstickstoff, Aschen und auch der Acetonfällung aus der Enzymlösung angegeben. Man konnte darin fast keine besonderen Abweichungen zwischen dem normalen und den pneumonischen Lungengeweben feststellen.

Literatur.

- (1) Chen, T.-T. (1939–40): Dieses Journ., **37**, 541 u. 550.
- (2) Nomura K. (1938): Hokkaido-Igaku Zasshi, **16**, 301.
- (3) Fr. von Müller (1888): Zeits. klin. Med., **13**, 149.
- (4) Jacoby, M. (1901): Zeits. physiol. Chem., **33**, 126.
- (5) Simon, O. (1901): Dtsch. Arch. klin. Med., **70**, 604.
- (6) Hayasi, T. (1921): Nihon-Naika-Gakkai Zasshi, **9**, 254.
- (7) Kubota, Y. (1934): Nyuji-Gaku Zasshi, **15**, 15.
- (8) Tsuzi, S. (1939): Jikken-Shokaihyo-Gaku, **14**, 1114.
- (9) Willstätter, R. u. Bamann, E. (1929): Zeits. physiol. Chem., **180**, 127.
- (10) Erben, F. (1903): Zeits. Heilk., **24**, 70.
- (11) Pfeifer, Th. (1906): Wien. klin. Wschr., **19**, 1249.
- (12) Joemann, G. u. Ziegler, C. (1906): Münch. med. Wschr., 2093.
- (13) Eppenstein (1906): ibid., 2192.
- (14) Hertz, R. (1908): ibid., 957.

- (15) Opie, E. L. (1905): Journ. exper. Med., 7, 316; Opie, E. L. u. Barker, B. I. (1908): ibid., 10, 645.
- (16) Lord, F. T. (1919): ibid., 30, 379.
- (17) Nye, R. N. (1922): ibid., 35, 153.
- (18) Willstätter, R., Bamann, E. u. Rhodewald, M. (1929): Zeits. physiol. Chem., 185, 267.
- (19) Kleinmann, H. u. Scharr, G. (1932): Biochem. Zeits., 251, 275.
- (20) Weiss, Ch., Kaplan, A. u. Larson, C. E. (1938): Journ. biol. Chem., 125, 247.
- (21) Husfeldt, E. (1931): Zeits. physiol. Chem., 194, 137.
- (22) Rona, P. u. Mislowitzer, E. (1923): Biochem. Zeits., 140, 517.
- (23) Utzino, S. u. Sakai, T. (1941): Journ. Biochem., 33, 457.
- (24) Utzino, S. u. Nakayama, M. (1940): Enzymologia, 8, 280.
- (25) Chen, T.-T. (1940): Dieses Journ., 38, 152.
- (26) Sieber, N. (1908): Zeits. physiol. Chem., 55, 177.
- (27) Saxl, P. (1908): Biochem. Zeits., 12, 343.
- (28) Pagenstecher, A. (1909): ibid., 18, 285.
- (29) Roger, H. u. Binet, L. (1922): C. r. Soc. Biol. Paris, 86, 203.
- (30) Schmitz, E. u. Peiser, F. (1925): Biochem. Zeits., 160, 20.
- (31) Kipp, H. A. (1920): Journ. biol. Chem., 44, 215.
- (32) Milbradt, W. (1930): Biochem. Zeits., 223, 278.
- (33) Hikosaka, R. (1927): Kyoto-Igaku Zassi, 24, 99.
- (34) Mancini, S. (1910): Biochem. Zeits., 26, 140.
- (35) Fiesinger, N. u. Marie, P. (1909): C. r. Soc. Biol. Paris, 67, 107, u. 177.
- (36) Tschernoruzki, M. (1911): Zeits. physiol. Chem., 75, 216.
- (37) Bergel, S. (1909): Münch. med. Wschr., 64.
- (38) Sieber, N. u. Dzierzowski, W. (1909): Zeits. physiol. Chem., 62, 263.
- (39) Takano, T. (1938): Manshu-Igaku Zassi, 28, 1231.

Dem Unterrichtsministerium sei an dieser Stelle bestens gedankt für die Gewährung einer Unterstützung zur Anregung wissenschaftlicher Forschung.

Prof. Dr. S. Utzino.