

Aus dem Institut für medizinische Chemie der Karls-Universität Pilsen
(Direktor: Doz. Dr. J. ŠTĚPÁN) und VÚOS Rybitví, Tschechoslowakei

Wolframbefund an den Nieren nach Selbstmord und einige Befunde bei Tieren nach Wolframapplikation*

Von

J. ŠTĚPÁN und E. FRIDRICH

(Eingegangen am 8. September 1960)

Wolfram wird als Konstituens einiger Meerlebewesen angenommen, dessen biologische Funktion jedoch unklar ist¹. Mit dem Nachweis von Wolfram in biologischem Material durch Spektralanalyse befaßte sich SHIPITSIN² und es wurde festgestellt, daß sich gezeichneter Wolfram W¹⁸⁷ vornehmlich in den Knochen speichert³. Literaturangaben über den Wolfram-Gehalt von Geweben sind sehr spärlich und über seine Eingliederung in den Metabolismus beim Menschen fanden wir im Schrifttum keine Angaben.

Zu der vorliegenden Arbeit wurden wir angeregt durch den emissionspektrographischen Befund von Wolfram an den Nieren eines Selbstmörders, der zwar in der letzten Zeit in einer Kanzlei beschäftigt war, jahrelang aber vordem Hochöfen ausmauerte. Obgleich er ein Jahr vor seinem Tode von einer Umgebung, die seine Gesundheit schädlich beeinflussen konnte, isoliert war, stellten sich in letzter Zeit Anzeichen bei ihm ein, die eine Nervengewebsschädigung nicht ausschließen. In Modellversuchen an Meerschweinchen verfolgten wir die Möglichkeit der Wolframbestimmung durch Emissionsspektrographie und betrachteten gleichzeitig das histologische Bild verschiedener Organe. Nach Applikation von Wolfram und seiner Verbindungen bestimmten wir den Gehalt an einigen Lipoidbestandteilen in verschiedenen Teilen des Nervensystems, die möglicherweise bei der Entstehung der Beschwerden, die beim Verstorbenen auftraten, mitspielen konnten.

Beschreibung des Falles, Versuchsmaterial und Methode

I. Der Verstorbene 33jährige (Š. W.) war als ausgelernter Schamottarbeiter bei der Ausmauerung von Kesseln und von in der Eisenindustrie benützten Martinöfen beschäftigt. Bei Reparaturarbeiten in Kesseln und Öfen unter hohen Temperaturen mußte er oft sitzen und auch liegen, so daß er unter solchen Bedingungen höchstens

* Wir danken Herrn Doz. Dr. med. V. VOTTEL, aus dem Institut für pathologische Anatomie der Karls-Universität Königgrätz, für die histologischen Untersuchungen und Herrn Doz. Dr. med. J. JERLE, aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Karls-Universität in Pilsen für die gefällige Überlassung des Sektionsmaterials des Falles.

5—30 min ununterbrochen arbeiten konnte. Er war Aschenstaub ausgesetzt und auch Staub, der bei der Bearbeitung von Schamottmaterial entsteht. Er war Raucher (täglich rauchte er 10—15 Zigaretten) und auch ziemlicher Trinker. Vier Jahre vor dem Tode wurde bei ihm chronische Gastritis festgestellt, die letzten 3 Jahre führte er eine gemäßigte Lebensweise. Ein Jahr lang vor dem Tode war er in einer Kanzlei beschäftigt. Sechs Wochen vor dem Selbstmord traten Schmerzen der unteren Gliedmaßen und das Einschlafen der Finger auf. Drei Jahre vor dem Tode stand er im Ehescheidungsverfahren. Besonders in der letzten Zeit nahm er sich zeitweise stark nervös und gereizt. Während der letzten 6 Wochen beging er zweimal Selbstmordversuch. Histologisch wurden Gehirn, Herz, Lungen, Leber, Nieren und Nebennieren untersucht (HE).

2. Um das Auftreten von Wolfram in den Nieren beim Menschen zu kontrollieren, wurden die Nieren von 35 verstorbenen Patienten mit verschiedener klinischer Diagnose und verschiedenem Berufe spektralanalytisch untersucht.

3. In Modellversuchen applizierten wir 300—600 g schweren Meerschweinchen intranasal metallisches Wolfram in 50%iger Tylosumsuspension in einer Gesamtmenge von 10—20 μg auf je 20 mg Meerschweinchen (MW 1—10). Weiteren 10 Meerschweinchen (MW 11—20) gaben wir mittels Magensonde 10%ige Tylosumsuspension von Wolframoxyd (15—25 μg auf je 20 mg Körpergewicht) ein. Die dritte Gruppe (MW 21—30) enthielt subcutan eine 10%ige Lösung von Natriumwolframat (0,3—11,6 μg auf je 20 mg Körpergewicht). Bei 30 Versuchsmerschweinchen (MW 1—30) und bei 100 Kontrolltieren wurden Gehirn, Herz, Lungen, Leber, Milz und Nebennieren spektralanalytisch untersucht. Bei 30 Fällen wurden Pankreas, Gallenblase und Hoden untersucht. Insgesamt wurden 870 Analysen durchgeführt. Die Meerschweinchen wurden jeweils 12 Std nach Applikation der letzten Dosis durch elektrischen Strom getötet. Sie standen etwa 21 Tage im Versuch. Histologisch wurden Gehirn, Herz, Lungen, Leber, Milz, Nieren und Nebennieren bei 30 Versuchs- und 30 Kontrolltieren untersucht.

4. Um ein Auftreten von Veränderungen im Gehalt an Lipoidbestandteilen in Großhirn, Kleinhirn, Pons, Medulla oblongata und spinalis festzustellen, führten wir Versuche an 4 Gruppen von je 5 Meerschweinchen durch. Der ersten von durchschnittlich 500 g Gewicht wurde metallisches Wolfram in Tylosumsuspension in einer Menge von 0,05—0,07 g W auf 100 g Meerschweinchen abgegeben. Die zweite Gruppe mit einem Durchschnittsgewicht von 560 g erhielt 0,05—0,06 g W auf 100 g Meerschweinchen in Form von in Tylosumlösung suspendiertem Wolframoxyd. Der dritten Gruppe applizierten wir 0,013 g W auf 100 g Meerschweinchen in Form einer $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ -Lösung, das Durchschnittsgewicht war 620 g; bei Applikation einer dem Wolframgehalt in der ersten und zweiten Gruppe entsprechenden Menge Wolframs verendeten die Meerschweinchen innerhalb von 8 Std. Einer vierten Kontrollgruppe injizierten wir 2 ml Tylosumlösung. Die Applikation war durchweg intrainguinal durchgeführt worden. Die Tiere wurden 24—42 Std nach Wolframapplikation nach Dekapitation sezirt.

5. Die Emissionsspektralanalyse wurde auf dem Spektrographen QU 24 Zeiss mittels Methode glühender Kathodenschicht durchgeführt. Die Elektroden wurden mit etwa 20 mg fein geschnittenen nativen oder formolfixierten auch bei 37° getrockneten Gewebes, auch nach Mineralisation, gefüllt. Vordem wurden die Elektroden bei gleichzeitigem Photographieren ausgeglüht. Bei der Analyse selbst wurde sie jeweils zweimal gefüllt. Der zum Glühen benützte Gleichstrombogen wurde entweder mit einem Strom von 150 V und 5 A erzeugt oder es wurde zur Initiation ein Bogen von 200 V und 8—9 A Gleichstrom benützt. Zur Prüfung der Spektralempfindlichkeit wurde eine Konzentrationsreihe von 0,1%, 0,01%, 0,001% und 0,0001% des geprüften Elementes hergestellt. In die RW-Spektral-0-Kohlen wurde

dieselbe Lösungsmenge abgemessen und nach Durchtränkung wurde der Kohlenstoff mit einem Gemisch von Glucose mit NaCl p.a. als Ersatz für das organische Gewebe ergänzt. Das Spektrum wurde auf Foma-Super-Ortho, 9×24 cm-Platten photographiert und die Platten auf dem Projektor abgelesen. Die Erkennungsgrenze reichte beim Wolfram bis 0,001%, das bedeutet, daß die Gegenwart von weniger als 10^{-6} g nicht ausgeschlossen werden konnte (in 1 g Gewebe 50 μ g W).

Zur Bestimmung der Lipide, Cholesterins⁴ und ihre Esterverbindungen, wie auch des lipidischen Phosphors⁵ und Stickstoffs, wurde das mit Chloroform-Methanol (2 + 1) erhaltene Extrakt benützt. Zur Verfolgung des Verhältnisses der Lipoidsubstanzen benützten wir natives Homogenatgewebe und nach halbständiger Extraktion auf dem Wasserbade unter den Rückflußkühler erhaltene chloroform-methanolische Extrakte, die nach Zentrifugierung und Abdampfung über KOH getrocknet wurden. Stickstoff wurde mittel Nesslerisation bestimmt.

Ergebnisse

Darüber, daß W nicht irrelevant für Vanadium und Zirkonium in einigen Organen von Lebewesen ist, berichteten wir in anderer Mitteilung⁶.

1. Spektralanalytisch fanden sich im nativen Nierengewebe nach Selbstmord (Š. W.) in größerer Menge: Ca, K, Mg, Na, P, in mittlerer Menge: Cd, Fe, Ti, in Spuren: Ba, Cu, Mn, Pb, W, Sn, Zn, Zr. Die Bestimmung erfolgte durch visuelle Schätzung nach der Anzahl der Streifen. Histologisch waren weiße Hirnsubstanz, Kleinhirn und Plexus chorioideus ohne pathologischen Befund. Im Herz fand sich fettige Atrophie, in den Lungen Ansammlungen von Koniophagen, in der Leber Vermehrung von Glykogen und Erweiterung der Disseschen Räume, in der Milz Überblutung und einige segmentkernige Leukocyten. Nieren und Nebennieren waren ohne pathologischen Befund.

2. An 35 menschlichen Nieren (10 davon nach Unfalltod) wiesen wir in keinem Falle Wolfram nach.

3. Bei der Meerschweinchengruppe (MW 1—10 — die metallisches Wolfram erhielt) wurde W einmal in der Lunge in Spuren nachgewiesen. von der zweiten Gruppe (MW 11—20 erhielt WO_3) wurde einmal in der Lunge eine mittlere Menge von Wolfram festgestellt. Die dritte Gruppe (MW 21—30 — erhielt $Na_2WO_4 \cdot 2 H_2O$) wies in keinem der Organe W auf. Bei 100 Fällen von Kontrolltieren fanden wir einmal W in Spuren in den Nieren. Histologisch wurden unter den Meerschweinchen MW 1—30 im Gehirn 3mal suspekta Gliaknötchen festgestellt, 3mal Hyperämie, 2mal perivasculäre Infiltrate und einmal ein Encephalitisbefund. In 26 Fällen fand sich in der Milz Siderose, vermehrte Segmente und Überblutung. Bei Kontrollmeerschweinchen (30), obgleich diese gemeinsam gehalten wurden, stellten wir weder im Gehirn noch in der Milz einen ähnlichen Befund fest.

4. Die Tabelle enthält eine Übersicht der durchschnittlichen Mengen an Lipoidbestandteilen im Nervengewebe von Meerschweinchen nach

Tabelle. Übersicht der durchschnittlichen Mengen an Lipoidbestandteilen im Nervengewebe von Meerschweinchen nach Wolframapplikation in verschiedener Form

Organ	Lipidischer Abdampfungsrest	Cholesterin		Lipidischer		Applikationsweise
		gesamt	esterifiziert	Stickstoff	Phosphor	
Großhirn	10,80	8,58 ($\pm 0,22$)	3,25	1,48 ($\pm 0,02$)	1,50 ($\pm 0,02$)	W
	10,20	9,06 ($\pm 0,24$)	3,46	1,52 ($\pm 0,02$)	1,50	WO ₃
	10,80	8,65 ($\pm 0,15$)	3,12 ($\pm 0,16$)	1,50	1,46 ($\pm 0,01$)	WO ₄ ²⁻
	11,90	6,90	2,88 ($\pm 0,09$)	1,36	1,38	Kontrolle
Kleinhirn	12,00	8,33	2,95	1,40	1,28	W
	12,20	8,20	2,66	1,45 ($\pm 0,02$)	1,21 ($\pm 0,05$)	WO ₃
	11,90	8,60 ($\pm 0,20$)	2,96	1,43 ($\pm 0,02$)	1,39 ($\pm 0,05$)	WO ₄ ²⁻
	11,50	6,75 ($\pm 0,25$)	2,40 ($\pm 0,21$)	1,36 ($\pm 0,02$)	1,35 ($\pm 0,02$)	Kontrolle
Pons, Medulla obl. et spin.	18,60	8,22 ($\pm 0,22$)	5,64	1,10 ($\pm 0,06$)	0,92 ($\pm 0,01$)	W
	15,60	8,65 ($\pm 0,20$)	6,12 ($\pm 0,12$)	1,34	1,22	WO ₃
	16,00	8,66 ($\pm 0,12$)	6,74 ($\pm 0,16$)	1,26 ($\pm 0,04$)	1,20	WO ₄ ²⁻
	16,90	8,19 ($\pm 0,23$)	5,60 ($\pm 0,22$)	1,15 ($\pm 0,01$)	1,10	Kontrolle

In der Tabelle sind alle Werte außer den der lipidischen Extrakte auf lipidisches Eluat umgerechnet. In Klammern ist die Schwankungsbreite der aus Gewebehomogenat erlangten Werte angeführt.

Wolframapplikation in verschiedener Form. Ausgenommen die Lipoidbestandteile, sind die übrigen Werte in einer auf das Lipoidextrakt bezogenen Menge ausgedrückt.

Diskussion

Der Befund von Wolfram in den Nieren eines Selbstmörders und dessen neurologische Beschwerden während der letzten Zeit vor dem Selbstmorde brachten uns auf den Gedanken, ob in diesem Falle nicht eine metabolische Läsion des Nervengewebes durch Einwirkung von Wolfram in Erwägung gezogen werden könnte, die die neurologischen Symptome erklären könnte und eventuell für den Selbstmord selbst in Betracht käme. Allerdings müssen wir hervorheben, daß wir auch nach Mineralisation einer größeren Gewebsmenge kein Wolfram in Großhirn, Kleinhirn, Medulla, Lungen, Leber, Herz und Milz spektralanalytisch nachwiesen. Für unsere Vermutung sprachen die im Gehirn von Meerschweinchen MW 1—30 experimentell festgestellten Veränderungen. Obgleich eine Kontamination infolge Abgabe von W mittels Sonde nicht ausgeschlossen werden kann, traten auch nach subcutaner Applikation von Wolframat (MW 21—30) Befunde; auf disperse Gliaknötchen, perivaskuläre Infiltrate, Anzeichen von Encephalitis, Gliavermehrung, die eine mögliche Mitbeteiligung des Wolframs in diesen Fällen nicht ausschlossen. Bei den Kontrolltieren, obgleich alle gemeinsam gehalten wurden, fanden wir keine ähnlichen Befunde. Siderose in der Milz nach Abgabe von Wolfram wurde in 90% nachgewiesen. Ein allmähliches Freiwerden von Wolfram aus diesem Depot ist nicht ausgeschlossen. Bemerkenswert ist, daß auch

nach kurzdauernder Abgabe von Wolfram deutliche Unterschiede der Lipoidbestandteile bei den einzelnen Versuchsgruppen im Großhirn wie auch im Kleinhirn und in den Homogenaten des Pons und der Medulla oblongata und spinalis bestimmt wurden, die in der Tabelle in Kursivschrift angeführt sind.

Mit unserer Mitteilung wollten wir dazu anregen, Fällen von Selbstmord größere Aufmerksamkeit zu widmen. Auf Grund der angeführten Feststellungen wie auch der experimentellen Ergebnisse kann nicht ausgeschlossen werden, daß in einigen Fällen Wolfram auch eine biochemische Läsion des Nervengewebes verursachen könnte. Wegen des schwierigen Wolframnachweises entgeht dies unserer Beobachtung. Bisher ist noch nicht bekannt, in welcher Form es in den Organismus eindringt und in welcher Verbindung es dort wandert, eventuell sich in Geweben ablagert. Dies wird Aufgabe weiterer Forschung sein.

Zusammenfassung

Der Fall eines Selbstmörders, eines ausgelerten Schamottarbeiters, der Kessel und Martinhochöfen ausmauerte, wird behandelt. Bei ihm wurde Wolfram in den Nieren bestimmt. Obgleich er in letzter Zeit Kanzleiarbeiten leistete, traten bei ihm vor dem Tode neurologische Symptome auf. Ergebnisse von Modellversuchen an Meerschweinchen schließen die Möglichkeit nicht aus, daß Wolfram in einigen Fällen biochemische Läsionen im Nervengewebe verursachen könnte. Wir wollten dazu anregen, ähnliche Fälle zum Gegenstand von Forschungsarbeiten zu machen.

Literatur

- ¹ RANKAMA, K., and TH. G. SAHAMA: *Geochemistry*, p. 628. Chicago, Ill.: Chicago Univ. Press 1949.
- ² SHIPITSIN, S. A.: *Izv. Akad. Nauk. S. S.S.R., Ser. Fiziol.* **14**, 677 (1950).
- ³ WASE, A. W., and J. A. CHRISTENSEN: *J. Amer. invest. Homeopathy* **49**, 25 (1956).
- ⁴ HALLMANN, I.: *Klinische Chemie und Mikroskopie*. Leipzig: Georg Thieme 1955.
- ⁵ YOUNBURG, G. E., N. V.: *Lab. and clin. Med.* **16**, 158 (1930), mod. Maclay.
- ⁶ ŠTĚPÁN, J.: *Nichtpubl. Mitt.*

Dozent Dr. med. J. ŠTĚPÁN, Praha 3, Jeseniova 120