Über die Leberproteolyse.

III. Über die ereptischen und katheptischen Proteasenwirkungen der glykogenfreien Leber des Lecithin-Kaninchens.*)

Von

Tadayosi Sugawara.

(菅原忠義)

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Medizinischen Fakultät der Kaiserlichen Tohoku-Universität in Sendai und aus dem Utzino-Laboratorium des Instituts für die Chemische Forschung an der Kaiserlichen Kyoto-Universität in Kyoto. Direktor: Prof. Dr. S. Utzino.)

Vor kurzem hat Chen (1940)¹⁾ auf die Abschwächung der heterolytischen Kathepsinwirkung der geschädigten Kaninchenleber wie Phosphorleber hingewiesen, während die autholytische sich dabei in einer stark gesteigerten Aktivität befand. Die Ereptasewirkung der Leber trat aber fast im normalen Ausmasse auf.

Daraufhin hat Verf. (1943)²⁾ in der vorangegangenen Abhandlung darüber berichtet, dass auch die katheptische Peptonase- und Carboxypeptidase-wirkung (Benzoyldiglycinspaltung) in der Phosphorleber mehr oder weniger beeinträchtigt worden sind.

Während die katheptische Peptonhydrolyse bei Vergiftung mit Chloroform verhältnismässig gut erhalten blieb, scheint die katheptische Carboxypeptidase deutlich herabgesetzt zu werden.

Tetrachlorkohlenstoff übte fast keinen Einfluss auf diese katheptischen Enzymwirkungen aus.

In Fortführung der Untersuchungen über die Leberproteolyse unter verschiedenen Bedingungen hat Verf. hier die glykogenfreie Leber des Lecithin-Kaninchens in Betracht gezogen, da man nach der Vorschrift von Ōtomo und Nagao (1935)³⁾ einen vollständigen Glykogenschwund in der Leber durch Lecithininjektion hervorrufen kann.

*) S. Utzino und Mitarbeiter: Über die pathologische Chemie der Leberschädigung. VIII. Mitteilung.

Hier muss man zuerst die Literaturangabe betreffs der direkten Wirkung des Lecithins auf Enzymwirkung berücksichtigen. Schon seit früher sind viele Arbeiten veröffentlicht worden, die einen Einfluss von Lipoiden, wie Lecithin, Cholesterin, Seife etc. auf Enzymwirkungen erkennen lassen.

Nach den experimentellen Beobachtungen Rondonis (1932)⁴⁾ wurde katheptische Gelatinehydrolyse (Schweineleber) durch synthetisches Distearinlecithin unter Mitwirkung des Glutathions oder des Schwefelwasserstoffs deutlich verstärkt. Das Lecithin allein wirkte aber nicht als Aktivator, da es H_2S oder Glutathion nicht ersetzen konnte.

Versuche I. Beobachtungen an normalen Kaninchen

Tabelle 1.

Gehalt der normalen Kaninchenleber an Glykogen.

Kaninchen getötet durch Verblutung.

Glykogenbestimmung nach Bierry (1928, 1936)⁶⁾.

Kaninchen Nr.	Körpergewicht (kg)	Lebergewicht (g)	Glykogen (%)
1	1,95	50	1,38
2	2,0	56	1,75
3	2,2	66	1,14
4	1,95	53,5	1,68
5	1,7	43	1,85
Mittel			1,56

Die Wirkung der tryptischen Proteinase, Carboxypeptidase der Schweinepankreasdrüse oder der Dipeptidase der Dünndarmschleimhaut des Schweins wurde dagegen durch das synthetische Lecithin gehemmt, nicht aber die der Aminopolypeptidase oder der mit Enterokinase aktivierten Carboxypeptidase. Die Clupeinspaltung erfuhr keine Aktivierung, obwohl Kathepsin- H_2S mit Lecithin versetzt wurde.

Was die Lecithinwirkung auf die Leberfunktion anbelangt, so kamen viele Forscher der Matsuo'schen Schule (1934, 1935, 1936, 1917, 1918)⁵⁾ durch verschiedene Untersuchungsmethoden zu dem Schluss, dass die Leberfunktion durch die Injektion einer nicht so grossen Menge Lecithins deutlich gesteigert werden kann.

Hier sei auch besonders angeführt, dass sich nach den Angaben von Ōtomo und Nagao (1935)³⁾ das Glykogen vorübergehend aus der Leber durch die intravenöse Lecithininjektion beseitigen lässt, ohne dass dabei die Leber in ihrer Funktion neues Glykogen aufzubauen, allzu stark geschädigt wird. Daraufhin wurde diese Methode als einfaches und vorzügliches Verfahren z. B. zur Prüfung der Glykogenbildung in verschiedener Hinsicht benutzt. Unter besonderer Berücksichtigung dieser sehr interessanten Lecithinwirkung wurde hier das Verhalten der ereptischen und katheptischen Proteolyse in der glykogenfreien Leber des Lecithin-Kaninchens untersucht und die Ergebnisse sind wie folgt zusammengestellt.

Nach der Lecithininjektion scheinen die ereptischen Peptonase-Wirkungen der Kaninchenleber fast nicht beeinflusst zu werden, obwohl die Lecithinemulsion in 3%iger oder 10%iger Dosis einem Kaninchen intravenös injiziert und Versuche etwa 30 Stunden nach der Injektion angestellt wurden, um verschiedene Bilder des Glykogengehaltes in der Leber hervorzurufen (Tabelle 2 u. 7).

Tabelle 2.

Ereptische Peptonase- und Dipeptidasewirkung der normalen Kaninchenleber.

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat bei ph 7,5 (ccm 0,1 n-NaOH)													
		Pepton					Diglycin						
Zeit (st)	Tier Nr.	1	2	3	4	5	Mittel	1	2	3	4	5	Mittel
5		0,41	0,42	0,40	0,39	0,40	0,40	1,12	1,15	1,05	1,12	1,15	1,12
24		0,95	0,90	0,95	0,93	0,90	0,93	1,42	1,40	1,45	1,42	1,40	1,42
72		1,40	1,23	1,25	1,30	1,25	1,29	1,62	1,60	1,52	1,55	1,57	1,57

Ebenfalls scheinen die ereptischen Wirkungen der Leber unverändert zu bleiben, falls die Versuche auch an hungernden Kaninchen, die einen deutlichen Glykogenschwund zeigten, oder an den Lecithin-Kaninchen, die eine nachträgliche Glukoseinjektion 10 Stunden nach der Lecithininjektion erhielten, um einen Wiederaufbau des Glykogens zu bewirken, angestellt wurden (Tabelle 12). Die katheptische Carboxypeptidasewirkung auf Benzoyldiglycin äusserte sich nach der Lecithininjektion in einer sehr schwachen und schwankenden Zunahme der Acidität, die einen niedrigeren

Tabelle 3.

*Katheptische Carboxypeptidasewirkung (Benzoyldiglycinspaltung)
der normalen Kaninchenleber.*

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat bei ph 4,6 (ccm 0,1 n-NaOH)																
		Mit Cystein (a)					Ohne Cystein (b)					a - b				
Zeit (st)	Tier Nr.	1	2	3	4	Mittel	1	2	3	4	Mittel	1	2	3	4	Mittel
5		—	0	—	—		—	0	—	—		—	0	—	—	—
24		0,05	0,15	0,10	0,13	0,11	0,08	0,12	0,10	0,10	0,10	—0,03	0,03	0	0,03	0,01
48		—	—	0,22	0,24	0,23	—	—	0,20	0,20	0,20	—	—	0,02	0,04	0,03
72		0,52	0,59	0,53	0,55	0,58	0,28	0,30	0,30	0,28	0,29	0,24	0,29	0,23	0,27	0,26

oder einen ähnlichen Wert wie den der Normalleber betrug, und zeigte keine Aktivierbarkeit durch Cystein, während die der normalen und der hungernden

Tabelle

Heterolytische Kathepsinwirkung

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat							
		Mit Cystein (a)					
Substrate	Tier Nr. Zeit (st)	1	2	3	4	5	Mittel
Gelatine	5	—	0	—	—	—	
	24	0,30	0,33	0,27	0,30	0,30	0,30
	48	—	—	0,48	0,46	0,49	0,48
	72	0,90	0,85	0,78	0,84	0,87	0,85
Casein	5	0,08	0,10	—	—	—	0,09
	24	0,38	0,35	0,31	0,33	0,35	0,34
	48	—	—	0,48	0,50	0,50	0,49
	72	1,13	0,97	0,81	0,88	1,00	0,96

Tabelle 4.

Katheptische Peptonasewirkung der normalen Kaninchenleber.

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat bei ph 4,6 (ccm 0,1 n-NaOH)																			
		Mit Cystein (a)						Ohne Cystein (b)						a - b					
Zeit (st)	Tier Nr.	1	2	3	4	5	Mittel	1	2	3	4	5	Mittel	1	2	3	4	5	Mittel
5		0,33	0,30	0,25	0,27	0,30	0,29	0,20	0,23	0,17	0,21	0,20	0,20	0,13	0,07	0,08	0,06	0,10	0,09
24		1,03	0,95	0,88	0,90	0,97	0,95	0,75	0,75	0,60	0,71	0,73	0,71	0,28	0,20	0,28	0,19	0,24	0,24
72		1,38	1,27	1,25	1,28	1,35	1,31	1,05	1,04	0,85	1,01	1,05	1,00	0,33	0,23	0,40	0,27	0,30	0,31

Leber eine deutliche Aciditätszunahme nach Cysteinaktivierung aufwies (Tabelle 3, 8 u. 13).

Nach der Lecithindarreichung wurde die katheptische Peptonasewirkung in ihrer Aktivität wie auch in ihrer Cysteinaktivierbarkeit deutlich abgesch-

5.

der normalen Kaninchenleber.

bei ph 4,6 (ccm 0,1 n-NaOH)

Ohne Cystein (b)						a - b					
1	2	3	4	5	Mittel	1	2	3	4	5	Mittel
—	0	—	—	—		—	0	—	—	—	—
0,20	0,15	0,15	0,16	0,15	0,16	0,10	0,18	0,12	0,14	0,15	0,14
—	—	0,20	0,20	0,20	0,20	—	—	0,28	0,26	0,29	0,28
0,25	0,27	0,23	0,30	0,27	0,26	0,65	0,58	0,55	0,54	0,60	0,58
-0,10	0,15	—	—	—	0,13	-0,02	-0,05	—	—	—	-0,03
0,15	0,18	0,20	0,18	0,17	0,18	0,23	0,17	0,11	0,15	0,18	0,17
—	—	0,32	0,30	0,33	0,32	—	—	0,16	0,20	0,17	0,18
0,55	0,57	0,37	0,48	0,50	0,49	0,58	0,40	0,44	0,40	0,50	0,46

Versuche II. Lecithin-Kaninchen.

Dem Kaninchen injizierte man 10 ccm 3%iger oder 10%iger Lecithinemulsion intravenös pro kg Körpergewicht und tötete das Tier durch Verblutung 3, 15 oder 30 Stunden nach der Injektion. In einem letzten Beispiel erhielt das Tier eine intravenöse Glukoseinjektion (je 10 ccm 25%iger Glukoselösung pro kg Körpergewicht) 10 Stunden nach der intravenösen Lecithininjektion (je 10 ccm 10%iger Lecithinemulsion pro kg, die man dem Kaninchen nach 20stündiger Hungerzeit gab, und kam 5 Stunden nach der Glukoseinjektion zu Versuchen nach Verblutung.

Tabelle 6.

Glykogengehalt der Leber nach Lecithininjektion.

Injektionsdosis pro kg Körpergewicht	Kaninchen Nr.	Körpergewicht (kg) Anfang—Ende	Lebergewicht (g)	Glykogen (%)
10 ccm 3%iger Lecithinemulsion pro kg. Versucht 3 Stunden nach Injektion.	6	1,70 – 1,65	37,5	0,67
	7	1,75 – 1,70	41	0,74
	8	2,00 – 2,00	52	0,85
	(Mittel)			0,75
10 ccm 10%iger Lecithinemulsion pro kg. Versucht 15 Stunden nach Injektion.	12	1,80 – 1,75	40,5	0
	13	2,15 – 2,00	42	0
	14	1,87 – 1,80	42,5	0,09
	15	1,85 – 1,78	41,5	0
	16	2,20 – 2,05	51	0
	(Mittel)			0
	20	1,90 – 1,80	47	0
Versucht 30 Stunden nach Injektion.	21	1,60 – 1,55	37	0
	(Mittel)			0
10 ccm 25%iger Glukoselösung pro kg 10 Stunden nach Lecithininjektion (10 ccm 10%iger Lecithinemulsion pro kg). Versucht 5 Stunden nach Glukoseinjektion.	17	1,65 – 1,60	35	1,01
	18	1,75 – 1,75	38	1,34
	19	1,90 – 1,80	47,5	1,15
	(Mittel)			1,17

wächst und sie scheint mit der Zeitfrist nach der Injektion oder besser bei der nachträglichen Glukoseinjektion etwas wiederhergestellt zu werden (Tabelle 4 u. 9).

In der Leber des hungernden Kaninchens war die Abschwächung nicht so auffallend (Tabelle 14).

Tabelle 7.

*Ereptische Peptonase- und Dipeptidasewirkung der Kaninchenleber
nach Lecithininjektion.*

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat bei ph 7,5 (ccm 0,1 n-NaOH)													
Injektionsdosis pro kg Körpergewicht		Pepton						Diglycin					
10 ccm 3%iger Lecithinemulsion pro kg. Versucht 3 Stunden nach Injektion.	<div>Tier Nr. Zeit (st)</div>	6	7	8	Mittel	6	7	8	Mittel				
	5	0,13	0,35	0,40	0,29	1,20	0,95	1,11	1,09				
	24	0,45	0,41	0,67	0,50	1,38	1,17	1,35	1,30				
	72	0,88	1,12	1,07	1,02	1,60	1,48	1,46	1,51				
10 ccm 10%iger Lecithinemulsion pro kg. Versucht 15 Stunden nach Injektion.	<div>Tier Nr. Zeit (st)</div>	12	13	14	15	16	Mittel	12	13	14	15	16	Mittel
	5	0,42	0,41	0,36	0,42	0,40	0,40	0,15	1,11	1,05	1,22	1,13	1,13
	24	1,02	0,88	0,90	0,92	1,06	0,96	1,45	1,23	1,40	1,40	1,25	1,35
	72	1,11	1,30	1,23	1,18	1,23	1,21	1,51	1,55	1,60	1,60	1,43	1,54
Versucht 30 Stunden nach Injektion.	<div>Tier Nr. Zeit (st)</div>	20		21		Mittel	20		21		Mittel		
	5	0,47		0,48		0,48	1,30		1,30		1,30		
	24	0,87		0,87		0,87	1,42		1,37		1,40		
	72	1,14		1,21		1,18	1,55		1,48		1,52		
10 ccm 25%iger Glukoselösung pro kg 10 Stunden nach Lecithininjektion (10 ccm 10%iger Lecithinemulsion pro kg). Versucht 5 Stunden nach Glukoseinjek- tion.	<div>Tier Nr. Zeit (st)</div>	17	18	19	Mittel	17	18	19	Mittel				
	5	0,44	0,43	0,45	0,44	1,24	1,15	1,15	1,18				
	24	1,02	0,95	0,97	0,98	1,50	1,40	1,45	1,45				
	72	1,35	1,35	1,37	1,36	1,57	1,52	1,60	1,56				

Tabelle

Katbeptische Carboxypeptidasewirkung der Kaninchenleber

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat							
Injektionsdosis pro kg Körpergewicht	Mit Cystein (a)						
10 ccm 3%iger Lecithinemulsion pro kg. Versucht 3 Stunden nach Injektion.	<div>Tier Nr. Zeit (st)</div>	6	7	8	Mittel		
	24	0,04	0,17	—0,11	0,04		
	48	0,20	0,28	—0,03	0,15		
	72	0,16	0,32	—0,05	0,14		
10 ccm 10%iger Lecithinemulsion pro kg. Versucht 15 Stunden nach Injektion. Versucht 30 Stunden nach Injektion.	<div>Tier Nr. Zeit (st)</div>	12	13	14	15	16	Mittel
	24	—0,05	—0,01	—0,02	0	0,02	—0,03
	48	0	0,09	0,08	0,07	0,07	0,06
	72	0,05	0,20	0,15	0,12	0,10	0,12
	<div>Tier Nr. Zeit (st)</div>	20	21		Mittel		
	24	—0,05	0		0		
	48	0,15	0,10		0,13		
	72	0,17	0,15		0,16		
	10 ccm 25%iger Glukoselösung pro kg 10 Stunden nach Lecithininjektion (10 ccm 10%iger Lecithinemulsion pro kg). Versucht 5 Stunden nach Glukoseinjektion.	<div>Tier Nr. Zeit (st)</div>	17	18	19	Mittel	
		24	0	0	0,05	0,02	
		48	0,05	0,02	0,08	0,05	
		72	0,05	0,06	0,10	0,07	

8.

Benzoyl diglycinspaltung) nach Lecithininjektion.

bei ph 4,6 (ccm 0,1 n-NaOH)

Ohne Cystein (b)						a - b					
6	7	8	Mittel			6	7	8	Mittel		
0,15	0,07	0,06	0,09			-0,11	0,10	-0,17	0,06		
0,20	0,21	0,10	0,17			0	0,07	-0,13	-0,02		
0,25	0,23	0,13	0,20			-0,09	0,09	-0,18	-0,06		
12	13	14	15	16	Mittel	12	13	14	15	16	Mittel
0,02	0,05	0,08	0,08	0	0,04	-0,07	-0,06	-0,10	-0,08	0,02	-0,06
0,15	0,07	0,13	0,15	0,10	0,12	-0,15	0,02	-0,05	-0,08	-0,03	-0,06
0,20	0,10	0,15	0,20	0,13	0,15	-0,15	0,10	0	-0,08	-0,03	-0,03
20			21			Mittel			20		
0,06			0,05			0,06			-0,11		
0,23			0,20			0,21			-0,08		
0,28			0,33			0,31			-0,11		
17	18	19	Mittel			17	18	19	Mittel		
0,02	0	0,02	0,01			-0,02	0	0,03	0		
0,05	0,10	0,10	0,08			0	-0,08	-0,02	-0,03		
0,07	0,10	0,12	0,10			-0,02	-0,04	-0,02	-0,03		

Tabelle
Kathepische Peptonasewirkung der

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat							
Injektionsdosis pro kg Körpergewicht	Mit Cystein (a)						
10 ccm 3 %iger Lecithinemulsion pro kg. Versucht 3 Stunden nach Injektion.	Tier Nr. Zeit (st)	6	7	8	Mittel		
	5	0,10	0,13	0,16	0,13		
	24	0,55	0,41	0,53	0,50		
	72	1,05	0,97	0,81	0,94		
10 ccm 10%iger Lecithinemulsion pro kg. Versucht 15 Stunden nach Injektion. Versucht 30 Stunden nach Injektion.	Tier Nr. Zeit (st)	12	13	14	15	16	Mittel
	5	0,13	0,30	0,20	0,23	0,18	0,21
	24	0,65	0,72	0,80	0,70	0,65	0,70
	72	1,18	1,10	0,95	0,95	0,94	1,02
	Tier Nr. Zeit (st)	20		21		Mittel	
	5	0,17		0,17		0,17	
	24	0,74		0,76		0,75	
	72	1,00		1,05		1,03	
	Tier Nr. Zeit (st)	17	18	19	Mittel		
	5	0,25	0,16	0,23	0,21		
	24	0,75	0,63	0,80	0,73		
	72	1,15	1,05	1,10	1,10		

9.

Kaninchenleber nach Lecithininjektion.

bei pH 4,6 (ccm 0,1 n-NaOH)

Ohne Cystein (b)						a - b					
6	7	8	Mittel			6	7	8	Mittel		
0,12	0,10	0,11	0,11			-0,02	0,03	0,02	0,01		
0,37	0,23	0,33	0,31			0,18	0,18	0,20	0,19		
0,85	0,88	0,68	0,80			0,20	0,09	0,13	0,14		
12	13	14	15	16	Mittel	12	13	14	15	16	Mittel
0,18	0,20	0,17	0,20	0,15	0,18	-0,05	0,10	0,03	0,03	0,03	0,03
0,73	0,67	0,53	0,60	0,53	0,61	-0,08	0,05	0,27	0,10	0,12	0,09
1,03	0,90	0,78	0,83	0,70	0,85	0,15	0,20	0,17	0,12	0,25	0,18
20			21			Mittel			20		
0,12			0,20			0,16			0,05		
0,44			0,60			0,52			0,30		
0,70			0,92			0,81			0,30		
0,12			0,20			0,16			-0,03		
0,23			0,23			0,23			0,01		
17	18	19	Mittel			17	18	19	Mittel		
0,18	0,18	0,20	0,19			0,07	-0,02	0,03	0,03		
0,55	0,60	0,63	0,59			0,20	0,03	0,23	0,15		
0,80	0,85	0,86	0,84			0,35	0,20	0,24	0,26		

Tabelle
Heterolytische Kathepsinwirkung der

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat

Injektionsdosis pro kg Körpergewicht	Sub- strate	Mit Cystein (a)							
10 ccm 3%iger Lecithin- emulsion pro kg. Versucht 3 Stunden nach Injektion.	Gelatine	<div>Tier Nr. Zeit (st)</div>	6	7	8	Mittel			
		24	0,17	0,25	0,09	0,17			
		48	0,28	0,38	0,20	0,29			
	Casein	72	0,59	0,55	0,31	0,48			
		24	0,10	0,19	0,14	0,14			
		48	0,26	0,35	0,30	0,30			
	72	0,50	0,57	0,37	0,48				
	10 ccm 10%iger Lecithin- emulsion pro kg. Versucht 15 Stunden nach Injektion.	Gelatine	<div>Tier Nr. Zeit (st)</div>	12	13	14	15	16	Mittel
			24	0,28	0,25	0,32	0,20	0,28	0,27
48			0,37	0,55	0,61	0,49	0,50	0,50	
Casein		72	0,60	0,73	0,81	0,61	0,67	0,68	
		24	0,25	0,30	0,40	0,25	0,28	0,30	
		48	0,50	0,60	0,63	0,57	0,55	0,57	
72		0,80	0,88	0,88	0,77	0,85	0,84		
Versucht 30 Stunden nach Injektion.		Gelatine	<div>Tier Nr. Zeit (st)</div>	20	21	Mittel			
			24	0,34	0,35	0,35			
			48	0,70	0,65	0,68			
		Casein	72	0,92	0,80	0,86			
			24	0,50	0,48	0,49			
			48	1,00	0,96	0,98			
		72	1,30	1,33	1,32				
	10 ccm 25%iger Glukoselö- sung pro kg 10 Stunden nach Lecithininjektion (10 ccm 10%iger Leci- thinemulsion pro kg). Versucht 5 Stunden nach Glukoseinjektion.	Gelatine	<div>Tier Nr. Zeit (st)</div>	17	18	19	Mittel		
			24	0,23	0,26	0,23	0,24		
48			0,58	0,52	0,60	0,57			
Casein		72	0,78	0,69	0,80	0,76			
		24	0,27	0,32	0,25	0,28			
		48	0,74	0,82	0,73	0,76			
72		0,92	1,02	0,95	0,96				

10.

Kaninchenleber nach Lecithininjektion.

bei pH 4,6 (ccm 0,1 n-NaOH)

Ohne Cystein (b)				a - b			
6	7	8	Mittel	6	7	8	Mittel
0,02	0,04	0,06	0,04	0,15	0,21	0,03	0,13
0,13	0,12	0,08	0,11	0,15	0,26	0,12	0,18
0,13	0,10	0,11	0,11	0,46	0,45	0,20	0,37
0,11	0,20	0,13	0,15	-0,01	-0,01	0,01	0
0,28	0,35	0,20	0,28	-0,02	0	0,10	0,02
0,51	0,38	0,28	0,39	-0,01	0,19	0,09	0,09

12	13	14	15	16	Mittel	12	13	14	15	16	Mittel
0,07	0,12	0,13	0,05	0,08	0,09	0,21	0,13	0,19	0,15	0,20	0,17
0,07	0,14	0,18	0,10	0,12	0,12	0,30	0,41	0,43	0,39	0,38	0,38
0,12	0,17	0,20	0,15	0,15	0,16	0,48	0,56	0,61	0,46	0,52	0,53
0,09	0,15	0,23	0,05	0,15	0,13	0,16	0,15	0,17	0,20	0,13	0,16
0,27	0,27	0,32	0,16	0,30	0,26	0,23	0,33	0,31	0,41	0,25	0,31
0,30	0,27	0,42	0,25	0,35	0,32	0,50	0,61	0,45	0,52	0,50	0,52

20	21	Mittel	20	21	Mittel
0,13	0,31	0,22	0,21	0,04	0,13
0,23	0,38	0,31	0,47	0,27	0,37
0,25	0,41	0,33	0,67	0,39	0,53
0,23	0,36	0,30	0,27	0,12	0,20
0,63	0,81	0,72	0,37	0,15	0,26
0,71	1,06	0,89	0,59	0,27	0,43

17	18	19	Mittel	17	18	19	Mittel
0,22	0,10	0,20	0,17	0,01	0,16	0,03	0,07
0,23	0,10	0,25	0,19	0,35	0,42	0,35	0,37
0,27	0,22	0,27	0,25	0,51	0,47	0,53	0,50
0,18	0,13	0,22	0,18	0,09	0,19	0,03	0,10
0,46	0,32	0,45	0,41	0,28	0,50	0,28	0,35
0,55	0,42	0,57	0,51	0,37	0,60	0,38	0,45

Versuche III. Hungerkaninchen.

Das Kaninchen wurde durch Verblutung nach 35stündiger Hungerzeit getötet.

Tabelle 11.

Glykogengehalt der Leber des 35 Stunden lang hungernden Kaninchens.

Kaninchen Nr.	Körpergewicht (kg) Anfang – Ende	Lebergewicht (g)	Glykogen (%)
9	1,85 – 1,80	43	0,82
10	1,70 – 1,66	42,3	0,75
11	1,80 – 1,75	45	1,15
Mittel			0,91

Tabelle 12.

Ereptische Peptonase- und Dipeptidasewirkung der Leber des 35 Stunden lang hungernden Kaninchens.

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat bei pH 7,5 (ccm 0,1 n-NaOH)								
Substrate	Pepton				Diglycin			
Tier Nr. Zeit (st)	9	10	11	Mittel	9	10	11	Mittel
5	0,55	0,47	0,50	0,51	1,20	1,35	1,20	1,25
24	0,98	0,95	0,95	0,96	1,58	1,63	1,40	1,53
72	1,28	1,32	1,30	1,30	1,62	1,65	1,60	1,62

Was die katheptische Proteinasewirkung auf Gelatine und Casein, Kathepsinwirkung im engeren Sinne, anbelangt, so wurden ihre Aktivität wie ihre Cysteinaktivierbarkeit 3 Stunden nach der Lecithininjektion (3%) deutlich herabgesetzt (Tabelle 5 u. 10).

Hier sei besonders erwähnt, dass die Caseinhydrolyse der Leber des Lecithinkaninchens im Gegensatz zu der Normalleber nicht mehr durch Cysteinzusatz verstärkt wurde. Schon 15 Stunden nach der Injektion einer 10%igen Lecithinemulsion scheint die abgeschwächte Aktivierbarkeit wiederhergestellt zu werden, obwohl die Aktivität noch etwas niedriger als die der

Normalleber lag. Hier zeigte die Aktivierbarkeit ungefähr einen Normalwert.

Bemerkenswert ist, dass die Gelatinehydrolyse 30 Stunden nach der Lecithininjektion fast einen Normalwert betrug, die Caseinhydrolyse jedoch sogar einen höheren Wert in ihrer Aktivität wie auch in ihrer Cysteinaktivierbarkeit als der Normalwert (Tabelle 10). Man muss hier also an eine gesteigerte Proteinolyse der Lecithinleber in einer gewissen Periode nach der Injektion denken.

Die Frage, ob man unter dieser gesteigerten Proteinolyse ein spezifisches

Tabelle 13.

Katheptische Carboxypeptidasewirkung (Benzoyldiglycin) der Leber des 35 Stunden lang hungernden Kaninchens.

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat bei ph 4,6 (ccm 0,1 n-NaOH)													
		Mit Cystein (a)				Ohne Cystein (b)				a - b			
Zeit (st)	Tier Nr.	9	10	11	Mittel	9	10	11	Mittel	9	10	11	Mittel
24		0,17	0,13	0,15	0,15	0,11	0,10	0,10	0,10	0,06	0,03	0,05	0,04
48		0,24	0,25	0,25	0,25	0,18	0,20	0,20	0,19	0,06	0,05	0,05	0,05
72		0,48	0,55	0,50	0,51	0,28	0,30	0,30	0,29	0,20	0,25	0,20	0,22

Tabelle 14.

Katheptische Peptonasewirkung der Leber des 35 Stunden lang hungernden Kaninchens.

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat bei ph 4,6 (ccm 0,1 n-NaOH)													
		Mit Cystein (a)				Ohne Cystein (b)				a - b			
Zeit (st)	Tier Nr.	9	10	11	Mittel	9	10	11	Mittel	9	10	11	Mittel
	5	0,25	0,30	0,30	0,28	0,20	0,25	0,23	0,23	0,05	0,05	0,07	0,06
	24	0,70	0,95	0,90	0,85	0,55	0,70	0,60	0,62	0,15	0,25	0,30	0,23
	72	1,08	1,20	1,15	1,14	0,85	1,00	0,88	0,91	0,23	0,20	0,27	0,25

Zeichen des Zuckeraufbaus aus Aminosäuren verstehen oder sie aus anderen Gründen wie aus allgemeiner Stoffwechselsteigerung im kompensierenden Sinne erklären sollte, bleibt offen.

Hier sei auch angeführt, dass bei Hungerkaninchen die heterolytische Proteinolyse besonders die Caseinhydrolyse in verstärktem Sinne auftrat, wie oben beschrieben (Tabelle 15).

An Kaninchen, die eine nachträgliche Glukosedarreicherung nach der Lecithininjektion erhielten und einen deutlichen Wiederaufbau des Glykogens in der Leber zeigten, erwiesen sich die Aktivität und Aktivierbarkeit der heterolytischen Proteolyse fast als normal. Diese Tatsache kann wohl für die Wiederherstellung der Gewebeproteinolyse in diesem Zustande sprechen.

Tabelle 15.

Heterolytische Kathepsinwirkung der Leber des 35 Stunden lang hungernden Kaninchens.

Aciditätszunahme in 4 ccm Digestat bei ph 4,6 (ccm 0,1 n-NaOH)													
Substrate	Tier Nr. Zeit (st)	Mit Cystein (a)				Ohne Cystein(b)				a - b			
		9	10	11	Mittel	9	10	11	Mittel	9	10	11	Mittel
Gelatine	24	0,30	0,35	0,30	0,32	0,18	0,24	0,20	0,21	0,12	0,11	0,10	0,11
	48	0,53	0,70	0,65	0,63	0,20	0,30	0,23	0,24	0,33	0,40	0,42	0,38
	72	0,78	0,94	0,85	0,86	0,25	0,34	0,30	0,30	0,53	0,60	0,55	0,56
Casein	24	0,53	0,58	0,55	0,55	0,35	0,30	0,27	0,31	0,18	0,28	0,28	0,25
	48	0,73	0,98	0,87	0,86	0,55	0,64	0,65	0,61	0,18	0,34	0,22	0,25
	72	1,03	1,37	1,35	1,25	0,60	0,88	0,90	0,79	0,43	0,49	0,45	0,47

Zusammenfassung.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Verhalten der ereptischen und katheptischen Proteolyse in der glykogenfreien Leber des Lecithin-Kaninchens studiert, das nach der Vorschrift von Ōtomo und Nagao (1935)³⁾ behandelt wurde.

(1) Nach der Lecithininjektion blieb die ereptische Pepton- und Diglycinspaltung fast unverändert.

(2) Nach der Lecithininjektion scheint die katheptische Proteolyse wie Carboxypeptidase (Benzoyldiglycinspaltung), Peptonase und Proteinase, besonders die Aktivität und Aktivierbarkeit der Proteinolyse in Anfangs-

stadium des Glykogenschwundes, mehr oder weniger herabgesetzt zu werden. In einem späteren Stadium nach der Injektion wurde jedoch eine verstärkte Caseinhydrolyse beobachtet, wie bei Hungerkaninchen.

In der Leber des Lecithin-Kaninchens, das einen deutlichen Wiederaufbau des Glykogens nach nachträglicher Glukoseinjektion zeigte, scheinen Aktivität und Aktivierbarkeit der katheptischen Proteasen wiederhergestellt zu werden.

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

Prof. Dr. S. Utzino.

Experimenteller Teil.

Dem Versuchskaninchen injizierte man je 10 ccm einer 3%igen Lecithinlösung pro kg Körpergewicht intravenös und tötete das Tier 3 Stunden nach der Injektion durch Verblutung.

Die Menge des Leberglykogens dieses Kaninchens zeigte deutliche Abnahme, wie Tabelle 6 angab. In den anderen Versuchen erhielt das Tier eine intravenöse Lecithininjektion in einer Dosis von je 10 ccm einer 10%igen Lecithinlösung pro kg Körpergewicht und kam 15 oder 30 Stunden nach der Injektion zu Versuchen. In diesem ersteren Fall hungerte das Tier 20 Stunden lang vor der Injektion und danach wiederum 15 Stunden lang. Bei diesen beiden Kaninchen wurde vollständiger Glykogenschwund in der Leber festgestellt (Tabelle 6).

Zuletzt wurden solche Kaninchen untersucht, die eine intravenöse Glukoseinjektion in einer Dosis von je 10 ccm einer 25%igen Lösung pro kg Körpergewicht nach der Lecithininjektion (je 10 ccm 10%iger Emulsion pro kg Körpergewicht) bekamen, die nach 20stündiger Hungerzeit geschah, und dann 5 Stunden nach der Glukoseinjektion getötet wurden. Die Leber dieses mit Glukose injizierten Kaninchens zeigte einen deutlichen Wiederaufbau des Glykogens (Tabelle 6).

Zur Kontrolle kamen Kaninchen nach 35stündiger Hungerzeit zu Versuchen (Tabelle 11—15). Möglichst schnell nach dem Tode des Tiers wurde die Glykogenbestimmung nach Bierry (1928 u. 1936)⁶⁾ ausgeführt.

Als Enzym verwendete man Lebermazeration, die man unter guter Zermahlung des Leberbreis mit der dreifachen Volummenge Glycerin-Wasser (1 : 1) bereitete und durch Gaze kolierte. Die kolierte Mazeration wurde unter Toluol im Eisschrank aufbewahrt. Zur Aktivierung behandelte man je 2 ccm Mazeration mit je 2 ccm 0,05 Mol Cystein-HCl-Lösung (neutralisiert) bei 37°C 30 Minuten lang; als Kontrolle wurden 2 ccm Wasser ohne Cystein benutzt.

Zu 4 ccm dieser Enzym-Cystein-Lösung (oder Enzym-Wasserlösung) wurden 6 ccm Phosphatpuffer und 10 ccm 4%iger oder 0,05 Mol-Substratpufferlösung hinzugefügt und nach Einstellung bei pH 4,6 für katheptische Enzyme oder bei pH 7,5 für ereptische Enzyme unter Toluol bei 37°C digeriert. Die synthetischen Peptide wurden in Mol-Konzentration geprüft. Die schwerlöslichen Acylderivate wurden

als Natriumsalz in Lösung gebracht.

Zur Kontrolle wurden Enzym-Pufferlösungen ohne Substrat unter den sonst gleichen Bedingungen digeriert.

Nach einer gewissen Zeitfrist pipettierte man 4 ccm Digestat ab und ermittelte die Acidität nach der Sørensen schen Formoltitration mit 0,1 n-NaOH. Die Kontrollwerte wurden von denjenigen des Hauptversuchs abgezogen und diese korrigierte Aciditätszunahme wurde in der Tabelle angegeben.

Versuche I (Beobachtungen an normalen Kaninchen): Tabellen 1.—5. Versuche II (Versuche mit Lecithin-Kaninchen): Tabellen 6.—10. Versuche III (Versuche mit Hungerkaninchen): Tabellen 11.—15.

Literatur.

- (1) Chen, T.-T., Dieses Journ., 1940, **37**, 541 u. 550; ibidem, 1940, **38**, 152.
- (2) Sugawara, T., Dieses Journ. 1945, **48**, 213 u. 223.
- (3) Ōtomo, Y. u. Nagao, S., Dieses Journ., 1935, **25**, 63.
- (4) Rondoni, P., Zeits. f. physiol. Chem., 1932, **207**, 103.
- (5) Tokida, Sh., Jikken Shōkakibyō Gaku, 1934, **9**, 788; Matsuoka, Y., ibidem, 1935 **10**, 977 u. 986; Fujiwara, N., ibidem, 1936, **11**, 1179; Kai, J., ibidem, 1937, **12**, 537 u. 558; Iwata, T., ibidem 1937, **12**, 1409; Sakurai, S., ibidem, 1938, **13**, 638 u. 702; Yosida M., Tokyo Igakkai Zassi, 1937, **51**, 193.
- (6) Bierry, H. u. Goiran, L., Compt r. Soc. biol., 1928, **99**, 253; Bierry, H., Gouzon B. u. Magran, C., ibidem, 1936, **121**, 614 u. 616; ibidem, 1936, **122**, 4.