

Ueber das Trypsin (Enzym des Pankreas),

von W. Kühne.

Cl. Bernard hat sehr richtig angegeben, dass Alkohol aus Pankreassaft eine eiweissartige Substanz ausfalle, die sich in Wasser leicht wieder löse und Corvisart zeigte, dass der aus dem Drüseninfuse so gefällte Körper das von ihm entdeckte Verdauungsvermögen für Albuminstoffe besitze. Es war mir zwar lange bekannt, dass die Alkoholfällung nicht nur peptonisirend, sondern auch zersetzend, Leucin- und Tyrosin-bildend auf Eiweiss wirke; für die Gewinnung des im Pankreas zu vermuthenden Enzyms, etwa wie des Pepsins in der Magenschleimhaut, war aber damit keine weitere Erkenntniss erreicht, denn sehr einfache Versuche ergaben sofort, dass die fragliche Materie sich anscheinend selbst zersetze unter Bildung der bekannten pankreatischen Verdauungsproducte. Nicht anders verhält sich die nach v. Wittich's Verfahren aus dem Glycerinauszuge mit Alkohol gefällte Substanz, ebenso das nach Alkoholbehandlung der Drüsen in Glycerin wiederholt gelöste und mehrfach mit Alkohol gefällte Produkt, welches Hüfner analysirte.

Aus Heidenhain's subtilen Untersuchungen ist die wichtige Thatsache bekannt, dass das Pankreas in seinen Zellen kein fertiges Enzym, sondern ein Zymogen enthält. Nach meinen Erfahrungen wird lebensfrisches Pankreas sogleich wirksam, wenn man es noch warm mit Glaspulver und absolutem Alkohol zerreibt. Ein bei 0° aus der so behandelten Drüse bereitetes Wasserextrakt wirkt sofort verdauend, ebenso eine mit 1-procentiger Sodalösung gewonnene Lösung. Lebenswarmes Pankreas mit Glaspulver und Schnee zerrieben, giebt gleich

Ueber das Trypsin.

7

nach dem Thauen ein milchiges, alkalisches Filtrat, das erst in 3 Stunden verdaut, und liefert in der Kälte langsam mit sehr kaltem Alkohol versetzt eine Fällung, deren Wasserlösung nicht schneller wirkt, dagegen sofort wenn der Alkohol nur einige Minuten bei mässiger Wärme eingewirkt hat. Heidenhain's Zymogen ist also ein auch durch Alkohol bei gewissen Temperaturen spaltbarer Körper, etwa wie das Vitellin nach Hoppe-Seyler's Beobachtungen, und man kann es durch kalte Alkoholfällung aus dem Eisextrakte der Drüse gewinnen.

Ob der unter gewöhnlichen Temperaturverhältnissen mit Alkohol fällbare Körper des Pankreas das Enzym selbst sei, oder ein Gemisch von Substanzen, ob ferner die darunter wirksamste nicht wiederum erst durch weitere Spaltung das Enzym liefere, erhellt hieraus noch nicht.

Alle bisher für das Eiweiss-zersetzende Enzym (das sog. Pankreatin) der Bauchspeicheldrüse gehaltenen Körper enthalten nun als Beimengung mindestens einen ganz indifferenten Eiweissstoff in reichlicher Menge, der jedoch nach Löslichkeit und anderen Reactionen sehr erheblich von den bekannten Albuminstoffen abweicht, obwohl er deren Zusammensetzung theilt. Für derartige Stoffe empfiehlt sich der Name Leukoïd. Die wiederholt mit Alkohol aus den unter Vermeidung aller Selbstverdauung dargestellten Drüsenextrakten gefällte, in Wasser bei 0° wieder gelöste, endlich mit ganz entwässertem Alkohol lange behandelte Substanz wird aus wässriger Lösung durch mässiges Ansäuern nicht gefällt, ziemlich vollständig, wenn bis zu 1 pCt. und mehr Essigsäure zugesetzt wird. Grosser Ueberschuss von Eisessig löst den Niederschlag fast klar, wenn sofort zugefügt, gar nicht, wenn die Fällung abfiltrirt oder ausgewaschen worden. Die schneeweisse, undurchsichtige Fällung des Pankreasleukoïds klebt allmählich zu einer harzigen Masse zusammen und kann in diesem Zustande auch mit Wasser gewaschen werden, worin sie fortan unlöslich bleibt. Nicht völlig ausgewaschen haftet ihr noch so viel von dem Enzym, das ich Trypsin nennen will, an, dass sie im warmen Zimmer auf dem Filter zerfliesst, wobei sich ein Tyrosin- und Leucin-haltiger Peptonbrei bildet. Gut gewaschen hat sie gar kein Verdauungsver-

mögen, vollends nicht, wenn sie einmal in Soda von 1 pCt. gelöst und wieder durch Essigsäure gefällt wurde. Die von dem Leukoïd getrennte Lösung liefert nun durch Alkohol gefällt eine bereits viel reinere Trypsin gebende Masse. Der Selbstverdauung überlassen bildet sie zwar auch Pepton und die übrigen Verdauungsprodukte, aber nicht in der grossen Menge wie vorher. Wird sie bei einem Gehalte von 1 pCt. Essigsäure einige Zeit auf 40° C. erwärmt, so entsteht ein neuer feinflockiger, grau durchsichtiger Niederschlag in mässiger Menge von einem zweiten nicht enzymatischen Eiweisskörper, während in der Lösung Verdauungsprodukte auftreten. Durch Erwärmen unter Zusatz von Soda bis zur recht deutlich alkalischen Reaction entsteht endlich ein dritter Niederschlag, grösstentheils von Erdsalzen gebildet. Ist auch dieser entfernt, so kann man zur Trennung des Trypsins von den Verdauungsprodukten schreiten. Durch Eindunsten bei 40° C. wird das meiste Tyrosin ausgeschieden, der Rest durch Alkohol gefällt besteht aus Pepton, viel Leucin und dem Enzym. Man befreit das Letztere durch Dialyse von seinen Begleitern und reinigt es durch wiederholte Fällung mit Alkohol.

Das Trypsin ist in Wasser leicht löslich und coagulirt wie Eiweiss nur in saurer Lösung vollkommen. Wochenlange Digestion auch in alkalischer Lösung ändert daran nichts. Bei einmaligem Aufkochen zerfällt das Trypsin in coagulirtes Eiweiss und reichlich Pepton, welches sich ähnlich verhält wie das Antipepton (vergl. unten). Der Verdacht, dass man es mit praecurrentem, beigemischtem Pepton, dessen Entfernung nicht gelungen, zu thun habe, was leicht vorkommen kann, muss nach jeder Trypsindarstellung erst beseitigt werden. So lange solches Pepton da ist, erhält man durch fractionirte Alkohol-fällung erst das Trypsin und dann das Pepton, die letzten Fällungen in Wasser gelöst trüben sich also beim Kochen nicht mehr. Trypsin ist ferner in reinem Glycerin ganz unlöslich, während Pepton sich darin löst. So lange also über Trypsin filtrirtes Glycerin mit Alkohol noch eine Trübung giebt, ist freies Pepton vorhanden.

Das reine Trypsin mit Wasser oder Sodalösung beliebig lange bei 40° C. digerirt bleibt völlig unverändert, namentlich bildet sich

Ueber das Trypsin.

9

keine Spur von Pepton, Tyrosin, Leucin oder des mit Cl und Br violett werdenden Körpers, der auch in kleinsten Spuren so leicht zu entdecken ist. Aus der Lösung durch Eindunsten bei 40° C. gewonnen, stellt das Trypsin einen schwach strohgelb gefärbten, durchsichtigen Körper dar, von eigenthümlicher Elasticität, der Art, dass es zu einer leichten wolligen Masse aufbröckelt.

Trypsin löst Fibrin beim Erwärmen fast momentan und in solcher Menge, dass man mit ausgepresstem, ungekochtem Fibrin eigentlich nie zum Ende kommt, denn die anscheinend ganz steife festgepfropfte Masse, die sich zuletzt dabei bildet, besteht in Wirklichkeit aus zähen Peptontropfen und Schlieren, welche kleinen Fäserchen unverdauter Substanz anhaften und sich in Wasser unter Hinterlassung sehr geringer Reste auflösen. Mit der Lösung kann man abermals sehr erhebliche Mengen verdauen. Wenn es mir auch nie gelungen ist die Wirkung ganz schwinden zu sehen, so fand ich sie endlich doch so verlangsamt, dass ich noch nicht für eine völlige Unveränderlichkeit des Enzyms bei seiner Action eintreten möchte. In der Verdauungslösung sind neben Pepton, Antipepton, Leucin, Tyrosin und der mit Br violett werdende Körper enthalten.

Genauere Versuche mit reinen Eiweissstoffen und dem gereinigten Trypsin haben bestätigt, was ältere Erfahrungen mit dem Pankreasinfuse vermuthen liessen, nämlich, dass zunächst von dem Pepsinpepton nicht zu unterscheidende Körper entstehen und dass es diese sind, welche in Antipepton und die übrigen meist krystallinischen Zersetzungsprodukte zerfallen. Ein derartiger Process kommt bei der Pepsinverdauung echter Eiweissstoffe nicht vor, diese liefert vielmehr ein etwas grösseres Gewicht Pepton, als dem in Verdauung gegebenen Albumin entspricht (durch H₂O-Aufnahme) und beim Fibrin keine Spur von Amidosäuren, wenn man die selbstverständliche Vorsicht beachtet, Beimengungen aus der Drüsensubstanz der Magenschleimhaut zu vermeiden. Nach vollendeter Trypsinverdauung ist das Eiweiss (gleichviel ob genuines, coagulirtes oder in Pepsinpepton umgewandeltes verwendet wurde) allem Anschein nach in zwei Hälften gespalten, denn das Antipepton, welches unter keinen Umständen

durch Trypsin weiter verändert wird, hat ziemlich genau das halbe Gewicht des in Verdauung Gegebenen. Leucin und Tyrosin werden durch Trypsin nicht weiter zersetzt.

Das Trypsin verwandelt vorher mit Säuren bis zu einem gewissen Grade gequelltes Collagen in das von Schweder vor 9 Jahren beschriebene Leimpepton. Dabei bildet sich, ganz wie bei der Verdauung fertiger Gelatine, weder Leucin noch Glycocoll. Unverändertes Bindegewebe wird von Trypsin nicht gelöst, aber die eiweisshaltigen Einlagerungen werden vollkommen daraus entfernt. Hämoglobin wird durch Trypsin verdaut unter Hämatinbildung.

Auf Stärke und Dextrin wirkt Trypsin nicht.

Faulendes Eiweiss enthält kein Trypsin und (gewisse Käsesorten ausgenommen) überhaupt keine die Alkoholbehandlung überstehenden Enzyme. Das Gleiche gilt von den bei der Pankreasfäulnis besonders reichlich auftretenden Bakterien.

Im arteriellen Blute, in den Speicheldrüsen und den Lymphdrüsen des Mesenteriums konnte kein Trypsin gefunden werden.

Heidelberg, den 6. März 1876.