

(Aus den Pathologischen Instituten der Universität Greifswald).

Untersuchungen der Fermente in der Leber bei Phosphorvergiftung¹⁾.

Von

M. Staemmler.

(Eingegangen am 12. April 1925.)

Für die Frage der Entstehung der pathologischen Verfettung hat von jeher die Phosphorvergiftung eine Rolle gespielt. Gelingt es doch mit ihrer Hilfe auf die einfachste Weise, eine hochgradige Verfettung der Leber (eventuell auch der Nieren und des Herzens) hervorzurufen.

Der Streit, ob das dabei in der Leber oft schon nach einigen Stunden nachweisbare Fett durch Zerfall des Zelleiweißes entsteht, oder ob es sich um eine Wanderung aus den Depots in die Leber hinein handelt, kann wohl nach den Untersuchungen von *Lebedeff* und *Rosenfeld* als im letzten Sinne entschieden angesehen werden.

Für die Ursache der Verfettung ist damit nichts gesagt.

Nun zeigten die Untersuchungen von *Saikowsky*, *Stolnikow*, *Athanasiu* u. a., daß gleichzeitig das Glykogen in der Leber verschwindet. *Rosenfeld* sah in dieser Glykogenverarmung die eigentliche Ursache der Leberverfettung, eine Ansicht, die weitgehende Anerkennung gefunden hat. Nach seiner Vorstellung verläuft der Prozeß etwa so, daß die in ihrem Eiweißbestand geschädigte Leberzelle zur Erhaltung ihrer Spannkraft alles verfügbare Kohlenhydrat verbrennt. Ist der Vorrat erschöpft, so wird als Ersatz Fett aus den Depots herangezogen. *Rosenfeld* spricht deshalb von einer fettigen Regeneration. Daß aber die Veränderungen des Kohlenhydratstoffwechsels nicht rein reparativer Natur sein können, läßt sich aus den Versuchen von *Frank* und *Isaac* entnehmen, welche ergaben, daß, wenigstens vom zweiten Tage der Vergiftung ab, auch die Glykogenfixation und die Kohlenhydratsynthese in der Leber auf das Schwerste geschädigt sind. Und *Rosenfeld* hat selbst ausdrücklich betont, daß Zufuhr von Glykogenbildnern die Leberverfettung durch Phosphor nicht verhindert, weil eben die Glykogenbildung durch das gleiche Gift unmöglich gemacht wird. Zu etwas anderen Ergebnissen ist später allerdings *Rettig* gekommen.

Uns beschäftigt hier in der Hauptsache die Frage: Warum wird das Fett in der Leber aufgespeichert und nicht verbrannt?

¹⁾ Ausgeführt mit Mitteln der Rockefeller-Stiftung.

Rosenfeld meint: Weil keine Kohlenhydrate vorhanden sind. „Die Fette verbrennen nur dann, wenn sie von den leicht entzündlichen Kohlenhydraten in Flammen gesetzt werden, können aber aus eigener Kraft nicht verbrennen, wo die Kohlenhydrate fehlen. Die Fettstoffe sind also nur Brennmaterial, aber nicht Zündmasse.“ Näher erklären kann allerdings *Rosenfeld* dieses eigentümliche, von ihm angenommene Verhältnis nicht, lehnt es nur ab, daraus auf eine katalysatorische Wirkung der Kohlenhydrate zu schließen.

Auf physiologischer und pharmakologischer Seite neigt man mehr dazu, eine Herabsetzung der Oxydationsvorgänge im Organismus dafür verantwortlich zu machen, die sich bei Stoffwechselversuchen in Verminderung des Sauerstoffverbrauches und der Kohlensäurebildung und im Auftreten unfertiger Abbauprodukte äußert. *H. Meyer* nimmt geradezu an, „daß der Phosphor die Körperzellen, welche er vergiftet, weniger fähig macht, den O_2 in normaler Weise zu verwerten.“ Auch *Krehl* denkt an eine Störung der inneren Atmung der Zellen, und *Ernst* sagt ausdrücklich: „Überhaupt spricht manches dafür, daß Phosphor den Gaswechsel, die innere Atmung der Zellen, stört (ähnlich wie Blausäure), daß die innere Erstickung das Wesentliche, die Fettspeicherung die Folge mangelnder Oxydation ist“ (*Krehl-Marchand* III, S. 183).

So mußte es denn von Wichtigkeit sein, zu untersuchen, wie sich die Zellfermente in der Leber bei Phosphorvergiftung verhalten. Die Frage konnte schon deswegen eine gewisse Aufmerksamkeit erwecken, als durch Untersuchungen von *Jakoby*, *Krontowski* u. a. als festgestellt gelten kann, daß die Autolyse in der Phosphorleber gesteigert ist. Man ist im allgemeinen geneigt, das auf eine stärkere Fermenttätigkeit zurückzuführen.

Unter den Zellfermenten, die zum Fettstoffwechsel in Beziehung stehen, werden wir vornehmlich mit zweien zu rechnen haben.

Das erste ist die Lipase, d. h. das Ferment, das die Fette spaltet, also in Glycerin und Fettsäuren zerlegt. Dem Studium dieser Lipase ist gerade in letzter Zeit viel Arbeit gewidmet worden. Es seien besonders die recht zahlreichen Untersuchungen von *Rona* und seinen Mitarbeitern erwähnt. Sie haben festgestellt, daß fettspaltende Fermente in den Zellen fast aller Organe, allerdings in sehr verschiedener Menge, nachweisbar sind, daß aber diese Lipasen der einzelnen Organe nicht untereinander übereinstimmend sind, sondern durch gewisse Giftempfindlichkeiten unterschieden werden können. Diese Widerstandsfähigkeit oder Empfindlichkeit gegen Chinin, Atoxyl und andere Substanzen hat die Möglichkeit gegeben, Lipasen, die im Serum in vermehrter Menge auftraten, von ganz bestimmten Organen herzuleiten und auf diese Weise mittelbar auf Erkrankungen dieser Organe zu schließen (siehe besonders die Arbeiten über Pankreaslipase). Wichtig erscheint bei diesen Arbeiten vor allem,

daß die Methodik von *Rona*, die die Veränderungen der Oberflächenspannungen mit stalagmometrischem Verfahren mißt, verhältnismäßig einfach ist und, wie zahlreiche Nachuntersuchungen ergeben haben, recht zuverlässig arbeitet.

In Fragen der Organverfettungen hat aber die Untersuchung der Zelllipasen im allgemeinen noch keine Anwendung gefunden. Es ist hier eigentlich nur die Arbeit von *W. Clauberg* zu erwähnen, der mit der *Ronaschen* Methode die Frage zu klären versucht, ob der Fettleber bei Lungenschwindsucht eine Fermentstörung zugrunde liegt. Etwa gleichzeitig mit ihm habe ich meine Untersuchungen an der Fettleber bei Phosphorvergiftung angesetzt.

Clauberg kommt in seiner Arbeit zu dem mit aller Zurückhaltung abgegebenen Urteil, daß „eine gewisse Abhängigkeitsbeziehung zwischen phthisischer Fettleber und lipolytischer Insuffizienz“ wahrscheinlich sei.

Meine Versuche wurden mit Lebern weißer Mäuse vorgenommen. Zuerst galt es, den Lipasegehalt des gesunden Organes zu bestimmen und eine größere Anzahl normaler Leberextrakte auf ihre fettspaltende Fähigkeit zu untersuchen. Der Extrakt wurde so hergestellt, daß stets die ganze Leber der Maus, die im Durchschnitt etwa 0,8–1 g wiegt, zerkleinert und in einer Schale zerrieben wurde. Der Brei wurde durch ein feines Sieb gegeben und mit 5 ccm Ringerlösung versetzt, $\frac{1}{2}$ – $\frac{3}{4}$ Stunde mit dieser geschüttelt (unter Zusatz von Glasperlen) und dann ca. 20 Minuten zentrifugiert.

Von der oben stehenden klaren oder leicht trüben Flüssigkeit (dem Extrakt) wurde 1 ccm zu 30 ccm gesättigter Tributyrinlösung zugefügt, ein Phosphatpuffer zugesetzt und nun mit Hilfe des *Rona-Michaelsschen* Stalagmometers die Abnahme der Tropfenzahl nach 2 Stunden bei Zimmertemperatur festgestellt.

Ich stelle aus der großen Zahl von Versuchen eine Anzahl in Tab. I zusammen.

Tabelle 1.

Tropfenzahl		
	am Anfang des Versuches	am Ende des Versuches
1.	156	106
2.	150	105
3.	152	115
4.	159	105
5.	150	105
6.	150	110
7.	147	105
8.	153	106

Die Ergebnisse entsprechen also im allgemeinen denen, die sich auch sonst im Schrifttum finden, und zeigen, daß die Leber der normalen Maus ein kräftig wirkendes fettspaltendes Ferment enthält, was in den

Extrakt übergeht. Die Endzahl der Tropfen schwankt zwischen 105 und 115, ebenso wie die Anfangszahl einige kleine Unterschiede (von 147—156) aufweist.

Gerade im Hinblick auf die Extrakterstellung von *Clauberg* schien mir nun die Frage wichtig, ob die Konzentration des Extraktes von großer Bedeutung ist. Wenn *Clauberg* seine Extrakte aus einer abgewogenen Menge menschlicher Lebern herstellt, so wird, wie schon *Brahn* in der Aussprache zu dem Vortrag von *Steinbiß* auf dem nord-deutschen Pathologentag in Rostock im Juni 1924 betonte, der Extrakt aus der Fettleber, die in dem gleichen Gewicht ja natürlich, ihrem Fettgehalt entsprechend, viel weniger Zellprotoplasma enthält, eine wesentlich geringere Konzentration aufweisen als ein Extrakt aus einer fettfreien Leber.

Deswegen machte ich dieselben Versuche an Mäuselebern mit steigender Verdünnung des Extraktes. Dabei zeigte sich, daß man im allgemeinen den Extrakt hochgradig mit Ringerlösung verdünnen kann, ohne eine Abschwächung seiner Wirkung zu erhalten.

Zwei Beispiele mögen das zeigen.

I.		
Verdünnung	Anfangszahl	Endzahl
1 : 1	151	107
1 : 4	151	107
1 : 16	151	101
1 : 32	151	101
1 : 64	151	110
1 : 128	151	112
II.		
1 : 1	149	114
1 : 8	149	108
1 : 32	149	106
1 : 128	149	109
1 : 512	149	117
1 : 2048	149	130

In den meisten ebenso angesetzt Versuchen war allerdings eine gewisse Abschwächung schon etwas früher nachweisbar. Doch konnte man im allgemeinen sagen, daß eine Verdünnung auf ein Viertel ohne jeden Einfluß war, eine solche auf 1:16 nur Zunahme um wenige Tropfen gegenüber der Einwirkung des unverdünnten Extraktes zeigte. Zum Beispiel

von 108 auf 115
„ 111 „ 116
„ 113 „ 116
„ 111 „ 113
„ 106 „ 113.

Nur einmal fand ich bei Verdünnung des Extraktes auf 1:16 eine stärkere Abnahme der Lipasewirkung, die sich in einem Ansteigen der Tropfenzahl von 113 zu 138 äußerte.

Daraus ergibt sich also zunächst, daß die Benutzung verdünnter Extrakte bei den Fettlebern in den Untersuchungen *Claubergs* die Abnahme der lipolytischen Fähigkeit kaum erklären kann, daß also in dieser Hinsicht seine Versuche einwandfrei sind.

Des weiteren galt es festzustellen, ob in vitro eine Beeinflussung der Lipase der Leber durch Phosphorzusatz nachweisbar ist.

Es wurden also jeweils 2 Parallelversuche angesetzt.

Der erste entsprach dem in Tabelle 1 wiedergegebenen.

Beim zweiten (mit derselben Leber) wurden dem Extrakt zunächst 2 ccm einer 1⁰/₀₀ PhosphoremulSION zugesetzt und 10 Minuten später die Butyrinlösung hinzugefügt. Wichtig ist dabei allerdings, daß dieser Zusatz der Emulsion an sich die Oberflächenspannung des Gemisches vergrößert und damit die Zahl der Tropfen bei Beginn des Versuches schon herabsetzt.

Es ergaben

Tabelle 2.

Versuch I (normal)	Versuch II (P-Emulsion-Zusatz)
150—105	130—116
152—115	132—124
159—105	139—114
150—105	130—120
149—108	132—115
150—113	136—112
149—106	142—109
148—111	134—114

Die Ergebnisse sind also nicht ganz gleichmäßig. Aus den ersten Versuchen scheint hervorzugehen, daß eine gewisse Abschwächung der Lipasewirkung nachweisbar ist, aus den letzten läßt sich eine derartige Wirkung nicht ableiten.

Wendet man stärker verdünnte Extrakte (1:16) an, so ist die Wirkung des Phosphors etwas deutlicher.

So ergaben mit verdünnten Extrakten: Versuch 1 (normal), Versuch 2 (P-Zusatz).

Tabelle 3.

Versuch I (normal)	Versuch II (P-Zusatz)
149—115	132—129
150—126	136—128
149—103	142—112
148—116	134—122

Wir sehen, daß hier in 3 von 4 Versuchen schon fast eine völlige Hemmung der Lipolyse eingetreten ist, da die Endzahlen sich ja nur noch wenig von den Tropfenzahlen am Anfang unterscheiden.

Wir werden also sagen können, daß ein gewisser Einfluß des Phosphors auf die Lipasen in vitro sich nicht abstreiten läßt. Aber die Herabsetzung der Wirksamkeit der Fermente ist eine unregelmäßige und tritt erst bei recht hohen Konzentrationen des Giftes deutlich in Erscheinung, bei einer Konzentration, die sicherlich im Leben nie erreicht wird. Die Ergebnisse sind nicht entfernt so eindeutig, wie sie durch Chinin, Atoxyl usw. erreicht werden.

Und dem entsprechen auch durchaus die Ergebnisse der Untersuchungen an Mäusen, die mit Phosphor vergiftet waren. In einzelnen Fällen schien eine gewisse Herabsetzung der Lipolyse nachweisbar.

Es wurden dabei neben den Lebern der phosphorvergifteten Tiere stets zum Vergleich solche normaler gleichzeitig und mit demselben Butyringemisch angesetzt.

Es zeigte

Phosphor-Maus Nr. 65	145—119 Tropfen
gegen Kontrolle.	150—105 „
Phosphor-Maus Nr. 69	159—115 „
gegen Kontrolle.	159—105 „

In beiden Fällen zeigte die Leber eine mäßig starke Verfettung. Wir könnten hier vielleicht von einer leichten Hemmung sprechen, doch ist die Abschwächung so unbedeutend, daß aus ihr keine bindenden Schlüsse gezogen werden können. Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen sah ich bei

Phosphor-Maus Nr. 67	150—116 Tropfen
gegen Kontrolle.	152—115 „

Allerdings enthielt in diesem Fall die Leber, obwohl 2 mal 0,001 g P subcutan in Olivenöl gelöst eingespritzt worden waren, nur sehr wenig Fett.

Aber es ergaben trotz deutlicher Fettleber

Phosphor-Maus Nr. 79	149—108
„ „ 80	147—109
„ „ 89	153—110 (Kontr. 113)
„ „ 91	153—108 („ 111)
„ „ 92	153—106 („ 111)
„ „ 93	148—115

Und selbst bei stärkeren Extraktverdünnungen ließen sich meist keine Unterschiede gegenüber der normalen Leber feststellen.

So ergab Verdünnung des Extraktes auf 1:16 bei

Phosphor-Maus Nr. 89	153 : 112 (Kontr. 116)
„ „ 91	153 : 113 („ 113)
„ „ 92	153 : 113
„ „ 93	148 : 121

Hatte also schon im Reagensglas Zusatz von Phosphor zu einem Gemisch von Leberextrakt und Butyrin keinen eindeutigen Einfluß

auf die Fettspaltung erkennen lassen, so läßt sich vollends in der größeren Zahl der Phosphorlebern, obwohl sie eine deutliche Verfettung aufweisen, keine Hemmung der Lipase nachweisen.

Daraus kann wohl geschlossen werden, daß, wenn die Methoden unserer Fermentforschung zuverlässig sind, die Verfettung der Leber bei der Phosphorvergiftung nicht oder wenigstens nicht allein durch Hemmung fettsplaltender Fermente bedingt sein kann.

Damit scheint die Verfettung bei P-Vergiftung in einem Gegensatz zur Fettleber bei chronischer Tuberkulose zu stehen.

Das zweite Ferment, das bei der Verbrennung des Fettes in den Zellen eine Rolle spielen kann, ist die Oxydase. Ob sie wirklich als Ferment aufzufassen ist, ist durch neuere Untersuchungen, besonders von *Warburg*, fraglich geworden, der die Sauerstoffübertragung auf katalysatorisch wirkendes, im Zellprotoplasma fein verteiltes Eisen zurückführt. Die Beziehungen dieser Oxydasen zum Fettstoffwechsel der Zellen sind bisher nirgends genauer untersucht worden. Doch finden sich hier und da in den Arbeiten kurze Angaben, meist derart, daß in verfetteten Zellen sich Oxydasen nicht oder nur schlecht nachweisen lassen.

Für unsere Untersuchungen kam zunächst die allgemein geübte Versuchsanordnung der „Oxydasereaktion“ am frischen (unfixierten) Gewebsschnitt mit Hilfe der Indophenolblausynthese in Frage, auf deren von *v. Gierke* und *Gräff* ausgearbeitete Technik nicht näher eingegangen zu werden braucht.

Es ist nun bekannt, daß die Indophenolblaubildung durch gewisse Gifte gehemmt, ja völlig verhindert werden kann.

Cyankali lähmt die katalysatorische Tätigkeit völlig, so daß in den Schnitten, die vorübergehend mit ihm behandelt worden sind, nirgends eine Blaufärbung nachweisbar ist.

Es wurden zunächst eine Anzahl von entsprechenden Versuchen mit einer 1^o/₁₀₀ P-Emulsion gemacht. Schnitte von unfixierten, dem eben getöteten Tiere entnommenen Organen wurden auf ca. 10 Minuten in eine Phosphoremulsion gelegt, danach gut abgespült und nun in das Nadi-Gemisch gebracht. Kontrollschnitte von gleichen Organen kamen ohne Vorbehandlung in das Nadi-Gemisch. Dabei zeigte sich mit vollständiger Regelmäßigkeit, daß in den mit P vorbehandelten Schnitten die Leukocyten zwar noch eine Indophenolblaubildung ihrer Granula zeigten, während die übrigen Zellen, im besonderen die Parenchymzellen in Leber, Niere, sowie die Herzmuskelzellen, völlig ungefärbt blieben. Die sog. „Geweboxydase“ war also gelähmt, die Leukocytenoxydase erhalten geblieben.

Was von physiologischer und pharmakologischer Seite behauptet wird, schien also hier gleichsam *in vitro* bestätigt, daß nämlich der

Phosphor imstande ist, ähnlich wie die Blausäure, die innere Atmung der Zellen zu lähmen.

Eine andere Frage war, ob sich das, was bei der starken Phosphoreinwirkung auf den Schnitt einwandfrei zutage trat, auch am lebenden Tier nachweisen ließ. Konnte auch hier, besonders in der Leber, eine Hemmung der oxydierenden Fermente festgestellt werden, dann lag es nahe, anzunehmen, daß die Verfettung durch diese bedingt sei, weil eben das Fett, das von den Fettlagern in die Leber gelangte, infolge ungenügender Oxydation in dieser liegen blieb.

Bei dem Versuch, die Wirksamkeit der Oxydasen in der verfetteten Phosphorleber festzustellen, versagte nun die übliche Methode vollkommen. Bringt man einen frischen Schnitt einer solchen Leber in das Nadi-Gemisch, so sieht man, daß sich schon nach kurzer Zeit das ganze Präparat violett färbt. Unter dem Mikroskop erkennt man, daß die Fetttropfen in den Zellen sämtlich stark violett gefärbt sind, während sich im Protoplasma der Zellen kaum etwas von Indophenolblaukörnchen sehen läßt. Das beruht, wie schon früher von *Gräff* u. a. gezeigt worden ist, darauf, daß sich das Indophenolblau gut in Fetten löst und daher von dem Fett in den Zellen an sich gerissen wird. Sind auch hier und da in den weniger stark verfetteten Protoplasmaaresten Farbstoffkörnchen nachweisbar, so ist es doch ganz unmöglich, ihre Menge auch nur annähernd zu schätzen und Schlüsse auf die Wirksamkeit der Sauerstoffüberträger zu ziehen.

Ich habe früher in einer gemeinsam mit *Frl. W. Sanders* veröffentlichten Arbeit darauf hingewiesen, daß auch sonst eine Schätzung des gebildeten Indophenolblaus nach dem Schnittpräparat recht schwierig und subjektiv ist, und deshalb eine Methode angegeben, den Farbstoff quantitativ zu erfassen und seine Menge colorimetrisch zu bestimmen. Diese Methode wurde nun im folgenden auch zur Untersuchung der Oxydasen in der Phosphorfettleber angewandt.

Ich ging dabei folgendermaßen vor: Es wurden 2 gleichschwere, etwa gleichalte und unter gleichen Bedingungen gehaltene weiße Mäuse herausgesucht und von den übrigen abgesondert. Die eine wird mit Phosphor, in Olivenöl gelöst, subcutan gespritzt, die andere zum Vergleich benutzt. Die eingespritzte Phosphormenge betrug in den ersten Versuchen 0,4—0,75 mg. Kurz vor dem spontanen Tod wird die Phosphormaus getötet, hin und wieder auch die eben gestorbene zur Untersuchung benutzt.

Nun hatten die früheren Versuche gezeigt, daß die Menge des gebildeten Indophenolblaus fast genau parallel geht der Menge des in das Nadigemisch eingebrachten Gewebes. Wollte ich also vergleichbare Ergebnisse haben, so durfte ich nicht gleiche Gewichtsteile der Fettleber und der normalen Leber benutzen, sondern mußte den

Versuch so ansetzen, daß ich erwarten konnte, gleiche Mengen wirklich atmenden Lebergewebes in beiden Schalen zu haben. Da ich bei gleichem Gewicht der Mäuse im allgemeinen annehmen konnte, daß die Gewichte der Lebern vor dem Versuch etwa die gleichen gewesen waren, wurden die Versuche jeweils mit der halben Leber der Tiere angesetzt.

Es wurde also in 2 gleichgroße Schalen mit je 4 ccm sodahaltigem Nadigemisch je $\frac{1}{2}$ Leber (vom Versuchstier und vom Vergleichstier) nach vorheriger feiner Zerkleinerung hineingebracht und beide 10 Minuten der Oxydation überlassen. Dann wurde das Gewebe im Nadi-Gemisch in der Reibschale zerrieben, 8 ccm Xylol zugesetzt und ausgeschüttelt bis der Farbstoff völlig in das Xylol übergegangen war. Nachdem sich die klare, blauviolett gefärbte Flüssigkeit im Reagensglas oben abgesetzt hatte, konnten die beiden Farblösungen unmittelbar miteinander im Sahlischen Hämometer colorimetrisch verglichen werden. Die dunklere Lösung wurde dann so lange mit Xylol verdünnt bis sie der helleren gleich war, dieser Verdünnungsquotient festgestellt und in einem Dezimalbruch ausgedrückt.

Diese Versuche hatten nun das eigenartige Ergebnis, daß die Farbstoffbildung in der Phosphorleber mit völliger Regelmäßigkeit *größer* war als in dem Vergleich. Zuweilen waren zwar die Unterschiede nicht groß, betrug aber in einzelnen Fällen das Zwei- bis Dreifache.

Die Verdünnungsquotienten waren im einzelnen folgende:

Versuchs-Nr. 40	1,1	Versuchs-Nr. 66	1,6
„ „ 55	1,2	„ „ 43	1,7
„ „ 37	1,25	„ „ 48	1,7
„ „ 63	1,3	„ „ 54	1,8
„ „ 51	1,4	„ „ 67	1,8
„ „ 69	1,4	„ „ 47	1,9
„ „ 54	1,5	„ „ 40	2,0
„ „ 64	1,6	„ „ 59	2,6

Im Durchschnitt betrug somit der Verdünnungsquotient 1,6, d. h. in der Phosphorleber war die Indophenolblaubildung gegenüber einer normalen Vergleichsleber etwa um die Hälfte *vermehrt*. In einem einzigen Falle waren die Werte in beiden Lebern die gleichen. Die Leber des Phosphortieres war mikroskopisch in diesem Falle nicht verfettet. In einem Falle war das Verhältnis ein umgekehrtes: Es war von der Vergleichsleber *mehr* Indophenolblau gebildet worden. Der Fettgehalt dieser Leber war auch nur gering. Ob hier ein Versuchsfehler vorliegt, oder wodurch in diesem einen Falle das Ergebnis ein umgekehrtes gewesen ist, kann ich nicht sagen.

Selbstverständlich wurden stets beide Lebern mikroskopisch untersucht und besonders ihr Fettgehalt abgeschätzt. Alle solche Schätzungen haben natürlich etwas sehr stark Subjektives an sich. Im allgemeinen hatte ich nach meinen Aufzeichnungen den Eindruck, als ob eine gewisse

Übereinstimmung zwischen der Fettmenge und der Höhe des Verdünnungsquotienten bestehe, daß aber im einzelnen Abweichungen vorkommen, so daß mit dem höchsten Fettgehalt nicht ohne weiteres die höchsten Indophenolblaubildungen parallel gingen.

Die Zellstrukturen waren durchweg noch gut erhalten. Nekrosen wurden nirgends gefunden. Die meisten Tiere standen etwa 24 Stunden im Versuch.

Wie soll man sich nun dieses eigenartige Ergebnis erklären?

Auszuschließen ist wohl, daß die gesteigerte Oxydation als Ursache der Fettspeicherung anzusehen ist. Und doch muß sie irgendwie mit ihr zusammenhängen. Da scheint mir folgender Gedankengang am einleuchtendsten:

Infolge irgendwelcher Ursachen — wahrscheinlich der Glykogenverarmung — kommt es zu einer mächtigen Mobilisierung des Fettes aus den Fettlagern und zu massenhaftem Angebot an die Leber. Die Leberzellen nehmen es auf und versuchen jetzt, es zu verbrennen. Dabei kommt es zu einer stärkeren Tätigkeit der Oxydasen, die aber doch nicht imstande ist, mit der Unmenge zugeführten Fettes fertig zu werden. Deshalb bleibt trotz der Oxydationssteigerung ein großer Teil unverbrannt liegen. Die gesteigerte Tätigkeit der Oxydasen ist also eine Folge der Fettaufnahme, eine Anpassungserscheinung der Leberzelle.

Ich bin mir bewußt, daß der Ausdruck „stärkere Tätigkeit der Oxydasen“ zu beanstanden ist, und habe ihn nur der Kürze wegen benutzt. Wahrscheinlich wird man sich die Steigerung der Sauerstoffübertragung so vorzustellen haben, daß es infolge der Fettaufnahme in den Leberzellen zu irgendwelchen chemischen Vorgängen (z. B. Änderungen der H-Ionenkonzentration) kommt, durch die die Katalyse erhöht wird.

Wenn dieser Gedankengang richtig war, so dürfte diese gesteigerte Indophenolblaubildung erst dann nachweisbar sein, wenn wirklich die Fettwanderung im Körper bereits eingesetzt hatte. Gab ich aber so große P-Dosen, daß die Tiere schon vor dieser zugrunde gingen, so mußte diese Steigerung in der Leber fehlen.

Es wurden also 12 Mäuse mit ganz großen Phosphorgaben (2–5 mg) gespritzt. Der Tod trat 2–6 Stunden nach der Einspritzung ein. Die Ergebnisse der quantitativen Untersuchung der Oxydasen waren beim Vergleich mit der Kontrolle folgende:

Versuchs-Nr.	76	1,0 (2 mg P.)
„	79	1,0 (2 mg P.)
„	81	1,0 (5 mg P.)
„	82	1,0 (5 mg P.)
„	84	1,0 (5 mg P.)
„	85	1,0 (5 mg P.)
„	87	1,0 (5 mg P.)

Versuchs-Nr. 88	1,0 (5 mg P.)
„ „ 90	1,0 (5 mg P.)
„ „ 91	1,0 (5 mg P.)
„ „ 78	1,1 (2 mg P.)
„ „ 75	1,4 (2 mg P.)

Die Ergebnisse sind wiederum fast völlig gleichlautend. Leider waren die mikroskopischen Untersuchungen insofern nicht ganz befriedigend, als sich in den Lebern sowohl der Versuchs-, wie der Vergleichstiere, zuweilen nicht unbedeutende Fettmengen fanden. Da aber gerade die Versuche mit 5 g Phosphor meist schon nach 2 Stunden zum Tode des Versuchstieres führten, ist wohl kaum die Verfettung als Folge der Phosphorwirkung aufzufassen.

Es zeigt sich also, daß die gesteigerte Tätigkeit der oxydierenden Fermente anscheinend nicht eine unmittelbare Folge der Phosphorwirkung ist, sondern erst später auftritt, und es liegt deshalb nahe anzunehmen, daß sie eine Reaktion auf die zugeführten Fettmengen darstellt. Immerhin deuten trotz alledem die Versuche darauf hin, daß Oxydasen im Fettstoffwechsel der Zellen eine Rolle spielen.

Gehen wir auf unsere anfängliche Fragestellung zurück, so können wir als Ergebnis der Arbeit eigentlich nur ein negatives buchen.

Es läßt sich in der durch Phosphorvergiftung verfetteten Leber weder eine Hemmung der Lipasen noch eine solche der Oxydasen nachweisen. Letztere sind sogar regelmäßig in ihrer Tätigkeit gesteigert. Es besteht aber vielleicht insofern eine fermentative Insuffizienz, daß trotz gesteigerter Tätigkeit der Fermente der durch sie übertragene Sauerstoff nicht ausreicht, um die gewaltigen zugeführten Fettmengen zu verbrennen.

Literaturverzeichnis.

- Lebedeff*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **31**, 11. 1883. — *Rosenfeld*, Ergebn. d. Physiol. **2**, 1. 1903. Berl. klin. Wochenschr. 1904, 1906, 1907. — *Saikowsky*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **34**. 1865. — *Stolnikow*, Arch. f. Anat. u. Physiol., Phys. Abt. Suppl. 1887. — *Athanasiu*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **74**, 511. 1899. — *Frank und Isaac*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **64**, 274. 1911. — *Rettig*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **76**, 345. 1914. — *Meyer, H.*, „Phosphor“, in Meyer-Gottlieb, Experimentelle Pharmakologie. 5. Aufl. 1921. — *Krehl*, Pathologische Physiologie. 12. Aufl. 1923. — *Ernst*, Krehl-Marchand Bd. III, S. 183. — *Jacoby*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**, 174. 1900. — *Krontowski*, Zeitschr. f. Biol. **54**, 479. 1910. — *Herzheimer*, Beitr. z. pathol. Anat. u. 7. allg. Pathol. **72**, 2. 1924. — *Rona und Michaelis*, Biochem. Zeitschr. **31**. — *Rona*, Biochem. Zeitschr. **32**. — *Rona und versch. Mitarbeiter*, Biochem. Zeitschr. **59**, **64**, **111**, **128**, **130**, **134**, **146** u. a. — *Clauberg*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **253**. 1924. — *v. Gierke*, Münch. med. Wochenschr. 1911, Nr. 44. — *Graeff*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **70**, **72**; Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **32**. 1922; Frankfurt. Zeitschr. f. Pathol. **11**. 1912 u. a. — *Katsunuma*, Histochemische Studie über Oxydasereaktion im tierischen Gewebe. Jena 1924. — *Staemmler und Sanders*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **256**.