

bei der Styrolpolymerisation doch von andersartiger chemischer Natur sind als die bei der Peroxydzersetzung in gesättigten aromatischen Kohlenwasserstoffen. Die übliche einheitliche Behandlung dieser Reaktionen dürfte daher eine zu weitgehende Vereinfachung sein.

Eine ausführliche Darstellung wird später erfolgen.

Die Wirkung von Toxinen auf Fermente.

I. Über den Einfluß von Diphtherietoxin auf die Gewebeatmung bei Meerschweinchen.

(Kurze Mitteilung.)

Von

**H. Eibl, W. Zischka, Ingeborg Dreher, O. F. Schwarz und
O. Hoffmann-Ostenhof.**

Aus dem Bundesstaatlichen serotherapeutischen Institut in Wien, dem Pathologisch-anatomischen Institut und dem I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 16. Mai 1950. Vorgelegt in der Sitzung am 15. Juni 1950.)

*Dickhoff*¹ konnte 1939 beobachten, daß Gewebeschnitte verschiedener Organe von mit Diphtherie intoxifizierten Kaninchen (Leber, Gehirn, Niere, Milz und Herz) unter bestimmten Bedingungen eine deutliche Atmungshemmung aufweisen. Es wurde bisher noch nicht versucht, festzustellen, an welchem der an der Atmung beteiligten Fermentsysteme das Diphtherietoxin seine Hemmeffekte ausübt. In letzter Zeit haben hingegen *Kun* und Mitarbeiter² eingehende Studien über den Wirkungsmechanismus von Endotoxinen (*Meningococcus* Typ I, *Salmonella aertrycke*) durchgeführt, wobei unter anderem Hemmungen an dem den aeroben Abbau der Brenztraubensäure katalysierenden Fermentsystem des Tricarbonsäurezyklus (vgl. z. B. *Krebs*³) nachgewiesen werden konnten.

Ähnliche Untersuchungen am Diphtherietoxin erschienen uns aussichtsreich. Im folgenden berichten wir über die Ergebnisse unserer ersten Versuchsreihe.

Methodik.

Wir arbeiteten mit Meerschweinchen, denen entweder 0,05 ml des nichtgereinigten Diphtherietoxins Nr. 28 intracerebral oder 1 ml des gleichen

¹ *J. Dickhoff*, Z. ges. exp. Med. 105, 640 (1939).

² Vgl. z. B. *E. Kun* und *L. G. Abood*, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 71, 362 (1949).

³ *H. Krebs*, Adv. Enzymol. 3, 191 (1943); Enzymologia (Den Haag) 12, 88 (1947); Exp. ann. Biochim. méd. 10, 31 (1949).

Toxins subcutan injiziert wurde. Die *Dosis letalis minima* dieses Toxins für ein Meerschweinchen betrug etwa 0,0012 ml. Bei diesem Toxinüberschuß erfolgte der Tod der Tiere nach ungefähr 10 Stunden. Die Tiere wurden sofort nach Todeseintritt obduziert, die zu untersuchenden Organe in Eiswasser gelegt, nach 5 Minuten gut abgetrocknet und gewogen. Sie wurden dann nach einer Vorschrift von *Green*⁴ auf das von diesem Autor Cyclophorase genannte, den Tricarbonsäurezyklus katalysierende Fermentpräparat verarbeitet. Zur Anwendung gelangte im allgemeinen die R₁-Fraktion nach *Green*, in manchen Fällen auch die R₃-Fraktion; die mit den beiden Fraktionen erhaltenen Ergebnisse waren so weit übereinstimmend, daß wir die verwendete Fraktion in Tabelle 1 nicht spezifizieren.

Bei jedem Versuch wurden die Organe von drei mit Toxin behandelten Meerschweinchen gemeinsam verarbeitet und verwendet; ebenso fanden auch für die Kontrollversuche die Organe von drei unbehandelten Meerschweinchen Anwendung.

Die nach der Angabe von *Green* erhaltenen Sedimente wurden in einer solchen Menge eines sogenannten Kaliummediums suspendiert, daß 1 ml des Gewebshomogenats einer Menge von 500 mg Ausgangsgewebe entsprach. Das Kaliummedium enthält 732 mg KCl, 223 mg KHCO₃, 31 mg MgSO₄ · 7 H₂O und 17 mg KH₂PO₄ in 100 ml. Sein pH ist 7,3.

Die Atmungsversuche wurden in der Manometeranordnung nach *Warburg* durchgeführt; pro Gefäß wurden 2 ml des Gels verwendet.

Ergebnisse und Diskussion.

Die Ergebnisse unserer Hauptversuchsreihe sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1. Beeinflussung der Veratmung verschiedener Substrate durch Fermentpräparate aus Gehirn und Nieren von mit Diphtherie intoxifizierten Meerschweinchen im Vergleich mit unbehandelten Kontrollen.

[2 ml Fermentsuspension, 0,5 ml m/100 adenosintriphosphorsaures Natrium (*Rohm & Haas*, Philadelphia, Pa.), Substrat in 0,1 ml dest. Wasser zugesetzt und mit Kaliummedium auf 3 ml aufgefüllt; pH 7,3; *t* = 37°; Gasphase Luft; 0,2 ml 20%ige KOH im Absorptionseinsatz der *Warburg*-Gefäße.]

Art der Injektion	Gewebe	Substrat	Anzahl der Versuche	Atmungs- hemmung nach 1/2 Stunde (Mittelwerte)
intracerebral	Gehirn	10 mg Natriumpyruvat	2	15%
subcutan	Gehirn	10 mg Natriumpyruvat	5	27%
subcutan	Niere	10 mg Natriumpyruvat	4	55%
subcutan	Niere	1 mg Natriumsuccinat	4	59%
subcutan	Niere	24 mg Natriumeitrat	4	57%

Die erhaltenen Resultate, welche durchwegs als statistisch gesichert angesehen werden müssen, erlauben festzustellen, daß im Endstadium

⁴ *D. E. Green, W. F. Loomis und V. H. Auerbach, J. biol. Chemistry* **172**, 389 (1948).

der Diphtherieintoxikation sowohl im Hirngewebe als auch im Nierengewebe *eine Hemmung des den aeroben Abbau der Brenztraubensäure katalysierenden Fermentsystems erfolgt*. Die Hemmung dieses Systems im Hirngewebe findet sowohl bei intracerebraler als auch bei subcutaner Applikation des Toxins statt. Über den genauen Ort der Hemmung im Schema des Tricarbonensäurezyklus können bisher noch keine Aussagen gemacht werden.

Es wurden auch Untersuchungen mit durch Ammonsulfatfraktionierung gereinigtem Toxin durchgeführt, die zu dem gleichen Ergebnis führten wie die Untersuchungen mit den nativen Toxin.

Versuche, eine analoge Beeinflussung durch Zusatz von Toxin zum fertigen Fermentpräparat zu beobachten, verliefen bisher negativ. Wegen der sehr schlechten Haltbarkeit der Enzymsuspension wurde von einer längeren Einwirkung des Toxins auf dieses abgesehen.

Die parallel dazu durchgeführte histologische Untersuchung der Organe ergab als morphologisches Substrat für die beschriebene Hemmung im Gehirn das Bild einer verschiedenen starken degenerativen Ganglienzellerkrankung nach *Nißl*. In der Niere wurde eine schwere trübe Schwellung des Epithels beobachtet.

Die Versuche werden fortgesetzt und zur gegebenen Zeit ausführlich publiziert werden.