

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Marburg.
Direktor: Prof. Dr. Versé.)

Phosphorvergiftung und Insulinwirkung im Tierversuch¹.

Von

Hans-Joachim Arndt und Erich Greiling.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. August 1927.)

Folgende *Grundtatsachen* bilden den *Ausgangspunkt* der vorliegenden Untersuchungen: 1. Die Phosphorvergiftung bewirkt eine Verfettung der parenchymatösen Organe, besonders der Leber. 2. Das hierbei auftretende Fett ist (hauptsächlich durch „Fettwanderung“) aus den Fettgewebslagern in die Organe gelangt („Steatosis transportativa“ *Aschoffs*). 3. Die Phosphorvergiftung führt zu einem praktisch vollständigen Glykogenverlust in den glykogenspeichernden Organen, besonders der Leber. 4. Durch Insulin kann nach eigenen Beobachtungen wie denen anderer Untersucher in der Leber (namentlich beim Kaninchen) in kleineren Gaben ein Glykogenaufbau erzielt werden. 5. Eine günstige Einwirkung von Insulin (und Traubenzucker) insbesondere bei verschiedenartigen „hepatargischen Zuständen“ ist festgestellt (nach klinischen Beobachtungen usw., vgl. *P. F. Richter, Herszky* u. a.), und das im Sinne der Glykogenneubildung. — Dazu kommt für uns als Arbeitshypothese, daß (6.) Insulin mit größter Wahrscheinlichkeit einen in seinen Einzelheiten noch nicht zu übersehenden Einfluß auf die gegenseitige Umwandlung von Kohlehydraten und Fettstoffen hat, und ferner (7.) die Beobachtung *Wertheimers* aus der neuesten Zeit, daß Insulin beim Phlorrhizintier² die Mobilisierung der Fettlager hemme.

¹ Im Verlaufe experimenteller und morphologischer Untersuchungen über den Glykogen- und Fettstoffwechsel und über Insulinwirkung wurden von dem einen von uns schon vor längerer Zeit kombinierte Phosphor-Insulinversuche angestellt und darauf in einem Vortrage auf der Freiburger Tagung der Deutschen Pathologischen Gesellschaft bereits in anderem Zusammenhange kurz hingewiesen. Die hauptsächlichsten Ergebnisse unserer seitdem fortgesetzten und wesentlich erweiterten hierher gehörigen Untersuchungen werden hier vorgelegt. Inzwischen hat *Wertheimer* bemerkenswerte Beobachtungen über Insulinwirkung bei phlorrhizindiabetischen Tieren mitgeteilt. Fragestellung und Zielsetzung seiner Untersuchungen berühren sich mit den unsrigen in manchen Punkten.

² Zur Schreibweise gestatten wir uns die Anmerkung, daß die von uns gewählte „Phlorrhizin“ (mit „rrh“ und „z“), wensschon sie wenig üblich ist, der Ableitung des Wortes (*φλόος* und *ρίζα*) wohl allein entspricht.

Das *allgemeine Ziel* unserer Arbeit ist die Untersuchung von Phosphor- und Insulinwirkung und ihrer gegenseitigen Beziehungen als zweier auf den Stoffwechsel einwirkenden Pharmaka, und das auch auf den Gewebestoffwechsel in morphologisch deutlich verfolgbare Weise. Dabei dient die Phosphorvergiftung gewissermaßen als Modell. Auf der Grundlage der kennzeichnenden Stoffwechselveränderungen, wie sie die Phosphorvergiftung bewirkt, sollen Fragen des Kohlehydrat- und Fettstoffwechsels geprüft werden.

Läßt sich beim phosphorvergifteten Tier ein Einfluß des Insulins auf die Fettmobilisierung nachweisen? Bleibt die Verfettung der parenchymatösen Organe (namentlich der Leber) im kombinierten Phosphor-Insulinversuch (evtl. bei gleichzeitiger Kohlehydratzufuhr) aus bzw. verschwindet die schon eingetretene Verfettung unter Insulinwirkung? Ist in der „Phosphorleber“ ein Glykogenaufbau noch möglich und unter welchen Bedingungen? Oder ist in der Phosphorleber nur die Fähigkeit der Glykogenfixation gestört, der Glykogenabbau überstürzt? Welchen Einfluß hat Insulin auf diese Stoffwechselvorgänge? Ergeben sich unter diesen Bedingungen Anhaltspunkte für die Auffassung der gegenseitigen Beziehungen im Kohlehydrat- und Fettstoffwechsel, insbesondere für die Umwandlungsmöglichkeiten der beiden Stoffgruppen ineinander?

Das sind die wichtigsten spezielleren *Fragen*, die wir uns zu *stellen* hatten und auf die wir nach der kurzen Angabe unserer Versuchsbefunde im Zusammenhang mit dem, was wir hier dem bereits vorliegenden Schrifttum zu entnehmen haben, zurückkommen werden. Beherrscht werden sie von folgenden *übergeordneten Gesichtspunkten*: einmal dem der hormonalen Stoffwechselregelungen (Fettmobilisierung — Kohlehydratumbau — Insulinwirkung), sodann der Frage der „Glukoneogenie“ (der Neubildung von Kohlehydrat aus Nichtkohlehydrat) und ferner der Insulin-Angriffspunkte und Angriffsweisen.

Gleichzeitig ergab sich bei unseren Versuchen Gelegenheit, eine Reihe *weiterer Einzelfragen* einer Prüfung zu unterziehen bzw. einer Nachprüfung, da wir uns hierzu meist auf schon von früheren Untersuchern Angegebenes zu beziehen haben (s. u.). Sie betreffen einmal die chemische Zusammensetzung — Fettstoff- und Zuckergehalt — des Blutes und ihre Veränderungen (wobei wir das hinsichtlich der Phosphorvergiftung bereits vorliegende durch den kombinierten Insulinversuch erweitern konnten), sodann gewisse morphologische Einzelheiten (Verhalten des Fettgewebes und der Nebennierenrinde; Verhalten des Skelett- und Herzmuskelykogens; etwaiges Glykogenauftreten in der Niere usw.).

Allgemeine Versuchsanordnung und Methodik.

Von Bedeutung für die Durchführung derartiger Versuche wie der unsrigen sind namentlich die Tierart, der „Vorzustand“ des Versuchstieres und die Dosierung.

Als *Versuchstiere* wählten wir Kaninchen; einige Versuche an Hunden dienen zur Ergänzung. Letztere sind weniger geeignet, da einmal die Insulinwirkung auf den Glykogenstoffwechsel der Leber usw. bei diesen Tieren (vgl. *Arndt*) und ferner bei ihrer Neigung zum Erbrechen auch der Eintritt der Phosphorvergiftung unsicherer ist. Die Kaninchenversuche konnten zum großen Teile an Tieren des gleichen Wurfes ausgeführt werden (Versuche 3—7).

Es wurden nur Tiere in guter allgemeiner körperlicher Verfassung, namentlich in *gleichmäßig gutem Ernährungszustand* ausgewählt. Es ist das für Phosphorvergiftungsversuche von großer Bedeutung. Denn es liegt auf der Hand, daß bei heruntergekommenen Tieren mit mehr oder weniger hochgradigem Schwund der Fettdepots ja so gut wie gar kein Material zur Fettmobilisation und zur Fettverschleppung zur Verfügung steht. Um die Bedingungen weiter möglichst einheitlich zu gestalten, wurde jeder Versuch mit einer 24stündigen Fastenperiode eingeleitet. So kamen alle Tiere nüchtern in den Versuch. Während des Versuchs selbst erhielten die Tiere ferner — von den gegebenenfalls im Rahmen der Versuche jeweils zugeführten Kohlehydraten (Zucker) abgesehen — kein Futter, nur etwas Wasser vorgesetzt.

Was die *Dosierung* betrifft, so wurde Phosphor in unter dem Höchstpunkt liegenden, jedoch hinreichend giftigen Gaben, angewandt. Die Anwendungsweise war, vorweg bemerkt, bei Kaninchen stets Einspritzung unter die Haut (1proz. Lösung von Phosphor in Olivenöl), bei Hunden wurde Phosphor zum Teil auch per os mit der Schlundsonde gegeben. Als sicher tödliche Gabe kann wohl allgemein 10 mg Phosphor auf 1 kg Tier angesehen werden. In unserer 1. Kaninchenversuchsreihe 1—4 wurden an 2 aufeinanderfolgenden Tagen je 5 mg Phosphor gereicht; in den weiteren Kaninchenversuchen (5—9) $\frac{3}{4}$ dieser Dosis (ebenfalls auf 2 Tage verteilt). Die Einspritzung von $\frac{1}{2}$ der 5 mg-Gabe hatte sich im Vorversuch als nicht genügend wirksam erwiesen. Insulin wurde unseren früheren Erfahrungen entsprechend in kleiner bis mittlerer Menge angewandt, im allgemeinen 1 Einheit pro Kilogramm Tier.

Die Versuche wurden grundsätzlich als „*Tierserien-Versuche*“ mit „*Kontrolle*“ durchgeführt (von einigen Abweichungen bei Hunden abgesehen [s. u.]). Der „*Eintier-Versuch*“ (mehrmalige operative Entnahme von Gewebsstückchen bei ein und demselben Tier) ist für das Kaninchen wenig geeignet, aus Gründen, auf die wir an anderer Stelle bereits eingegangen sind.

Folgende *Versuchsreihen* (jeweils mit verschiedener Phosphordosierung: $\frac{1}{1}$ — $\frac{3}{4}$ Dosis, vgl. u.) waren durchzuführen: 1. reine Phosphorvergiftung; 2. Phosphorvergiftung und gleichzeitige Traubenzuckerzufuhr; 3. Phosphorvergiftung und Insulin gleichzeitig; 4. Phosphor, Insulin und Traubenzucker gleichzeitig. — Im Gegensatz zu diesen „*Simultan*“-Versuchen (2—4) schließlich 5. Phosphorvorbehandlung, späterhin Insulin und Traubenzucker (vom 2. Tage der Phosphorvergiftung an).

Methodik: Im einzelnen Falle erstreckte sich die Untersuchung auf das allgemeine Verhalten der Tiere, bestimmte Blutbestandteile (Fettstoffe, Cholesterin, Zucker) und namentlich den mikroskopisch nachweisbaren Stoffgehalt der Organe (Glykogen, Fettstoffe); die Methodik war demgemäß eine allgemein-biologische, chemische und morphologische. Die Tiere wurden sehr sorgfältig beobachtet, Körpergewicht, Auftreten krankhafter Symptome und Zeit des Eintritts des Todes genau verfolgt. Vor Beginn der Versuche wurde der Cholesteringehalt des Blutes (mit der *Autenrieth-Funkschen* Methode) festgestellt und ferner der Blutzuckergehalt im nüchternen Zustande (mit der *Bangschen* Mikromethode). Der Cholesteringehalt des Blutserums wie auch dessen optisches Verhalten (Auftreten von Hyperlipämie?) und Blutzuckergehalt wurden jeweils laufend weiter

überprüft. Bei der histologischen Verarbeitung (Entnahme der Organe stets natürlich fast unmittelbar nach dem Tode) wurden folgende Organe berücksichtigt: Leber, Niere, Skelettmuskulatur (Adductorengegend), Herzmuskel, Nebenniere, mesenteriales und subcutanes Fettgewebe. Fixation entsprechender Stückchen sowohl in Alc. abs. als auch in Formalin. Mikroskopische Verarbeitung von allen Organen stets sowohl auf Glykogen (kombinierte Celloidin-Paraffineinbettung; Bestsche Carminfärbung) als auch auf Fettstoffe (Sudanfärbung vom Fettgewebe [Gelatineeinbettung!], stets auch Färbung mit Nilblausulfat).

Versuchsbefunde¹.

Versuch 1. *Reine Phosphorvergiftung.* Kaninchen 14, männlich. Injektion von je 5 mg Phosphor pro Kilogramm Tier an 2 aufeinanderfolgenden Tagen. Blutzucker 24 Stunden nach der 1. Phosphorgabe 0,04%. Tod am 2. Vergiftungstage abends. Blutserum (Leichenblut) vollkommen klar. Cholesteringehalt 0,05% (vorher 0,06%). Mikroskopisch findet sich eine hochgradige Fettstoffablagerung in der Leber (diffus im Läppchen), in den Nieren (in Epithelien von gewundenen Kanälchen und Schleifen oder auch als „Fettzylinder“ in den lichten Räumen, namentlich der gewundenen Kanälchen, sowie innerhalb von Gefäßen). Sehr feintropfige Verfettung des Herzmuskels. Glykogen fehlt in Leber und Skelettmuskulatur völlig; im Herzmuskel ist es in geringer Menge nachzuweisen.

Versuch 2. *Phosphor und Traubenzucker (gleichzeitig).* Kaninchen 29, weiblich. Phosphormengen wie in Versuch 1. Gleichzeitig 3 mal täglich subcutane Injektion von je 25 cem 20 proz. Traubenzuckerlösung (Nüchternblutzucker 0,09%, 4 Stunden nach der Zuckerezufuhr 0,42%). Tod 48 Stunden nach der 1. Phosphorgabe. Keine lipämische Trübung des Blutserums am Versuchsende; Cholesteringehalt etwas geringer als zu Beginn des Versuches (0,05% gegen 0,07%). Mikroskopischer Befund: Ziemlich starke Verfettung der Leber (mit Bevorzugung der zentralen Läppchengebiete) und Nieren (Epithelien von Hauptstücken und Schleifen), feintropfige in den Herzmuskelfasern. Glykogen findet sich äußerst spärlich in vereinzelter Leberzellen (meist zentral) und einzelnen Skelettmuskelfasern, reichlich dagegen im Herzmuskel.

Versuch 3. *Phosphor und Insulin (gleichzeitig).* Kaninchen 51, weiblich. Injektion von 5 mg Phosphor auf 1 kg Tier an 2 aufeinanderfolgenden Tagen und gleichzeitig von 1 Einheit Insulin „Degewop“ pro Kilogramm. Starke Hypoglykämie ($2\frac{1}{2}$ Stunden nach der Injektion 0,03%, gegen 0,08% Ausgangswert bzw. 0,02% gegen 0,10%). Tod am 2. Vergiftungstage (33 Stunden nach der 1. Phosphorinjektion). Blutserum fast vollkommen klar; Cholesteringehalt 0,09% (gegen 0,08% bei der Voruntersuchung). — Mikroskopischer Befund: Die Fettstoffablagerung in der Leber ist erheblich geringer als im Versuch I oder II. Feintropfige Leberzellenverfettung, besonders zentral; in der Niere finden sich sehr

¹ Es werden hier nur die notwendigsten Angaben protokollarisch wiedergegeben und im wesentlichen nur solche, die sich auf den Fett- und Kohlehydratstoffwechsel und die hier wichtigsten Organe, sowie Blutzucker und Blutfett beziehen. Die mehr nebenher erhobenen Befunde (wie bezüglich der Nebennierenrinde, des Fettgewebes, des Glykogenauftretens in Nierenepithelien usw.) werden unten, kurz zusammengefaßt, besprochen werden. — Auf die bereits hinreichend bekannten makroskopischen und mikroskopischen Einzelheiten im Verhalten der Organe (namentlich der Leber) bei der Phosphorvergiftung allgemein wird hier nicht eingegangen.

spärliche und feintropfige Fettstoffe (wenig charakteristische Lokalisation), in den Herzmuskelfasern morphologisch nur Spuren. — Glykogen fehlt mikroskopisch ganz in der Leber und im Skelettmuskel; im Herzmuskel ist es in geringer Menge nachzuweisen.

Versuch 4. *Phosphor, Insulin und Traubenzucker (gleichzeitig)*. Kaninchen 53, weiblich; dieselben Phosphordosen wie in Versuch 3; 2mal täglich (morgens und abends) Insulin (1 Einheit pro 1 kg) und Traubenzucker zugleich (25 ccm der 20proz. Lösung), außerdem noch einmal Traubenzucker allein (mittags). Hyperglykämie (am 2. Vergiftungstage 0,23%). Tod am 3. Vergiftungstage (53 Stunden nach der 1. Phosphorspritze). Keine lipämische Trübung des Blutserum; Cholesteringehalt im Vergleich zum Ausgangswert vermindert (0,05% gegen 0,07%). — Mikroskopischer Befund: Die Fettstoffablagerung in der Leber ist nur gering, kaum stärker als unter „normalen“ Verhältnissen (vorwiegendes Fettstoffauftreten in Sternzellen). In der Niere fehlen Fettstoffe fast ganz, ebenso im Herzmuskel. Glykogen kommt in der Leber nur in Spuren vor (in vereinzelter Zellen der Läppchenzentren); im Skelettmuskel kein Glykogen nachzuweisen, im Herzmuskel dagegen ziemlich reichlich.

Versuch 5. *Reine Phosphorvergiftung* (kleinere Gabe). Kaninchen 54. Injektion von Phosphor an 2 aufeinander folgenden Tagen in einer Menge, die $\frac{3}{4}$ der in den Versuchen 1—4 angewandten entspricht ($\frac{3}{4}$ von 5 mg auf 1 kg Tier). Blutzucker am 3. Vergiftungstage 0,05% (Nüchternwert zu Beginn des Versuches 0,11%). Am 5. Vergiftungstage (nach 90 Stunden) Tod. Ziemlich geringe hyperlipämische Trübung des Blutserum. Cholesteringehalt 0,09% (vor dem Versuch 0,06%). — Mikroskopischer Befund: Sehr hochgradige Verfettung der Leber (vollständig im Läppchen), der Nieren (besonders Hauptstücke und Schleifen) und reiche Fettstoffablagerung im Herzmuskel. — Leber und Skelettmuskeln sind völlig frei von morphologisch nachweisbarem Glykogen; in der Herzmuskulatur noch ziemlich reichlich Glykogen nachzuweisen, vor allem subendokardial.

Versuch 6. Phosphor und Insulin (gleichzeitig, kleinere Gabe). Kaninchen 52, weiblich. Phosphordosen wie im Versuch 5. Insulin vom 1. Vergiftungstage bis zum Tode täglich je 1 Einheit auf 1 kg. Am 3. Tage nach der Vergiftung Blutzucker vor der Insulininjektion 0,05% (Nüchternwert zu Beginn des Versuches 0,07%); 2 $\frac{1}{2}$ Stunden später hypoglykämischer Abfall auf 0,03%. Am Abend des 3. Tages Tod (60 Stunden nach der 1. Phosphoreinspritzung). Mäßige lipämische Trübung des Blutserum; Cholesteringehalt 0,1% (vor dem Versuch 0,1%). — Mikroskopischer Befund: Hochgradige vollständige Leberzellenverfettung; ebenso sehr starke Verfettung der Nierenepithelien (stellenweise auch „Fettzylinder“ in Kanälchenlichtungen), nur geringe des Herzmuskels. Glykogen fehlt in Leber und Skelettmuskeln vollständig, findet sich in den Herzmuskelfasern dagegen reichlicher.

Versuch 7. *Phosphor und Insulin und Traubenzucker (gleichzeitig)* (kleinere Gabe). Kaninchen 56, männlich. Phosphormengen wie in Versuch V und VI. Injektion von Insulin morgens und abends je 1 Einheit und 25 ccm 20proz. Traubenzuckerlösung zugleich; ferner mittags nochmals Traubenzucker allein. Nüchternblutzuckerwert 0,07%, prompte Reaktion auf Insulin (2 $\frac{1}{2}$ Stunden nach der Injektion 0,03%); dann starke Hyperglykämie infolge der Zuckereinspritzungen (0,10—0,19%). Tod am 4. Tage der Vergiftung (83 Stunden nach der 1. Phosphorgabe). Keine hyperlipämische Trübung des Blutserum, Cholesteringehalt 0,05% (vor dem Versuch: 0,09%). — Mikroskopischer Befund: Keine nennenswerte Fettstoffablagerung der Leberzellen, in den Sternzellen dagegen ziemlich reichliches Fettstoffauftreten. Nieren mikroskopisch fettfrei, ebenso der Herzmuskel. Glykogen findet sich in der Leber im ganzen reichlich, und zwar teils fleckförmig

und etwas ungleich im L äppchen verstreut, teils aber mit deutlicher zentraler Bevorzugung (Abb. 1). Auch im Skelettmuskel ist Glykogen mikroskopisch nachweisbar, allerdings nur spärlich. Im Herzmuskel mittelgradiger Glykogengehalt, besonders subendokardial.

Versuch 8. *Phosphorvergiftung mit nachfolgender Insulin- und Zuckerbehandlung.* Kaninchen 17, weiblich. Phosphoreinspritzung in derselben Höhe wie bei den Versuchen 5—7 („ $\frac{3}{4}$ Dosis“!). Am 3. Vergiftungstage Insulin und Zucker (in denselben Dosen und Zeiten wie in Versuch 7). Nüchternblutzuckerwert 0,12% (also auffallend hoch). 48 Stunden nach der 1. Phosphorgabe 0,14%. Tod am Morgen des 4. Vergiftungstages (etwa 70 Stunden nach dem Beginn der Vergiftung). — Mikroskopischer Befund: Verfettung in Leber und Niere sehr



Abb. 1. Kan. 56. Phosphorvergiftung mit gleichzeitiger Insulin-Zuckerbehandlung. Reichliche Glykogensynthese in der Leber. Hämatoxylin-Carminfärbung nach Best. Zeiss, Obj. 16 mm, Ok. 1.

stark, ausgedehnt auch im Herzmuskel. Glykogen kommt in Leberzellen im ganzen nur in geringer Menge vor in sehr scharfer L äppchenlokalisation, nämlich immer nur in zentralen Leberzellen. Glykogengehalt im Skelettmuskel negativ, im Herzmuskel ziemlich reichlich.

Versuch 9. *Phosphorvergiftung mit nachfolgender Insulin-Zuckerbehandlung.* Kaninchen 57, weiblich. Phosphoreinspritzungen in derselben Weise wie in Versuch 8. Insulin und Traubenzucker vom 2. Vergiftungstage an in Dosen wie bei Versuch 8. Blutzuckergehalt nüchtern zu Versuchsbeginn 0,10%, am Morgen des 2. Vergiftungstages 0,07%, $2\frac{1}{2}$ Stunden nach der Insulin-Zuckereinspritzung 0,11%. Tod am 4. Vergiftungstage (ca. 85 Stunden nach der 1. Phosphorinjektion). — Keine Hyperlipämie. Cholesteringehalt: 0,05% (Ausgangswert 0,05%). — Mikroskopischer Befund: Die Verfettung der Leber ist ziemlich umfangreich, bleibt aber deutlich hinter den Fällen mit stärkster Fettstoffablagerung zurück

(Lokalisation deutlich peripher im Läppchen). Mäßiges Fettstoffauftreten in der Niere und im Herzmuskel. — Glykogen findet sich in der Leber in geringer Menge und in sehr scharfer Lokalisation: nämlich nur in den unmittelbar um die Vena centralis herumliegenden Leberzellen (sonst ist das ganze Läppchen vollständig glykogenfrei [Abb. 2]). In der Skelettmuskulatur kein Glykogen nachzuweisen, im Herzen noch ziemlich starker Glykogengehalt.

Versuche an Hunden.

Versuch 10. *Reine Phosphorvergiftung.* Hund R. (männlich, 7 kg). Im Verlaufe von 2 Tagen 30 mg Phosphor teils mit Schlundsonde verfüttert, teils subcutan injiziert. Tod am 4. Tage nach Beginn der Vergiftung. Zur mikroskopischen

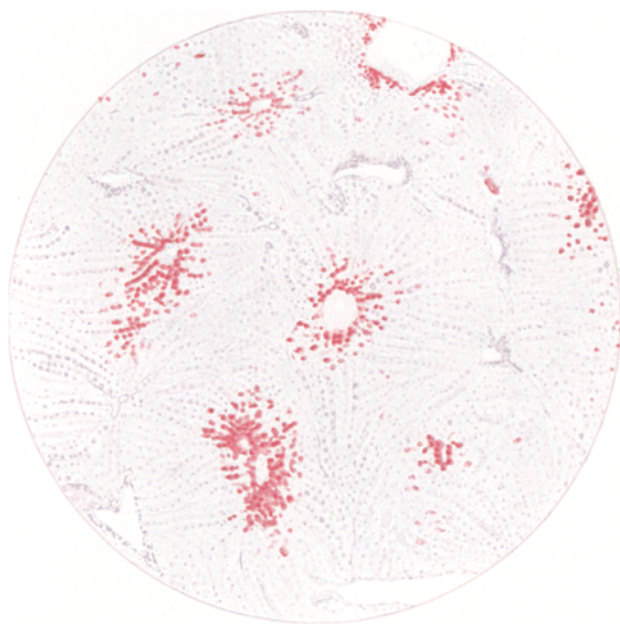


Abb. 2. Kan. 57. Phosphorvergiftung und nachfolgende Insulin-Zuckerbehandlung. Glykogensynthese in der Leber in geringem Umfange und in sehr scharfer zentraler Lokalisation. Hämatoxylin-Carminfärbung nach Best. Zeiss, Obj. 16 mm, Ok. 1.

Untersuchung wurde eine „Vor-Entnahme“ vor Antritt des Versuches vorgenommen (Laparatomie, Entnahme von Leber-, Muskel- usw. Stückchen), 2. Entnahme 48 Stunden nach der 1. Phosphoreinspritzung, 3. beim Tode. — Mikroskopisch: Nach 48 Stunden noch keine erhebliche Zunahme der Verfettung in der Leber usw. festzustellen. Glykogen war in Leber und Muskeln noch ziemlich reichlich nachzuweisen. Am 4. Vergiftungstage hochgradige Verfettung der Leber und mittelgradige der Nieren; völliger Glykogenschwund in der Leber und Skelettmuskulatur, während im Herzen noch Glykogen mikroskopisch nachzuweisen ist.

Versuch 11. *Phosphorvergiftung; nachfolgende Traubenzuckerzufuhr.* Hund M. (weiblich, 12 kg). Phosphor teils unter die Haut, teils per os mit der Schlundsonde

gegeben (am 1. Tag: 20 mg; am 2.: 30 mg; am 3.: 10 mg; am 4.: 10 mg). 32 Stunden nach der 1. Phosphorgabe operative Entnahme von Gewebsstückchen (Leber usw.) zur mikroskopischen Untersuchung; anschließend Einspritzung von 50 ccm ca. 30—40proz. Traubenzuckerlösung unmittelbar in die oberste Jejunumschlinge. Eine halbe Stunde nach dieser Einspritzung erneute Probenentnahme von Leber, Muskeln, Fettgewebe. Von da ab fortgesetzt reichlich Zuckerzufuhr (teils per os, teils subcutan). Am 3. Vergiftungstage (nach ca. 20stündiger Zuckerzufuhr) erneute operative Materialentnahme. Tod am 5. Versuchstage. — Mikroskopisch findet sich 32 Stunden nach der 1. Phosphorverabreichung mittelgradige Verfettung in der Leber, in der Glykogen — ebenso wie im übrigen im Skelettmuskel — aber nur noch sehr spärlich nachzuweisen ist. Das Bild der Glykogenführung hat sich $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Zuckereinspritzung in den Darm nicht verändert (keine vermehrte Glykogenbildung). Die Verfettung der Leber hat bei der 3. Entnahme (3. Tag nach 20stündiger Zuckerzufuhr) erheblich zugenommen und ist eine vollständige geworden. Glykogen dagegen fehlt jetzt in Leber und Muskeln völlig. Beim Tode ebenfalls hochgradige Leberzellenverfettung und Verfettung der Nieren; vollständiger Glykogenschwund aus Leber und Skelettmuskulatur. Im Herzmuskel dagegen ist Glykogen noch nachzuweisen.

Versuch 12. *Phosphorvergiftung; nachfolgende Insulin- und Zuckerbehandlung.* Hund S. (weiblich, 13,1 kg). Am 1. Versuchstage 20 mg Phosphor subcutan, 10 mg per os; am 2. Tage 20 mg subcutan. Erste operative Organstückchenentnahme 32 Stunden nach der 1. Phosphoreinspritzung; anschließend Insulin (1,5 Einheiten) und Zucker; 3 Stunden später erneute operative Materialentnahme. Am 3. Versuchstage 2 Einheiten Insulin und Zucker; Tod am 3. Tage nachmittags. — Mikroskopisch nach 32 Stunden nur noch Spuren von Glykogen in Leber und Skelettmuskulatur; Verfettung der Leber aber noch nicht sehr hochgradig. 3 Stunden nach der Insulin-Zuckereinspritzung ist keine Vermehrung des Glykogens bzw. erneuter Glykogenaufbau in der Leber nachzuweisen. Beim Tode hochgradige Leber- und ziemlich starke Nierenverfettung. Leberglykogen vollständig fehlend.

Besprechung der Ergebnisse.

Die im Vordergrund der Beachtung stehenden Stoffwechselbeeinflussungen durch Phosphor und Insulin sind im mikroskopischen Bild des Fett- und Kohlehydratzellstoffwechsels untersucht worden. *Morphologisch verfolgbar* sind die Schwankungen im Glykogen- und Fettstoffgehalt der Organe und Gewebe, von denen namentlich die typischen Speicher für diese Stoffe uns beschäftigen. Wir sind uns vollkommen bewußt, um das an dieser Stelle vorweg zu bemerken, daß die alleinige mikroskopische Untersuchung keine genaue mengen- bzw. zahlenmäßige Aussage über den wirklichen Stoffgehalt des Organs gestattet¹. Indessen geben uns die morphologischen Befunde — gerade bei dem Modell der Phosphorvergiftung mit ihrem außerordentlich charakteristi-

¹ Besonders wird das für die Fettstoffe im Auge zu behalten sein, während beim Glykogen nach den Erfahrungen zahlreicher anderer Untersucher sowie auch nach eigenen gelegentlichen Beobachtungen die Verhältnisse wesentlich günstiger liegen und sich chemisch und mikroskopisch nachweisbare Mengen vollkommen entsprechen.

schen stoffwechselformologischen Verhalten — eine durchaus hinreichende Grundlage, um aus dem Vergleich des jeweiligen mikroskopischen Bildes unter den verschiedenen Versuchsbedingungen die Schlüsse zu ziehen, die wir unten zu formulieren haben werden. Ja, die mikroskopische Untersuchung ist sogar in mancher Beziehung überlegen. So gibt das Auftreten der Fettstoffe in diesen oder jenen Zellsystemen unter Umständen nicht unwichtige Hinweise. Beim Kaninchen gerade zeigen z. B. die Sternzellen der Leber auch unter offenbar ganz normalen Verhältnissen mehr oder weniger umfangreichen Fettstoffgehalt. Eine umfangreiche Fettstoffablagerung in Leberzellen wird daher ganz anders zu beurteilen sein als eine auf den Sternzellenapparat beschränkte.

Wir gehen von der „reinen Phosphorvergiftung“ aus. Auch in unseren Vorversuchen (Versuche 1, 5, 10) war sie durch hochgradige Verfettung der parenchymatösen Organe (namentlich Leber, dann Nieren und Herzmuskulatur) gegebenenfalls bei vollständigem Glykogenschwund charakterisiert — ein Befund, der ja im übrigen für die Phosphorvergiftung an sich natürlich noch nicht spezifisch ist, sondern auch anderen Vergiftungen (Chloroform, Pilzvergiftungen usw.) sowie auch anderen „hepatargischen Zuständen“ eigen ist (vgl. *Herxheimer* u. a.). Beachtenswert sind die Zeitverhältnisse, was den Eintritt der Verfettung sowohl als auch den des Glykogenschwundes angeht. Hier scheinen außer der Höhe der Gabe und den dadurch bedingten Verlauf der Vergiftung gerade die individuellen Faktoren (allgemeiner Ernährungszustand usw.), vielleicht auch die Tierart bedeutsam. So finden wir im Versuch 1 beim Kaninchen die typische Wirkung schon nach ca. 30 Stunden im hochgradigsten Umfang erreicht, im Versuch 10 beim Hund nach 48 Stunden dagegen noch keine nennenswerte Veränderung. Daß der Glykogenschwund der Verfettung, wie im übrigen zu erwarten war, zeitlich deutlich vorausgeht, beweisen uns nach dem morphologischen Verhalten verschiedene Beobachtungen (namentlich bei den „Ein-Tier-Versuchen“ [11, 12]).

Wie wird dieses Bild der Phosphorvergiftung durch die *Zufuhr von Insulin*, und zwar zunächst von Insulin *allein* beeinflusst? Die Organverfettung ist zwar in einem besonders schnell verlaufenen Fall (Versuch 3, Tod nach 32 Stunden) sicherlich geringer als ohne Insulin, bei etwas längerer Dauer (Versuch 6, 60 Stunden) aber eine höchstgradige. Insulin allein kann also offenbar die Organverfettung (namentlich der Leber) nicht verhindern. Auch die mäßige Hyperlipämie (6) ist unter Insulin nicht verschwunden. Von Glykogen ist nach Insulinzufuhr (3, 6) in Leber und Muskel nicht die Spur nachzuweisen. Eine „Glukoneogenie“, eine Neubildung von Glykogen aus Nichtkohlehydrat (hier aus dem eingewanderten Fett), wie sie immerhin in den Bereich der Möglichkeit

gezogen werden muß, hat also in der Phosphorleber unter Insulin allein nicht stattgefunden. Auffallend ist, daß der Tod der Versuchstiere unter Insulin, das hier doch in einer verhältnismäßig kleinen Menge angewandt wurde, eher früher einzutreten scheint als bei der reinen Phosphorvergiftung.

Anders liegen die Verhältnisse bei der gleichzeitigen Insulin- und Zuckerezufuhr in Verbindung mit Phosphorvergiftung. Vorweg ist der Einfluß der *alleinigen Verabreichung von Zucker* kurz zu betrachten.

In unseren hierher gehörigen Versuchen (2, 11) konnten wir weder ein Ausbleiben der Verfettung noch einen Glykogenaufbau nachweisen. Die Phosphor-Traubenzucker-Tiere verhielten sich im ganzen nicht anders als die gewöhnlichen Phosphor-Tiere, auch was den Eintritt des Todes betrifft.

Wir möchten uns unter diesen Umständen der schon von *Rosenfeld* vertretenen Ansicht anschließen, daß Kohlehydrat- bzw. Zuckerezufuhr das Eintreten der Organverfettung bei der Phosphorvergiftung nicht zu verhindern vermag. Freilich soll nicht verschwiegen werden, daß andere Autoren ein Ausbleiben der Organverfettung unter Kohlehydratverabreichung bei phosphorvergifteten Tieren angeben (*Shibata* [weiße Mäuse; Brotfütterung]; *Hirz* [in einem Falle beim Kaninchen; Rohrzucker]; *Rettig* [Kaninchen, Hunde]). Zur Erklärung dieser widerspruchsvollen Angaben ist vielleicht einmal auf die in den verschiedenen Versuchen verschiedene Stärke der Vergiftung, sodann besonders auf die Bedeutung des allgemeinen Ernährungszustandes hinzuweisen (vgl. oben). Unsere Versuchstiere waren durchweg in recht gutem Ernährungszustande, wie übrigens auch die gesamte Haltung der Tiere (Pflege, Stallverhältnisse usw.) an unserem Institut eine besonders günstige ist. Tiere mit völlig reduzierten Fettgewebslagern dagegen werden naturgemäß zum Fetttransport und damit zur Verfettung gar nicht mehr recht geeignet sein, was neuerdings auch *Schwarz* hervorhebt. — Auch darüber, ob unter Kohlehydratzufuhr in der Phosphorleber ein Glykogenaufbau möglich ist, sind die Ansichten offenbar noch geteilt. *Simonds* (zit. nach *Geelmuyden*) und *Hirz* nehmen diese Möglichkeit an, während sich *Frank* und *Isaac* offenbar ablehnend verhalten und *Neubauer* hier über Unterschiede im Verhalten der verschiedenen Kohlehydrate berichtet (vgl. unten).

Bemerkenswert sind die Befunde, die wir im Gegensatz dazu bei den *Phosphor-Insulin-Zucker-Tieren* [Kaninchen¹] erheben konnten.

Was die *Verfettung* betrifft, so ist zwischen „simultan“ und „nachbehandelten“ Tieren zu unterscheiden. Bei jenen (Versuche 4, 7) ist die Verfettung sehr gering oder fehlt praktisch ganz. Bei diesen ist das Ergebnis wiederum nach der Schnelligkeit des Verlaufs verschieden. Bei einem erst am 3. Vergiftungstage mit Insulin und Zucker nachbehandelten und bald darauf (am Morgen des 4. Tages) gestorbenen

¹ Da wir beim Hunde (12) nur einen diesbezüglichen Versuch ausführten, kann darauf kein Gewicht gelegt werden. Zudem handelte es sich dabei um eine starke, schnell verlaufende Vergiftung. Eine Beeinflussung der Organverfettung war nicht festzustellen, ebensowenig eine glykogensynthetisierende Einwirkung.

Kaninchen (Versuch 8) ist die Verfettung eine sehr starke; zweifellos erheblich vermindert ist diese dagegen in Versuch 9, bei dem das Tier vom 2. Tage ab nachbehandelt wurde und erst nach 85 Stunden starb. Es liegt nahe, den Mengenunterschied (im Ausfall des Versuchs 8 und 9) als 2 zeitlich verschiedene Phasen der Einwirkung anzusehen, so zwar, daß das schon infiltrierte Fett wieder „verschwindet“, wenn die Vergiftung langdauernder verläuft und die Nachbehandlung zeitig genug einsetzt. Eine Vermehrung des Blutfettes wurde in allen 4 Versuchen (5, 7, 8, 9) nicht beobachtet.

Die Insulin + Zuckerbehandlung bei der Phosphorvergiftung stellt ferner die einzige Versuchsanordnung dar, bei der — in der Leber (bezügl. des Herzmuskels, vgl. unten) — *Glykogen* gefunden wurde. Im einzelnen hängt hier das Auftreten des Glykogens wohl namentlich von der Wirkungsstärke und Schnelligkeit des Verlaufs der Vergiftung ab. Bei hoher Phosphorgabe und raschem Verlauf (Tod nach 53 Stunden; Versuch 4) wurden nur Spuren von Glykogen in der Leber gefunden, geringe Mengen auch bei der späteren Nachbehandlung und schnell einsetzendem Tod (Versuch 8). Die deutlichste Glykogenbildung zeigen die beiden mit $\frac{3}{4}$ Menge behandelten Fälle (7 u. 9; Tod nach 83 bzw. 85 Stunden), und zwar das „nachbehandelte“ Tier (9; Abb. 2) begreiflicherweise wieder geringer als das Tier des Simultanversuchs (7; Abb. 1). In der Skelettmuskulatur war nur einmal in dieser Versuchsserie Glykogen nachzuweisen (Versuch 7).

Nach diesen Befunden wird man sich etwa folgende Vorstellung von der *Kohlehydrat- und Fettstoffwechselstörung bei der Phosphorvergiftung und ihrem Verhältnis zur Insulinwirkung* machen dürfen. — Wir beschränken uns dabei zunächst auf die *Leber*.

Auseinandergehalten werden müssen die Fähigkeit zur *Glykogensynthese* und die zur *Glykogenfixation*. Daß die letztere bei der Phosphorvergiftung gestört ist, unterliegt keinem Zweifel. Der mangelnden Glykogenfixation bzw. dem beschleunigten Glykogenabbau ist das schnelle Verschwinden des Glykogens aus der Phosphorleber zuzuschreiben. Dagegen ist die Fähigkeit zum Glykogenaufbau der Leber bei der Phosphorvergiftung nicht oder wenigstens nicht völlig verlorengegangen. Das ist bei der schweren sonstigen toxischen Zell- und Gewebsschädigung gewiß bemerkenswert. Alleinige Kohlehydratzufuhr führt freilich — wenigstens unter den Bedingungen unserer Versuche, die an gut genährten Tieren ausgeführt wurden — noch nicht zur (erneuten) Glykogensynthese. Unter der gleichzeitigen Einwirkung des Stoffwechselhormons freilich wird in der Phosphorleber ein *Glykogenaufbau* erzwungen. Am eindrucksvollsten ist die Wirkung dann, wenn die Vergiftung nicht zu rasch verläuft und Insulin und Zucker frühzeitig verabreicht werden.

Daran, daß das Glykogen aus dem zugeführten Zucker¹ gebildet wird, ist kein Zweifel. Bedürfte es noch eines weiteren Beweises, so wird er dadurch geliefert, daß auch bei Anwendung von Insulin allein (ohne gleichzeitige Zuckerzufuhr) keine Glykogenbildung in der Leber beobachtet wird. Dieser Punkt ist für die Glukoneogeniefrage sehr wichtig. Für die Annahme einer Neubildung von Glykogen aus nicht kohlehydrathaltigem Material in der Phosphorleber liegen somit zunächst keine Anhaltspunkte vor (vgl. auch unten). Bemerkenswert ist, daß der Glykogenaufbau in der Phosphorleber sich ganz streng im zentralen Läppchengebiet vollzieht. Es entspricht das unserer schon anderwärts wiedergegebenen Auffassung, daß — wenigstens beim Kaninchen unbestreitbar — das zentrale Läppchengebiet auf den Glykogenstoffwechsel besonders „eingestellt“ ist. Im übrigen soll darauf an dieser Stelle nicht weiter eingegangen werden.

Wie sind nun die Beziehungen zum *Fettstoffwechsel*? Das Zustandekommen der Verfettung der parenchymatösen Organe wird durch die alleinige Insulinzufuhr bei der Phosphorvergiftung nicht verhindert. Daß Insulin auf die Mobilisierung der Fettdepots bzw. den Fetttransport einen hemmenden Einfluß entfaltet, können wir demnach für die Verhältnisse der Phosphorvergiftung nicht annehmen. Ferner spricht auch dagegen der Umstand, daß die lipämische Serumtrübung, wenn sie bei der Phosphorvergiftung überhaupt da war, unter Insulin nicht verschwindet. Dabei ist doch für andere Arten der Lipämien ein derartiger Einfluß der Insulinwirkung bereits festgestellt; wir selbst haben an anderer Stelle kurz über das glatte Verschwinden der Hyperlipämie bei der experimentellen Lipocholesterinämie des Kaninchens berichten können. Wie ist unter diesen Umständen das „Ausbleiben“ der Organ-Verfettung bei unseren Phosphor-Insulin-Zuckerversuchen zu erklären? Wir möchten es nach den Bildern der zu verschiedenen Zeiten durch den Tod der Versuchstiere abgebrochenen Versuche für wahrscheinlich halten, daß die Verfettung zwar zunächst unter der Phosphorwirkung zustande kommt, daß aber dann das schon (in die Leber) eingelagerte Fett unter der Insulin-Zucker verabreichung wieder abnimmt bzw. mehr oder weniger „verschwindet“. Sollte nun nicht doch angenommen werden, daß das „verschwindende“ Fett in das neu erscheinende Kohlehydrat umgewandelt würde? Wennschon wir diese Möglichkeit nach unseren Versuchen an sich natürlich nicht ausschließen können, so halten wir eine derartige *Glukoneogenie* für den Fall der Phosphorvergiftung doch

¹ Auf die durch die Untersuchungen von *Neubauer* namentlich angeregte Frage, welche Kohlehydrate in der Phosphorleber als Glykogenbildner in Frage kommen, ist hier nicht weiter einzugehen. Daß dem Traubenzucker eine derartige Fähigkeit nicht abgesprochen werden kann, beweisen — im Gegensatz zu *Neubauer* — unsere Versuche.

für *unwahrscheinlich* und verweisen auf das oben diesbezüglich Angeführte (Glykogenbildung nur bei gleichzeitiger Zuckerzufuhr; kein Glykogenauftreten bei alleiniger Insulingabe usw.).

Wir müssen uns also zunächst auf die Feststellung beschränken, daß in der Phosphorleber die Fettstoffe unter der Insulin-Zuckerverabreichung offenbar *schnell umgesetzt* werden. Vielleicht darf man sich im Sinne der bekannten *Rosenfeldschen* Formulierung vorstellen, daß das Fett „im Kohlehydratfeuer“, an der „Flamme der (neu aufgebauten) Kohlehydrate“ zur raschen Verbrennung gelangt.

Dieser Darstellung, die zunächst mehr auf die Verhältnisse der Phosphorvergiftung zugeschnitten war, ist für das Verständnis der *Insulinwirkung* nur noch wenig hinzuzufügen. Die Fähigkeit des Insulin, auch im pankreasgesunden Organismus die Glykogenanreicherung bzw. die Glykogenbildung zu fördern, ist ja gerade für die Kaninchenleber, falls kleine Insulingaben zur Anwendung kommen, sichergestellt (vgl. oben). Unter diesen experimentellen Bedingungen wie auch in der Behandlung der „hepatargischen Zustände“ werden die offensichtlichsten Erfolge ja bekanntlich bei gleichzeitiger (Trauben-)Zuckerzufuhr erzielt. Die Erweiterung dieser Erfahrungen für die Phosphorvergiftung ist wohl besonders insofern von Belang, da demnach auch bei sehr schwerer Zellschädigung das Insulin hier noch wirkungsvoll in den Stoffwechsel der Leberzellen einzugreifen vermag. Daß aber Insulin die Mobilisierung der Fettlager hemme und ferner die Umwandlung von Fett in Kohlehydrat fördere, kann — wenigstens nach unseren Versuchen — für den Fall der Phosphorvergiftung nicht angenommen werden. Darin liegt ein wesentlicher Unterschied zu den *Wertheimerschen* Phlorrhizin-Insulinversuchen. Auch wenn *Wertheimer* drittens anführt, daß die Phlorrhizintiere bei eingetretener Leberverfettung und Glykogenverarmung der nunmehr erfolgenden Insulinverabreichung gegenüber bedeutend weniger empfindlich seien, so haben wir für die Annahme einer derartigen Widerstandssteigerung gegen Insulin unter den entsprechenden Verhältnissen bei der Phosphorvergiftung nach unseren Versuchen keine Veranlassung.

Nun sind freilich Phosphorvergiftung und *Phlorrhizinvergiftung* trotz mancher gemeinsamer Züge sicher nicht ohne weiteres vergleichbar, gerade auch was Heftigkeit und Umfang der Giftwirkung, Störung des Gesamtbefindens usw. betrifft. Über die morphologischen Grundlagen der Phlorrhizinvergiftung scheint im übrigen kaum etwas bekannt zu sein. Ohne natürlich die Richtigkeit der *Wertheimerschen* Befunde an sich im mindesten anzweifeln zu wollen, muß aber wohl doch die Frage aufgeworfen werden, ob die von *Wertheimer* festgestellten sehr bemerkenswerten Stoffwechselregelungen (Fettmobilisierungshemmung, Glukoneogenieförderung) nicht zunächst nur als für den Sonderfall

der Phlorrhizinvergiftung gültig anzusehen sein werden. Mit einer Verallgemeinerung einer in dem Sinne *Wertheimers* gerichteten Insulinwirkung scheint uns also noch Vorsicht geboten. (Es muß im übrigen darauf hingewiesen werden, daß auch *Wertheimer* selbst hier heute noch zurückhaltend zu sein scheint.)

Vielleicht können wir in diesem Zusammenhange noch bemerken, daß doch dann, wenn dem Insulin eine derartige Allgemeinwirkung im Fettstoffwechsel zukäme, auch unter anderen Bedingungen (und nicht nur bei der Phlorrhizinvergiftung) eine Verminderung der nachweisbaren Fettstoffe unter Insulin zu beobachten sein müßte. Davon aber ist doch nichts bekannt, wobei wir darauf, daß wir selber morphologisch in zahlreichen verschiedenartigsten Insulinversuchen eine Abnahme der Fettstoffe niemals gesehen haben, bei der bekannten Schwierigkeit der mikroskopischen Erfassung der Fettstoffe noch nicht einmal besonderes Gewicht legen wollen. — Die weitere Aufdeckung der angegebenen Stoffwechselregulationen, über die heute jedenfalls das letzte Wort noch nicht gesprochen ist, liegt vor allem auf physiologisch-pharmakologischem Arbeitsgebiet.

Schon frühere Untersucher haben eine Abnahme des *Blutzuckergehaltes bei der Phosphorvergiftung* angegeben (vgl. *Geelmuyden*). Wir können das nach unseren Untersuchungen bestätigen (z. B. war in Versuch 5 — „reine Phosphorvergiftung“ — am 3. Vergiftungstage der Blutzuckerspiegel auf 0,05% einem Nüchternwert von 0,11% zu Versuchsbeginn gegenüber abgesunken). Wieviel dabei freilich auf Kosten der Karenz zu setzen ist, ist schwer abzugrenzen. Die Phosphor-Hypoglykämie ist vielleicht im Hinblick auf die oben schon bemerkte Beobachtung von Belang, nach der im kombinierten Phosphor-Insulinversuch der Tod der Versuchstiere schneller einzutreten scheint als bei der Phosphorvergiftung allein. Man könnte an eine Summation der hypoglykämisierenden Wirkungen denken.

Dieser Punkt leitet zur praktischen bzw. *therapeutischen* Seite der Frage über, wiewohl diese für die Ziele unserer Arbeit von untergeordnetem Belange ist, ganz abgesehen davon, daß ja überhaupt die Phosphorvergiftung (in Deutschland) heutigentags außerordentlich selten geworden ist. Immerhin wird sich gegebenenfalls bei der Phosphorvergiftung — von der üblichen Behandlung abgesehen — der Versuch empfehlen, die Glykogenfunktion der Leber mit dem Inselhormon günstig zu beeinflussen, dann aber — im Sinne der obigen Bemerkungen — nur unter gleichzeitiger Verabreichung von (Trauben-) Zucker, was ja auch der Insulinbehandlung bei anderen Leberleiden (akute Atrophie, Ikterus usw.) entspricht. Inwieweit damit freilich nicht nur ein vorübergehender Glykogenaufbau in der Leber, sondern eine wirkliche Besserung zu

erzielen sein wird, wird von dem vorliegenden Wirkungsgrad der allgemeinen toxischen Phosphorwirkung und dem Grade der Zell- und Gewebsschädigung abhängen.

Frank und *Isaac* haben schon vor längerer Zeit (1911) die Ansicht ausgesprochen, daß bei der Phosphorvergiftung infolge der von ihnen angenommenen starken Schädigung des Kohlehydratstoffwechsels die *Kohlehydratsynthese in andere Organe verlegt* werde, und zwar in die Niere, die hier ersetzend für die Leber eintreten sollte. *Geelmuyden* ist dieser Annahme neuerdings ausführlich entgegengetreten. Auch unsere Beobachtung, daß auch bei schwerer tödlicher Phosphorvergiftung unter Insulin bei gleichzeitiger Traubenzuckerzufuhr ein Glykogenaufbau in der Leber noch erzielt werden kann, spricht doch gegen die Annahme einer Aufhebung des Glykogenaufbaus in der Leber. Was nun die Nieren betrifft, so haben wir nach morphologischen Untersuchungen keinerlei Anhaltspunkte zur Stütze der *Frank-Isaacschen* Ansicht finden können, da niemals Glykogenauftreten in den hier in Frage kommenden Bestandteilen der Niere — wie etwa beim Diabetes mellitus — zu konstatieren war.

Merkwürdig war in unseren Versuchen das Verhalten des *Herzmuskelglykogens*. Völligem Schwund des Skelettmuskelglykogens gegenüber war es oft noch ziemlich reichlich anzutreffen und schien überhaupt bei den verschiedenen Versuchsanordnungen durch die Phosphor- sowohl wie die Insulingabe offenbar nur wenig beeinflußt. Wir haben schon bei unseren früheren Insulinversuchen immer wieder die Beobachtung machen können, daß das Herzmuskelglykogen sozusagen „seine eigenen Wege geht“ und seine Schwankungen denen des Skelettmuskelglykogens durchaus nicht gleichgeordnet zu sein brauchen. Bei anderer Gelegenheit wurde dafür von uns bereits der Versuch einer teleologischen Deutung gegeben. Die Beobachtungen bei der Phosphorvergiftung unterstützen die danach ausgesprochene Auffassung, daß das Herzmuskelglykogen im Kohlehydrathaushalt eine Sonderstellung einnimmt und offenbar Mechanismen vorliegen, die es vor dem Angriff glykogenvermindernder Pharmaka weitgehend „schützen“.

Auf das Verhalten des *Blutfetts* und *Serumcholesterins* bei der Phosphorvergiftung bzw. unter der kombinierten Phosphor- und Insulinwirkung haben wir bei der Besprechung unserer Versuche bereits mehrfach hingewiesen und insbesondere auf die Beobachtungen, daß einmal mäßige, durch den Phosphor hervorgerufene Hyperlipämie unter Insulinverabreichung nicht verschwand, auf der anderen Seite aber im kombinierten Phosphor-Insulinzucker Versuch eine hyperlipämische Serumtrübung ausblieb, die bei den entsprechenden Vergleichen („reine Phosphorvergiftung“) festzustellen gewesen war. Im übrigen aber scheint uns bei der Verwertung der Lipämie- bzw. Lipcholesterinämie-

Befunde bei der Phosphorvergiftung überhaupt eine gewisse Zurückhaltung geboten aus dem Grunde, weil uns hier an sich keine so gesetzmäßigen Verhältnisse vorzuliegen scheinen, wie man es auch aus dem im Schrifttum Niedergelegten annehmen könnte. Jedenfalls haben wir bei unseren Versuchen in einigen Fällen die „erwartete“ Hyperlipämie ganz vermißt. Nun sind hier ja sicher die Zeitverhältnisse, die Stärke und Dauer der Vergiftung und der Grad der Organverfettung von Bedeutung; aber in diesen Fällen ohne Lipämie war doch die Organverfettung eine ganz ausgesprochene. Wir tragen daher Bedenken, Grad der Organverfettung und Lipämie bei der Phosphorvergiftung ohne weiteres in Parallele zueinander zu setzen; und uns erscheint die offenbar wenig berücksichtigte in Widerspruch zur allgemeinen Ansicht stehenden Angabe von *Mansfeld* unter diesen Umständen sehr beachtlich und einer weiteren Nachprüfung wert, der keine absolute Vermehrung der Fettkörper im Blute bei der Phosphorvergiftung finden konnte.

Schließlich soll noch Gelegenheit genommen werden, auf einige *Nebenergebnisse* unserer Untersuchungen hinzuweisen, die in Nachprüfung einer neuestens erschienenen Arbeit von *Balan* sich einmal auf die von diesem Forscher angegebenen Veränderungen des *Lipoidbildes* in der *Nebennierenrinde*, sodann auf eine angenommene *Veränderung des Fettgewebes* (Umwandlung des chemischen Charakters der Fettstoffgemische daselbst) beziehen. Nach unseren Untersuchungen glauben wir beide Angaben *Balans*, besonders die letztere, einschränken zu müssen, wobei freilich zu bemerken ist, daß *Balan* mit einer anderen Tierart (Ratten) als wir experimentierte.

Die Phosphorvergiftung mit mehrmaligen kleinen Gaben führt nach *Balan* zu einer „deutlichen *Verminderung der Nebennierenlipotide*“. Was aber wenigstens das Kaninchen betrifft, so scheinen uns die Verhältnisse hier durchaus noch nicht gesetzmäßig. Nur in 4 Kaninchenversuchen fanden wir eine deutliche Verminderung der Rindenfettstoffe, in einem Fall eine unsichere und in 4 anderen Kaninchenversuchen zeigt die Nebennierenrinde einen sehr hochgradigen und jedenfalls kaum irgendwie veränderten Fettstoffgehalt. (Mißlich bleibt natürlich, in unseren wie in *Balans* Versuchen, daß eine sichere Angabe, wieviel Fettstoffe vorher da waren, nicht zu geben ist und der einzelne Untersucher nur auf die persönlichen Vergleichserfahrungen angewiesen ist.) Nicht unwichtig scheint dabei mit Rücksicht auf *Balans* Angaben ferner, daß sich in unseren Versuchen keinerlei Beziehung zur Dauer und zum Verlauf bzw. zur Höhe der Gabe ergab, sondern sich die Nebennieren mit Fettstoffverminderung anscheinend ganz wahllos auf das Material verteilen. — Immerhin wird man danach die Möglichkeit der Beeinflussung der Nebenniere bzw. der Nebennierenrinde durch die Phosphorvergiftung nicht ablehnen. Es ist das auch insofern von Bedeutung, weil ja die Nebennierenexstirpation zu ähnlichen Erscheinungen führt wie die Phosphorvergiftung (*Heffter*): Glykogenschwund und Sinken des Blutdruckes.

Die „charakteristische *Veränderung des Fettgewebes*“, die *Balan* gleichfalls bei Vergiftung mit mehrmaligen kleinen Gaben fand, wurde aus der Farbwirkung bei der Nilblaufärbung erschlossen (teilweise hochgradige Blaufärbung). Wir haben bei unseren Kaninchen, die zum Teil ebenso lange am Leben geblieben waren, wie die *Balanschen* Ratten, niemals blaugefärbte Fettzellen gesehen, sondern nur in der gewöhnlichen Farbwirkung metachromatisch rot gefärbte.

Aber abgesehen davon scheinen uns die Schlüsse, die *Balan* aus dem Ergebnis der Nilblaufärbung zieht (die Befunde als solche bezweifeln wir natürlich nicht!), doch sehr gewagte. Ist doch die Nilblausulfatfärbung überhaupt ungemein launisch, so daß geringe Abweichungen von der Technik schon genügen, um gegebenenfalls andere Farbwirkungen zu erzielen. Die genauere Angabe, wie der betreffende Untersucher die Färbung durchführte, ist für das gegenseitige Verständnis kaum zu entbehren (sie wird bei *Balan* vermißt; wir selbst wandten, wie schon seit Jahren ganz einheitlich, die *Kleebergsche* Modifikation der *Lorrain-Smithschen* Originalmethode an). — Jedenfalls scheint doch dem heutigen Stande unserer Erfahrungen gemäß Vorsicht dem Bestreben gegenüber geboten, aus dem Ausfall womöglich einer einzelnen Färbungsreaktion auf den chemischen Charakter der gefärbten Substanz weitgehende Schlüsse zu ziehen.

Das gilt u. E. im übrigen auch für den chemischen Charakter der bei der Organverfettung infolge der Phosphorvergiftung abgelagerten Fettstoffe. Die zum Teil nicht einheitlichen Mitteilungen aus früherer Zeit, die sich auf den verschiedenen Ausfall der histochemischen Farbreaktionen gründen (*Salvioli*, *Sachetto*, *Petri* u. a.) scheinen uns durch die Wertung, die wir heute diesen Methoden geben müssen, überholt, so daß es sich erübrigt, darauf weiter einzugehen. Man wird mit *Petri* zusammenfassen dürfen, daß die Verfettungsverhältnisse in der Leber bei der Phosphorvergiftung, was die Histochemie der Fettstoffe betrifft, durch eine „förmliche Anarchie“ gekennzeichnet sind.

Zusammenfassung.

1. Die für die Phosphorvergiftung typische Wirkung im morphologischen Bilde: Parenchymverfettung und Glykogenverarmung, kann (beim Kaninchen) schon in sehr kurzer Zeit (wenig mehr als 1 Tag) in vollem Umfang erreicht sein. Der Glykogenschwund (in der Leber, dann auch in den Muskeln) geht zeitlich der Verfettung der parenchymatösen Organe voraus.

2. Durch die Verabreichung von Insulin allein bei der Phosphorvergiftung wird die Verfettung (der Leber usw.) nicht verhindert. Auch eine hyperlipämische Trübung des Blutserums kann dabei bestehen bleiben. Zu einer Neubildung von Glykogen kommt es in der Leber (und in der Skelettmuskulatur) beim nur mit Insulin in kleineren bis mittelgroßen Dosen behandelten Phosphortier (Kaninchen) praktisch nicht.

3. Ein fördernder Einfluß des Insulins auf die „Glukoneogenie“, die Umwandlung von Fettstoffen in Kohlehydrate, ist am Modell der Phosphorvergiftung (bei Kaninchen) nicht wahrscheinlich zu machen, ebensowenig ein hemmender Einfluß des Insulins auf die Mobilisierung der Fettstoffe aus den Lagern bei der Phosphorvergiftung.

4. Bei gut genährten (!) phosphorvergifteten Kaninchen wurde nach Kohlehydratzufuhr (Traubenzucker) in der Leber weder ein Ausbleiben der Verfettung noch eine Glykogenneubildung festgestellt. Die „Phosphor-Zucker-Kaninchen“ (und -Hunde) verhielten sich kaum anders wie die „reinen Phosphortiere“.

5. Die Verabreichung von Insulin in kleinen bis mittleren Gaben und von Zucker zugleich ist im Kaninchenversuch von wesentlichem Einfluß auf die morphologisch nachweisbaren Störungen des Fett- und Kohlehydratstoffwechsels bei der Phosphorvergiftung. Eine Verfettung der parenchymatösen Organe ist beim Phosphor-Insulin-Zucker-Kaninchen im Simultanversuch nicht festzustellen; bei Nachbehandlung mit Insulin und Zucker ist sie in ihrem Umfange wesentlich vermindert, wenigstens bei nicht zu raschem Verlauf der Vergiftung. Ferner ist bei dieser Versuchsanordnung (Phosphor + Insulin + Zucker) eine Neubildung von Glykogen in der Leber (vereinzelte auch in der Skelettmuskulatur) festzustellen, am stärksten bei sofortiger Insulin-Zuckerzufuhr, Anwendung kleinerer Phosphorgaben und langsamerem Verlauf der Vergiftung. — Der Tod der Versuchstiere (Kaninchen und Hunde) aber wird auch unter diesen Bedingungen nicht verhindert.

6. Bei der Phosphorvergiftung ist die Fähigkeit der Leber zur Glykogenfixation gestört (beschleunigter Glykogenabbau), aber die Fähigkeit zur Glykogenbildung nicht oder wenigstens nicht völlig verloren gegangen. So bewirkt die Insulin-Zuckerverabreichung einen Glykogenaufbau in der Phosphorleber. Diese läßt sich morphologisch ganz streng im zentralen Läppchengebiet lokalisiert beobachten. Das Glykogen ist zweifellos aus dem zugeführten Zucker neugebildet (bez. „Gluconeogenie“ vgl. unter 3.). — Das evtl. schon infiltrierte Fett wird in der Phosphorleber unter Insulin + Zucker rasch umgesetzt.

7. Auch bei tiefgreifender Zellschädigung, wie sie die schwere Phosphorvergiftung bewirkt, kann also Insulin (unter den angegebenen Bedingungen) noch wirkungsvoll in den Stoffwechsel der Leberzellen eingreifen.

8. Die Phosphorvergiftung führt zu einer mehr oder weniger erheblichen Blutzuckersenkung. Bei darauf erfolgreicher Anwendung von Insulin (allein!) können sich u. U. die hypoglykämisierenden (und sonstigen Allgemein-) Wirkungen häufen. Damit steht vielleicht im Zusammenhang, daß beim Phosphor-Insulintier der Tod etwas früher eintreten scheint als unter sonst gleichen Bedingungen beim „reinen Phosphortier“.

9. In den hochdifferenzierten Kanälchenabschnitten der Niere war weder bei den nur mit Phosphor vergifteten Tieren noch in den kombinierten Versuchen Glykogen morphologisch nachzuweisen. Für die Annahme einer glykogenaufbauenden Tätigkeit der Nierenepithelien bei der Phosphorvergiftung (im Sinne *Frank-Isaacs*) liegen morphologisch keine Anhaltspunkte vor.

10. Während die mikroskopisch verfolgbaren Bewegungen im Glykogengehalt an der Skelettmuskulatur bei den verschiedenen Versuchs-

anordnungen im allgemeinen gleichsinnig mit denen in der Leber verliefen (nur ist erneuter Glykogenaufbau in der Skelettmuskulatur schwerer festzustellen), erscheint das Herzmuskelglykogen unter den verschiedenen Versuchsbedingungen kaum beeinflusst. Insbesondere kann bei völligem Glykogenschwund in Leber und Skelettmuskeln nicht selten in der Herzmuskulatur noch reichlich Glykogen angetroffen werden. Das Herzmuskelglykogen erscheint vielfach gegen den Angriff glykogenvermindernder Pharmaka wie „geschützt“.

11. Die Vermehrung des Blutfettes (Hyperlipämie), soweit einfach optisch feststellbar, und die Vermehrung des Blutserumcholesterins scheint kein unbedingt gesetzmäßiger Befund bei der Phosphorvergiftung zu sein; insbesondere kann sie auch bei hochgradiger Organverfettung vermißt werden.

12. Nur in einem Teil der Fälle führt bei Kaninchen die Phosphorvergiftung, auch wenn die Tiere noch etwas längere Zeit am Leben bleiben, zu einer Veränderung des Lipoidbildes in der Nebennierenrinde (deutliche Verminderung der morphologisch nachweisbaren Fettstoffe). Eine Änderung im chemischen Charakter der Fettstoffe (im Fettgewebe) bei phosphorvergifteten Kaninchen kann (auch bei langanhaltender Vergiftung) aus dem Ausfall histochemischer Fettfärbungsreaktionen (Nilblausulfat) nicht geschlossen werden.

Literaturverzeichnis.

- Arndt, H. J.*, Sitzungsber. d. Ges. z. Beförderung d. ges. Naturwiss., Marburg 1926, S. 116. — *Arndt, H. J.*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **119**, 254. 1927. — *Arndt, H. J.*, Verhandl. d. deutsch. pathol. Ges., 21. Tagg., Freiburg 1926. — *Aschoff, L.*, Vorträge über Pathologie. Jena 1925. — *Aubertin, E.*, L'insuline. Paris 1926. — *Balan, N. P.*, Zieglers Beiträge z. allg. Path. u. pathol. Anat. **76**, 198. 1927. — *Edelmann, H.*, Ibidem **75**, 589. 1926. — *Frank und Isaac*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **64**, 274. 1911. — *Frank, E.*, *Nothmann und Wagner*, Klin. Wochenschr. **4**, 2100. 1926. — *Frank, E.*, *M. Nothmann und E. Hartmann*, Biochem. Zeitschr. **177**, 132. 1926. — *Geelmuyden*, Ergebn. d. Physiol. **21**, H. 1. 1923. — *Grevenstuk, A.*, und *E. Laqueur*, Insulin. München 1925. — *Heffter, A.*, Handbuch der experimentellen Pharmakologie **3** (1), S. 568. 1927. — *Herszky, P.*, Klin. Wochenschr. **5**, 1473. 1926. — *Hersheimer, G.*, Zieglers Beiträge z. allg. Path. u. pathol. Anat. **72**, 349. 1924. — *Hirz, O.*, Zeitschr. f. Biol. **60**, 187. 1923. — *Kleeberg, J.*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **244**, 237. 1923. — *Leupold, E.*, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden (Abderhalden), Abt. VIII (1), H. 4, S. 791. 1924. — *Mansfeld, G.*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **129**, 46. 1909. — *Meyenburg, H. v.*, Schweiz. med. Wochenschr. **54**, 1121. 1924. — *Neubauer, E.*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **61**, 174. 1909. — *Petri, E.*, Frankfurt. Zeitschr. f. Pathol. **25**, 195. 1921. — *Petri, E.*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **251**, 588. 1924. — *Rettig, H.*, Arch. f. exp. Pharmakol. u. Pathol. **76**, 345. 1914. — *Richter, P. F.*, Med. Klinik **20**, 1381. 1924. — *Rosenfeld, G.*, Allg. med. Zentral-Ztg. 1900, Nr. 89. — *Rosen-*

feld, G., Ergebn. d. Physiol. **1**, 1. 1901 und **2**, 1. 1903. — *Rosenfeld, G.*, Verhandl. d. dtsh. pathol. Ges., Kassel 1903, S. 73. — *Rosenfeld, G.*, Verhandl. d. med. Sekt. d. Schles. Ges. f. vaterl. Kultur 1904, S. 134. — *Rosenfeld, G.*, Berlin. klin. Wochenschr. 1904, Nr. 22. — *Sachetto*, Frankfurt. Zeitschr. f. Pathol. **28**, 131. 1922. — *Salvioli und Sachetto*, Ibidem **28**. 1922. — *Sato, K.*, Tohoku journ. of exp. med. **4**, 347. 1923. — *Schwalbe, E.*, Verhandl. d. dtsh. pathol. Ges., Kassel 1903, S. 71. — *Schwarz, L.*, Nordostdeutsche Pathologentagg., Rostock. Zentralbl. f. Pathol. **35**, 270. 1924. — *Sekita, N.*, Mitt. a. d. med. Fak. d. Kais. Univ. Tokyo **28**, 199. 1922. — *Shibata, N.*, Biochem. Zeitschr. **37**, 345. 1911. — *Simonds*, Arch. of internal med. **23**, 362. 1919. — *Staub, H.*, Insulin. 2. Aufl. Berlin 1925. — *Wertheimer, E.*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **213**, 280, 287 u. 298. 1926.
