

Befund:

| Nr. des Reagenz-glases | Vitamin F nach 1 Stunde | Carotin | Nr. des Reagenz-glases | Vitamin F nach 1 Stunde | Carotin |
|------------------------|----------------------------|------------------|------------------------|----------------------------|-----------------|
| Kontrolle | tief dunkelblau | tief dunkelblau | 5 | violett-lila | blau-dunkelblau |
| 1 | farblos | farblos | 6 | blau-hellblau | blau-dunkelblau |
| 2 | lila | lila- | 7 | blau | blau-dunkelblau |
| | | blassblauviolett | 8 | dunkelblau-blau | blau-dunkelblau |
| 3 | lila, dunkler | hellblau | 9 | dunkelblau-blau | blau-dunkelblau |
| 4 | lila, Stich ins Violette | blau | 10 | dunkelblau-blau | blau-dunkelblau |
| | | | 11 | dunkelblau-blau | blau-dunkelblau |

Nach 24 Stunden war die Reihe, die das Vitamin F enthielt, vollständig entfärbt. Die Reihe mit dem Carotin wurde in einem Wasserbad auf 50° erhitzt, wobei sich ebenfalls Entfärbung einstellte. Die Kontrolle blieb dunkelblau.

Bern, Institut für phys.-chem. Biologie der Universität.

13. Über das Vorkommen der Diamin-oxydase im menschlichen Sperma.

9. Mitteilung über den enzymatischen Abbau von Poly-aminen¹⁾

von E. Albert Zeller.

(30. XII. 40.)

Die Diamin-oxydase (DO) ist aufs engste mit der Fortpflanzung und mit dem Geschlechtsapparat verknüpft. Eines ihrer Substrate, das Spermin²⁾, kommt im Sperma verschiedener Säuger in grösserer Menge vor. Der gleiche Körper bewirkt beim kastrierten Bitterlingsmännchen das Auftreten des bunten Hochzeitskleides³⁾. Das Enzym selbst findet sich in der Placenta in grosser Konzentration⁴⁾ und ist im Serum schwangerer Frauen⁵⁾ und in der Leber gravidier Ratten stark vermehrt¹⁾. Es lag deshalb nahe, auch das Sperma auf seinen DO-Gehalt zu untersuchen.

Methodik.

Das menschliche Sperma stammte aus frischen Proben, die vorher im Hinblick auf Fragen der Sterilität und Morphologie untersucht worden waren. Im allgemeinen wurde das Material auf das Vierfache

¹⁾ E. A. Zeller, Helv. **23**, 1502 (1940).

²⁾ E. A. Zeller, Naturwiss. **26**, 578 (1938); Helv. **21**, 1645 (1938).

³⁾ H. A. Müller und Giersberg, zitiert nach R. Amman und W. Dirscherl, Fermente, Hormone, Vitamine, 1938, S. 267.

⁴⁾ E. A. Zeller, B. Schür und S. Staehlin, Helv. **22**, 837 (1939).

⁵⁾ E. A. Zeller, Helv. **23**, 1509 (1940).

mit aq. dest. verdünnt, nach einigen Minuten Stehen unter zeitweiligem Rühren zentrifugiert und die überstehende Lösung, die praktisch frei von Spermatozoen war, in Cellophanschläuchen gegen aq. dest. dialysiert. Es wurde nicht wie gewöhnlich gleich gegen Phosphatpuffer dialysiert, da Sperminphosphat schwer löslich ist. Erst am folgenden Morgen wurde dann gegen Puffer dialysiert.

Die Messung geschah mit Hilfe der manometrischen¹⁾ und der neuen indigometrischen²⁾ Methode. Im erstern Fall wurden 2 cm³ der verdünnten und dialysierten Spermalösung in den Hauptraum, 0,5 cm³ einer 0,01-m. Cadaverinlösung in üblicher Weise in den seitlichen Anhang gegeben. In allen Fällen wurde 1 Tropfen Octylalkohol zugesetzt.

Für die indigometrische Messung wurde 1 cm³ der Spermalösung zusammen mit 0,1 cm³ einer 0,1-m. Cadaverinlösung resp. Puffer und mit 0,1 cm³ der Indigodisulfonatlösung (20 mg in 30 cm³ Phosphatpuffer p_H 7,2 gelöst) und Octylalkohol in ein gewöhnliches Reagensglas eingefüllt und 24 Stunden bei 38° inkubiert. Das Verschwinden der Farbe in den Cadaverin-haltigen Ansätzen wurde gewöhnlich qualitativ verfolgt, doch kann die Entfärbung auch quantitativ mit Hilfe des Stufenphotometers (Filter S 61) gemessen werden, da die Lösung im Gegensatz zum Serum und zu Organextrakten meistens klar bleibt, so dass nicht einmal eine vorherige Enteiweissung eingeschaltet werden muss.

Ergebnisse.

Wenn man nicht dialysiertes Sperma mit Indigo-disulfonat inkubiert, so findet nach 2—3 Tagen eine merkliche Entfärbung statt. Beim dialysierten Präparat ist das viel weniger der Fall. Setzt man aber einem solchen Cadaverin zu, so tritt nach 24 Stunden eine fast vollständige Entfärbung auf. Es muss deshalb im Sperma eine DO vorhanden sein, die etwa 0,5—1,0 DO-Einheiten entspricht³⁾. Die äusserst langsame Entfärbung ohne Anwesenheit von Cadaverin ist zum Teil auf die Oxydation des im menschlichen Sperma regelmässig vorhandenen Spermins durch die DO zurückzuführen.

Die gleichen Ergebnisse wurden mit Hilfe der manometrischen Methode gefunden. Im nichtdialysierten Sperma ist ein verhältnismässig grosser Sauerstoffverbrauch anzutreffen, der durch Dialyse weitgehend reduziert wird (Versuch 1). Auf Zusatz von Cadaverin nimmt der Sauerstoffverbrauch kräftig zu. Er entspricht wiederum einem DO-Gehalt von 0,5—0,9 Einheiten.

¹⁾ E. A. Zeller, *Helv.* **21**, 880 (1938).

²⁾ E. A. Zeller, *Helv.* **23**, 1502 (1940).

³⁾ E. A. Zeller, H. Birkhäuser, H. Mislin und M. Wenk, *Helv.* **22**, 1381 (1939).

Versuch 1.

2 cm³ Sperma, 1:2 verdünnt, 0,5 cm³ 0,01-m. Cadaverin resp. Phosphatpuffer, Octylalkohol, Luft.

| Stunden | Verbrauch mm ³ O ₂ | | |
|---------|--|--------------|-----------|
| | Leerwert | mit Substrat | Differenz |
| 4 | + 1 | 18 | 19 |
| 6 | + 1 | 24,5 | 25,5 |
| 7,5 | - 1 | 26 | 27 |
| 23 | - 11 | 78 | 67 |

Dieser zusätzliche Sauerstoffverbrauch kann in typischer Weise durch den stärksten Inhibitor der DO, durch Semicarbazid, verhindert werden (Versuch 2).

Versuch 2.

2 cm³ Sperma im Verhältnis 1:4 verdünnt, 0,5 cm³ Puffer + 0,5 cm³ Cadaverin 0,01-m. Semicarbazid 0,001-m., Octylalkohol, Luft.

| Stunden | Verbrauch mm ³ O ₂ | | |
|---------|--|------------------|-----------|
| | ohne Semicarbazid | mit Semicarbazid | Differenz |
| 3 | 16 | 11,5 | 4,5 |
| 16 | 55 | 23 | 32 |
| 23 | 99 | 30 | 69 |

Das Ferment und der damit zusammenhängende Sauerstoffverbrauch hat somit nichts mit der Atmung der Spermien zu tun, da diese in den Ansätzen nicht mehr vorhanden sind. Das konnte auch in 2 Fällen von Oligospermie und 1 Fall von Azoospermie gezeigt werden, da bei diesen die DO mindestens so aktiv war wie beim normalen Sperma (Indigomethode).

Unter den gleichen Bedingungen werden Tyramin, Cholin und *l*-Alanin nicht oder nur sehr langsam angegriffen. Neben der DO müssen aber im Sperma noch weitere Fermentsysteme gefunden werden, da Semicarbazid auf den Sauerstoffverbrauch des nicht dialysierten Sperma nur einen geringen Einfluss ausübt.

Diskussion der Ergebnisse.

Die Anwesenheit der DO, eines Substrates und eines Hemmstoffes derselben (Cholin, vgl. 8. Mitteilung, l. c.) im Sperma dürfte wohl nicht eine zufällige sein, sondern mit der Biologie der Spermien oder mit dem Befruchtungsvorgang in Beziehung zu setzen sein. Die vorliegenden Befunde werfen auch ein Licht auf frühere Versuche über die Atmung des Sperma¹⁾. Diese wurde damals ohne weiteres

¹⁾ K. Windstosser, Klin. Wschr. **14**, 193 (1935).

der Atmung der Spermien zugeschrieben, während es jetzt klargelegt ist, dass im Sperma auch bei Abwesenheit von Spermatozoen vollständige, sauerstoffverbrauchende Fermentsysteme vorhanden sind. Um die Atmung der Spermien selber beobachten zu können, müsste man diese von den Spermaflüssigkeiten zuerst abtrennen. Nun ist es auch begreiflich, dass der Sauerstoffverbrauch eines Sperma um so kleiner, je grösser die Spermienzahl pro Volumeinheit ist¹⁾.

Für die Beweglichkeit der Spermien scheint das DO-System der Spermaflüssigkeit ohne Bedeutung zu sein, da jene auch im Cyanidhaltigen Medium noch erhalten ist²⁾, während die DO durch Kaliumcyanid gewöhnlich gehemmt wird³⁾.

Zusammenfassung.

1. Im menschlichen Sperma finden sich 0,5—1 Diamin-oxydase-Einheiten, etwa 100mal mehr als im gleichen Volumen Serum.

2. Daneben existiert mindestens noch ein weiteres, durch Semicarbazid nicht hemmbares vollständiges sauerstoffverbrauchendes Enzymsystem in der Spermaflüssigkeit.

3. Der Sauerstoffverbrauch des Sperma ist nicht in erster Linie den Spermien, sondern den in der Spermaflüssigkeit gelösten Fermentsystemen zuzuschreiben.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel.

14. Weibliche Sexualhormone, Schwangerschaft und Cholin-esterase.

2. Mitteilung über Beziehungen zwischen Sexualhormonen und Fermenten

von **E. Albert Zeller** und **Hans Birkhäuser**.

(30. XII. 40.)

In der vorangehenden Mitteilung⁴⁾ konnte gezeigt werden, dass bei der weissen Ratte ein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Cholin-esterase (ChE) der Leber und weiblichen Sexualhormonen besteht. Bei Männchen, bei juvenilen und bei kastrierten Weibchen war der ChE-Gehalt dieses Organs niedrig, bei reifen Weibchen aber hoch. Bei kastrierten Weibchen stieg er über den der reifen Tiere hinaus, wenn jene mit grossen Dosen Oestradiol und Progesteron behandelt worden waren.

¹⁾ K. Windstosser, Klin. Wschr. **14**, 193 (1935).

²⁾ Iwanoff, zitiert nach B. Belonoschkin, Arch. Gynäkol. **169**, 151 (1939).

³⁾ E. A. Zeller, Helv. **23**, 1418 (1940).

⁴⁾ 1. Mitteilung: H. Birkhäuser und E. A. Zeller, Helv. **23**, 1460 (1940).