

Über den Einfluss einiger Gallensäuren auf die Autodigestion der Leber.

Von Dr. med. T. Hosokawa.

*Aus dem medizinisch-chemischen Laboratorium Okayama.
(Vorstand: Prof. Dr. med. T. Shimizu.)*

Eingegangen am 18. Februar 1926.

Im Jahre 1900 hat M. Jacoby im Anschluss an Untersuchungen über Leberfermente die experimentell begründete Anschauung ausgesprochen, dass besonders die autolytische Fermentwirkung der Leber, wie sie Salkowski entdeckt hat, eine normale Funktion der Leberzellen darstellt. Auch aus Versuchen über das Verhalten der Leber bei Phosphorvergiftung¹⁾ wurden weitere Stützen für diese Annahme gewonnen. Einen derartigen Befund wird man so denken dürfen, dass sich bei der Phosphorvergiftung ein Vorgang in der Leber vollzieht, welcher mit dem bei der Autolyse nachgewiesenen identisch ist oder ihm mindestens sehr nahe steht. Darauf hat Salkowski bereits in Hinsicht auf die Autodigestion bei der acuten gelben Leberatrophie aufmerksam gemacht. Unter der Annahme dass die autolytischen Fermente der postmortalen Organe und Gewebe auf den Stoffwechsel des Eiweisses im Tierorganismus grosse Bedeutung haben, wurden viele Versuche über den Einfluss der verschiedenen Chemikalien und Gifte auf die Autodigestion der Leber angestellt. K. Morinaka²⁾ hat darauf aufmerksam gemacht, dass die Leberautolyse durch Chlorcalcium stark befördert und durch Quecksilbercyanid in kleinen Dosen befördert, in grossen jedoch gehemmt wird. P. Saxl³⁾ wies eine Steigerung der Leberautolyse bei postmortalem Zusatz von gelbem phosphor nach und durch den Versuch von E. Laquer⁴⁾ über den Einfluss des Chinins auf die Leberautolyse erwies sich, dass das Chinin wie Phosphor die Leberautodigestion befördert. Verschiedene Säuren wie Salzsäure und Milchsäure befördern die Autolyse, aber es besteht für jede Säure ein Optimum, über welches hinaus weiterer Säurezusatz schädlich wirkt⁵⁾. Die Frage, ob der Eiweisstoffwechsel im Tierorganismus und der postmortale autolytische Vorgang durch dasselbe Ferment herbeigeführt wird, ist unter den physiologen noch nicht ganz entschieden, aber es ist allgemein anerkannt, dass zwischen beiden ein inniger Zusammenhang besteht.

Dass die Gallensäuren in der Leber entstehen⁶⁾, und nach Ausschaltung der Leber keine Gallensäuren mehr nachweisbar sind, ist allgemein anerkannt. Nach E. H. Goodmann⁷⁾ wird die Bildung der Gallensäuren in Lebergalle durch Fütterung von Fleisch, Eieralbumin ad Cholsäure stark vermehrt. Neulich hat T. Brugisch⁸⁾ beim Versuch am Hund die merkwürdige Tatsache gefunden, dass die Gallensäuren; oberflächenaktive Substanz in der Lebergalle durch die Injektion von Atophan stark vermehrt wird. Pathologisch setzt⁹⁾ sich die Bildung der Gallensäuren in der Leber bei Cholelithiasis und icterus neonatorum stark herab.

Die Gallensäurebildung in der Leber wird nämlich unter verschiedenen Bedingungen vermehrt oder herabgesetzt. Daher ist es physiologisch und klinisch von grosser Bedeutung, den Einfluss der Gallensäuren auf den autolytischen Vorgang zu studieren.

Ich habe erst den Gesamtstickstoff des ungeinnbaren Eiweisses in dem Autolysate, welches man hauptsächlich zur Ermittlung der autolytischen Kraft gebraucht hat, und

weiter den Monoaminostickstoff, Diaminostickstoff, Purinbasenstickstoff Albumosenstickstoff und Ammoniakstickstoff bestimmt, um genaueren Einblick in das Wesen des durch Gallensäuren beeinflussten autolytischen Vorganges zu bringen.

Methodik der Autolyse.

Die aseptisch isolierte frische Ochsenleber wurde von ihrer Hülle befreit und durch Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung möglichst vom Blut gereinigt. Die so behandelte Leber wurde mit der Hackmaschine fein zerkleinert. In je 4 breithalsige sterilisierte Glasstöpfselflaschen von 1 Liter Inhalt habe ich unter aseptischen Kautelen folgende Leberbreimischungen gebracht.

	Leberbrei in g.	Toluol in ccm.	Chloroformwasser in ccm.	2.5% Natrium cholatlösung in ccm.
Sofort gekocht	200.0	0	200.0	0
Kontroll	200.0	10.0	200.0	0
A	200.0	10.0	180.0	20.0
B	200.0	10.0	160.0	40.0
C	200.0	10.0	120.0	80.0

Die Mischungen wurden gut durchgeschüttelt und im Thermostaten bei 38° unter täglich 3 maligen Umschüttelungen gehalten. Nach 72 stündiger Digestion habe ich den Inhalt der Flasche in eine Pfanne ausgegossen und Zusatz von 20 g. Monokaliumphosphat 5 Minuten zum Sieden erhitzt. Nach dem völligen Erkalten wurde das Ganze samt den ausgefallenen Niederschlägen in einen Messcylinder mit Wasser bis auf 1 Liter aufgefüllt und in ein trockenes Gefäß filtriert. Von dem Filtrat habe ich den Gesamtstickstoff, Monoaminosäurestickstoff, Albumosenstickstoff, Purinbasenstickstoff und Am-

moniakstickstoff bestimmt und zur Erhöhung der Genauigkeit alle Bestimmungen doppelt ausgeführt. Die Differenz zwischen dem Gesamtstickstoff und der Summe von Monoaminosäurenstickstoff, Albumosenstickstoff, Purinbasenstickstoff, und Ammoniakstickstoff ergibt den Stickstoff der Diaminosäuren und des Peptons. Ich habe den Gesamtstickstoff nach der Kjeldahlsche Methode bestimmt. Zu diesem Zwecke wurden je 2 Proben von je 20 ccm. kjeldahlisiert. Das Mittel aus beiden Bestimmungen wurde auf 1 kg. Leber umgerechnet.

Bestimmung des Monoaminosäurenstickstoffes.

50 ccm. Lösung wurden mit 20 ccm. konzentrierter Schwefelsäure angesäuert und darauf eine 20%iger Phosphorwolframsäurelösung (Merk) zugesetzt, bis kein Niederschlag mehr entstand. Nach 12 Stunden wurde der Niederschlag filtriert und der Niederschlag mit 5%iger Schwefelsäurelösung gut gewaschen. Das Filtrat samt Waschwasser wurde in einem Messkolben auf genau 250 ccm. aufgefüllt. In 50 ccm. dieser Lösung wurde der Monoaminosäurenstickstoff nach Kjeldahl bestimmt.

Bestimmung der Albumosenstickstoffes.

100 ccm. ursprünglicher Lösung wurden mit 2 ccm. 1%iger Schwefelsäure versetzt und mit gut gereinigtem ammoniakfreien pulverisierten $ZnSO_4$ gesättigt. Nach 48 Stunden wurde es vom Niederschlag abfiltriert und der Niederschlag wurde mit gesättigter $ZnSO_4$ lösung 3 bis 4 mal gewaschen und im Schwefelsäureexsiccator getrocknet. Der Albumosenstickstoff des Niederschlages samt dem Filtrierpapier wurde nach Kjeldahl bestimmt und auf 1 kg. Leber berechnet.

Bestimmung des Purinbasenstickstoffes.

200 ccm. ursprünglicher Lösung wurden mit Ammoniak stark alkalisch gemacht und darauf mit 100 ccm. von 5%iger Silbernitratlösung versetzt. Nach 24 Stunden wurde der entstandene Niederschlag im Dunkeln abfiltriert und mit 1%iger Ammoniakwasser gut gewaschen, bis das Waschwasser keine Salpetersäure mehr enthielt und dann mit destilliertem Wasser gewaschen bis das Waschwasser kein Ammoniak mehr enthielt. Der Niederschlag wurde einer genauen Untersuchung in einem Kjeldahlkolben mit der Spritzflasche unterworfen und zur völligen Vertreibung des etwa vorhandenen Ammoniaks wurde der Kolben unter Zusatz kleiner Mengen von Magnesia usta erwärmt und dann erst zur Bestimmung des Purinbasenstickstoffes kjeldahlisiert und auf 1 kg. Leber berechnet.

Bestimmung des Ammoniakstickstoffes.

In 20 ccm. ursprünglicher Lösung wurde der Ammoniakstickstoff nach Folinscher Methode bestimmt und auch wieder auf 1 kg. Leber berechnet.

Cholsäure

Versuch (No. I)	Cholsäure- menge in g.	Gesamt N in g.	Monoamino- säuren N in g.		Albumosen N in g.		Purinbasen N in g.		Ammoniak N in g.		Diaminosäuren N in g.	
	pro kg. Leber	pro kg. Leber	pro kg. Leber	%	pro kg. Leber	%	pro kg. Leber	%	pro kg. Leber	%	pro kg. Leber	%
K'	0	3.375	1.995	59.067	0.5110	15.829	0.3220	9.533	0.2135	4.148	0.337	12.123
K	0	7.315	4.970	67.942	0.2800	3.820	0.5250	7.177	0.5950	8.113	0.945	12.947
A	2.5	6.7375	4.550	67.532	0.2835	4.200	0.5180	7.703	0.5250	7.792	0.861	12.773
B	5.0	6.5205	4.375	67.024	0.2999	4.600	0.5152	8.000	0.5075	7.783	0.8229	12.593
C	10.0	6.3000	4.200	66.660	0.3381	5.370	0.5075	8.050	0.4865	7.698	0.7679	12.216
Versuch (No. II)												
K'	0	3.0975	1.785	57.62	0.476	15.360	0.3360	10.810	0.1400	4.520	0.3605	11.960
K	0	6.8600	4.550	66.32	0.378	5.309	0.5565	8.112	0.5250	7.780	0.8050	12.749
A	2.5	6.5450	4.305	65.77	0.3815	5.820	0.5355	8.180	0.4900	7.480	0.8330	12.750
B	5.0	6.3175	4.165	65.92	0.3885	6.140	0.5145	8.220	0.4725	7.480	0.777	12.240
C	10.0	6.0550	3.976	65.66	0.4025	6.660	0.5075	8.380	0.4480	7.390	0.721	11.930

Kontrolle K'. sofort gekocht K. ohne Gallensäuren

Desoxycholsäure

Versuch (No. I)	Desoxy- cholsäure- menge in g.	Gesamt N in g.	Monoamino- säuren N in g.		Albumosen N in g.		Purinbasen N in g.		Ammoniak N in g.		Diaminosäuren N in g.	
	pro kg. Leber	pro kg. Leber	pro kg. Leber	%	pro kg. Leber	%	pro kg. Leber	%	pro kg. Leber	%	pro kg. Leber	%
K'	0	3.1955	1.785	55.81	0.4515	14.12	0.3185	9.96	0.7500	5.475	0.4655	14.645
K	0	6.4225	4.354	67.79	0.3010	4.68	0.40425	6.29	0.5775	8.990	0.7858	12.250
A	2.5	5.915	3.990	67.05	0.3220	5.41	0.3850	6.50	0.5285	8.910	0.6895	12.130
B	5.0	5.530	3.682	66.58	0.3430	5.73	0.3815	6.89	0.4900	8.860	0.6335	11.940
C	10.0	5.1975	3.395	65.31	0.3885	7.47	0.3475	7.27	0.4550	8.750	0.5845	11.200
Versuch (No. II)												
K'	0	2.7150	1.540	66.77	0.4760	17.54	0.20825	7.67	0.1750	6.45	0.31325	11.57
K	0	6.7375	4.410	65.45	0.3185	4.72	0.45850	6.67	0.6300	9.35	0.92750	13.80
A	2.5	6.440	4.200	65.21	0.3465	5.38	0.43225	6.71	0.5775	8.97	0.8838	13.73
B	5.0	6.1425	3.990	64.95	0.3500	5.69	0.42700	7.00	0.5425	8.33	0.8330	13.53
C	10.0	5.2500	3.360	64.00	0.3710	7.00	0.39550	7.53	0.4375	8.33	0.6860	13.14

Kontrolle K'. sofort gekocht K. ohne Gallensäuren

Essigcholeinsäure

Versuch (No. I)	Essigcholeinsäure- menge in g.	Gesamt N		Monoamino- säuren N		Albumosen N		Purinbasen N		Ammoniak N		Diaminosäuren N		
		in g.	in g.	in g.	%	in g.	%	in g.	%	in g.	%	in g.	%	
	pro kg. Leber	pro kg. Leber	pro kg. Leber	%	pro kg. Leber	%	pro kg. Leber	%	pro kg. Leber	%	pro kg. Leber	%	pro kg. Leber	%
K'	0	3.3075	2.1910	66.29	0.4690	13.84	0.3045	9.26	0.1050	3.14	0.238	7.47		
K	0	6.1600	4.2700	69.33	0.399	6.47	0.5250	8.53	0.5740	9.30	0.392	6.40		
A	2.5	5.8180	4.0250	69.30	0.4025	6.92	0.4830	8.31	0.5355	9.26	0.372	6.21		
B	5.0	5.6700	3.9130	69.01	0.4130	7.40	0.4690	8.27	0.5201	9.21	0.354	6.11		
C	10.0	5.5300	3.8010	68.73	0.4375	7.91	0.4550	8.22	0.5075	9.17	0.329	5.97		
Versuch (No. II)														
K'	0	2.9400	1.7150	58.33	0.5621	12.310	0.29855	10.12	0.1575	5.127	0.20685	14.113		
K	0	6.6500	4.4450	66.84	0.3850	5.780	0.50750	7.63	0.6125	9.210	0.7000	10.540		
A	2.5	6.0900	4.0600	66.68	0.3920	6.430	0.4900	8.04	0.5775	9.19	0.5705	9.660		
B	5.0	5.8625	3.9025	66.56	0.3990	6.805	0.4830	8.23	0.5425	8.95	0.5350	9.455		
C	10.0	5.2500	3.4370	65.45	0.4130	7.760	0.4760	9.06	0.4900	8.66	0.4340	8.970		

Kontrolle K'. sofort gekocht K. ohne Gallensäuren

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass die Cholsäure, Desoxycholsäure und Essigcholeinsäure im Gegensatz zu anderen Säuren wie Essigsäure, Milchsäure, Salzsäure die Autolyse der Ochsenleber in steigendem Masse im Verhältnis zur zugesetzten Menge hemmen und dass die Hemmung fast alle Fraktionen: Monoaminosäure-, Diaminosäure-, Purinbasen-, und Ammoniak-fraktion, betrifft; sie wurde am deutlichsten bei der Monoaminosäurenfraktion, weniger bei der Purinbasenfraktion konstatiert. Dagegen wurden merkwürdigerweise dabei die Albumosen vermehrt gefunden.

E. Herzfeld¹⁰⁾ hat gefunden, dass Gallensäuresalze die Fibrinflocken stark lösen. Auf Grund dieser Daten ist es sehr wohl möglich, dass bei der Autodigestion der Ochsenleber die Gallensäuren einerseits das Eiweiss der Leber stark auflösen, andererseits die abbauende Wirkung des gelösten Eiweisses wie der Albumosen stark hemmen. Dadurch ist völlig bewiesen, dass die Gallensäuren eiweisslösende Wirkung haben.

Ob und welche Bedeutung das ungleichmässige Beeinflussen der autolytischen Prozesse durch Gallensäuren intra vitam, bzw bei dem dissimilatorischen Abbau hat, bedarf noch weiterer Untersuchung.

Zusammenfassung

- 1) Die Gallensäuren besonders die Cholsäure und Desoxycholsäure hemmen die Autolyse der Leber.
- 2) Die Hemmung der Leberautolyse durch die Gallensäuren betrifft fast alle Fraktionen; Monoaminosäuren, Diaminosäuren, Purinbasen und Ammoniak.
- 3) Die Hemmung wurde an Monoaminosäuren am deutlichsten, weniger an Purinbasen konstatiert.
- 4) Die Albumosen wurden dabei vermehrt gefunden.

Ich möchte nicht unterlassen Herrn Prof. T. Shimizu für liebenswürdige Unterstützung meinen wärmsten Dank auszudrücken.

Literatur

- 1) **M. Jacoby**, Zeitschr. physiol. chemie. 30, 174, 1900.
- 2) **Morinaka**, Kyoto Igakukwai zasshi 16, 10, 1919.
- 3) **P. Saxl**, Hofmeister Beitr. 10, 447, 1907.
- 4) **E. Laqueur**, Arch. f. exp. Path. u. Pharma. 55, 240, 1906.
- 5) **C. Biondi**, Virchow Archiv. 144, 373, 1896.
- 6) **Minkowski u. B. Naunyn**, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 21, 1, 1886.
- 7) **E. H. Goodmann**, Hofmeister. Beitr. 9, 98, 1907.
- 8) **Th. Brugsch u. Horsters**, Zeitschr. f. ges. exp. Medizin. 38, 367, 1923.
- 9) **L. Kauftheil u. E. Neubauer**, Klin. Woch. 1923, 1924.
- 10) **E. Herzfeld**, Bioch. Zeitschr. 70, 262, 1915.

内容大意

肝臓ノ自家融解ニ對スル二三膽汁酸ノ影響ニ就テ

岡山醫科大學醫化學教室（主任、清水教授）

細川 隆 一

Salkowski が發見シタル肝細胞ノ自家融解酵素作用ニ就テハ 1900 年 M. Jacoby が機中毒ノ肝ニ於ケル實驗以來幾多ノ學者ニヨリテ探究セラレシモ動物ノ生體內蛋白新陳代謝ト死後自家融解作用トハ同一ノ酵素ニヨリテ行ハルヤ否ヤハ未ダ全ク確定セラレザルモコノ兩者ハ最も親密ナル關係ヲ有スルモノナリト一般ニ信セラレ。

初テ Minkowski 及ビ Naunyn ニヨレバ膽汁酸ハ肝ニ生シ肝ヲ除去シタル後ニハ證明セラレサルモノニシテ此ノ膽汁酸ノ生成ハ種々ノ要約ノ許ニ増加シ又減少スルモノナリ、例ヘバ Goodmann ニヨレバ肉、卵、「アルブミン」ニ「ヒヨール」酸ヲ附加シテ飼養シタル動物ノ肝膽汁中ノ膽汁酸ハ著シク増量シ、T. Burgsch ニヨレバ「アトファン」ノ注射ニヨリテ肝膽汁中ノ肝膽汁酸即チ Oberflächenaktivesubstanz ガ増加スルヲ認め又膽囊炎及ビ初生兒黄疸ニテハ膽汁酸ノ生成ハ著シク減少ス、故ニ死後自家融解作用ニ於テ膽汁酸ノ蛋白新陳代謝ニ及ボス影響ヲ見ルハ生理學上ニモ又臨牀上ニモ亦興味アル問題トス。

依テ余ハ次ノ實驗ヲ行ヘリ。

屠殺後間モナキ牛肝ヲ粉碎シテ粥狀トナシ之ニ膽汁酸ヲ第 1 表ノ如ク種々ノ割合ニ混ジ 72 時間 38 度ノ孵卵器ニ貯ヘシ後第一燐酸加里ヲ加ヘテ煮沸シ其ノ濾液ノ總窒素量、「モノアミノ」酸窒素量、「チアミノ」酸窒素量、「プリン」鹽基窒素量、「アンモニアク」窒素量及ビ「アルブモーゼン」窒素量ヲ詳細ニ檢索定量シ第 2 表以下ニ示ス成績ヲ得タリ。之ニヨリテ觀察スルニ膽汁酸ハ燐、「ヒニーン」、「クロールカルチウム」、青酸化汞、鹽酸、醋酸、乳酸等ト全ク異リ肝ノ自家融解酵素作用ヲ著シク抑制スルニモ不拘、「アルブモーゼン」ノミハ促進セラレ。

換言セバ肝ノ自家融解ニ際シテハ膽汁酸ノ存在ニヨリテ一方蛋白ヲ著シク溶解シ他方「アルブモーゼン」ノ如キ溶解性蛋白ノ Abbauende Wirkung ヲ著シク抑制スルモノナリ。

結論

- 1) 膽汁酸ハ肝ノ蛋白新陳代謝ヲ抑制ス。
- 2) 「モノアミノ」酸、「チアミノ」酸、「プリン」鹽基及ビ「アンモニアク」ノ蛋白新陳代謝物質ノ生成ハ抑制セラレ。
- 3) 「モノアミノ」酸生成ハ最も著シク抑制セラレ「プリン」鹽基最も弱シ。
- 4) 「アルブモーゼン」生成ハ之等ニ反シテ促進セラレ。