

Über die Einwirkung einiger Porphyrine auf Paramaecien.

Von

Hans Fischer und G. A. v. Kemnitz.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität München.)

(Der Redaktion zugegangen am 6. Dezember 1915.)

Nachdem H. Fischer¹⁾ Urin- und Kotporphyrin aus Harn bzw. Stuhl eines Patienten in krystallisiertem Zustand isoliert hatte, war es von besonderem Interesse zu untersuchen, ob auch diese Porphyrine sensibilisierende Wirkung auf Paramaecien ausüben. Von Hausmann²⁾ ist ja bekanntlich gezeigt worden, daß die am besten studierten Porphyrine des Blutfarbstoffs, Meso- und Hämatoporphyrin, intensiv sensibilisierend auf diese Tiere wirken. Es war zu erwarten, daß Urin- und Kotporphyrin gleichfalls sensibilisierende Wirkung zeigen würden, waren doch bei dem Patienten selbst deutliche Lichtsymptome bemerkbar und hatte allerdings noch unreines Urinporphyrin bei einem Meerschweinchen Lichtkrankheit³⁾ erzeugt. Um so erstaunter waren wir, als wir sahen, daß Urin- und Kotporphyrin unter den der Untersuchung zugrunde liegenden Bedingungen keinerlei Einwirkung auf Paramaecien ausübte. Bei dieser Gelegenheit untersuchten wir auch Hämato- und Mesoporphyrin vergleichend quantitativ in ihrer Wirkung auf Paramaecien und es stellte sich heraus, daß

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 95, S. 34 und Bd. 96, S. 148.

²⁾ W. Hausmann, Biochem. Zeitschr., Bd. 30, S. 276 und Bd. 67, S. 309 u. a. O.

³⁾ Selbstverständlich sollen diese Sensibilisierungsversuche auch am höheren Tier, sowie an Erythrocyten ausgeführt werden. Das Verhalten der letzteren ist von großem Interesse, weil ich neuerdings bei Untersuchung des frischen Urins meines Porphyrinpatienten gefunden habe, daß hier nebenbei noch ein hämatinähnlicher Farbstoff ausgeschieden wird.

H. Fischer.

Mesoporphyrin weit stärker sensibilisierend auf Paramaecien wirkt wie Hämatoporphyrin. Bei einer Konzentration von 1 : 500000 war bei Hämatoporphyrin keinerlei Wirkung mehr zu konstatieren, während Mesoporphyrin in einer Verdünnung von 1 : 8 Millionen noch starke Wirkung ausübte. Von Färbung ist natürlich in einer derartigen Lösung nichts mehr zu erkennen.

Es unterliegt also keinem Zweifel, daß auf Paramaecien Mesoporphyrin intensivere Lichtwirkung auslöst wie Hämatoporphyrin, und dies ist besonders bemerkenswert, weil H. Fischer¹⁾ und seine Mitarbeiter beim höheren Tier das umgekehrte Resultat gefunden haben. Die damaligen Versuche waren alle mit dem Natronsalz des Mesoporphyrins angesetzt worden und es war die Möglichkeit vorhanden, daß dieses, weil nahezu unlöslich, unter der Haut bei der subcutanen Einspritzung an Ort und Stelle liegen bliebe und deshalb beim Mesoporphyrin keine Wirkung zu beobachten sei. Aus diesem Grunde wurden die damaligen Versuche mit dem relativ leicht löslichen Kalisalz an weißen Mäusen wiederholt, dabei aber nur die alten Resultate bestätigt. Nur in vereinzelt Fällen gelang eine leichte Sensibilisierung, und diese Tiere zeigten dann nach 8—10 Tagen sehr schön das Bild der chronischen Lichterkrankung, wie es von Hausmann (l. c.) bei Hämatoporphyrin-Mäusen beschrieben worden ist. Während jedoch wegen der großen Giftigkeit des Hämatoporphyrins die chronische Form hier nur schwierig zu erzeugen ist, gelingt dies beim Mesoporphyrin sehr leicht.

Bei den Belichtungsversuchen mit Urin- und Kotporphyrin²⁾ bemerkten wir noch eine interessante Verschiedenheit der beiden Farbstoffe. Kotporphyrin ist nämlich bedeutend lichtempfindlicher wie Urinporphyrin, indem seine Lösungen bei

¹⁾ H. Fischer und Meyer-Betz, Diese Zeitschr., Bd. 82, S. 96, Fischer, Bartholomäus und Röse, Diese Zeitschr., Bd. 84, S. 269.

²⁾ In der zweiten Mitteilung über Kotporphyrin habe ich angegeben, daß O. Schumm im Falle Günther im Stuhle des Patienten das Porphyrin spektroskopisch nachgewiesen habe. Dies ist ein Mißverständnis. O. Schumm hat im Stuhl eines Sulfonal-Porphyrinpatienten die Spektralerscheinung der Porphyrine erkannt (vgl. diese Zeitschr., Bd. 96, S. 194, Anmerkung).

Belichtung nach vorhergehendem Umschlag in Grün schnell ausbleichen, während das Urinporphyrin relativ lichteht ist. Diese Verschiedenheit ist offenbar bedingt durch die verschiedene Anzahl der Carboxylgruppen. Das 7 Carboxylgruppen enthaltende Urinporphyrin ist lichtehter wie das nur 3 Carboxylgruppen enthaltende Kotporphyrin. Ähnliche Erscheinungen findet man auch auf dem Gebiet der Teerfarbstoffe, wo der Eintritt von Carboxylgruppen in vielen Fällen erhöhend auf die Lichtehtheit der betreffenden Farbstoffe wirkt.

Experimentelles.

Zunächst wurden von den zu untersuchenden Farbstoffen Stammlösungen angefertigt, die dann zu den weiteren Verdünnungen benutzt wurden. Hierzu wurde destilliertes¹⁾ Wasser verwandt, nachdem wir uns vorher überzeugt hatten, daß dieses innerhalb einiger Stunden keinen schädigenden Einfluß auf Paramaecien ausübte, außerdem wurde bei allen Versuchen zur Sicherheit außer der Dunkelkontrolle noch eine Lichtkontrolle mit destilliertem Wasser ohne Farbstoffe mitbeobachtet.

I. Hämatoporphyrin 1 : 10 000. 0,1 g krystallisiertes salzsaures Hämatoporphyrin wurden in Wasser gelöst, 20 ccm $\frac{1}{10}$ -Natronlauge zugegeben, und auf 1000 aufgefüllt.

II. Mesoporphyrin 1 : 10 000. 0,1 g salzsaures Mesoporphyrin wurden mit 20 ccm $\frac{1}{10}$ -Normalnatronlauge in einer Reibschale zu einem gleichmäßigen Brei zerrieben, und die Suspension dann mit Wasser in eine Litermeßflasche übergespült und auf 1000 ccm aufgefüllt.

¹⁾ Destilliertes Wasser nahmen wir mit Rücksicht auf das Mesoporphyrin, das bei Zusatz von Leitungswasser als Kalksalz ausfällt. Dies war auch seinerzeit die Ursache, daß bei den bakteriologischen Versuchen H. Kämmerers (vgl. Verhandlungen des Kongresses für innere Med., 1914) anfangs kein Resultat erzielt werden konnte, weil eben das Mesoporphyrin mit den Nährböden stets ausflockte. Um diese Klippe zu vermeiden, gab ich das komplexe Eisensalz des Mesoporphyrins, das Mesohämin, H. Kämmerer in Lösung, worauf er dann die selektive Einwirkung dieses Körpers auf die grampositiven Bakterien entdeckte.

III.- und IV. Die Stammlösungen Urin- und Kotporphyrin wurden durch Lösen von je 0,1 g Farbstoff in 10 ccm $\frac{1}{10}$ -Normalnatronlauge und Auffüllen auf 1000 ccm gewonnen.

Versuchsergebnisse.

In einer Konzentration von 1 : 50 000 war zwischen Hämato- und Mesoporphyrin kein Unterschied festzustellen. Beide Farbstoffe töteten bei Belichtung innerhalb 13 Minuten sämtliche Tiere, während bei den Dunkelkontrollen auch nach 3 Stunden keinerlei Einwirkung zu bemerken war. Es wurde selbstverständlich bei sämtlichen Versuchen dafür Sorge getragen, daß die Menge der zugesetzten Tiere soweit möglich die gleiche war.

In einer Konzentration von 1 : 200 000 waren deutliche Unterschiede zu konstatieren. Beim Hämatorporphyrin war nach 8 Minuten dauernder Bestrahlung durch die Sonne keine deutliche Wirkung zu konstatieren, nach 19 Minuten intensive Wirkung, nach 1 Stunde alles tot. Dunkelkontrollen ohne Schädigung. Ganz anders beim Mesoporphyrin. Schon nach 5 Minuten war intensive Wirkung sichtbar, nach 8 Minuten waren alle Paramecien tot, nur einige kleinere Infusorien lebten noch, die nach 1 Stunde ebenfalls tot waren. — Diese Infusorien waren als Verunreinigung in der Kultur vorhanden und es wurde stets beobachtet, daß diese viel langsamer auf das Licht reagierten wie die Paramecien.¹⁾ Um welche Art es sich hierbei handelt, wurde nicht ermittelt. — Die angegebenen Versuche wurden stets fünffach angesetzt und verschiedentlich wiederholt. Der hier beschriebene Versuch wurde am 19. 10. ausgeführt, zwischen 12 und 1 Uhr. Es ist leicht möglich, daß im Hochsommer noch kürzere Lichteinwirkung bereits denselben Effekt ausübt, wie auch daraus hervorgeht, daß zum Zustandekommen einer Lichtwirkung immer ein gewisses Lichtminimum notwendig ist. So konnten wir z. B. an einem sehr trüben Oktobertage weder durch Methylenblau noch durch Eosin auch nach vielen Stunden irgendeine Einwirkung auf

¹⁾ Ob sich durch diese verschiedene Empfindlichkeit gegen Licht Gattungs- und Artverschiedenheiten feststellen lassen, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

Paramaecien ausüben, während bei stärkerer Belichtung dann prompt die Wirkung eintrat.

Die nun folgenden Angaben beziehen sich auf Beobachtungen am 21. 10. 15 bei hellem Sonnenschein zwischen 10 und 1 Uhr Vormittag. Die Belichtungszeit war gleichmäßig 20 bis 25 Minuten. Hämatoporphyrin 1 : 500 000: keinerlei Einwirkung, Hämatoporphyrin 1 : 1 Million: keine Einwirkung, Mesoporphyrin 1 : 500 000: alles tot, auch die kleinen Infusorien, Mesoporphyrin 1 : 1 Million: alles tot, kleine Infusorien leben, Mesoporphyrin 1 : 2 Millionen: der gleiche Befund, Mesoporphyrin 1 : 4 Millionen: der gleiche Befund, Mesoporphyrin 1 : 8 Millionen: nach 25 Minuten starke Schädigung, nach $\frac{3}{4}$ Stunden die meisten Tiere tot. Ähnliche Wirkung, nur etwas abgeschwächt, war noch in einer Konzentration von 1 : 16 Millionen zu konstatieren, und erst bei 1 : 32 Millionen war keine Einwirkung mehr vorhanden.

Urin- und Kotporphyrin untersuchten wir in einer Konzentration von 1 : 80 000 bis 10 000, ohne daß irgendwelche Wirkung zu konstatieren war. Auch das komplexe Eisensalz des freien Urinporphyrins übte keinerlei Wirkung aus, ebenso war beim komplexen Kupfersalz des Mesoporphyrins keine deutliche Einwirkung zu erkennen. Letzteres ist um so bemerkenswerter, als Mesohämin, das komplexe Eisensalz des Mesoporphyrins, intensive Giftwirkung auf Paramaecien ausübt, wie wir uns in Bestätigung der Versuche von H. Kämmerer überzeugten.
