

Thiaminpyrophosphatase bei der experimentellen Diphtherieintoxikation

Die Untersuchungen von LASCH^{1,2}, die später von FILIPOWICZ et al.³ bestätigt wurden, haben erwiesen, dass im Blut der Patienten mit Diphtherie eine deutliche Erhöhung des Brenztraubensäurespiegels (BTS) auftritt. Nach LASCH führt die Verabreichung von Cocarboxylase (DPT) zu einer ständigen Verbesserung des Krankheitszustandes. Diese Erscheinung wird vom Absinken des BTS-Blutspiegels begleitet, bis die Brenztraubensäurekonzentration den Normalwert erreicht, wogegen die Verabreichung von Thiamin solch ein Ergebnis nicht hervorruft.

Diese Feststellungen lassen vermuten, dass die BTS-Anhäufung im Blut der Diphtheriekranken durch eventuelle Störung der Thiaminphosphorylierung verursacht werden kann. Diese Erscheinung könnte zur Entstehung des Cocarboxylasemangels führen und auf diese Weise den BTS-Stoffwechsel beeinflussen.

In den vorher durchgeführten Arbeiten haben wir festgestellt, dass die Diphtherieintoxikation ein deutliches Absinken des Cocarboxylasespiegels in der Leber von toxisch infizierten Meerschweinchen hervorruft⁴. Dieses Absinken kann jedoch nicht der Hemmung der Thiaminphosphorylierung zugeschrieben werden, wofür unsere weiteren Versuche über den Einfluss von Diphtherieintoxikation auf die Thiaminphosphorylierung zu sprechen scheinen⁵. Die obenerwähnten Befunde können auf Grund der jetzt durchgeführten Versuche erklärt werden, welche die Steigerung der Cocarboxylasedephosphylierung in der Leber der mit Diphtherietoxin vergifteten Meerschweinchen beweisen.

In dieser Mitteilung werden die Ergebnisse unserer Untersuchungen über die Aktivität der Thiaminpyrophosphatase in der Leber von normalen und mit Diphtherietoxin toxisch infizierten Meerschweinchen dargelegt. Die Thiaminpyrophosphatase ist für die Dephosphylierung der Cocarboxylase verantwortlich. Die Aktivitätssteigerung von Thiaminpyrophosphatase im toxisch infizierten Organismus kann als eine der Ursachen betrachtet werden, welche die obenerwähnten Erscheinungen erklären.

Methodik. Wir arbeiteten mit Meerschweinchen von 350–450 g. Die Tiere wurden subkutan mit Diphtherietoxin injiziert, so dass der Tod am dritten Tage eintreten müsste. Nach 39–45 h wurden die Meerschweinchen durch Genickschlag getötet und sofort sezirt. Die Leber wurde im Kühlzimmer herausgenommen, mit isotonischer KCl-Lösung gewaschen und nach Abwiegen im Homogenisator von Potter und Elvehjem nach Zugabe von KCl-Lösung homogenisiert. Dann wurde 1,1 μ Mol Cocarboxylase 50 min bei 38°C in Warburggefäßen in einem Medium geschüttelt, welches folgende Zusammensetzung hatte: 1 ml Homogenat (1:10), 3 ml Glizinpuffer (pH = 9,35, 20°C), 25 μ Mol MgSO₄. Gleichzeitig mit der eigentlichen Probe wurde die Kontrollprobe unter denselben Versuchsbedingungen im Thermostat geschüttelt. Die Kontrollprobe wurde auf dieselbe Weise wie die eigentliche Probe vor-

bereitet, jedoch wurde sie am Anfang des Experimentes bis zum Sieden erhitzt, um die Enzyme zu denaturieren. Nach der Inkubation wurden die eigentlichen Proben durch Erhitzen denaturiert. Die in beiden Proben enthaltene Cocarboxylase wurde dann manometrisch nach WESTENBRINK⁶ bestimmt. Die Differenz zwischen dem Gehalt an Cocarboxylase in der eigentlichen Probe und Kontrollprobe entsprach der Menge von Cocarboxylase, die unter den Versuchsbedingungen durch die Thiaminpyrophosphatase des Homogenats zerlegt wurde. Die oben angegebenen Versuche wurden an normalen und toxisch infizierten Meerschweinchen durchgeführt. Die Inkubationslösungen hatten pH 8,9. Die resultierende Azidität der Inkubationslösungen stimmte mit dem pH-Optimum überein, das von KIESSLING⁷ für die Rattenleberthiaminpyrophosphatase festgestellt wurde.

Die beigefügte Tabelle stellt die Resultate dar, welche die Zersetzung der Cocarboxylase durch die Leberhomogenate von normalen und toxisch infizierten Meerschweinchen zeigen. Die «P»-Werte, die auf Grund des Student-Testes berechnet wurden, weisen auf die hohe Signifikanz der Differenzen zwischen den Mittelwerten für beide Tierserien hin.

Es ist klar, dass unabhängig vom Bezugssystem die Zersetzung der Cocarboxylase in den Leberhomogenaten von toxisch infizierten Tieren ungefähr zweimal so gross ist als die Zersetzung, welche in den Leberhomogenaten von normalen Meerschweinchen verursacht wurde. Es steht also fest, dass die Diphtherieintoxikation die Thiaminpyrophosphatase irgendwie aktiviert. Weitere Untersuchungen über die Klärung dieser Erscheinungen sind im Gange.

Summary. The determinations of thiamine pyrophosphatase activity were carried out in the liver homogenates of normal guinea-pigs and those poisoned with diphtheria toxin.

The enzyme activity in the toxæmic liver tissue is twice that of normal guinea-pigs. It is supposed that this result may partly explain the increased level of pyruvic acid in the blood of patients with diphtheria. Further studies on this problem are under way.

S. WITKOWSKI und B. FILIPOWICZ

Institut für allgemeine und physiologische Chemie der Medizinischen Akademie Łódź (Polen), 16. April 1963.

¹ F. LASCH, Ann. paediatr. Basel 178, 333 (1952).

² F. LASCH, Dtsch. med. Wschr. 27/28, 975 (1953).

³ B. FILIPOWICZ, F. REDLICH, A. MARGOLIS und Z. WITKOWSKA, Padiatria Polska 11, 82 (1956).

⁴ S. WITKOWSKI, A. BRZEZIŃSKI und T. GALAMON, International Symposium on B-Vitamins (Polish Academy of Science, Poznań 1959), p. 273.

⁵ S. WITKOWSKI, Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis, Academia scientiarum polona, 12, 1 (1964).

⁶ H. G. K. WESTENBRINK, Int. Zschr. Vitaminforsch. 21, 461 (1950).

⁷ K. H. KIESSLING, Acta chem. scand. 14, 1669 (1960).

Zersetzung der Cocarboxylase in den Meerschweinchenleberhomogenaten

Versuchstiere	Zahl der Bestimmung	μ g DPT/1 ml des Homogenats	μ g DPT/100 mg Eiweiss	μ g DPT/100 mg total N	Zersetzung der DPT in %
Normal	7	0,14 \pm 0,02 0,01 < p < 0,02	1,03 \pm 0,13 0,01 < p < 0,02	5,29 \pm 0,59 0,001 < p < 0,01	27,4 \pm 3,4
Toxisch infiziert	8	0,26 \pm 0,04	2,11 \pm 0,26	10,01 \pm 0,10	52,7 \pm 5,4