Ueber das Leberferment.

Von

v. Wittich.

Die Mittheilungen Tiegel's, „über eine Fermentwirkung des Blutes“, veranlassen mich zu ein Paar kurzen Bemerkungen, die sich zunächst nur gegen den ersten Theil jener richten. Ich glaube, wenn der Herr Verfasser meine Angaben (weitere Mittheilungen über Verdauungsfermente d. Arch. Bd. III, pag. 339) wirklich durchzulesen sich die Mühe gegeben hätte, er schon aus ihnen ersehen haben würde, dass mir die fermentirende Wirksamkeit des Blutes nicht nur bekannt war ¹⁾, sondern dass ich dort auch ein Verfahren angab, um das Ferment aus demselben zu isoliren, dass es mir gelang, dasselbe nicht nur aus dem blutkörperhaltigen, sondern auch aus blutkörperfreiem Serum zu gewinnen, dass also die von ihm pag. 257 aufgestellte und in suspenso gelassene Frage: ob die fermentative Kraft dem frisch aufgelösten Stroma der Blutkörperchen, oder ob sie dem Hämoglobin in statu nascenti zukomme, oder ob endlich das fermentative Moment auf der Zersetzung der rothen Blutkörperchen als solches beruhe, bereits theilweis ihre Erledigung dadurch findet, als das von mir gewonnene Ferment hämoglobinfrei war, dass es sowohl im Serum als in den Blutzellen sich vorfand. Ich bewahre seit zwei Jahren ein Präparat, dass aus vollkommen klar abgesetztem Serum dadurch gewonnen wurde, dass ich letzteres mit absolutem Alkohol mischte, den so gewonnenen Niederschlag auf dem Filtrum sammelte und ihn lufttrocken mit Glycerin zerrieb. Das Präparat war vollkommen zuckerfrei, es genügte aber in einem neuerdings noch angestellten Versuche 1 Ccm. des Auszugs, um in etwa 20 Ccm. eines Stärkekleisters im Verlauf von 10 Stunden eine so energische Zuckerbildung einzuleiten, dass von der Hälfte derselben ungefähr 0,5 Ccm. der Fehling'schen Flüssigkeit vollständig reducirt wurde, während

1) Auch Lépine (über Entstehung und Verbreitung des thierischen Zuckerfermentes. Ber. d. k. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. 1870, 31. Oct.) und Viele vor uns kannten das Ferment im Blute.

eine zur Controle aufgestellte Probe reinen Stärkekleisters in derselben Zeit keine Spur spontaner Zuckerbildung zeigte. Es fällt mit dem Vorhandensein des Ferments im Serum auch eines jener Momente: das Zugrundegehen der Blutkörperchen im Leberkreislauf — welches Tiegel zur Begründung seiner Diabetes-Theorie in Anwendung bringt. Ist es nun aber aus meinen wie aus Tiegel's Angaben ersichtlich, dass das Blut einen das Leberglycogen in Zucker umwandelnden Körper führt, so fehlt derselbe dem Leberparenchym selbst keineswegs, denn selbst Tiegel's Versuche geben kein absolut negatives Resultat, es gelang ihm nur nicht, ein absolut zuckerfreies Ferment zu isoliren. Allein er ist im Irrthum, wenn er glaubt, auch nach dem von mir angegebenen Verfahren nicht zum Ziele gekommen zu sein. Ich selbst habe angegeben, dass zur Darstellung des Ferments es absolut nothwendig sei, das möglichst durch Auswaschen von Blut befreite Leberparenchym zunächst mit Alkohol auszuziehen, dass ich das alsdann lufttrocken zerriebene Parenchym durch feinmaschige Gaze beutelte, um die Leberzellen von den Gefäßsträngen und dem interstitiellen Bindegewebe zu sondern, und dass ich jene erst so mit Glycerin anrieb und nach 24stündigem, deutlicher noch nach mehrtägigem, Stehen ein sehr energisch wirksames Präparat erhielt, welches allein zuckerfrei nach viertelstündiger Wirkung auf Stärkekleister schon deutliche Zuckerreaction zeigte (Trommer).

Obwohl mir mein Journal hierüber vollkommen sichere Angaben aus meinen früheren Versuchen (die ich zum Theil bereits a. a. O. mittheilte) zu geben schien, habe ich doch nach Kenntnissnahme von Tiegel's Arbeit und in der Besorgniss, kleine Mengen Zucker in meinen fermenthaltigen Glycerinauszügen bei früheren Versuchen übersehen zu haben, neue Versuche angestellt, die mich allerdings lehrten, dass absolut zuckerfrei jene Auszüge kaum zu gewinnen sind, dass aber anderweitige Erscheinungen für das gleichzeitige Vorhandensein eines Fermentes ganz unzweifelhaft sprechen, während unter günstigen Verhältnissen der Glycerinextract nur Spuren von Zucker anzeigt.

In die Pfortader einer unverletzten Kalbsleber band ich eine Canüle, welche durch einen Cautchoukschlauch mit einem mit Brunnenwasser gefüllten Druckgefäß communicirte. Ich liess so die Leber 4 Stunden lang durchströmen und prüfte von Viertel-

zu Viertelstunde das allmählig farblos werdende Abflusswasser auf Zucker. Das Parenchym war nach Verlauf dieser Zeit vollkommen bleich, ungemein fest und teigig, das Abflusswasser kaum gefärbt, aber noch zuckerhaltig. Es wurde hierauf der linke Leberlappen abgetrennt, schnell zerkleinert, mit feinem Sand zerrieben und mit absolutem Alkohol übergossen, und letzterer nach mehrstündigem Stehen erneuert. Nach zwei Tagen wurde das so ausgezogene und gehärtete Parenchym auf dem Filtrum gesammelt, abgepresst, an der Luft getrocknet und durch Gaze gebeutelt, die so möglichst von allen übrigen Gewebstheilen gesonderten Leberzellen mit Glycerin angerieben. Schon nach 24stündigem Stehen zeigte letzteres allerdings noch Spuren von Zucker, wirkte aber ausserdem schon in geringen Mengen energisch fermentirend auf Stärkekleister. Da es sich hier um eine Beobachtung nur relativen Werthes handelt, sei es mir gestattet, die Art und Weise genauer anzugeben, in welcher ich sie gewann. Bestimmt abgemessene Volumina Stärkekleister wurden mit ebenfalls genau abgemessenen Mengen des Leber-Glycerinauszuges gemischt und aufgestellt, in einem zweiten Gefäss wurde dieselbe Menge Glycerinauszug mit so viel destillirtem Wasser verdünnt, als in dem ersten Kleister in Anwendung kam. Nach Verlauf einiger Zeit (1 Stunde) wurde alsdann aus dem grösseren Verbrauch Fehling'scher Flüssigkeit erschen, ob die Menge des Zuckers im Amylon zugenommen hatte.

Verschweigen will ich nicht, dass nach so gründlicher Auswaschung der Leber, wie ich sie in dem vorerwähnten Falle ausführte, die fermentative Kraft des Glycerinauszuges um vieles geringer ausfiel, als wenn, wie ich es in andern Fällen that, die Auswaschung nur so lange ausgeführt wurde, bis das Waschwasser nur schwach gelblich abfloss, was bei Lebern frisch getödteter Thiere, in denen noch wenig oder gar kein Gerinnsel in den Blutgefässen sich dem Wasserstrom hindernd in den Weg stellen, meistens ziemlich schnell erfolgt. In meinem hier genauer mitgetheilten Fall (Kalbsleber) wurde die Auswaschung fast zur Erschöpfung des Glycogengehalts der Leber fortgesetzt, denn einmal enthielt das abfliessende Wasser nur noch Spuren von Zucker, dann aber liessen sich aus dem so ausgewaschenen Parenchym nur noch Spuren von Glycogen nach der von Brücke angegebenen Methode gewinnen.

Doch kehren wir zur Kalbsleber, d. h. zu dem noch unzerkleinerten Theil derselben zurück. Ich liess durch denselben noch weitere zwei Stunden lang Wasser strömen, das jetzt natürlich aus den klaffenden durchschnittenen Gefässen abfloss. Nach Verlauf dieser Zeit zeigte sich das aufgefangene Waschwasser farblos, aber auch absolut zuckerfrei. Ich sistirte hierauf den Wasserstrom und erneute ihn erst nach einstündiger Ruhe der Leber. Das nach dieser Zeit von Neuem aufgefangene Waschwasser enthielt deutliche Mengen Zucker. Ich erkläre mir diese Thatsache dadurch, dass das Fehlen des Zuckers nicht etwa seinen Grund in einer gänzlichen Erschöpfung des Glycogen- und Fermentgehalts der Leber, sondern darin findet, dass bei einem minimalen Gehalt derselben an beiden es einer längeren Zeit der Einwirkung beider aufeinander bedurfte, um den Zucker wieder auftreten zu lassen. Das Parenchym der so ausgewaschenen Leber war übrigens absolut blutfrei, das Wasser farblos. Das Auftreten neuer Zuckermengen nach kurzer Ruhe spricht also allein schon für das im Parenchym selbst sich vorfindende Ferment. Nach Entwässerung des zerkleinerten Organs durch absoluten Alkohol wurde dasselbe lufttrocken noch mit Glycerin in einer Reibschale angerieben und so aufbewahrt. Schon nach 24 Stunden zeigte das abgegossene und abgepresste Glycerin deutlich fermentative Eigenschaften. Um auch hier vollständig sicher zu gehen, führte ich den Nachweis so, dass ich in zwei Cylindergefässen gleiche Mengen des Glycerinauszugs aus der Leber (5 Ccm.) in dem einen mit 25 Ccm. destillirten Wassers, in dem andern mit ebensoviel Stärkeklisters mischte, in einem dritten Glase endlich reinen Kleister aufstellte. Nach 4 Stunden wurden alle drei mit Fehling's-Flüssigkeit auf Zucker geprüft. Der reine Kleister gab gar keine Reduction; in 10 Ccm. der Mischung Glycerinauszug mit Wasser waren nur Spuren von Zucker; 5 Tropfen der Fehling'schen Lösung genügten, um ihr eine blaue Farbe zu ertheilen, die beim Kochen nicht verschwand, und in der nur Spuren von Kupferoxydul sich ausschieden, während die gleiche Menge Kleister und Glycerinauszug 1 Ccm. der Fehling'schen Lösung fast vollständig reducirte, so dass die über dem ziemlich massiven Oxydulfiederschlag stehende Flüssigkeit fast vollkommen farblos war. Nach Verlauf von 24 Stunden reducirten 10 Ccm. des mit dem Glycerinauszug gemischten

Kleisters 5 Ccm. Fehling'scher Flüssigkeit vollständig, enthielten also annähernd 0,25 pCt. Zucker, während der reine ungemischte Kleister auch da noch keine spontane Zuckerbildung anzeigte.

Ich muss daher gegenüber den Angaben Tiegel's (d. Arch. Bd. VI, pag. 259) festhalten, dass auch die vollständig ausgewaschene blutleere Leber ein sicher nachweisliches Ferment enthält.

Schliesslich möchte ich noch auf einen Umstand aufmerksam machen, der auch, wie ich glaube, für ein in den Leberzellen selbst vorkommendes zuckerbildendes Ferment spricht. Die frische Galle führt, wie ich wiederholt hervorgehoben habe, unter durchaus physiologischen Verhältnissen ein auf Glycogen und Amylon wirksames Ferment. Auch seine Isolirbarkeit habe ich bereits früher angegeben. Es liegt daher wohl auf der Hand, seinen Ursprung da zu vermuthen, wo auch die Ausscheidung der übrigen Gallenbestandtheile erfolgt, im Leberparenchym. Es würde damit noch keineswegs gesagt sein, dass das Ferment nothwendig in den Zellen selbst entstehe; schon in einer früheren Mittheilung habe ich, auf die grosse Verbreitung des Ferments in fast allen Geweben gestützt, die Vermuthung ausgesprochen, dass die Bildung desselben nicht nothwendig an einen Ort gebunden sei, sondern als eins der chemischen Resultate allgemeinen Zellenlebens aufzufassen sei. Gleichwohl spricht die Thatsache, dass man selbst nach noch so energischem Auswaschen des Parenchyms immer noch leicht nachweisliche Mengen des Ferments findet, wohl für die Annahme, dass das Leberferment in den Zellen des Organs selbst sich bildet.