

Die Einwirkung von homogenisiertem Lungengewebe auf Tween 20

Von

W. LÜHRS und K. CHROMETZKA

Aus dem Sanatorium „Bergfrieden“ — Rottach-Egern der Arbeitsgemeinschaft für Krebsbekämpfung, Sitz Bochum —
 Rubrikknappschäft (Chefarzt: Prof. Dr. W. Lührs)

(Der Schriftleitung zugegangen am 28. November 1963)

Manometrische Messungen lassen den Schluß zu, daß die Lipase homogenisierten Lungengewebes „Tween 20“ verseift und Fettsäure (Laurinsäure) freisetzt.

Manometric measurements show that the lipase of homogenised lung tissue hydrolyses „Tween 20“ and releases a fatty acid (lauric acid).

Nach dem letzten Weltkrieg wurde eine große Gruppe von oberflächenaktiven, nicht polaren Substanzen, Emulgatoren, Detergentien und anderen Substanzen für die verschiedensten Zwecke nutzbar gemacht. Diese Substanzen fanden Anwendung als Zusatzstoffe bei Nahrungsmitteln, in der Kosmetik, bei Pflanzenschutzmitteln, in der Textilindustrie, in der chemischen Reinigung, in der Mineralölindustrie, bei der Zusammenstellung von Polituren und Putzmitteln und auch in der Pharmazie (1).

Nachdem seit dem Jahre 1941 bis in die jüngste Zeit hinein BERENBLUM (2) nachweisen konnte, daß der Zusatz von Crotonöl zu bestimmten hautaktiven karzinogenen Substanzen eine deutliche Steigerung des Angehens von Hauttumoren erkennen läßt, wurden andere Substanzen ähnlicher Eigenschaft als Adjuvans geprüft. SETÄLÄ (3—5) fand seit 1956 immer wieder, daß die Polyoxyäthylen-sorbitan-monolaurate einen ähnlichen Effekt innerhalb der Kokanzero-genese bewirken wie das Crotonöl. Im Gegensatz dazu fanden BERENBLUM und HARAN (6), daß Gaben von 9, 10-Dimethyl-1,2-benzanthrazen, 3,4-Benzpyren, 20-Methylcholanthren oder 1, 2, 5, 6-Dibenzanthrazen mit Schlundsonde bei männlichen *Swiss*- und C_3H -Mäusen zu Tumoren des Vormagens führten. Die zusätzliche Einwirkung von Crotonöl führte zu einer Zunahme des Angehens der Tumoren, wobei die Autoren eine Summation der karzinogenen Wirkung des Kohlenwasserstoffes und des Crotonöles annehmen. Entsprechende Versuche mit einem Polyäthylenglykol ließen keinen krebsfördernden Effekt erkennen.

Andererseits fanden WONG, JURAS und WISSLER (7), daß oral verabreichtes Tween 80 und Methylcholanthren bei Mäusen eine Zunahme der Tumorzahl im Vormagen, zum anderen eine Zunahme der Tumorzahl in verschiedenen Organen ergab und eine deutliche Zunahme multipler Tumoren nachweisen ließ. Es wurde eine partielle Tween-Resorption angedeutet. Dieses Ergebnis zeigte einen echten Unterschied gegenüber den Tierversuchen mit einer alleinigen oralen Gabe von Methylcholanthren.

Im Gegensatz zu diesen Untersuchungen berichteten SHUBIK, DELLA PORTA und SPENCER (8) über Versuche mit Tween 60 als kokanzero-gener Substanz. Sie fanden,

daß diese oberflächenaktive Substanz wahrscheinlich kokanzero-gene Eigenschaften besitzen kann, aber unwesentlich für eine kausale Kanzerogenese ist. HUEPER und Mitarbeiter (9) kamen auf Grund ihrer tierexperimentellen Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß die Polyoxyäthylenderivate besonders als Stearate keinen sicheren Einfluß auf das Entstehen von primären Blasenkarzinomen erkennen ließen. Mit großer Wahrscheinlichkeit können diese oberflächenaktiven Substanzen nicht als primäre Karzinogene bezeichnet werden. Interessant war in diesem Zusammenhang, daß manche Pharmaka, die gerade bei chronischer Bronchitis und ähnlichen Indikationen von der pharmazeutischen Industrie angeboten werden, diese oberflächenaktiven Stoffe — besonders Tween 20 — enthalten.

Interessant war das Verhalten dieses Tween 20 im Zusammenwirken mit Lungengewebe. Die Hypothese einer möglichen enzymatischen Einwirkung von Lungengewebe auf Fettsubstanzen geht bereits auf das Jahr 1908 (SIEBER, 10) zurück. BRADLEY (11) und HAMSİK (12) fanden neben einer relativ starken lipolytischen Eigenschaft des Lungengewebes auch eine synthetisierende Wirkung. Vom biochemischen Standpunkt hat die Frage nach der *Lungenlipase* großes Interesse gefunden, besonders im Zusammenhang mit der Tuberkulose. In der Lunge finden sich neben der Lipase noch drei grundsätzlich verschiedene Esterasen. Es ist die *Esterase* im engeren Sinn, die *Cholinesterase* und die *Acetylcholinesterase*. Die Lipase spaltet vor allem langkettige Fettsäureester, die Esterase kurzkettige Fettsäureester (13). Wir haben den Einfluß von frisch gewonnenem Lungengewebe von Kaninchen in der Warburg-Apparatur auf Tween 20¹⁾ in verschiedenen Konzentrationen untersucht (14).

Methodik

Wir nahmen an, daß in frischer Kaninchenlunge enthaltene Lipase Tween 20 verseifen kann. Die freigesetzte Laurinsäure treibt aus einer gepufferten bikarbonathaltigen Ringerlösung Kohlensäure aus, die manometrisch gemessen wird.

¹⁾ Wir danken der Firma Dr. Schwarz, Monheim, für die Überlassung der Versuchsmengen „Tween 20“ (Polyoxyäthylen-sorbitan-monolaurat).

Frische Kaninchenlunge wurde zu Brei zerkleinert und anschließend im Potter-Elvehjem homogenisiert. 5 g des Homogenates wurden in dest. Wasser im Verhältnis 1:3 aufgenommen. Pro Ansatz wurden 0,5 ml des wäbr. Homogenates eingesetzt. Die Messungen wurden mit einer Tween-Konzentration von 0,407—0,0008 mMol vorgenommen. Das im Versuch zur Anwendung gekommene Flüssigkeitsvolumen betrug für jedes Gefäß 3 ml. Es setzte sich zusammen aus:

0,5 ml Lungenhomogenat, 2 ml Ringer-Bikarbonatlösung (0,15-m NaHCO₂) sowie die entsprechende Menge Tween 20. Mit abnehmender Tween-Konzentration wurde das Flüssigkeitsvolumen im Gefäß mit dest. Wasser auf 3 ml ergänzt. In die Kontrollgefäße wurden statt Lungenhomogenat die entsprechenden Mengen dest. Wasser hinzugefügt.

Vor Beginn des Versuches wurden die Gefäße 5 Minuten lang mit einem aus 5% CO₂ und 95% N₂ bestehenden Gasgemisch durchströmt und nach Verschluss der Gefäße durch Schütteln in einem Wasserbad, das genau auf 37° eingestellt war, der Temperatureausgleich abgewartet.

Innerhalb 60 Minuten wurden alle 10 Minuten die Druckdifferenzen abgelesen. Aus den Druckdifferenzen ergaben sich durch Umrechnung die durch Spaltung

von Tween 20 mittels Lipase frei werdenden $\mu\text{l CO}_2$. Die in der Tabelle aufgeführten Zahlen stellen die Mittelwerte aus mindestens zwei Einzelbeobachtungen dar. Die nach Abzug der CO₂-Werte der Kontrollversuche daraus resultierenden Werte für CO₂ wurden graphisch ermittelt.

Ergebnisse

Die folgende Abbildung 1 und Tabelle 1 zeigen die Resultate bei unterschiedlichen Versuchsanordnungen.

Tab. 1

Spaltung von Tween 20 durch 0,25 g Homogenat von Kaninchenlunge. Werte in $\mu\text{ml CO}_2$. (Kontrollwerte in Klammern)

mMol Tween 20 pro Ansatz	Minuten nach Versuchsbeginn					
	10	20	30	40	50	60
0,407	78,21 (2,34)	122,43 (3,92)	157,41 (5,50)	186,03 (5,53)	209,87 (6,29)	232,13 (4,74)
0,244	73,04 (4,53)	122,84 (5,28)	159,41 (5,28)	185,84 (5,28)	207,61 (5,28)	224,72 (3,77)
0,081	61,95 (2,36)	95,60 (6,36)	120,84 (6,33)	138,43 (7,13)	150,67 (7,87)	162,14 (9,44)
0,065	53,58 (4,51)	83,08 (6,02)	105,60 (10,57)	122,71 (7,49)	137,46 (8,98)	147,59 (6,75)
0,048	44,09 (2,40)	67,71 (2,40)	85,83 (1,61)	101,58 (1,61)	113,40 (3,22)	122,06 (1,61)
0,032	36,99 (1,52)	56,66 (3,82)	71,64 (6,12)	87,39 (4,58)	102,34 (6,10)	110,98 (4,58)
0,016	24,90 (0)	41,98 (3,00)	53,63 (6,00)	62,20 (4,50)	70,76 (4,50)	77,01 (4,50)
0,008	15,51 (3,81)	24,05 (5,23)	31,86 (5,27)	34,17 (3,77)	36,49 (4,54)	38,04 (4,54)
0,004	3,06 (0)	9,30 (0)	13,20 (1,49)	17,10 (1,49)	20,21 (1,49)	23,32 (1,49)
0,0008	1,60 (0)	3,98 (3,10)	5,56 (4,71)	8,74 (4,70)	10,33 (5,55)	11,92 (6,36)

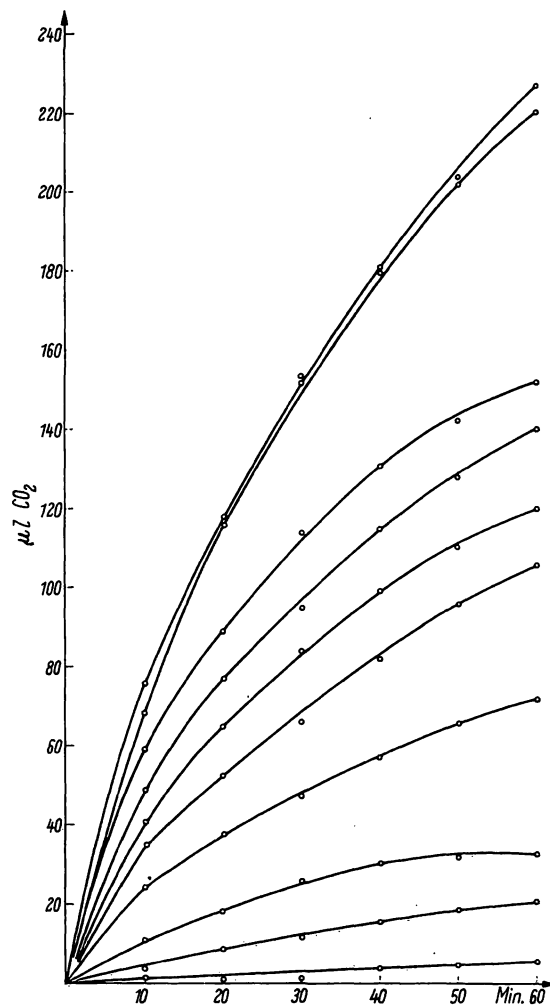


Abb. 1

Zeitlicher Ablauf der fermentativen Spaltung von 0,407—0,0008 mMol „Tween 20“ durch 0,25 g Lungengewebe bei 37°

Literatur

1. ATLAS-GOLDSCHMIDT GMBH, Essen, Lieferprogramm (1962). — 2. BERENBLUM, J., *Cancer Res.* 1: 44, 807 (1941). — 3. SETÄLÄ, K., H. SETÄLÄ, L. MERENMIES und P. HOLSTI, *Zschr. Krebsforsch.* 61, 534 (1957). — 4. SETÄLÄ, K., K. DAMMERT, H. SETÄLÄ, L. MERENMIES und P. HOLSTI, *Zschr. Krebsforsch.* 61, 548 (1957). — 5. SETÄLÄ, K., P. HOLSTI, S. LUNDBOM, L. MERENMIES und K. DAMMERT, *Zschr. Krebsforsch.* 61, 569 (1957). — 6. BERENBLUM, J. und N. HARAN, *Cancer Res.* 15, 510 (1955). — 7. WONG, T. W., D. S. JURAS und R. U. WISSLER, *J. Nat. Cancer Inst.* 22, 363 (1959). — 8. SHUBIK, P., G. DELLA PORTA und K. SPENCER, *Acta*

cancr. Budapest 15, 232 (1959). — 9. HUEPER, W. C. und W. W. PAYNE, *Arch. environment Health* 6, 484 (1963). — 10. SIEBER, W. *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 55, 177 (1908). — 11. BRADLEY, C. J., *J. biol. Chemistry* 13, 407 (1913). — 12. HANSIK, K., *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 90, 489 (1914). — 13. AMMON, R. und W. DIRSCHEL, *Fermente, Hormone, Vitamine*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1948). — 14. WARBURG, O., *Weiterentwicklung der zellphysiologischen Methoden*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1962).

Professor Dr. med. W. Lührs
8183 Rottach-Egern, Ringbergstr. 30