

Die physiologische Wirkung der Protamine und ihrer Spaltungsprodukte.¹⁾

Von

W. H. Thompson,

Professor der Physiologie am Queens College, Belfast.

Mit sieben Abbildungen.

(Aus dem physiologischen Institut zu Marburg.)

(Der Redaction zugegangen am 9. October 1899.)

Die Protamine, deren Kenntniss wir den Arbeiten von Miescher,²⁾ A. Kossel³⁾ und Anderen verdanken, bilden eine Gruppe von eigenartigen Stoffen, die man als die einfachsten Eiweissstoffe betrachten kann. Sie zeigen ausgeprägt basische Eigenschaften und liefern bei hydrolytischer Spaltung nur wenige und relativ einfache Spaltungsprodukte.

Diese Substanzen sind bisher nur aus den männlichen Geschlechtsorganen gewisser Fischarten dargestellt worden: aber man darf kaum bezweifeln, dass durch fortgesetzte Untersuchungen ähnliche oder identische Körper in weiterer Verbreitung in thierischen Geweben aufgefunden werden.

Bisher sind vier Glieder dieser Gruppe mit Sicherheit erkannt worden: 1. das Salmin in den reifen Testikeln des Lachses, von Miescher entdeckt, und das mit diesem höchst wahrscheinlich identische Clupein in denjenigen des Härings, 2. das Scombrin, von der Makrele erhalten, 3. das Sturin, aus der Milch des Stöhrs gewonnen, und 4. Cyclopterin

1) Der Inhalt dieser Abhandlung wurde bereits in der Sitzung der physiologischen Section der «British association for the advancement of science» in Dover am 18. September 1899 vorläufig mitgetheilt.

2) Verh. d. naturh. Gesellsch. in Basel, Bd. VI, S. 138. 1874. Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXXVII, S. 100. 1896.

3) Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 176. Bd. XXV, S. 162 u. Bd. XXVI S. 588.

aus dem Sperma von *Cyclopterus lumpus*. Unsere Kenntniss der vier letzteren Körper ist durch die Untersuchungen des Herrn Professor A. Kossel und seiner Schüler gewonnen worden.

Mit stärkeren Spaltungsmitteln behandelt, liefern Salmin, Clupein und Scombrin dieselben Spaltungsprodukte, d. h. 1) Arginin, 2) Amidovaleriansäure und 3) einen kleinen Theil eines unbekanntes Restes.

Andererseits weichen Sturin und Cyclopterin in ihrer Zusammensetzung von den obengenannten Körpern ab. Das Sturin liefert 1) Arginin, 2) Histidin, 3) Lysin, 4) Amidovaleriansäure und 5) einen kleinen Theil unbekanntes Restes. Das Cyclopterin enthält, wie es scheint, eine aromatische Gruppe.

Die Protamine haben in mehr als einer Hinsicht physiologisches Interesse. Ihre Spaltungsprodukte sind in nicht unerheblicher Menge in derjenigen Substanz enthalten, welche bisher unter dem Namen «Antipepton» in der Litteratur bekannt war.¹⁾ Die physiologischen Eigenschaften des Antipeptons haben die Aufmerksamkeit von mehreren Forschern in Anspruch genommen und auch ich habe diese Untersuchung zunächst im Anschluss an frühere Arbeiten über peptonartige Stoffe unternommen. Die Beobachtungen bezogen sich Anfangs nur auf die physiologische Wirkung der Spaltungsprodukte, welche unter dem Namen «Hexonbasen» bekannt sind, wurden aber später, dem Wunsche des Herrn Professor A. Kossel gemäss, auf die Muttersubstanz derselben, das Protamin, ausgedehnt.

Ueber die Wirkungen der Protamine lagen Beobachtungen von H. Kossel²⁾ vor, welcher feststellte, dass diese Stoffe, bei directer Einführung in den Kreislauf, ziemlich giftig sind.

Alle die obengenannten Protamine, mit Ausnahme des erst vor wenigen Monaten entdeckten und schwer zu beschaffenden Cyclopterins, wurden mit ihren Spaltungsprodukten für die Untersuchungen verwendet und abgesehen vom Scombrin

1) Fr. Kutscher. Diese Zeitschrift Bd. XXV, S. 195—201; Bd. XXVI, S. 110—122; Bd. XXVIII, S. 88—97.

2) Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten Bd. 27, S. 44.

wurde das ganze benutzte Material gütigst von Herrn Professor A. Kossel zu meiner Verfügung gestellt. Für dieses und auch für viel freundlichen Rath und gütige Hilfe möchte ich meinem Collegen den aufrichtigsten Dank aussprechen. Das Scombrin habe ich selbst aus Makrelensperma nach seiner Methode dargestellt.

Beschreibung der Versuchsmethode.

Alle Versuche wurden an Hunden ausgeführt. Die Thiere wurden Anfangs mit Morphinum nebst Atropin narcotisirt und später durch eine Mischung von Aether und Chloroform anästhesirt. Die Substanzen (Protamine etc.) wurden aus einer Bürette direct in den Kreislauf eingeführt, und zwar durch eine Canüle, die zu diesem Zweck in die vena femoralis eingebunden war.

Der Einfluss auf den Blutdruck und die Athembewegungen wurde auf der Trommel aufgeschrieben. Für die Registrirung des ersteren bediente ich mich eines gewöhnlichen Quecksilbermanometers. Für die Aufzeichnung der respiratorischen Bewegungen wurden zwei Bert-Marey'sche Tambours mit den nöthigen Schreibeinrichtungen benutzt. Eine derselben schrieb die Brustathmung, die andere die respiratorischen Bewegungen der Bauchwand (diaphragmatische Athmung) auf. Beobachtungen über den Verlauf der Blutgerinnung vor und nach der Einspritzung der Substanz wurden ebenfalls ausgeführt und ausserdem wurde die Zahl der circulirenden Leucocyten festgestellt. Für diese Zwecke wurde aus der Arteria femoralis Blut entnommen.

Die Wirkung der Protamine.

Die Sulfate der verschiedenen Protamine wurden zuerst in Carbonate übergeführt. Nachdem ich mich überzeugt hatte, dass sie frei von allen bei der Darstellung benutzten anorganischen Stoffen waren, wurden die Lösungen auf dem Wasserbad verdunstet und der Rückstand im Exsiccator getrocknet. Ich löste sodann das Protamincarbonat in physiologischer Kochsalzlösung, neutralisirte es durch vorsichtigen

Zusatz verdünnter Salzsäure und verdünnte die Flüssigkeit mit Kochsalzlösung bis zur erforderlichen Stärke, nämlich 1^o/_o. Das Protamin wurde also hauptsächlich als Chlorid in den Thierkörper hineingebracht. Vor der Einführung wurde die Lösung auf 37° C. erhitzt.

1. Blutdruck. Eine bedeutende und relativ schnelle

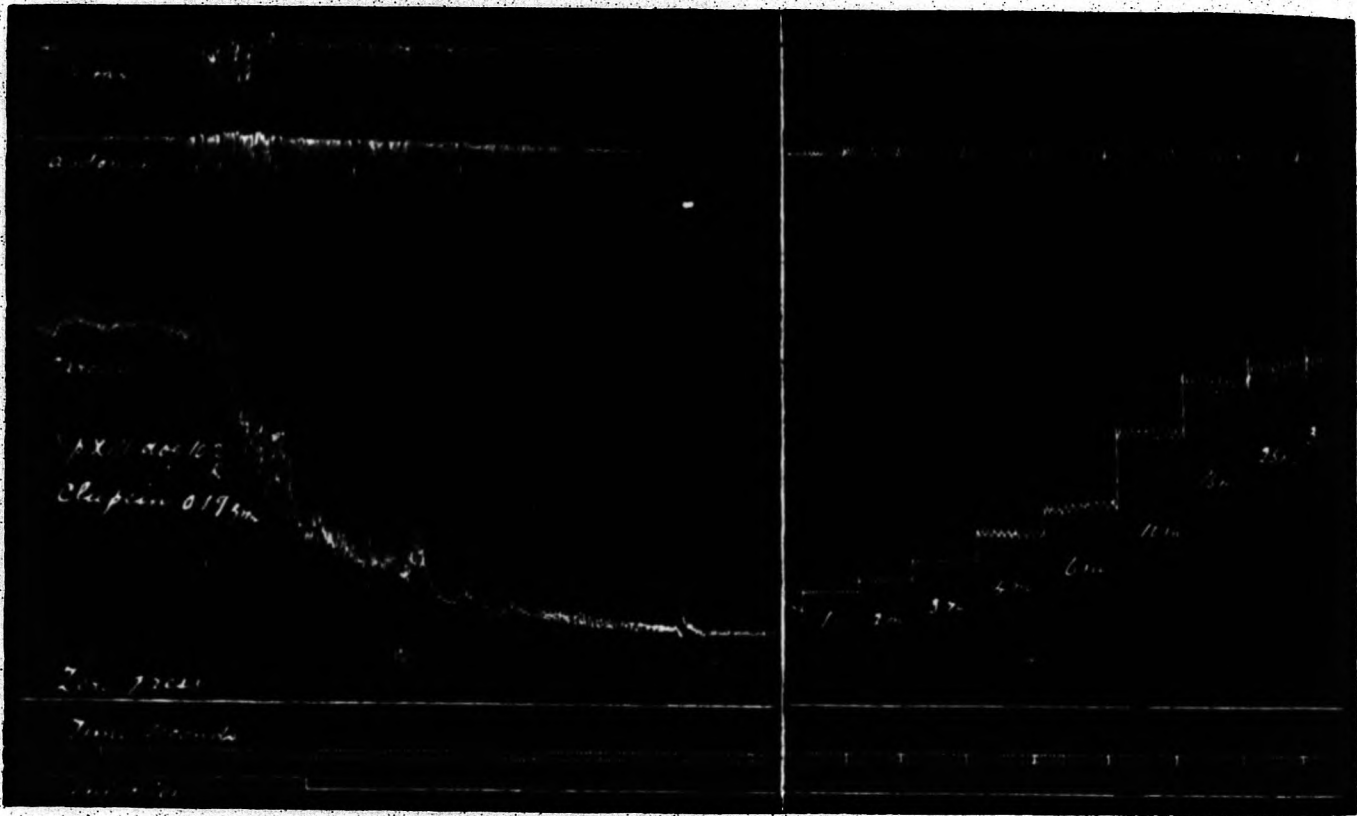


Fig. 1. Wirkung des Clupeins auf Blutdruck und Respiration.

Erniedrigung des Blutdrucks war bald nach dem Eintritt des Protamins in den Kreislauf bemerkbar. Diese führte schnell zum Tode, wenn mehr als eine gewisse Menge Protamin zugeführt worden war. Die tödtliche Dosis erwies sich als sehr klein. Für einen Hund von 10 kg Körpergewicht ergab sich die maximale Quantität des Clupeins, welche auf ein Mal ohne Gefahr hineingebracht werden konnte, als weniger wie 2 dg (15—18 cg). Von Sturin konnte etwas mehr (20—25 cg) injicirt werden. Fig. 1 stellt die Wirkung des Clupeins dar.

Nach einer nichttödtlichen Dosis des Protamins kann der Blutdruck wieder steigen und in der Regel erreicht er dann seinen normalen Stand nach 25—30 Minuten. Wird jetzt eine zweite Dosis gegeben, so erfolgt wiederum ein ähnliches Sinken des Blutdrucks. Diesmal kann man schon eine etwas grössere Menge einführen, ohne dass der Tod eintritt. Es ist also eine

gewisse « Immunität » vorhanden, aber die Grösse dieser Immunität ist relativ gering, viel geringer wie z. B. diejenige, welche eine Einspritzung von Albumose hervorruft, bei gleicher Wirkung in Bezug auf Erniedrigung des Blutdrucks. Fig. 2 zeigt die Wirkung einer zweiten Dosis von Clupein, demselben Versuch wie Fig. 1 entnommen.

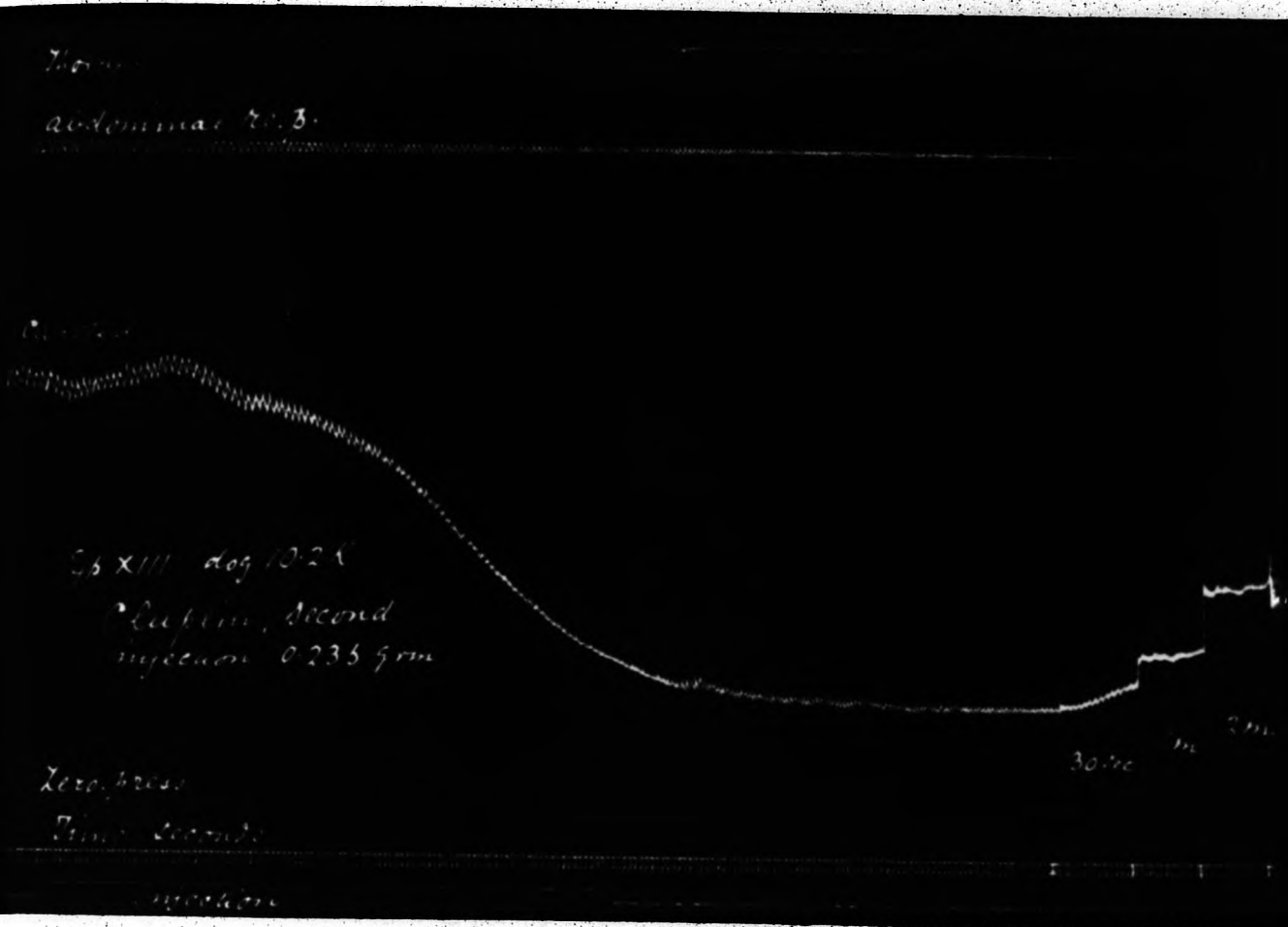


Fig. 2. Wirkung einer zweiten Dosis Clupein.

Andere Protamine lieferten identische Resultate. Die folgende Curve (Fig. 3) ist einem Versuch entnommen, in welchem Sturin injicirt worden war.

Ich habe an anderem Orte¹⁾ gezeigt, dass die vasodilatorische Wirkung der Albumosen hauptsächlich (wenn nicht ausschliesslich) einem peripherischen Einfluss auf die Gefässwandungen zuzuschreiben ist. Es erschien mir deshalb wünschenswerth, zu untersuchen, ob die Protaminwirkung in

²⁾ Journal of Physiology, Vol. XX, p. 455—473, 1896, Vol. XXIV, p. 374—409, 1899, und Vol. XXV, p. 1—21, 1899.

ähnlicher Weise vor sich geht. Ich wandte für diese Untersuchung eine Methode an, die eine Modification der früher von mir benutzten darstellt.

Der linke Splanchnicus wurde frei gelegt, mit Electroden versehen und central durchschnitten. Darauf wurden die Wirkungen einer Reizung gewisser Stärke auf den Blutdruck vor und nach der Einführung einer Dosis Protamins beobachtet. Fig. 4 zeigt die Resultate dieses Versuches.

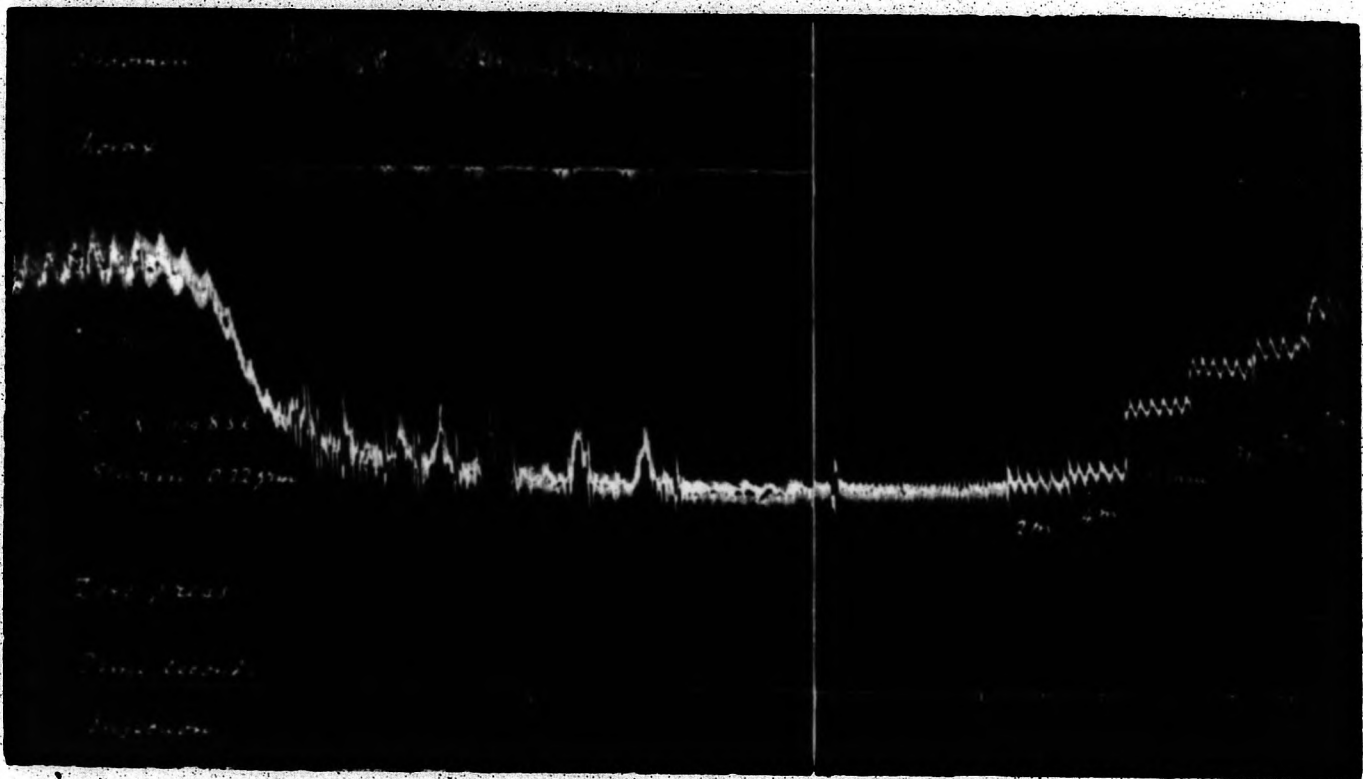


Fig. 3. Wirkung des Sturins auf Blutdruck und Respiration. 1)

Der erste Abschnitt folgender Figur zeigt eine beträchtliche Erhöhung des Blutdrucks als Resultat einer kurzen Reizung des linken Splanchnicus. Der zweite und dritte Abschnitt hingegen zeigt wenig oder keinen Einfluss von derselben Reizung nach Injection des Clupeins. Zwei Minuten später ist in dem vierten Abschnitt eine kleine Erhöhung zu sehen, jedoch als Folge einer stärkeren Reizung, während in dem letzten Abschnitt der Figur die peripherische Erregbarkeit wieder zurückgekehrt ist. Dieses zeigt sich bei einer Reizung von

1) Bei diesem Versuch wurde zur Aufzeichnung der abdominalen Athmung — Marey's Tambour-Cardiograph benutzt — daher gehen hier die Ausschläge nach verschiedenen Richtungen. Bei allen folgenden Versuchen ist der Bert-Marey'sche Apparat angewandt worden.

der ursprünglichen Stärke, 8 Minuten nach der Einführung des Protamins.

Man muss deshalb annehmen, dass die in Rede stehenden Substanzen peripherisch oder mit anderen Worten direkt auf die Wandung der Blutgefäße wirken, in ähnlicher Weise wie die Albumosen. Die Möglichkeit einer Centralwirkung ist trotzdem nicht ausgeschlossen. Um diese Möglichkeit zu erörtern, wurden keine Experimente ausgeführt.

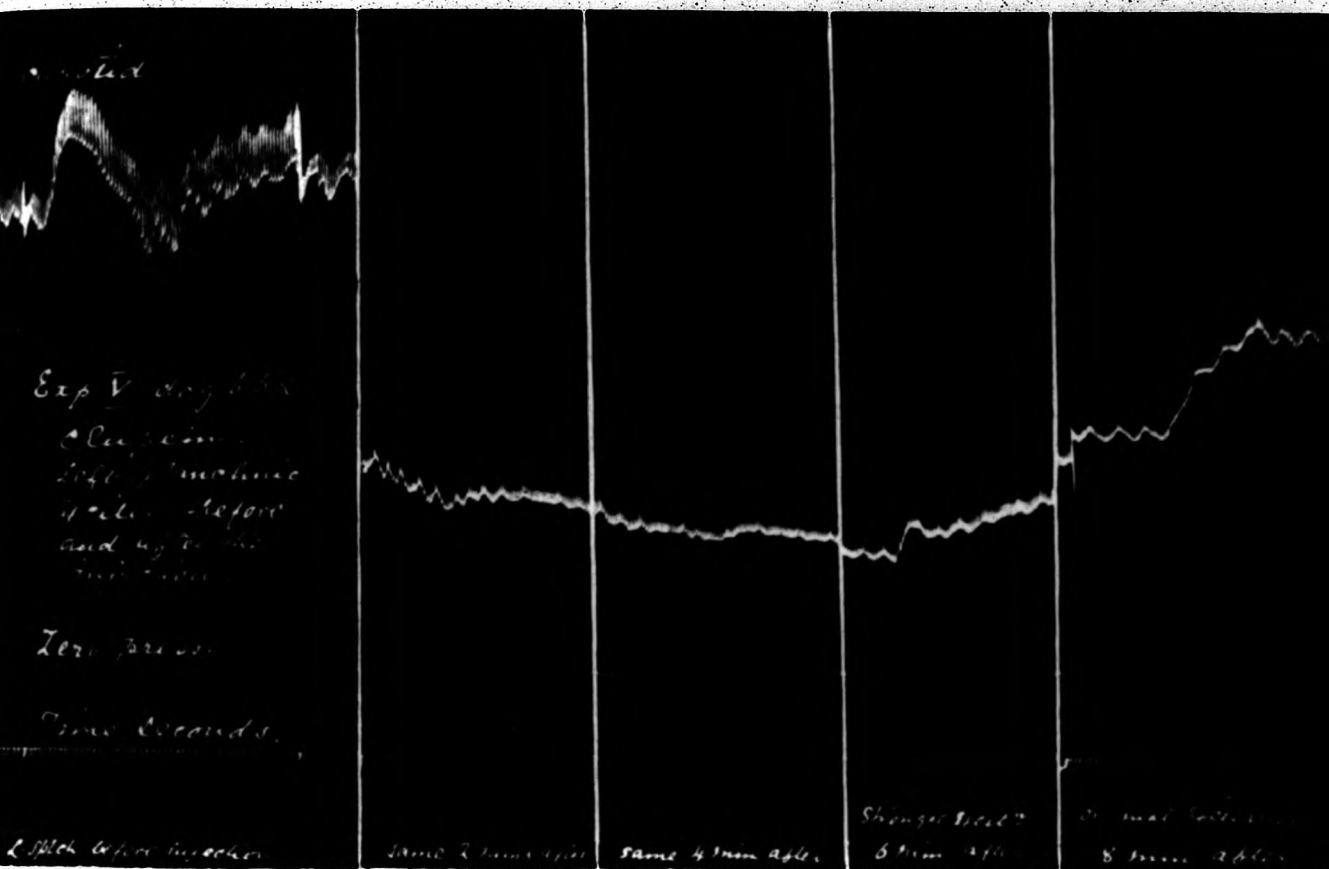


Fig. 4. Zusammenstellung von Abschnitten der beim Versuch V gewonnenen Curve. Wirkung der Reizung des linken Splanchnicus auf den Blutdruck der Carotis vor und zu verschiedenen Zeiten nach einer Einspritzung von Clupein. Zwischen dem ersten und zweiten Abschnitt ist der Blutdruck in Folge der Einspritzung gesunken.

Auch habe ich nicht speciell untersucht, ob diese Substanzen einen direkten schwächenden Einfluss auf den Muskel des Herzens ausüben. Dies ist sehr wahrscheinlich der Fall. In der That scheint es, wie wir gleich sehen werden, als ob alle Arten Muskelgewebe unter dem Einfluss des Protamins mehr oder weniger gelähmt werden.

2. Athmung. Schon bei den ersten Versuchen, die ich mit den Protaminen anstellte, zeigte sich, dass die Athmung von diesen Substanzen in merkwürdiger Weise beeinflusst wird. Wo in Folge der Einführung zu grosser Mengen des

Protamins der Tod eintrat, war er direkt der Aufhebung der Athembewegungen zuzuschreiben und durch künstliche Respiration zu verhindern: vorausgesetzt, dass die eingeführte Quantität die maximale nichttödliche Dosis nicht zu bedeutend überschritt. Wurden bei Eingabe nichttödlicher Dosen die Respirationcurven aufgeschrieben, so bemerkt man zugleich mit dem Sinken des Blutdrucks eine Vergrößerung und Beschleunigung der Athembewegungen, und zwar ebenso wohl der thorakalen wie der Bauchathmung. Dieses ist in der folgenden, übrigens auch in anderen Figuren, ersichtlich.

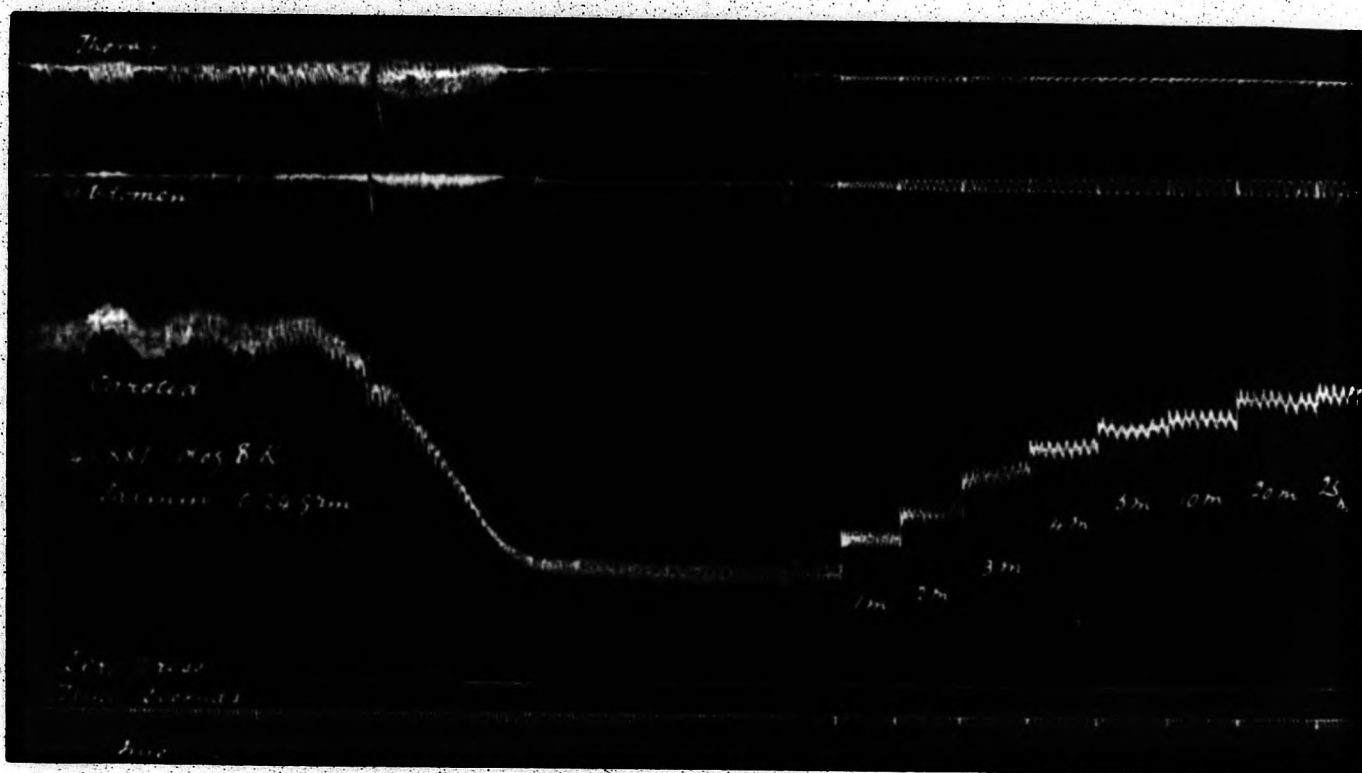


Fig. 5. Einfluss des Salmins auf die respiratorischen Bewegungen und den Blutdruck

Auf diese Vertiefung und Beschleunigung folgt eine Periode der Ruhe, welche in völligen Stillstand übergeht, und zwar werden in diesem Stadium Brust- und Bauchathmung in gleicher Weise beeinflusst. Nach einiger Zeit ist der allmähliche Wiederbeginn der Bauchathmung bemerkbar, deren Bewegungen immer tiefer und langsamer werden. Active Bewegungen der Brust bleiben aus, solange die Wirkung des Giftes dauert. Freilich sind Bewegungen der Brustwand in dieser dritten Periode öfters zu sehen. Aber sie sind rein passiver Natur, wie der Augenschein lehrte und wie verschiedene Curven deutlich zeigen. An diesen abdominalen

Athembewegungen war nicht nur das Zwerchfell, sondern auch die Muskulatur der Bauchwand betheilt.

Wenn nun während der Periode der vergrößerten abdominalen Athmung eine zweite Portion des Protamins injicirt wurde, so wurden die Bewegungen allmählich kleiner und kleiner und geriethen endlich in völligen Stillstand. Aus solch einem Zustand war die Wiederherstellung des Thieres unmöglich. Fig. 2 illustriert eine derartige Wirkung der zweiten injicirten Dosis.

Diese Veränderungen der Athmung sind schwer zu erklären. Die scharfe Trennung zwischen den beiden Muskelfunctionen, der Erhebung der Brustwand und der Senkung des Zwerchfells, deren eine gelähmt, deren andere compensatorisch vergrößert ist, scheint auf eine centrale Wirkung zu deuten. Andererseits habe ich keinen Zweifel daran, dass die Protamine einen peripherischen Einfluss auf die quergestreifte Muskulatur ausüben, ähnlich wie auf die glatten Muskelfasern der Gefäßwandungen. Hierüber sind die Versuche noch nicht abgeschlossen: doch möge erwähnt sein, dass ich, wenn die Substanz auf dem Höhepunkt ihrer Wirkung war, beobachten konnte, wie die Glieder der Versuchsthiere schlaff waren und dass die Muskulatur derselben weder willkürlich noch reflectorisch in Thätigkeit versetzt werden konnte.

3. Blutgerinnung. Dieser Vorgang wird durch Protamin auch beeinflusst, und zwar stets verlangsamt (nach privaten Mittheilungen schon von H. Kossel beobachtet). Eine einzige Dosis Protamin hatte in dieser Hinsicht nur wenig Wirkung, aber nach einer zweiten und viel mehr noch nach einer dritten wurde die Gerinnung öfters für 36 Stunden verzögert, sie blieb indes nie ganz aus. Das Nähere ist aus beifolgender Tabelle (Seite 10) ersichtlich.

Eine ähnliche Verzögerung der Gerinnung wurde hervorgerufen, wenn man etwas Blut in ein Reagensglas, das etwas Protaminlösung enthielt, hineinbrachte. In der Regel wurden drei Eprovetten genommen, deren jede einige Cubikcentimeter einer 1^o/oigen Protaminlösung enthielt. In diese wurden verschiedene Blutmengen gebracht. In vielen Fällen war im

Tabelle I. Einfluss der Protamine auf die Blutgerinnung.

Versuchs- Nummer	Körper- gewicht in Kilo	Injicirte Substanz	Quantität, eingeführt in Grammen	Normale Gerinnungszeit	Gerinnungszeit nach der ersten Injection	Gerinnungszeit nach der zweiten Injection	Bemerkungen
III	4.7	Clupein	(b) 0.142 (a) 0.185	8 Min. 10 Sec.	44 Min. 30 Sec.	nicht beobachtet	Hund ging zu Grunde
IV	10.45	"	(a) 0.179 (b) 0.152	13 " 40 "	29 " 30 "	nicht an demselben Tage	" " "
V	6.5	"	nicht notirt	11 " 35 "	nicht in 30 Min.	nicht an demselben Tage	" " "
XII	11.0	"	(a) 0.248 (b) 0.303	10 " 15 "	Gallertartig 63 Min. 30 Sec. Fest 123 " 30 "	Gallertartig nach 25 Min. 30 Sec.	" " "
XIII	10.2	"	(a) 0.190 (b) 0.235	12 " 20 "	35 Min. 20 Sec.		" " "
XXII	9.5	"	0.25	9 " 10 "	nicht in 40 Min.		" " "
XXV	6.0	"	0.21	10 " 0 "	" " 70 "		Hand blieb lebend
VII	11.5	Sturin	(a) 0.187 (b) 0.216	19 " 45 "	45 Min. 50 Sec.	am nächsten Morgen	" " "
VIII	7.5	"	0.5	18 " 40 "	am zweiten Morgen		Hund ging zu Grunde
IX	8.5	"	(a) 0.22 (b) 0.252	9 " 18 "	39 Min. 50 Sec.	nur weich am nächsten Morgen	Hand blieb lebend
XV	5.1	"	(a) 0.115 (b) 0.182	11 " 10 "	37 " 45 "	am nächsten Morgen	" " "
XVI	5.2	Scombrin	0.133	18 " 35 "	weich 102 Min. 30 Sec. fest am nächsten Morgen		" " "

NB. (a) bedeutet erste, (b) zweite Dose.

ersten Reagensglas ein Theil Blut dem gleichen Volumen der Lösung, im zweiten zwei Theile Blut und im dritten drei Theile Blut je einem Theil der Lösung beigemischt. Die Mischungsverhältnisse wurden aber bei den verschiedenen Versuchen geändert. Der erste Erfolg war ein Hellerwerden der Blutfarbe, zu gleicher Zeit war zu bemerken, dass das Blut in dünnen Schichten ein körniges Aussehen zeigte. Bei mikroskopischer Betrachtung erwiesen sich diese Körnchen als zusammengesetzt aus Klümpchen rother Körperchen, welche zusammenklebten und etwas gekrümmt waren. Bald trat eine schnelle Senkung der rothen Körperchen ein und eine schöne klare Schicht von Blutplasma erschien über dem Bodensatz.

Der Grad der Gerinnungsverzögerung wechselt mit der Menge der Protaminlösung. Bei Mischung gleicher Theile beider Flüssigkeiten dauert sie über Nacht und es war bei solchen Versuchen am nächsten Morgen nur eine sehr unvollkommene Gerinnung zu bemerken. Mit einem Verhältnisse von einem Volumen der Protaminlösung zu zwei Volumina Blut war die Gerinnung meistens während der Nacht eingetreten und ein festes Gerinnsel war am nächsten Morgen vorhanden. Die Versuche wurden immer Nachmittags ausgeführt. Bei einem Mischungsverhältniss von einem zu drei Theilen wurde die Coagulation nur 3 bis 4 Stunden verzögert.

Man bemerkte in allen Fällen, dass die untere Schicht der rothen Blutkörperchen eine beträchtliche Zeit vor der oben befindlichen Schicht Blutplasmas geronnen war.

Im Reagensglas zerstört die Protaminlösung die Leucocyten nicht, auch war keine wesentliche Veränderung an diesen Körperchen selbst zu sehen.

4. Zahl der Leucocyten im Kreislauf. Unter dem Einfluss der Protamine war eine sehr bedeutende Verminderung der Anzahl der circulirenden Leucocyten zu constatiren. Ihr Verschwinden stand im Allgemeinen in einem gewissen Zusammenhang mit dem Grad der Gerinnungshemmung. Doch kann man nicht gerade behaupten, dass die beiden Vorgänge parallel laufen. Die Einzelheiten sind in der folgenden Tabelle

gegeben, und zwar für Versuche mit den verschiedenen Protaminen.

Tabelle 2. Einfluss der Protamine auf die Zahl der circulirenden Leucocyten.

Versuchsnummer	Körpergewicht in Kilo	Injicirte Substanz	Quantität eingeführt in Grammen	Normalzahl der Leucocyten	Zahl nach der 1. Injection	Zahl nach der 2. Injection
XII	11,0	Clupein	{ (a) 0,248 (b) 0,303	16675	2656	Nicht beobachtet
XIII	10,2	»	{ (a) 0,190 (b) 0,235	11875	3906	1719
XXV	6,0	»	0,21	8190	687	Nicht beobachtet
IX	8,5	Sturin	{ (a) 0,22 (b) 0,252	10000	10000	5937
XV	5,1	»	{ (a) 0,115 (b) 0,182	28281	1875	781
XX	7,0	Salmin	{ (a) 0,152 (b) 0,230	18750	5469	Nicht beobachtet
XXI	8,0	»	{ (a) 0,24 (b) 0,262	17344	7344	4062
XVI	5,2	Scombrin	0,133	22812	1562	Nicht beobachtet

NB. (a) bedeutet erste und (b) zweite Dose.

Die Verminderung der circulirenden Leucocyten kann kaum auf Zerstörung derselben zurückgeführt werden, denn in vitro ist ja eine Auflösung nicht zu beobachten. Dafür spricht auch eine Beobachtung, die ich in Versuch XXV machte. Hier erreichte die Zahl der Leucocyten $\frac{3}{4}$ Stunde nach der Einführung des Protamins einen etwas höheren Stand wie vorher, zugleich war auch die Geschwindigkeit der Gerinnung wieder die ursprüngliche. Ein so schnelles Wiedererscheinen der Leucocyten wäre nicht denkbar, wenn die injicirten Stoffe sie zerstört hätten.

Ehe wir das Gebiet der Protamine selbst verlassen, mögen noch einige Worte über den Unterschied ihrer physiologischen Wirkung gesagt sein. Clupein und Salmin sind in chemischer Zusammensetzung identisch und Scombrin steht ihnen sehr nahe. Alle diese zeigten keine wahrnehmbaren

Unterschiede in ihrer physiologischen Wirkung. Sturin hingegen erschien etwas minder giftig. Ein Blick auf Tabelle 1 zeigt, dass — mit Ausnahme eines Versuches — die Thiere nach Sturineinspritzung am Leben blieben, und doch waren die Dosen in den meisten Fällen so hoch bemessen, dass Clupein oder Salmin in diesen Mengen sicher tödtlich gewirkt hätten.

Dieses ist von Interesse, weil das Sturin, wie Herr Professor A. Kossel gezeigt hat, in seiner Zusammensetzung den gewöhnlichen complexen Eiweisskörpern etwas näher steht als Salmin, Clupein und Scombrin.

Wirkung der Spaltungsprodukte.

a. Die Protone. Die nächsten Umwandlungsprodukte, welche durch Hydrolyse aus den Protaminen hervorgehen, sind die «Protone». ¹⁾ Dieselben sind in Wasser leichter löslich wie die Muttersubstanzen und geben in [alkalischer Lösung keine Fällung mit Eiweiss oder Propepton. Es war von vornherein nicht unwahrscheinlich, dass die Protone sich auch in ihren physiologischen Wirkungen von den Protaminen unterscheiden würden. Demgemäss stellte ich etwas Protonsulfat aus Clupeinsulfat durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure nach der Vorschrift von A. Kossel dar. Das Sulfat führte ich in Carbonat über und injicirte es in gleicher Weise wie vorher die Protamine; das heisst: das Carbonat wurde in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und dann mit einigen Tropfen verdünnter Salzsäure vor der Injeirung neutralisirt.

Drei Versuche wurden mit Clupeinproton ausgeführt und in allen waren ausgeprägte Abweichungen von der Wirkung eines Protamins zu constatiren. Der Hauptunterschied war der, dass eine viel grössere Menge und zwar fast dreimal so viel als die tödtliche Dose des Clupeins eingeführt werden konnte, ohne dass die bedrohlichen Erscheinungen eintraten. Also $\frac{1}{2}$ g erzeugt in einem 8 kg schweren Hund nicht mehr als eine kleine Erniedrigung des Blutdrucks. Die Athmung wurde

1) A. Kossel, Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 174.

auch nur sehr wenig beeinflusst, die Blutgerinnung war kaum verzögert und die Zahl der circulirenden Leucocyten nur wenig verringert. Fig. 6 gibt die Curve von einem dieser Versuche an.

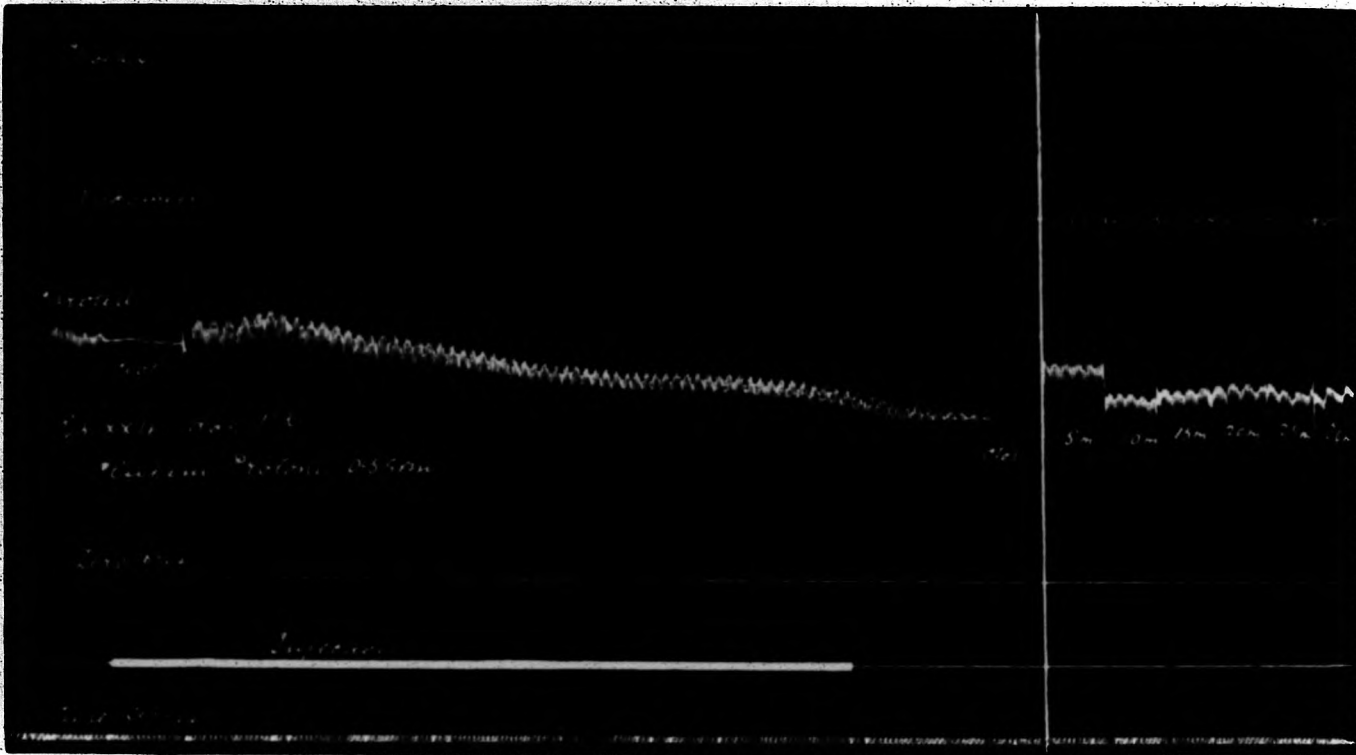


Fig. 6. Wirkung des Clupeinprotons auf Athembewegungen und Blutdruck.

Eine zweite Dose Proton ruft eine noch geringere Blutdruckerniedrigung hervor, aber meist verursacht sie Stillstand der Brustathmung. Die Blutgerinnung erweist sich auch verlangsamt und die Zahl der Leucocyten ist vermindert. Aber diese zwei letzteren Erscheinungen sind nie so ausgesprochen wie bei den Protaminen.

Die gerinnungshemmende Wirkung ist aus folgenden Zahlen ersichtlich, welche als Durchschnitt aus drei Versuchen dienen:

Normale Gerinnungszeit	9	Mim.	7	Sec.
Nach der ersten Protoninjection . .	18	»	27	»
Nach der zweiten Protoninjection .	27	»	32	»

Der Einfluss auf die Zahl der Leucocyten ergibt sich aus der folgenden Zusammenstellung. Die Ziffern stellen Mittelzahlen aus zwei der oben angeführten Versuche dar:

Normale Zahl der Leucocyten	pro cmm.	12,475
Zahl nach erster Protoninjection . .	»	11,395
Zahl nach zweiter Protoninjection . .	»	2,140.

Somit folgt, dass die Protamine bei ihrer Umwandlung in Protone ihre giftigen Eigenschaften im Wesentlichen verlieren.

b. Die Hexonbasen. Diese Körper gehen, wie schon oben erwähnt, durch tiefergreifende hydrolytische Spaltung aus den Protaminen hervor. Man bezeichnet als Hexonbasen: Arginin, Histidin und Lysin. Ich prüfte ihre physiologischen Wirkungen in derselben Weise wie die der Protamine.

Argininnitrat wurde in Carbonat umgewandelt, in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst und diese Flüssigkeit mit verdünnter Salzsäure neutralisirt. Histidin und Lysin wurden in Form der Chloride dargestellt. Die Reaction dieser Salze ist sauer. Nach der Lösung in normaler Kochsalzlösung wurde ihre Acidität durch Zusatz von Natriumcarbonatlösung aufgehoben.

Keine von diesen Basen zeigt irgend einen Einfluss auf Blutdruck oder auf Respiration. Arginin und Histidin beschleunigten ein wenig die Gerinnung des Blutes. Dieses ist von Interesse im Hinblick auf die Thatsache, dass das Antipepton nach Einführung in den Kreislauf ebenfalls die Blutgerinnung beschleunigt.¹⁾ Lysin scheint keinem Einfluss darauf zu haben. Das Arginin beschleunigt auch im Reagensglase ein wenig die Blutgerinnung, das Histidin thut es in viel höherem Grade.

In einem Versuch verminderte das Arginin die Zahl der Leucocyten von 12031 bis 4219 pro cmm., das Lysin nach zwei Injectionen von 16094 bis 11562. Histidin war ohne Einfluss.

Die Anzahl der Versuche, welche mit diesen Basen ausgeführt wurden, konnte nur eine sehr kleine sein, da die Darstellung von grösseren Mengen Schwierigkeiten macht, während doch die für den Versuch erforderlichen Substanzmengen viel grösser waren wie bei den Protaminversuchen. Für jeden Versuch wurden 2 g der erwähnten Basen angewandt. Mit Arginin wurden drei Versuche ausgeführt, mit Histidin und Lysin je einer.

¹⁾ Thompson op. cit., Spiro u. Ettinger. Diese Zeitschrift, Bd. XXIII, S. 121, 1897. Chittenden, Mendel, Henderson. American Journal of Physiology II, p. 142. 1899.

Dennoch haben die Versuche entschieden gezeigt, dass die giftigen Eigenschaften der Protamine in keiner der Hexonbasen wieder zu finden sind.

Daneben wurden auch Beobachtungen über den Einfluss des Arginins, Histidins und Lysins auf die Harnabsonderung angestellt. Die Resultate sollen in einer späteren Veröffentlichung vorbehalten bleiben.

c. Der Rückstand: Es blieb nun noch die Frage, ob die eigenartigen physiologischen Wirkungen nicht vielleicht dem Rückstand, welcher nach Abspaltung der Hexonbasen aus dem Protamin hinterbleibt, angehören. (In dem «Rückstand» ist auch die schon oben erwähnte Amidovaleriansäure einbegriffen).

Für diese Untersuchung wurde Clupeinsulfat in folgender Weise verarbeitet:

Dasselbe wurde am Rückflusskühler 8 Stunden mit dem dreifachen Volumen einer Schwefelsäure, welche auf 1 Volumtheil concentrirte Schwefelsäure 2 Volumtheile Wasser enthielt, gekocht. Nachdem die Hauptmenge der Schwefelsäure durch Baryt entfernt war, wurde das Arginin durch Silbersulfat und Baryt nach der Methode von A. Kossel ausgefällt, das Filtrat durch Schwefelsäure vom überschüssigen Baryt, durch Schwefelwasserstoff vom Silber befreit und zuletzt die überschüssige Schwefelsäure vollkommen durch die erforderliche Menge Baryt entfernt.

Der so gewonnene eingedampfte «Rückstand» war sehr hygroskopisch. Von der trockenen Substanz führte ich 0,37 g in der oben beschriebenen Weise in den Kreislauf eines Hundes ein. Um die oben angegebene Menge zu gewinnen, musste selbstverständlich eine bedeutend grössere Menge Protamin verarbeitet werden. Wenn nun die wirksame Atomgruppe in dem «Rückstand» vorhanden wäre, so müssten seine giftigen Eigenschaften viel stärker sein wie diejenigen des Protamins. Dies war aber nicht der Fall. Im Gegentheil war er ohne deutliche physiologische Wirkungen gefunden, mit Ausnahme eines sehr leicht erhöhenden Einflusses auf den Blutdruck.

Die toxischen Wirkungen der Protamine müssen deshalb in seiner Constitution im Ganzen gesucht werden, und nicht etwa in einer derjenigen Atom-

gruppen, die wir unter den Spaltungsprodukten vorfinden. Schon die Hydratation bewirkt, wie wir gesehen haben, eine wesentliche Verminderung der Toxicität.

Physiologische Wirkung des Histons.

Bekanntlich kann durch Extraction gewisser zellenreicher Gewebe, z. B. der Thymusdrüse des Kalbes,¹⁾ ein Eiweisskörper mit ausgeprägt basischen Eigenschaften gewonnen werden. Diesem Körper gab A. Kossel, der es zuerst in den rothen Blutkörperchen der Gans auffand, den Namen Histon. Liliensfeld²⁾ hat seinen Einfluss auf die Blutgerinnung studirt. In Anbetracht seiner Beziehungen zum Protamin erschien es wünschenswerth, die Wirkung dieses Eiweisskörpers auf den thierischen Organismus mit derjenigen der Protamine zu vergleichen. Ich stellte demgemäss etwas von dieser Substanz aus frischem Kalbsthymus dar und führte damit einige Versuche aus.

Seine Wirkung erwies sich derjenigen des Protamins sehr ähnlich. Die folgende Curve gibt ein Bild von der Wirkung des Histons:

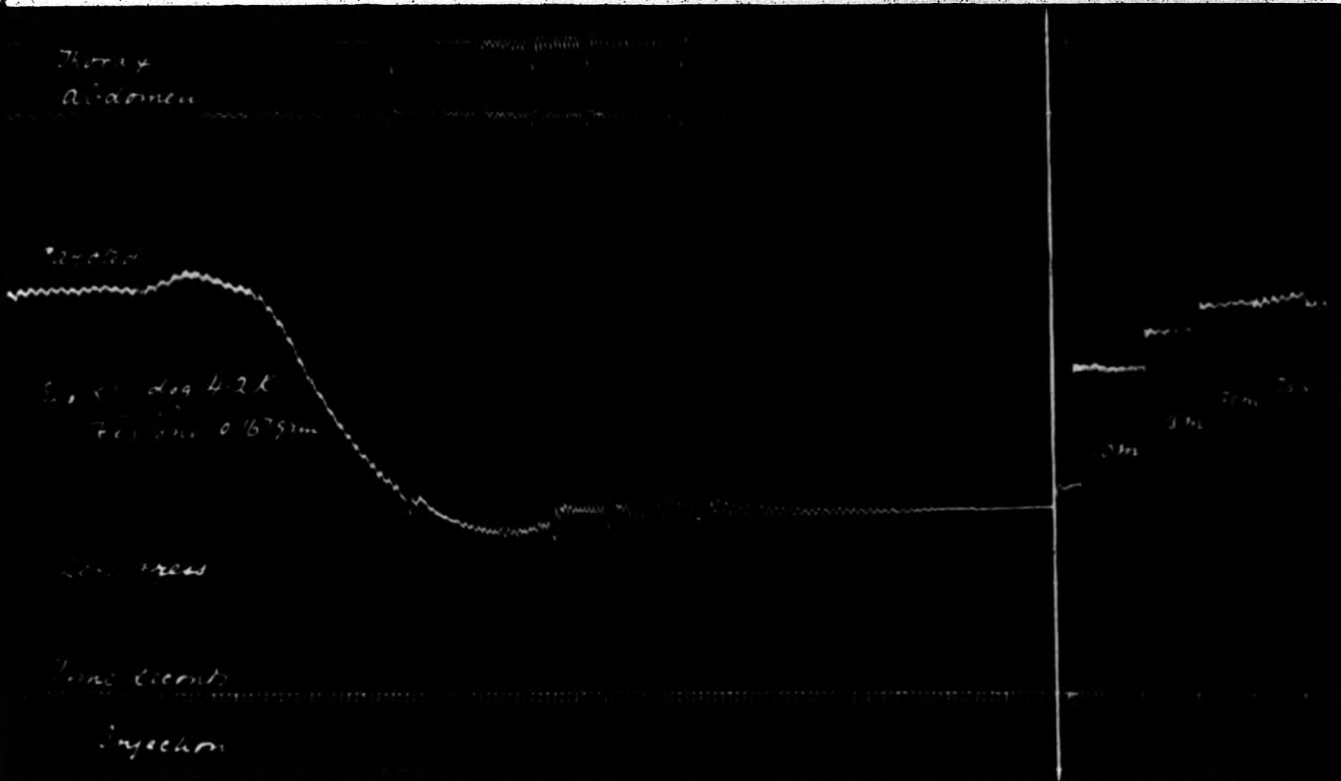


Fig. 7. Wirkung des Histons auf Blutdruck und Athembewegungen.

- 1) Liliensfeld. Diese Zeitschrift. Bd. XVIII, S. 473 ff. 1894.
- 2) Diese Zeitschrift. Bd. XX. S. 89. 1895.

Der Blutdruck erleidet eine starke Herabsetzung, während die Athembewegungen in einer sehr ähnlichen Weise wie durch Protamin beeinflusst wurden. Auch erwies sich die Blutgerinnung bei einem der Experimente verzögert und ebenso war die Anzahl der im Kreislauf befindlichen Leucocyten erheblich vermindert. Die Gerinnungszeiten waren bei beiden Versuchen die folgenden:

	Normale Gerinnungszeit.	Nach der ersten Injection.	Nach der zweiten Injection.
(1)	10 Min. 30 Sec.	8 Min. 20 Sec.	Gallertartig 85 Min.
(2)	7 » 30 »	15 » 55 »	7 Min. 40 Sec.

Die Zahl der Leucocyten war folgende:

	Normal.	Nach der ersten Injection.	Nach der zweiten Injection.
(1)	13437	313	131
(2)	16094	2006	469

Das Gewicht des Hundes im ersten Versuch war 7,2 kg., und die zwei betreffenden Dosen 15 und 30 cg. Im zweiten Versuch war das Gewicht des Thieres 4,2 kg. und die Dosen 16,7 und 29,8 cg.

Es ist mir nicht unwahrscheinlich, dass einige der Resultate, welche viele Forscher nach Einspritzung von Extracten thierischer Organe erhalten haben, durch die Anwesenheit von Histon in ihren Injectionsflüssigkeiten zu erklären sind.¹⁾

Zusammenfassung der Hauptresultate.

1. Die Protamine besitzen deutlich giftige Wirkung. Sie erniedrigen den Blutdruck stark, verzögern die Blutgerinnung, vermindern die Zahl der im Kreislauf anwesenden Leucocyten — und üben endlich einen eigenthümlichen Einfluss auf die respiratorischen Functionen aus.

2. Die Blutdruckerniedrigung kann erklärt werden durch peripherischen oder direkten Einfluss auf die Gefässwände; freilich ist es auch wahrscheinlich, dass eine Schwächung des Herzens eine Rolle bei ihrem Zustandekommen spielt.

¹⁾ Schäfer and Vincent, The physiological Effects of Extracts fo the Pituitary Body. Journal of Physiology. Vol. XXV. p. 94. 1899.

3. Die Wirkung auf die Athmung darf auch mindestens zum Theil einem direkten Einfluss auf die willkürliche Athemmuskulatur zugeschrieben werden. Es ist aber wahrscheinlich, dass daneben noch eine centrale Wirkung in Betracht kommt.

4. Wenn die Protamine durch Hydrolyse in Protone übergeführt werden, so sind die giftigen Eigenschaften sehr vermindert.

5. Die letzten Spaltungsprodukte: die Hexonbasen und der daneben bleibende chemisch noch nicht völlig bekannte Rückstand besitzen überhaupt keine giftigen Eigenschaften. Diese müssen daher in der Constitution des gesammten Protaminmoleküls begründet sein.

Ehe ich diese Mittheilung schliesse, muss ich dem Herrn Dr. Plenge, Assistenten am physiologischen Institut zu Marburg, für die werthvolle Hülfe bei der Ausführung der hier beschriebenen Versuche meinen aufrichtigen Dank ausdrücken.