

# Chemische und physiologische Studien über die Guanylsäure.

Von  
Ivar Bang.

## II. Theil.

### Physiologische Studien.

Mit vier Abbildungen.

(Der Redaction zugegangen am 19. Januar 1901.)

Während man die chemischen Untersuchungen über die Nucleosäuren sehr fleissig getrieben hat, liegen physiologische Untersuchungen über diesen Gegenstand beinahe garnicht vor. Nur ganz vereinzelt Untersuchungen sind hierüber veröffentlicht.

Minkowski<sup>1)</sup> beobachtete nach Fütterung mit Salmonucleinsäure bei Hunden eine reichliche Ausscheidung von Allantoin und bei Menschen eine entsprechende Vermehrung der Harnsäure.

Niemann<sup>2)</sup> hat nach Injection der Thymusnucleinsäure eine Hyperleucocythose gesehen.

Bei Alex. Schmidt<sup>3)</sup> ist zu lesen, dass Injection von Nucleoproteiden einen grossen Einfluss auf die Coagulation des Blutes ausübt. Lilienfeld<sup>4)</sup> findet nach Injection seines Nucleohistons ebenfalls grosse Veränderungen der Coagulationszeit des Blutes. Die Experimente Lilienfeld's sind aber wenig beweisend, da das Nucleohiston nicht ein einheitlicher Körper ist.

---

1) Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. Bd. 41.

2) Archiv f. Anatomie u. Physiologie, Physiol. Abth., 1899.

3) Blutlehre.

4) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XX.

Nach Pekelharing ist auch das Fibrinferment ein Nucleoproteid.

Im Anschluss an meine chemischen Untersuchungen über die Guanylsäure habe ich nun auch die physiologischen Wirkungen der Guanylsäure nach Injection in die Blutbahn studirt.

In dem ersten Versuch war die Aufmerksamkeit besonders auf eine Einwirkung auf die Coagulationszeit gerichtet.

Versuch Nr. 1. Bei einem Hunde (♂, 8 Monate alt) wurden art. und vena femoralis dextra freigelegt und Kanülen in beide Gefässe eingeführt, in die Vene zur Injection der Guanylsäure, in die Arterie zur Entnahme von Blutproben.

1<sup>h</sup> 40<sup>m</sup> p. m. wurde eine Vorprobe zur Bestimmung der normalen Coagulationszeit entnommen. Diese Probe coagulirte 1<sup>h</sup> 44<sup>m</sup>, also nach 4 Minuten.

1<sup>h</sup> 49<sup>m</sup> wurde 0,29 g Guanylsäure (Präparat Nr. IV), in 28 ccm. 0,7%iger Kochsalzlösung gelöst, injicirt.

1<sup>h</sup> 52<sup>1</sup>/<sub>2</sub><sup>m</sup> entnahm ich die erste Blutprobe, welche 2<sup>h</sup> 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub><sup>m</sup> coagulirte, also nach 10 Minuten. Die zweite Probe wurde um 1<sup>h</sup> 55<sup>3</sup>/<sub>4</sub><sup>m</sup> entnommen und coagulirte unvollständig in 16 Minuten, vollständig erst nach 20 Minuten. Die dritte Probe um 2<sup>h</sup> 5<sup>m</sup> coagulirte nach 9 Minuten. Die folgenden Proben coagulirten momentan.

Aus diesem Versuch geht hervor, dass die Injection einer sehr geringen Menge Guanylsäure eine deutliche anticoagulirende Wirkung auf die Coagulationsfähigkeit des Blutes ausübt. Diese Wirkung ist aber nur vorübergehend. Als Nachwirkung sieht man eine entgegengesetzte Wirkung: Verminderung der Coagulationszeit.

Während des Versuches beobachtete ich weiter folgende Erscheinungen:

Unmittelbar nach der Einspritzung wurde der Hund sehr unruhig. Die Respiration war unregelmässig und schnell. Dies Stadium dauerte aber nur ganz kurze Zeit und nach einigen Minuten lag der Hund wie in einer Narcose ganz ruhig da und reagirte kaum auf einen äusseren Eindruck. Die Respiration ist langsam und oberflächlich: Thorax und Abdomen arbeiten nicht mit einander synchron, indem die Abdominalexpiration

schneller als die thorakale Expiration verläuft. Andererseits ist die abdominale Inspiration verlängert. Am Ende des Versuchs (nach einer halben Stunde) treten wieder normale Verhältnisse ein. Weiter konnte man einen Einfluss auf den Blutdruck constatiren, indem das Blut bei der Entnahme der 2., 3. und 4. Blutprobe sehr langsam aus der Kanüle floss, während es vor und nachher in vollem Strahle ausspritzte. Die Guanylsäure übt somit eine toxische Wirkung auf Respiration und Blutdruck aus.

Während der Harn vor dem Versuch ganz normal war, entleerte der Hund nach dem Versuch einen Harn, welcher alkalisch reagirte, Eiweiss enthielt und reducirte. Polarithmetrisch bestimmt, enthielt er 0,78% Zucker, titrimetrisch (Fehling) 0,83%. Der Zucker vergor vollständig und es konnten schöne Osazonkrystalle dargestellt werden. Der Harnzucker war also Traubenzucker. Dagegen konnte eine Pentose nicht nachgewiesen werden. Ebenso wenig konnte die Guanylsäure in diesem Falle im Harn nachgewiesen werden. Nach 24 Stunden war die Glycosäure verschwunden, dagegen dauerte sowohl die Albuminurie wie die alkalische Reaction des Harns 48 Stunden.

Diese Ergebnisse forderten dringend zu einem genaueren Studium der verschiedenen Phänomene auf.

In den folgenden Versuchen wurde deshalb sowohl die Respiration als der Blutdruck graphisch registriert. Ebenso wurde die Coagulationsfähigkeit des Blutes und der Harn genau untersucht.

Die Respiration (thorakale und abdominale) wurde durch einen etwas modificirten Donders'schen Pneumographen, mit Marey'schen tambours à liviers verbunden, registriert. Auf den Tracées entsprechen die aufsteigenden Theile der Curve den Inspirationen, die Senkungen dagegen den Expirationen.

Der Blutdruck wurde durch eine Combination des Quecksilbermanometers mit einem Pistonrecorder registriert. Die Druckcurve des Manometers wird somit in eine Volumcurve übergeführt. Das Manometer war vollständig kalibriert und der Pistonrecorder genau verarbeitet. Durch Vorversuche

wurde das Verhältniss zwischen dem Druck des Manometers und den geschriebenen Ordinaten des Pistonrecorders festgestellt. Bei dieser Versuchsanordnung kann man immer den Blutdruck durch das Manometer kontrolliren. Weiter ist der unangenehme Ludwig'sche Hebel überflüssig und zum dritten kann man hier die Ausschläge des Recorders beherrschen und ändern und somit der Curve eine passende Dimension geben. Dieser Apparat functionirt sehr gut und registriert sehr genau.

Die Curven wurden auf einem Kymographion, das durch einen Dynamo getrieben wurde, aufgeschrieben. Das Papier war über 3 Meter lang und genügte bei einer Rotation von 2 mm. per Secunde zu einem Versuch von einer halben Stunde. Die Zeile ist immer in Secunden markirt.

Bei den folgenden Versuchen wurden zwei Arterien und eine Vene (gewöhnlich beide Carotiden und eine vena jugularis externa, aber in anderen Versuchen art. und vena femoralis frei präparirt. Die eine Arterie war mit dem Manometer zur Blutdruckbestimmung verbunden, die andere Arterie benutzte ich zur Entnahme von Blutproben. Das Blut wurde direkt aus der Arterie ohne Anwendung einer Kanüle in Uhrgläser gelassen. In die Vene wurde die Guanylsäurelösung mit einer Spritze injicirt. Die Guanylsäure war immer in 0,7% igem Kochsalz gelöst. Die Lösungen waren auf eine Temperatur von 37—38° erwärmt.

Ich habe, von dem ersten Versuch abgesehen, 3 Versuche mit Injection der Guanylsäure an Hunden ausgeführt und werde die Resultate referiren:

1. In allen Versuchen konnte man unmittelbar nach der Injection einen mehr oder weniger ausgebildeten Excitationszustand beobachten, der bald in eine Narkose überging. Die Narkose war aber niemals eine vollständige, sie war nur vorübergehend und dauerte einige Minuten.

2. Eine andere charakteristische Wirkung der Guanylsäureinjection ist die Einwirkung auf die Coagulationszeit, indem die Guanylsäure nach der Injection ins Blut eine deutliche anticoagulirende Wirkung ausübt. Folgende Tabelle zeigt die Coagulationsverhältnisse bei den einzelnen Versuchen:

Versuch Nr.	Injicirte Guanylsäure Menge per Kilo Hund	Normale Coagulationszeit		Maximale Wirkung der Guanylsäure.	
		m.	s.	m.	s.
1	0,058	3	50	20	—
2	0,018	10	—	19	—
3	0,040	6	—	2h	—
4	0,036	Nicht beobachtet		40	—

Man sieht aus der Tabelle, dass eine Injection von 0,04 g Guanylsäure per Kilo Hund eine nicht unbedeutende Verzögerung der Gerinnung ausübt, während diese Wirkung nach einer Injection von 0,02 g per Kilo weniger ausgebildet ist. Aber auch in diesem Falle ist eine deutliche Verzögerung zu constatiren.

Eine ähnliche Verzögerung der Gerinnung wurde hervorgerufen, wenn man etwas Blut in ein Reagensglas, das etwas Guanylsäurelösung enthielt, hineinbrachte. Zwei Blutproben, jede à 5 cem., wurden einem Hunde entnommen. Zu der einen Probe setzte ich 1 cem. 0,7%ige Kochsalzlösung, zu der anderen 1 cem. einer Guanylsäurelösung in 0,4%igem Kochsalz. Die Menge der Guanylsäure in 1 cem. war 0,02 g. Nach einer Stunde war die letzte Probe noch nicht geronnen, während die Kontrollprobe in 9 Minuten coagulirte. In allen Versuchen, sowohl nach dem Einspritzen der Guanylsäure ins Blut, als auch bei dem Reagensversuch, beobachtete ich eine ähnliche Erscheinung, wie Thompson<sup>1)</sup> bei seinen Reagensversuchen mit Blut und Protamin fand: das Blut bekam ein körniges Aussehen. Diese Körnchen erwiesen sich als zusammengesetzt aus Klümpchen rother Blutkörperchen. Bald trat eine schnelle Senkung der Körperchen ein und eine schöne, klare Schicht von Blutplasma erschien über dem Bodensatz.

Es ist nicht ohne Interesse, zu notiren, dass das Protamin in seiner Wirkung auf Gerinnung der Guanylsäure sehr nahe steht. Thompson<sup>1)</sup> fand, dass eine Injection von 0,01—0,03 g

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXIX.

Protamin pro Kilo Hund eine Verzögerung der Gerinnung von 8—44<sup>1</sup>/<sub>2</sub> m, 13—29<sup>1</sup>/<sub>2</sub> m u. s. w. hervorrief.

Sowohl die Guanylsäure als das Protamin üben somit eine anticoagulirende Wirkung in viel kleineren Dosen als die Albumosen aus.

3. Athmung. Wie man aus dem ersten Versuche erwarten konnte, übt die Guanylsäure eine ausgesprochene und merkwürdige Wirkung auf die Respiration aus. Dies ist aus Figur 1 ersichtlich.

Man findet während und unmittelbar nach der Injection eine forcirte Respiration. Dies Stadium entspricht genau der Excitationsperiode, welche vorher besprochen worden ist. Wenn es vorübergegangen ist, sieht man einen charakteristischen Respirationstypus: die Respiration zeichnet sich dadurch aus, dass die Brustathmung oberflächlich und langsam wird, während die diaphragmatische Athmung nicht besonders schwächer als vorher ist. Weiter sieht man, dass die abdomniale Respiration zwei inspiratorische Gipfel besitzt, wovon der erste, kleinere der Inspiration des Thorax entspricht, während der andere und grössere mit der Expiration des Thorax übereinstimmt. Nach dieser zweiten Inspiration kommt dann im Gegensatz zu der langsamen Expiration des Thorax eine kurze, kräftige Expiration des Abdomens. Die ganze Respiration macht den Eindruck, als ob sich ein Widerstand im Luftrohr befindet, den der Thorax sich vergebens bemüht, zu überwinden. Die starke Respiration des Abdomens führt es dann aus. Dieser Respirationstypus dauert während des ganzen Versuchs.

In einem folgenden Versuch kommt aber dieser Respirationstypus, welcher in drei Versuchen beobachtet ist, nicht besonders zum Vorschein, wie die Figur illustriert.

4. Blutdruck. Ebenso wie die Protamine eine Blutdruckerniedrigung hervorrufen, so ist auch nach der Injection von Guanylsäure eine schnelle und bedeutende Blutdruckerniedrigung bemerkbar, wie man aus den Tracéen ersehen kann. In den zwei Versuchen, deren Tracéen auf S. 208 und S. 209 wiedergegeben sind, haben wir eine Erniedrigung von 180 mm. Hg bis 70 mm. Hg und von 200 mm. Hg bis 130 mm. Hg, also nicht

weniger als 110 mm. Hg resp. 70 mm. Hg (Versuch Nr. 3 (Fig. 1) und 4 (Fig. 2)). In Versuch Nr. 2 war die Erniedrigung nur 20 mm. Hg (160—140 mm. Hg). In diesem Falle trat eine partielle Coagulation in der Kanüle ein. Die Blutdruckerniedrigung tritt schon während der Injection ein. (In Fig. Nr. 2 wurde die Guanylsäurelösung in 3 Portionen eingespritzt; man sieht danach 3 Erniedrigungen; die letzte ist dauerhaft.) Weiter dauert die Erniedrigung einige Minuten. Dann steigt der Blutdruck langsam und ist nach etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde wieder normal. Besonders die Pulsbewegungen werden während der Erniedrigung sehr klein und wachsen wieder, wenn der Blutdruck steigt. Zuletzt werden auch sie normal.

Aus meinen Versuchen geht nicht mit Bestimmtheit hervor, auf welche Weise die Guanylsäureinjection die Blutdruckerniedrigung hervorruft. Man kann ebenso gut an eine Arterien-dilatation als an eine Parese des Herzens denken.

Das Schicksal der Guanylsäure nach der Einspritzung ist völlig unbekannt. Sie wird nicht oder jedenfalls nur in geringer Menge mit dem Harn ausgeschieden. Nur in einem Falle (Versuch Nr. 5) konnte ich die Guanylsäure im Harn nachweisen und zwar nur in geringer Menge. Einige Spaltungsprodukte der Guanylsäure, wie Pentosen, kommen nicht in den Harnen vor.

Die übrigen Folgen der Guanylsäureinjection sind im Harn zu sehen.

5. Die alkalische Reaction. Während der Harn unmittelbar vor dem Versuch sauer reagiert, kann man schon ca. 1 Stunde nach der Injection in ihm eine ausgesprochene alkalische Reaction finden. Nach 24—48 Stunden reagiert der Harn wieder sauer. Die alkalische Reaction ist in den meisten Fällen ausgeprägt, in einem Falle war jedoch die Reaction ziemlich neutral, niemals habe ich aber eine saure Reaction gefunden. Die alkalische Reaction stimmt nicht mit einer vermehrten Ammoniakausscheidung überein, denn die Harnen enthalten nicht mehr Ammoniak als die normalen Harnen. Das Auftreten der alkalischen Reaction ist ganz unverständlich, da die injicirten Guanylsäurelösungen deutlich sauer reagierten.

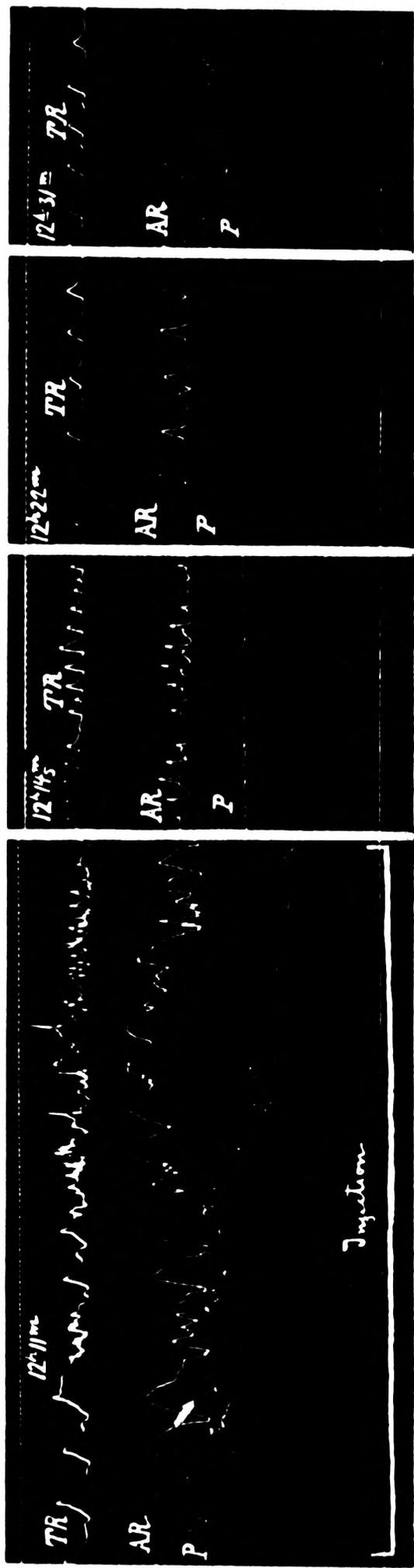


Fig. 1.

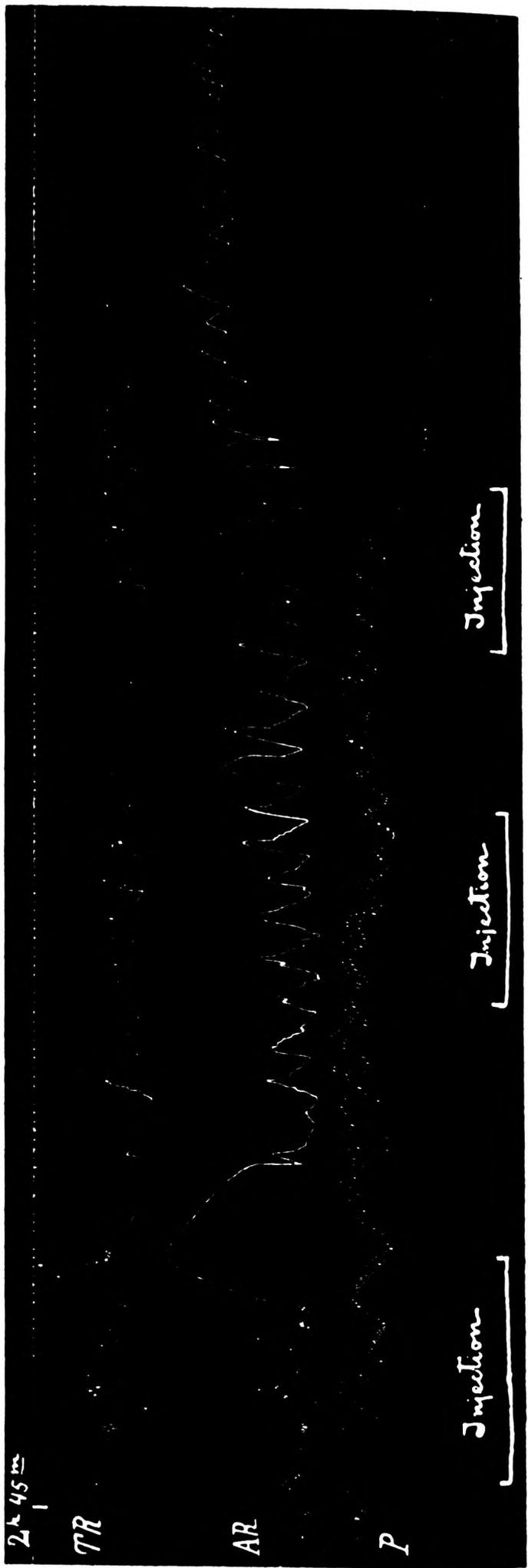


Fig. 2.

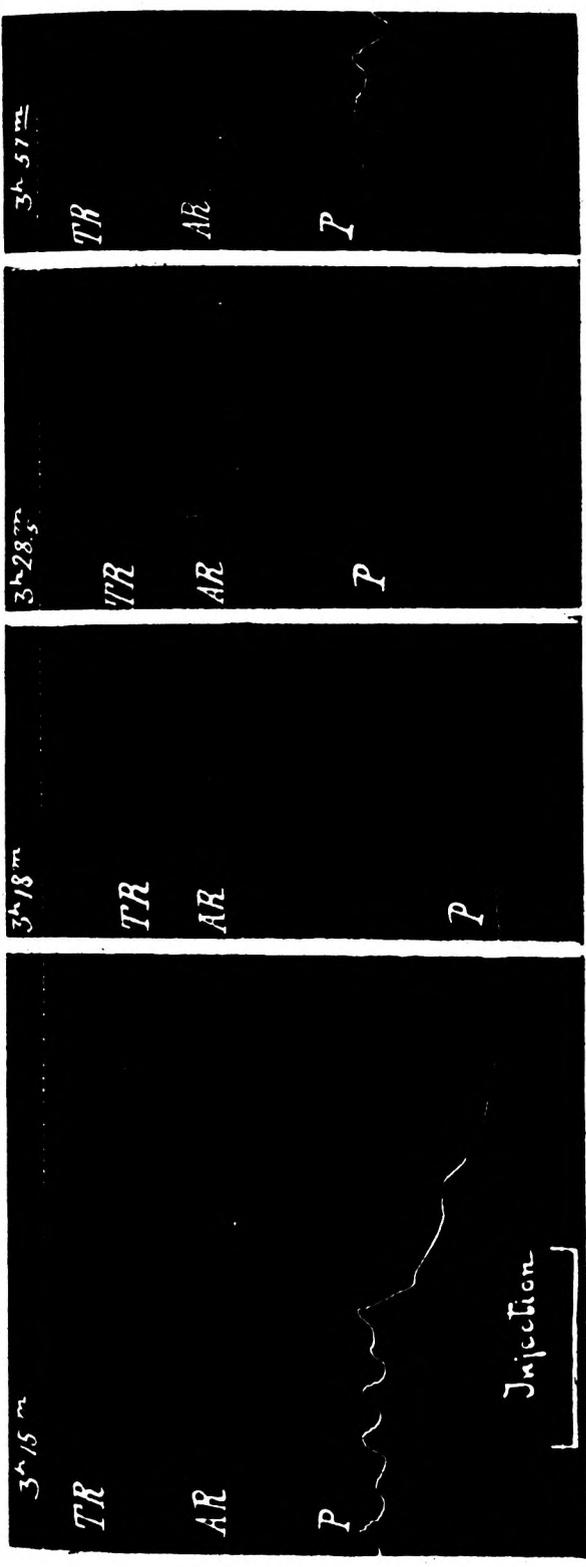


Fig. 3.

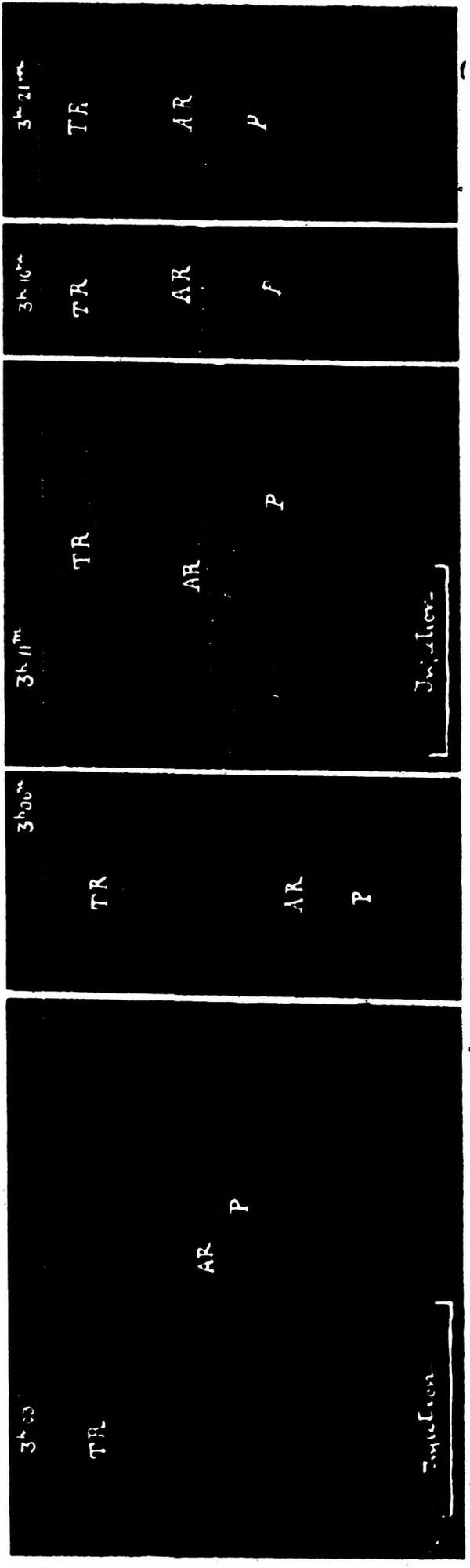


Fig. 4.

6. Die Albuminurie. Die alkalische Reaction des Harnes war in allen Fällen von einer echten Albuminurie begleitet, welche nur vorübergehend war. Das Eiweiss war immer ein genuiner Eiweisskörper und nicht Albumosen. Die Menge des Eiweisses war ungefähr 1—3 ‰.

Die Ausscheidung des Eiweisses kommt entweder von der Blutdruckerniedrigung her, oder es übt die Guanylsäure eine toxische Wirkung auf die Nieren aus.

7. Die Glycosurie ist nur einmal beobachtet.<sup>1)</sup> Die Ursache der Glycosurie in diesem Falle ist ganz unbekannt. In zwei anderen Fällen habe ich die Hunde vor dem Versuche reichlich gefüttert, um den Glycogenvorrath zu erhöhen, ohne jedoch Glycosurie zu sehen.

Ich habe hiermit die Resultate meiner Untersuchungen über die Guanylsäure referirt. Ebenso wie diese Nucleinsäure in chemischer Beziehung interessant und eigenthümlich ist, so ist dies auch mit ihr der Fall, wenn wir die physiologischen Thatsachen überblicken. Keiner anderen, bis jetzt beschriebenen Nucleinsäure hat man solche physiologischen Wirkungen zuschreiben können.

Es wäre nicht ohne Interesse, die physiologischen Wirkungen der Guanylsäure mit denen des Nucleoproteids zu vergleichen.

Da indessen solche Untersuchungen nicht vorliegen, habe ich es unternommen, einige physiologische Untersuchungen mit dem  $\beta$ -Nucleoproteid anzustellen.

Das  $\beta$ -Nucleoproteid verdanke ich theils Prof. Hammarsten, theils habe ich es selbst nach Hammarsten's Methode dargestellt.

Die Versuchsanordnung war ganz dieselbe wie bei den Guanylsäureversuchen.

Ich habe 5 Thierversuche ausgeführt. Die Versuchsthiere waren Hunde. Es wurden untersucht: Athmung, Blutdruck, Coagulationsfähigkeit und Harn.

<sup>1)</sup> Die Guanylsäure wurde im Ganzen 5 Hunden injicirt.

1. Das Nucleoproteid bewirkt, wenn es in einer ähnlichen Menge wie bei den Guanylsäureversuchen eingespritzt wird, ganz dieselben Erscheinungen der Excitation und eines folgenden narkosenähnlichen Zustandes.

2. Wie die Guanylsäure übt auch das Nucleoproteid eine Verzögerung der Coagulation aus. Diese Wirkung ist beim Nucleoproteid mehr hervortretend als bei der Guanylsäure.

Ver- suchs- Nr.	Injicirte Menge Nucleoproteid pro kg Hund	Normale Coa- gulationszeit		Maximale Wirkung	
		m.	s.	m.	s.
6	0,05 g	8	—	Nach 24 St. nicht coagulirt.	
7	0,053 „	4	—	1 h 43 m.	
8	0,049 „	8	—	Nach 5 St. theilweise coagulirt.	
9	0,050 „	11	—	Nach 24 St. nicht coagulirt.	

Die Injection einer Proteidmenge von 0,05 g per Kilo Hund hebt die Coagulationsfähigkeit des Blutes vollständig oder beinahe vollständig auf. Dies bestätigt die Mittheilungen Alex. Schmidt's über die anticoagulirende Wirkung der Nucleoproteide.

Bekanntlich sind die Albumosen bei Injection ins Blut von Kaninchen unwirksam. Die Gerinnung des Kaninchenblutes wird dadurch nicht gestört. Das Nucleoproteid dagegen übt auch seine Gerinnungshemmung auf das Kaninchenblut aus, wie folgender Versuch zeigt: Einem Kaninchen, 1800 g schwer, wurde 0,25 g Proteid, 0,14 g pro Kilo, eingespritzt. Die normale Coagulationszeit war 13 Minuten. Nach der Injection coagulirte das Blut in 26<sup>1</sup>/<sub>2</sub> und 23<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Minuten.

Eine Wirkung lässt sich also auch hier nachweisen, obwohl weniger ausgeprägt als beim Hundeblood.

3. Das Proteid übt eine Wirkung auf die Athmung aus: Unmittelbar nach der Einspritzung wird die Athmung schneller und tiefer, später aber sehr oberflächlich. Nur ausnahmsweise lässt sich eine Athmung wie bei den Guanylsäureversuchen nachweisen. Uebrigens verweise ich auf Figur 3.

4. Ebenso wie die Guanylsäure bewirkt eine Einspritzung

von Proteid eine schnelle und tiefe Erniedrigung des Blutdruckes. Der Blutdruck sinkt von 160 mm. Hg bis 40 mm. Hg, also nicht weniger als 120 mm. Hg, und von 180 mm. Hg bis 120 mm. Hg, 60 mm. Hg, von 220 mm. Hg bis 80 mm. Hg, 140 mm. Hg. Eine folgende Injection von Proteid, nachdem der Blutdruck wieder normal geworden war, bewirkte eine neue Erniedrigung des Blutdruckes von 220 mm. Hg bis 120 mm. Hg. (Siehe Figur 4.)

Die Blutdruckerniedrigung ist auch nach der Einspritzung von Proteid nur vorübergehend und hört nach einigen Minuten langsam wieder auf. Die Pulsbewegungen sind während der Erniedrigung sehr klein. Sie wachsen mit dem Blutdruck.

5. Im Harn findet man im Gegensatz zu den Guanylsäureversuchen keine alkalische Reaction. Ebenso ist die Ausscheidung von Eiweiss sehr unbedeutend. Dagegen findet man im Harn regelmässig eine grössere oder geringere Menge Proteid.

Weiter habe ich im Harn auch Zucker gefunden. Von den 5 Versuchen habe ich 3 Mal eine Ausscheidung von Traubenzucker gefunden (nicht Pentose). Der Zuckergehalt war 1,5%, 1,6% und 0,4%. (Uebereinstimmende polarimetrische und titrimetrische Bestimmungen.) In einem Falle (Nr. 4) enthielt der Harn zwar reichlich Zucker, der Versuch war aber wenig beweisend, da der Harn mit ausgebrochenen Brotresten verunreinigt war. Man musste deshalb eine Inversion der Stärke des Brotes befürchten. Endlich war der Harn in einem Falle zuckerfrei.

Wenn ich aber bemerke, dass der Hund in dem letzten Falle eine längere Zeit auf Inanition gehalten war, wird der Widerspruch vielleicht auf folgende Weise gelöst: Nach Injection von Nucleoproteid bekommen die Hunde Glycosurie, wenn sie einen reichlichen Glycogenvorrath haben, nicht aber wenn sie arm an Leberglycogen sind. Ich kann hinzufügen, dass alle übrigen Hunde vorher reichlich gefüttert worden waren.

Selbstverständlich meine ich, nicht durch meine wenigen Versuche die Frage der Glycosurie gelöst zu haben. Ich

sehe aber meine Erklärung für das Auftreten des Zuckers im Harne als die vorläufig am meisten plausible an.

Jedenfalls sehe ich meine Erklärung als eine brauchbare Arbeitshypothese für eventuelle Untersucher an.

Ich glaube dazu berechtigt zu sein, die Glycosurie als ein Sympton nach Injection des Nucleoproteids aufzustellen.

Die Harne enthielten keine  $\beta$ -Oxybuttersäure und nicht Aceton.

Vergleichen wir die Versuchsergebnisse nach der Injection von Guanylsäure und Nucleoproteid, so stimmen diese in vielen Beziehungen sehr gut mit einander überein. In beiden Fällen finden wir Excitation und Narkose der Thiere, ähnliche Athmung und Blutdruckerniedrigung. Nur im Harne begegnen wir deutlichen Verschiedenheiten, bei den Guanylsäureversuchen alkalische Reaction und Albuminurie, bei dem Proteid vorzugsweise Proteidurie und Glycosurie.

Es wäre in dieser Hinsicht nicht ohne Interesse, den Eiweisscomponenten des Proteids in physiologischer Beziehung zu erforschen. Versuche hierüber fehlen. Auch kennen wir nicht seine chemischen Eigenschaften und Zusammensetzung. Ich habe mich aber davon überzeugt, dass der Eiweisscomponent in chemischer Beziehung sehr eigenartig ist. Er kann z. B. nicht gut in eine bestimmte Eiweissgruppe einrangirt werden.

Ich benutze die Gelegenheit, Herrn Prof. Torup, welcher mich bei der Ausführung der Thierversuche und sonst in vielfacher Weise unterstützt hat, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.