

It would be of interest to know, after maximum pituitary FSH depletion has occurred, if a second treatment with the SME extract could induce hypophysial FSH to be resynthesized at a faster rate than was demonstrated in the present experiment. Perhaps, this then might provide us with a clue as to whether or not the SME also contains (synonymous with or different from, FSH-RF) an FSH-synthesizing factor (FSH-SF).

The 45 min maximum pituitary FSH depletion period has proved to be sufficiently reproducible so as to be employed in the routine FSH-RF assaying of samples obtained from the fractionation of porcine and bovine hypothalamic extracts.

**Résumé.** Après une période de 45 min, l'injection intrajugulaire des extraits hypothalamiques provoque une chute maximale du niveau de FSH hypophysaire, qui atteste la présence de FSH-RF. De plus, l'enchaînement des résultats démontre le rétablissement des niveaux normaux de FSH hypophysaire, 4 h après le traitement.

A. CORBIN and J. C. STORY

Abbott Laboratories, Biochemical Research, North Chicago (Illinois, USA), May 20, 1966.

### Hydroxyprolin-Ausscheidung im Rattenharn nach Injektion von Schlangengift

Bisher liegen über die Kollagenase-Aktivität der Schlangengifte nur Untersuchungen in vitro vor. Einerseits fand sich eine Wirkung verschiedener Gifte gegen Azokoll, andererseits kam es aber zu keiner Andauung von Kollagenfasern aus Rattenschwanzsehnen<sup>1</sup>. Auf Grund dieser widersprechenden Befunde scheinen weitere Untersuchungen angezeigt.

Hydroxyprolin kommt im menschlichen und tierischen Organismus praktisch ausschließlich im Kollagen vor. Die Bestimmung dieser Aminosäure im 24h-Harn lässt Rückschlüsse auf den Stoffwechsel des Kollagens zu. In Verfolgung der Fragestellung nach der Kollagenase-Aktivität der Schlangengifte erfolgten Bestimmungen des Gesamt-Hydroxyprolins im Rattenharn nach Injektion eines Crotalidengiftes.

**Material und Methoden:** (1) Versuchstiere: Der Harn von Albinoratten (140–150 g) wurde in Stoffwechselkäfigen aufgefangen und in 24-Stunden-Portionen untersucht. Nach Bestimmung der normalen Hydroxyprolin-Ausscheidung in 24 h an 50 Ratten erhielten 50 Tiere eine s.c. Injektion von 15 mg/kg des Gifte der Wassermokassinschlange (*Agkistrodon piscivorus* Lacépède) in 0,1 ml einer 0,15 M Kochsalzlösung. (2) Hydroxyprolinbestimmung: 2 ml Harn wurden mit 1,0 ml 10 N HCl durch 3 h bei 130°C hydrolysiert. Nach Klärung mit Tierkohle und Filtration erfolgte eine Einstellung des pH-Wertes auf etwa 7. Danach wurde mit destilliertem Wasser auf 8,0 ml Volumen aufgefüllt. 2 ml dieser Lösung wurden nun zur Hydroxyprolinbestimmung nach STEGEMANN<sup>2</sup> verwendet.

**Ergebnisse.** Die normale Hydroxyprolin-Ausscheidung in 24 h beträgt bei den untersuchten Ratten  $0,56 \pm 0,20$  mg (Mittelwert  $\pm 2\sigma$ ). In den 24-Stunden-Harnportionen nach Injektion des Crotalidengiftes findet sich eine statistisch signifikante Erhöhung der Hydroxyprolin-Ausscheidung auf  $1,47 \pm 0,58$  mg ( $P < 0,001!$ ). In der darauftreffenden Harnportion war nur noch eine geringe Erhöhung des Hydroxyprolin-Gehaltes zu verzeichnen ( $0,78 \pm 0,35$  mg). Ab dem dritten Tag lagen wieder normale Werte vor.

**Diskussion.** Wie die Steigerung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn beweist, kommt es bei der Ratte durch Verabreichung eines Crotalidengiftes zu einer signifikanten Beeinflussung des Kollagenstoffwechsels. Der Abbau der infolge vaskulärer Veränderungen<sup>3</sup> an der Injektionsstelle entstehenden Nekrose durch körpereigene Enzyme setzt nicht so unmittelbar ein, daß bereits binnen 24 h eine wesentliche Erhöhung der Hydroxyprolin-Aus-

scheidung im Harn auftreten könnte. Die gesteigerte Hydroxyprolin-Ausscheidung innerhalb der ersten 24 h ist nicht ausschließlich auf die Kollagenase-Aktivität des verwendeten Gifte zurückzuführen; als Folge des anaphylaktoiden Schocks kommt es zu einer Mobilisierung hydroxyprolin-haltiger Kollagenvorstufen durch Degranulierung der Mastzellen<sup>4</sup>. In eigenen Versuchsserien konnte festgestellt werden<sup>5</sup>, daß die Auslösung eines anaphylaktoiden Schocks durch Compound 48/80 zu einer Erhöhung der Hydroxyprolin-Ausscheidung im Rattenharn führt ( $0,68 \pm 0,21$  mg/24 h). Diese Steigerung ist allerdings wesentlich geringer als der Anstieg nach Injektion von Schlangengift.

Die Hydroxyprolinausscheidung im 24-Stunden-Harn der Ratte nach Injektion eines Crotalidengiftes

Versuchstiere	mg Hydroxyprolin in 24h (Mittelwert $\pm 2\sigma$ )
Normale Ratten (50)	$0,56 \pm 0,29$
Ratten nach Injektion des Gifte der Wassermokassinschlange (15 mg/kg)	
0–24 h nachher	$1,47 \pm 0,58$
24–48 h nachher	$0,78 \pm 0,35$

**Summary.** In rats, a statistically significant increase in hydroxyproline excretion occurs following injection of crotalus toxin (*Agkistrodon piscivorus* Lacépède). The significance of this finding is briefly discussed.

W. RAAB

Universitätsinstitut für medizinische Chemie  
A-1090 Wien (Österreich), 28. März 1966.

<sup>1</sup> P. A. CHRISTENSEN, *South African snake venoms and antivenoms* (South African Inst. med. Res., Johannesburg, 1955). – E. KAISER und H. MICHL, *Biochemie der tierischen Gifte* (F. Deuticke, Wien, 1958).

<sup>2</sup> H. STEGEMANN, *Z. physiol. Chemie* 311, 41 (1958).

<sup>3</sup> W. RAAB und E. KAISER, *Toxicon* 3, 49 (1965).

<sup>4</sup> H. SELYE, *The mast cells* (Butterworths, London, 1965).

<sup>5</sup> W. RAAB, unveröffentlichte Ergebnisse.