

XIV.

Aus dem pharmakologischen Institut in Wien.

Beeinflussung der Autolyse durch die Narkotika der Fettreihe.

Von

Dr. Richard Chiari.

Die chronische Alkoholvergiftung veranlaßt in verschiedenen Organen des menschlichen Körpers degenerative Veränderungen und zwar in größter sinnfälligster Weise bekanntlich in der Leber und der Niere. Man hat diese als Folge eines unmittelbar das Zellprotoplasma betreffenden Reizes durch den Alkohol nach Art eines zelltötenden Ätzgiftes angesprochen. Wenn ein solcher Reiz auch vielleicht auf die von konzentriertem Alkohol direkt getroffene Magenschleimhaut stattfinden mag, so kann dies doch kaum für die Leber- und Nierenzellendegeneration in Betracht kommen, zu denen das Gift in so starker Verdünnung gelangt, daß eine grob-chemische Ätzwirkung, Koagulation des Protoplasma u. dgl. als ausgeschlossen gelten kann. Auch eine tödliche Wirkung, wie die des Phosphors und Arsens ist nicht anzunehmen, zumal die empfindlichen Ganglienzellen des ZNS. durch Alkohol wohl narkotisiert oder auch dauernd geschädigt, nicht aber ohne weiteres getötet werden können.

Da sich die größten Degenerationsveränderungen gerade in den beiden Organen finden, in denen auch die lebhaftesten chemischen Vorgänge, die Spaltungen, Oxydationen und Synthesen sich abspielen, so liegt es nahe an einen Zusammenhang dieses intensiven Chemismus mit den durch die Alkoholvergiftung herbeigeführten Entartungsvorgängen zu denken, in dem Sinne, daß diese nicht die unmittelbaren Wirkungen des Alkohols sind, sondern vielmehr sekundäre Wirkungen chemischer, an sich normaler aber durch die Alkoholvergiftung in falsche Bahnen gelenkter Vorgänge; man wird dabei vor allem an die durch spaltende und abbauende Zellenenzyme bewirkten Veränderungen denken dürfen. Mit dieser Auffassung stimmt es auch überein, daß in denjenigen Organen, in welchen solche fermentative Spaltungen und Oxydationen weniger ausgedehnt vor-

kommen, z. B. in den Muskeln und der Milz, jene Degeneration auch nicht einzutreten pflegt, obschon der Alkohol auch hier in gleicher Weise wie auf Leber und Niere einwirkt. Einer solchen Auffassung hat vor kurzem Prof. Hans Meyer in einem Vortrage auf dem hygienischen Kongreß in Berlin 1907 Ausdruck gegeben. Es heißt dort:

„Die bleibenden funktionellen und morphologischen Störungen durch eine Summation der uns genauer verständlichen akuten Wirkungen des Alkohols auf das Zellprotoplasma zu erklären, halte ich nicht für möglich; diese führen an sich nicht zu dauernden chemischen, sondern nur zu leicht reversiblen physikalischen Veränderungen; und ob etwa die Zersetzungs- oder Oxydationsprodukte des Alkohols, ähnlich wie die der halogenhaltigen Narkotika, chemisch in das Zellprotoplasma eingreifen, ist nach dem anfangs Erörterten wenig wahrscheinlich.

Dagegen scheint mir ein anderer Umstand von großer Bedeutung zu sein: Die Körperzellen sind gegeneinander und gegen die umgebende Lymphe durch semipermeable Membranen abgeschlossen, die nur den jeweilig adäquaten Stoffen den Eintritt oder Austritt gestatten; verlieren sie diese schützende und regulierende (auswählende) Eigenschaft auch nur zeitweise, so wird ein abnormer Stoffaustausch stattfinden, der nicht von selbst zurückgeht, der daher zu bleibenden und summierungsfähigen Änderungen des Zellinhaltes führen kann. Der Alkohol aber macht tatsächlich die Zellmembranen abnorm durchlässig; vermutlich, weil er ihren lipoiden Kitt lockert. Wir machen von dieser Eigenschaft Gebrauch, wenn wir Pflanzen oder tierische Teile mit Alkohol extrahieren, daß heißt „aufschließen“, um aus ihnen die gesuchten Stoffe, auch wenn sie leicht wasserlöslich sind, möglichst vollständig auszuziehen; oder vielleicht auch, wenn wir alkoholische Flüssigkeiten trinken und die sonst dazu unfähige Magenschleimhaut dadurch befähigen, Wasser und Salze zu resorbieren. Vom Chloroform hat Alcock gezeigt, daß es die Potentialdifferenz zwischen der Innen- und Außenseite der Froschhaut aufhebt, was nach ihm auch nur durch Ionenausgleich, das heißt durch Beseitigung semipermeabler Membranwiderstände zu verstehen ist. Für Alkohol wird das gleiche gelten.

Zu einer wirksamen „Aufschließung“ bedarf es aber einer ziemlich konzentrierten Alkohollösung; und es wäre begreiflich, daß die hier angenommene Membranlockerung mit ihren pathologischen Folgen nur nach dem chronischen Genuße der starken alkoholischen Getränke beobachtet wird, während die typischen

narkotischen Wirkungen, Trunkenheit, Delirien, ebenso auch bei dem Abusus von alkoholschwachen Getränken, von Bier und Wein, auftreten; und es ist denkbar, daß durch die durchlässig gewordenen Membranen nicht nur Ionen, sondern auch spaltende und oxydierende Enzyme an den unrichtigen Ort gelangen und dann mit der Zeit zu degenerativen Prozessen, nicht unähnlich den autolytischen, führen.“

Die Frage scheint der experimentellen Prüfung zugänglich zu sein.

Die Autolyse isolierter, d. h. erstickender Organe kann man sich als die Folge des Freiwerdens und Austretens spaltender Enzyme aus dem sich allmählich lockernden, auseinanderfallenden System des Zellkörpers vorstellen: tatsächlich setzt die autolytische Verdauung bei Bruttemperatur erst nach einer längeren Latenz ein, um dann in einigen Stunden auf ihr Maximum anzusteigen, was sich kaum anders erklären läßt, als daß die Enzyme entweder erst überhaupt gebildet oder die latent vorhandenen erst in wirksame Umstände, d. h. in Freiheit gesetzt werden müssen, bevor sie ihr Verdauungswerk beginnen können. Für Neubildung von Enzymen in sterbenden Zellen spricht nichts. Es besteht also nur die zweite Wahrscheinlichkeit: des Freiwerdens.

Es ist nun wohl denkbar, daß der lipoide Kitt, der das Protoplasmasystem auch nach dem Tode zusammenhält und bei Bruttemperatur erst langsam sich lockert (schmilzt) und die Enzyme freiläßt, durch lipolytische Gifte, wie Alkohol, Äther, Chloroform von vorne herein durchlässig gemacht wird, so daß die autolytische Zersetzung des Eiweißes gleich nach der Erwärmung auf 38° ohne merkliche Latenz einsetzen könnte. Was sich so am toten Organ abspielen würde, wäre ein vergrößertes in allen seinen Phasen festgehaltenes Bild der feineren und sich teilweise immer wieder zur Norm ausgleichenden Vorgänge am lebenden Organismus.

Von diesem Gesichtspunkte aus habe ich die Einwirkung lipolytischer Stoffe auf die Autolyse untersucht, und zwar die des Alkohols, Äthers, Chloroforms und Petroläthers. Als Objekt diente die Kaninchenleber, die sich wegen ihrer gleichmäßigen und mürben Beschaffenheit besser als die derberen Organe von Hund und Katze eignet.

Der genaue Gang der Untersuchung war folgender: Kaninchen, die durch Schlag auf den Kopf betäubt und durch einen Schnitt durch den Hals entblutet waren, wurde die Leber, die sich fast blutlos zeigte, noch lebenswarm herausgenommen und in 2,5—3,5 g schwere Stücke zerlegt, die in Wägegläschen verteilt wurden.

Der eine Teil wurde sofort nach der Wägung mit 1 proz. Fluornatriumlösung übergossen, die übrigen unter eine Glasglocke gebracht, wo sie den Dämpfen des Narkotikums ausgesetzt wurden. Dies geschah in der Weise, daß ein Schälchen mit der zu verdampfenden Flüssigkeit unter die Glasglocke gesetzt wurde. (Um das Verdampfen zu erleichtern, wurde die Glasglocke evakuiert.) Diesen Dämpfen wurden die Leberstücke 2—3 Stunden ausgesetzt, dann mit 1 proz. Fluornatriumlösung versetzt und mit den übrigen Kontrollproben in den Brutschrank von 37—38° C Temperatur gebracht. In einigen Fällen habe ich Äther auch flüssig einwirken lassen, indem ich die Leberstücke in Äther sulfuricus liegen ließ. Nach der jeweils bestimmten Zeit wurde der Inhalt der Gläschen in eine Reibschale gegossen, die überstehende Flüssigkeit in ein 100 ccm fassendes Meßkölbchen gebracht, das Leberstückchen in der Schale zerrieben und der so gebildete dickliche Leberbrei in das Kölbchen gespült; dann wurde mit 10 ccm einer 6 proz. Tanninlösung das Eiweiß gefällt und bis zur Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt, durchgeschüttelt und filtriert. Das vollständig klare Filtrat ergab jedesmal einen Überschuß von Tannin. 50 ccm des Filtrates wurden zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl verwendet. Gleichzeitig wurde immer der Gesamtstickstoff der Leber bestimmt. Das Verhältnis des Gesamtstickstoffes zum doppelten Wert des gefundenen Filtratstickstoffes in Prozenten ausgedrückt, gab die in den Tabellen ersichtlichen Zahlen.

Die Doppelzahlen in einer Rubrik der Tabellen sind Resultate, die durch Analysierung je zweier verschiedener Stücke derselben Leber gewonnen wurden.

Zunächst stellte ich den zeitlichen Verlauf der Autolyse normaler Leberstücke fest, indem ich den löslichen Stickstoff in der frischen Leber sowie in der 3 bzw. 6 und 24 Stunden lang autolytierten bestimmte.

Gehalt an durch Tannin nicht ausfällbarem Stickstoff in Prozenten ausgedrückt, bezogen auf den Gesamt-N.

Frische Leber %	Nach 3 stündiger Autolyse %	Nach 6 stündiger Autolyse %
8,3	8,3	9,0
8,3	8,3	8,3
8,8	9,8	11,2
10		12
		12

Aus der vorstehenden Tabelle ist zu ersehen, daß nach 6 Stunden entweder gar keine oder eine sehr geringe Autolyse stattgefunden hat; nach 24 Stunden schwanken nach meinen zahlreichen hier nicht wiedergegebenen Beobachtungen die Werte zwischen 25 und 33 Prozent.

Die Resultate stimmen gut mit den von Lane Claypon und Schryver¹⁾ an Katzenlebern mit etwas anderer Methodik gewonnenen überein. Sie fanden eine Latenzzeit von 4—5 Stunden, dann ein weiteres Anwachsen bis zum Maximum, das in 24 Stunden seine Höhe erreicht. Die Latenzzeit war dort etwas kürzer als in meinen Versuchen, vielleicht weil die Methode der Bestimmung des gelösten Stickstoffes eine andere war.

Ganz anders verhält sich nun der autolytische Vorgang nach vorübergehender Einwirkung der oben angeführten Narkotika. Wie die nebenstehende Tabelle zeigt, hat die Autolyse in den ersten 6 Stunden eine wesentliche Beschleunigung erfahren. Bei Einwirkung von Äther- und Chloroformdämpfen wurde sogar der doppelte Wert der Kontrollproben erreicht, Äther und Chloroform erwiesen sich demnach am stärksten wirksam. Geringer schon war der Effekt des flüssigen Äthers, dann folgen Petroläther und Alkohol in Dampfform.

Nach 6 stündiger Autolyse durch Tannin nicht ausfällbarer N in Prozenten.

Kaninchen	Kontrollstück	Nach Behandlung mit	%
I	11,2 Proz.	Äther sulfur, als Flüssigkeit durch 2 Stunden	18,3
III	10,7 =	" " " " " "	17,2
	9,0 =		17,2
IV	11,5 =	Ätherdampf durch 3 Stunden	23,5
			25,8
	11,0 =	Chloroformdampf durch 3 Stunden	26,0
			25,0
V	14,9 =	Ätherdampf durch 2 Stunden	26,2
			27,0
	14,2 =	Petrolätherdampf durch 2 Stunden	20,0
			22,4
VI	14,0 =	Chloroformdampf durch 2 Stunden	24,0
			26,0
VII	8,5 =	Alkoholdampf durch 2 Stunden	11,2
	8,0 =		11,45

Ich glaube damit als sicher erwiesen zu haben, daß tatsächlich ein früheres Einsetzen der Autolyse in den ersten Stunden durch die vorübergehende Einwirkung der flüchtigen Narkotika stattfindet;

1) Journal of Physiology XXXI p. 169. 1904.

denn schon nach 3 Stunden konnte ich deutliche Autolyse nachweisen, woraus folgt, daß die Latenzzeit auf ein Minimum abgekürzt war. Während in dem nicht vorbehandelten Leberstückchen nach 3 stündigem Aufenthalt im Brutofen 9,8 Proz. durch Tannin nicht ausfällbarer Stickstoff nachweisbar war, fand ich zur selben Zeit, bei mit Äther vorbehandelten Stücken 13,6 Proz., also ein deutlicher Beweis, daß die Autolyse schon nach dieser kurzen Zeit eingesetzt hatte. Der weitere Verlauf der Autolyse war in meinen Versuchen nicht gleichmäßig. Manchmal fand bereits ein Ausgleich zwischen dem Kontrollstück und dem vorbehandelten Stück schon nach 24 Stunden statt. In anderen Versuchen waren die Werte in 48 Stunden noch verschieden, zugunsten der unter Einwirkung der Dämpfe gestandenen Stücke.

Es erhebt sich nun die Frage, wie dieses Phänomen zu erklären sei. Es kommen dabei vier Möglichkeiten in Betracht.

1. Die Beschleunigung der Autolyse beruht auf rascher Abtötung des Zellprotoplasmas durch die Narkotika, ohne die Einwirkung letzterer bleibt es länger „lebend“ und ist deshalb für die Enzyme nicht angreifbar. Indes, daß es nicht der Zelltod allein ist, der eine Beschleunigung der Autolyse mit sich bringt, dafür scheint mir folgendes Experiment zu sprechen. Leberstückchen, die 24 Stunden unter Fluornatrium bei Zimmertemperatur gehalten und dann 5 oder 6 Stunden im Brutofen belassen wurden, zeigten allerdings eine größere Menge nicht ausfällbaren Stickstoffes als die Kontrollstücke; die Zahlen stehen jedoch weit hinter den mit Äther und Alkohol erzielten Resultaten zurück. Da man doch sicher annehmen kann, daß die Zellen in 24 Stunden erstickt, also tot sind, so muß bei den mit den Narkoticis vorbehandelten Leberstückchen ein anderer Faktor mitgewirkt haben.

Dauer der Autolyse	Ursprünglicher Gehalt der Leber an nicht ausfällbarem N	Leber 24 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden und dann in den Brutofen gebracht
5 Stunden	8,8 Proz.	12 Proz.
	8,8 "	13 "
6 Stunden	9,8 "	11 "
	9,4 "	

2. Es könnte sich um eine Beschleunigung des fermentativen Prozesses an und für sich handeln.

3. Es wird vielleicht mehr Ferment von den Zellen geliefert.

4. Es handelt sich möglicherweise um eine Veränderung in den Zellen oder im Zellgerüste, die dem vorhandenen Ferment einen leichteren Zutritt zu dem spaltbaren Protoplasma gestattet.

Denn der Einwurf, daß die Narkotika selbst während ihrer Einwirkung hydrolytische Spaltungen und chemische Zersetzungen hervorrufen, ist bei der chemischen Indifferenz dieser Agentien von vorne herein auszuschließen.

Daß es sich nun weder um Beschleunigung der Fermentwirkung an sich, noch um vermehrte Fermentbildung durch Äther usw. handeln kann, glaube ich durch das Folgende beweisen zu können.

Schon Claypon und Schryver haben es versucht, die Latenz der Autolyse zu überspringen oder abzukürzen durch Freimachung der Fermente; sie suchten diesen Zweck zu erreichen durch osmotische Sprengung der Gewebszellen, indem sie dieselben statt in physiologischer Kochsalzlösung in destilliertem Wasser zur Autolyse stellten. Die Zellen erwiesen sich aber diesem Eingriff gegenüber als völlig widerstandsfähig, der Autolysenverlauf war genau der gleiche wie bei der Autolyse in der Salzlösung.

Ich habe nun den gleichen Zweck in sehr wirksamer Weise erreicht, indem ich meine Leberstückchen auf dem Tische des Gefriermikrotoms mit Hilfe flüssiger Kohlensäure gefrieren ließ. Wurden durch Frieren zum großen Teil gesprengte Zellmassen der Autolyse überlassen, so war die Autolyse in hohem Grade beschleunigt und zwar ebenso wie sonst nach Ätherbehandlung.

Handelt es sich nun bei der Ätherwirkung um Beschleunigung an sich, so mußte die Autolyse eines vorher gesprengten Stückes, durch Ätherisieren sich merklich beschleunigen lassen. Die gefrorenen Leberstücke wurden teils direkt teils nach 2 stündiger Behandlung mit Chloroformdampf 6 Stunden in 1 proz. Fluornatriumlösung der Autolyse bei 37° C unterworfen. Hierauf wurde wieder nach der oben angegebenen Methode der durch Tannin nicht ausfällbare Stickstoff bestimmt.

Dauer der Autolyse	Leber direkt	Leber gefroren	Leber gefroren, mit Chloroform behandelt
5½ Stunden	8,5 Proz. 8,0 „	21,6 Proz.	22 Proz.
5½ Stunden	—	16,0 „	17,2 „ 15,0 „

Es folgt daraus, daß der Chloroformdampf (und doch wahrscheinlich auch der Dampf des Äthers und Alkohols) auf die Fähigkeit der freien Enzyme keinen fördernden Einfluß hat.

Auch die andere Möglichkeit: vermehrte Bildung von Ferment in den Zellen unter dem Einfluß der Narkotika ist abzulehnen. Wenn

man nämlich Leberstückchen teils direkt, teils nach vorgängiger zweistündiger Behandlung mit Chloroformdämpfen mit flüssiger Kohlensäure durchfriert und dann der Autolyse unterwirft, so müßte, wenn unter Chloroform mehr Ferment gebildet worden wäre, die Autolyse der mit Chloroform vorbehandelten Stücke eine stärkere sein. Wie die nebenstehende Tabelle zeigt, besteht zwar eine geringe Differenz, die aber auf keine wesentliche Vermehrung dieses Fermentes schließen läßt, viel eher auf eine nicht ganz vollständige Sprengung der Zellen durch das Frieren.

Dauer der Autolyse	Leber direkt	Lebergefroren	Leber nach Vorbehandlung mit Chloroform gefroren
5 Stunden	12 Proz. 12,8	21 Proz.	23,5 Proz. 23,7

Es bleibt also nur noch die letzte Erklärung übrig, daß nämlich in dem Zellgerüste Veränderungen vor sich gehen, die dem Ferment einen leichteren Zutritt zu dem spaltbaren Protoplasma gestatten, ähnlich dem Zersprengen der Zellen durch Frieren. Nun besitzen alle die aufgezählten Narkotika in mehr oder weniger hohem Grade die Fähigkeit, Lipide zu lösen. Es ist daher anzunehmen, daß die eindringenden Dämpfe tatsächlich die lipoiden Bestandteile der Zelle lösend beeinflussen. Dadurch würde die Permeabilität des Protoplasmas für die Fermente erhöht, ihre Bewegungsfreiheit gesteigert, und so könnten diese ebenso wie in dem gefrorenen Organ früher ihr Zerstörungswerk beginnen, als unter normalen Verhältnissen.

Zum Verständnis des autolytischen Prozesses scheint es mir wichtig darauf hinzuweisen, daß Vermischung von normalem, d. h. intakte Leberzellen enthaltendem Leberbrei mit nach Gefrieren zerriebener, also gesprengte Zellen enthaltender Leber keine Einwirkung freien Fermentes auf die intakten Zellen bei der Autolyse erkennen ließ.

Da es hierzu notwendig war, mit in der Reibeschale fein zerriebener Leber zu arbeiten, und die Autolyse in diesem Falle langsamer vor sich geht, als in ganzen Stückchen, mußte ich die Zeit, die ich den mit FlNa versetzten Leberbrei der Autolyse überließ von 6 auf 12 Stunden erhöhen. Das Ergebnis der Versuche war folgendes. Während die direkt zermürbelte Leber 11,5 Proz., nach Durchfrieren zerriebene Leber 19 Proz. durch Tannin nicht ausfällbaren Stickstoff ergab, so war bei Vermischung gleicher Teile normaler und gefrorener Leber 12,9 Proz. Filtrat-N nachzuweisen, also eher eine

Hemmung des autolytischen Prozesses durch Anwesenheit lebenden Gewebes als eine Einwirkung des freien Ferments auf die intakten Zellen.

Wäre letzteres der Fall gewesen, so hätte ja der Filtratstickstoff das arithmetische Mittel aus 11,5 und 19 Proz. sicher überschreiten müssen. Das Mittel wurde aber nicht einmal erreicht.

Ich glaube also das Resultat meiner Arbeit in folgenden Sätzen zusammenfassen zu können.

1. Nach vorübergehender Einwirkung der Narkotika wird die Autolyse in den ersten Stunden beschleunigt, die Latenzzeit auf ein Minimum herabgesetzt.

2. Die Ursache dieser Beschleunigung ist die fettlösende Eigenschaft dieser Agentien, die den lipoiden Kitt der Zelle lösend beeinflussen und den Fermenten freien Zutritt zum Protoplasma gestatten.

3. Intakte Zellen sind nicht von vorhandenem freien, d. h. ohne Latenz aktiven, Ferment angreifbar, sondern es ist zu dessen Einwirkung noch eine Zustandsänderung der Zelle selbst, eine Lockerung ihres Gefüges notwendig.

Inwieweit sich diese Ergebnisse auf Vorgänge im lebenden Organismus anwenden lassen, ist selbstverständlich nicht mit Sicherheit zu sagen. Einige Versuche an lebenden Tieren sind zwar auch in positivem Sinne ausgefallen, doch waren die Differenzen hier zu gering als daß aus diesen ein sicherer Schluß zu ziehen wäre. Doch auch diese kleinen Differenzen ermutigen zu näheren Untersuchungen, da doch jedenfalls im Leben bei erhaltener Zirkulation die Zersetzungsprodukte rasch fortgeschwemmt werden und so bei Untersuchung des exstirpierten Organes der Analyse entgehen.
