

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Greifswald
(Direktor: Prof. Dr. med. habil. G. HOLLE).

Über morphologische und biochemische Leberveränderungen bei mit Tb I vergifteten Meerschweinchen.

Von

G. HOLLE und R. BURKHARDT.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 31. Oktober 1953.)

Bei der Contebenbehandlung von Tuberkulosen werden über den einfachen Bakteriostaseeffekt hinaus eine Reihe teils erwünschter, teils unerwünschter und schädlicher Nebenwirkungen beobachtet, die für eine sehr komplexe Wirkung des Pharmakons auf den Organismus sprechen. Damit gewinnt die Gruppe der Thiosemicarbazone (Thsc.) über ihre Bedeutung als Wirkstoff gegen Erkrankungen durch den Tuberkelbacillus an allgemeinerem Interesse.

Im Mittelpunkt der unerwünschten Nebenwirkungen stehen subjektive Beschwerden, das Auftreten eines Ikterus sowie ein durch entsprechende Laboratoriumsuntersuchungen erfaßbarer Leberschaden. Die Annahme, daß es sich hierbei um eine einfache Tuberkulointoxikation handele, kann als widerlegt gelten (LEMBKE und KRÜGER-THIEMER). Es handelt sich vielmehr um die gewissermaßen negativen Folgen eines Wirkungsmechanismus, dessen positive Auswirkungen auch für den Heilungseffekt verantwortlich sind.

Von diesen durchaus erwünschten Auswirkungen der Contebenbehandlung ist die Änderung der Plasmazusammensetzung (JAHNKE und SCHOLTAN) am längsten bekannt und studiert. Sie äußert sich klinisch in einer Bremsung der Blutsenkung, die weitgehend unabhängig vom Krankheitsverlauf ist. Vor allem die α -Globuline werden vermindert. Bedeutungsvoll ist ferner der von KNÜCHEL beobachtete Anstieg des Serumcholesterins, der offenbar zum Teil für die von uns beobachteten Fälle von akutem Coronartod unter Tb I-Behandlung verantwortlich zu machen ist —, ein Problem, das in diesem Zusammenhang nur gestreift werden kann. LIEBERMEISTER u. a. nehmen einen Einfluß des Tb I auf die Kupferkomplexsalzbildung an, zumal unter der Behandlung das erhöhte Plasmakupfer zur Norm zurückkehrt. Es soll sich darunter eine Hemmung kupferhaltiger Fermente verbergen. TRAUTWEIN bezeichnet in diesem Zusammenhang das Tb I geradezu als Fermentgift, eine Anschauung, der sich PECKHOLZ von einer anderen Seite her nähert.

Der exakte Nachweis einer Leberschädigung durch Tb I stößt aus verschiedenen Gründen auf erhebliche Schwierigkeiten. Zunächst kommen auch bei unbehandelten Tuberkulosen häufig Leberschäden vor, worauf in jüngster Zeit BÖHLKE und HENKEL hingewiesen haben. Sie werden mit dem Übergang der Tuberkulose in das exsudative Stadium häufiger. Sodann ist der entsprechende Ausfall der Leberfunktionsproben etwas fragwürdig geworden, seit sich gezeigt hat, daß die Empfindlichkeit der verschiedenen Methoden unterschiedlich ist und ihr Ausfall keineswegs immer mit dem morphologischen Befund übereinstimmt (AXENFELD und BRASS, KALK, KINSEL und Mitarbeiter, POPPER, BÖHLKE und HENKEL). Neuere amerikanische Untersuchungen (HURST, MATER und LONGK) haben diese Abhängigkeit des klinischen Untersuchungsergebnisses von der gewählten Methode besonders betont.

Bei dem Versuch einer anatomischen Erfassung dieses Leberschadens stößt man häufig auf Leberverfettungen, die angeblich unter Tb I häufiger auftreten sollen als sonst bei Tuberkulose. Bereits DOMAGK hat auf diese Möglichkeit hingewiesen. Seither hat sich eine große Zahl von Untersuchern für und gegen diesen Zusammenhang ausgesprochen, ohne daß eine Klärung erzielt werden konnte. Ein größeres statistisches Zahlenmaterial, das allein diese Frage entscheiden könnte, liegt aber nicht vor. Eine gewisse Beweiskraft kommt allerdings den 10 Fällen von BÖHM zu, der bei Contebenbehandlung in der 10. Woche Laparoskopien und Laparotomien durchführte und immer eine schwere Fettleber fand, die zu einem späteren Zeitpunkt wieder verschwunden war. Die histologische Untersuchung zweier excidierter Gewebsstücke ergab Vermehrung des periportalen Bindegewebes und der lymphoreticulären Zellen. Gerade in den Fällen von BÖHM fielen aber die Leberfunktionsproben normal aus.

Die Frage ist also, ob tatsächlich unter Tb I-Medikation Leberverfettungen auftreten, ob diese als Ausdruck einer Leberschädigung anzusehen sind, und ob sich die Tb I-Medikation überhaupt an der Leber als einem Organ des Eiweißstoffwechsels in gestaltlich faßbarer Form äußert.

Wir haben zunächst 24 Fälle des eigenen Sektionsgutes daraufhin untersucht. Drei davon erhielten so wenig Tb I, daß sie in diesem Zusammenhang ausscheiden, die restlichen 21 Fälle sind in Abb. 1 nach Höhe der verabreichten Dosis geordnet.

Leberverfettungen fanden sich in all diesen Fällen in ganz unregelmäßiger Ausdehnung und Anordnung, die keinerlei Beziehung zur Höhe der Dosierung oder zur Dauer der Behandlung erkennen ließen. Eine Anzahl unbehandelter Vergleichsfälle bot die gleichen Befunde. Wir möchten glauben, daß sich diese Tatsache auch an einem größeren Untersuchungsgut bestätigt. Damit stehen die eigenen Befunde in gewissem

Widerspruch unter anderem zu HENKEL, der bei bioptischen Untersuchungen an 86 Patienten einen gewissen Einfluß der Contebenbehandlung auf die Leberverfettung anerkennt. Wir möchten aber zu bedenken geben, daß der Fettgehalt der Leber physiologisch großen und kurzfristigen Schwankungen unterliegt, so daß sich krankhafte Einflüsse schwer abschätzen lassen. Man müßte zur Entscheidung derartiger Fragen die Forderung stellen, daß eine größere Zahl von Patienten über

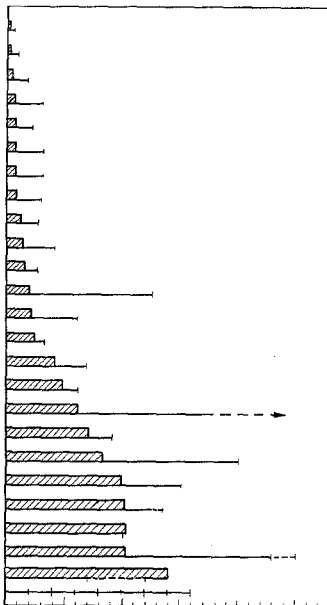


Abb. 1. Häufigkeit von Lebercirrhose (C) in Beziehung zu Dosierung (schraffiert) und Dauer der Erkrankung.

längere Zeit eine scharf eingestellte Diät erhält und die Leberpunktionen immer zu der gleichen Tageszeit in gleichem Abstand von der letzten Mahlzeit erfolgen. Diese Forderung erfüllt weder das eigene Material noch dasjenige anderer Untersucher, so daß wir die Frage der contebenbedingten Leberverfettung zunächst offen lassen müssen.

Dagegen zeigte eine unerwartet große Zahl von Sektionsfällen Lebercirrhosen wechselnden Ausmaßes und zwar in deutlicher Beziehung zur Dosis (Abb. 1). Hier ist in 2 Fällen, die verhältnismäßig wenig Tb I erhielten, in der Vorgeschichte ausdrücklich eine schlechte Verträglichkeit des Medikamentes vermerkt. Besonders interessant ist in dieser Beziehung der Fall 260/50, der mit 15 g aufgeführt ist. Der Patient hatte aber eine ganz unkontrollierte große Menge des Wirkstoffes sich außerdem selbst beschafft und zu sich genommen und ver-

starb an einer schweren fortschreitenden Lebercirrhose mit Ikterus. Histologisch handelt es sich vorwiegend um eigenartig kleinherdige Prozesse, die an gewisse Beziehungen zu den in der Literatur mehrfach erwähnten lymphoreticulären Wucherungen denken lassen. Eine gleichzeitige Lebertuberkulose lag in keinem Falle vor, so daß eine einfache Vernarbung spezifischer Granulome nicht in Betracht kommt. Wir werden auf den Entstehungsmechanismus solcher Cirrhosen zurückkommen müssen. — Als weiteres Merkmal, das möglicherweise auf eine Tb I-Beeinflussung hindeutet, beobachteten wir starke Reaktionen der Kupferzellen, wie sie experimentell auch von KOCH und BUCHHOLZ erzeugt werden konnten. Ob sich diese letzteren Befunde allerdings merklich von denen bei unbehandelter Tuberkulose unterscheiden, möchten wir zunächst offen lassen.

Um die Wirkung des Contebens experimentell unter vereinfachten, wenn auch nicht unmittelbar mit der menschlichen Therapie vergleichbaren Bedingungen zu prüfen, untersuchten wir im Tierversuch die Meerschweinchenleber histologisch und biochemisch nach zeitlich verschieden bemessener, hochdosierter Einwirkung des Pharmakons.

Zur Entscheidung der vorliegenden Frage wurde mit der Warburg-Apparatur die Atmung und die aerobe Glykolyse der Lebern von Meerschweinchen, die mit Tb I gefüttert worden waren gemessen und mit der Atmung der Lebern gesunder Tiere verglichen. Da es „bei Vergleichen nicht auf die absolute Richtigkeit der einzelnen Zahlenwerte in den Beobachtungsreihen ankommt, sondern lediglich darauf, daß die Beobachtungsgenauigkeiten in beiden Reihen die gleichen sind“ (WEBER), wurde besonderer Wert auf die Einhaltung gleicher Versuchsbedingungen gelegt. Da diese Bedingungen das Untersuchungsergebnis stark beeinflussen, sollen sie im folgenden ausführlich wiedergegeben werden.

Die Tiere erhielten täglich zwischen 11 und 12 Uhr als normales Futter gekochte Kartoffeln, Schrot und Haferkörner gemischt. Jeweils 15 abgesonderten, gezeichneten Tieren wurden außerdem nachmittags zwischen 15 und 17 Uhr je 400 mg Tb I mit der Sonde eingefloßt. Sie werden im folgenden kurz als „kranke“ Tiere bezeichnet und wurden in Abständen von 2 Tagen morgens zwischen 9 und 10 Uhr in nüchternem Zustand ohne chemische Betäubungsmittel durch Nackenschlag getötet und entblutet. Die Leber wurde sofort herauspräpariert und teils in der Warburg-Apparatur, teils auf Fett oder histologisch untersucht. Wir beschränkten uns auf die Untersuchung der aeroben Glykolyse nach der „verbesserten Methode“ und der Atmung nach der direkten Methode von WARBURG. Bei allen Untersuchungen verfahren wir möglichst genau nach den Originalangaben und gebrauchten die dort angegebenen Ringerlösungen.

Die Schnitte zu sämtlichen Versuchen wurden aus dem gleichen Leberlappen hergestellt. Die Angaben für die einzelnen Tiere in den Tabellen sind Mittelwerte aus je 2—6 Parallelversuchen. Die Schnitte wurden in der entsprechenden Ringerlösung bei 37° aufbewahrt. Das Einbringen derselben und das Einstellen der Manometer nach dem Temperatenausgleich war innerhalb 50—60 min nach der Tötung beendet. Die Badtemperatur betrug für die „verbesserte Methode“ 38°, für die übrigen Versuche 37,5°, die Schüttelgeschwindigkeit 120 bzw. 180 Schwingungen je Minute.

Nach den Versuchen wurden die Schnitte in destilliertem Wasser kurz abgespült, auf kleinen Rundfiltern ausgebreitet, im Trockenschrank über Nacht bei 100° getrocknet und am nächsten Morgen $\frac{1}{2}$ Std nach dem Herausnehmen aus dem Trockenschrank gewogen. Die Schnittdicke lag zwischen 0,2 und 0,4 mm. Zuletzt trockneten und wogen wir die Schnitte auf Glasdeckgläsern, weil sich Filterpapier als zu hygroskopisch erwies.

Nach jedem Versuch wurden die Gefäße sorgfältig gereinigt und 1 Std lang mit Alkohol desinfiziert. Die Desinfektion erwies sich als notwendig, um Bakterien fernzuhalten, die durch ihre Entwicklung während des Versuches eine Atmung vortäuschen können, die nicht dem Gewebe angehört.

In unserer Warburg-Apparatur (Medizintechnik, Leipzig) erwies sich das Rührwerk als unzureichend. Dadurch entstanden während der Versuche periodische Schwankungen in den Manometern, die leicht zu Beobachtungsfehlern führen können und die Ablesung erschweren. Wir suchten dem Mangel abzuhelpen durch erhöhte Schüttelgeschwindigkeit und eine geeignete Beobachtungsweise.

Während bei der Atmung in zuckerhaltiger Ringerlösung die Ausschläge der Manometer 2 Std und länger annähernd konstant blieben, sanken sie bei der

Tabelle 1. *Versuchsprotokoll bei der „direkten“ Methode von WARBURG.*

Versuch A 9 (17. 6. 53), Tier Nr. 85 (direkte Methode). Ringerlösung: 2 cm³. KOH: 0,2 cm³. Getötet 9 Uhr 10 min. Eingbracht 9 Uhr 40 min bis 9 Uhr 55 min. Bad 37,5°. Exzenterstellung 40 mm. Schüttelgeschwindigkeit 120 Schw./min. Filterblatt und Trockenleber 5096 mg. Filterblatt allein 770 mg. Trockengewicht 4326 mg. Fettgewicht 415 mg. Fett/g Trockengewicht 107 mg.

Gefäß Nr.	Z Thb	h	Z Thb	h	Z Thb	h	Berechnung 10—10 ³⁰
6	10	150	10 ³⁰	143	11	140	$K = 1,27 \quad h = 9 \text{ mm}$
	150		152		153		$Q_{O_2} = \frac{3,9 \text{ mm}^3 \text{ O}_2}{\text{mg Gewebe} \times \text{Std}}$
7	10	150	10 ³⁰	144	11	144	$K = 1,23 \quad h = 8 \text{ mm}$
	151		152		153		$Q_{O_2} = \frac{3,6 \text{ mm}^3 \text{ O}_2}{\text{mg Gewebe} \times \text{Std}}$
8	10 ⁰⁵	150	10 ³⁰	146	11	145	$K = 1,29 \quad h = 5 \text{ mm}$
	151		152		153		$Q_{O_2} = \frac{2,5 \text{ mm}^3 \text{ O}_2}{\text{mg Gewebe} \times \text{Std}}$
10	10 ⁰⁵	150	10 ³⁰	141	11	138	$K = 1,17 \quad h = 10 \text{ mm}$
	151		152		153		$Q_{O_2} = \frac{3,5 \text{ mm}^3 \text{ O}_2}{\text{mg Gewebe} \times \text{Std}}$
Luft	24,5 ⁰		24,5 ⁰		24,6 ⁰		Mittelwert $Q_{O_2} = 3,4$

Z = Zeit; Thb = Thermobarometer; K = Gefäßkonstante.

Nr.	Deckglas mg	Schnitt- gewicht mg	Schnitt- fläche mm ²	Schnitt- dicke mm
6	910,56	5,94	127	0,23
7	708,63	5,48	144	0,19
8	806,03	5,28	169	0,16
10	605,96	6,77	136	0,25

Atmung in zuckerfreier Lösung nach der ersten halben Stunde auf $\frac{2}{3}$ — $\frac{1}{2}$ des Anfangswertes ab. Darum haben wir für die erste Methode als Beobachtungszeit die ersten 60—90 min, für die letztere ausschließlich die ersten 30 min nach dem Temperatúrausgleich gewählt. Die beiden Protokolle (Tabellen 1 und 2) veranschaulichen unsere Arbeitsweise.

Zur Extraktion des Fettes wurden die Lebern auf einem gewogenen Filterblatt zerstampft, ausgebreitet, über Nacht im Trockenschrank bei 100° getrocknet und am anderen Morgen 1 Std nach dem Herausnehmen gewogen. Darauf wurde das Blatt mit dem Lebergewebe zerschnitten, in der Reibschale zerrieben, im Soxhlet mit Tetrachlorkohlenstoff extrahiert und das Fettgewicht nach Abdestillieren des Lösungsmittels bestimmt. Für alle Extraktionen wurde derselbe Apparat und die gleiche Menge Tetrachlorkohlenstoff benutzt und die gleiche Zeit extrahiert.

Als erstes Ergebnis unserer Untersuchungen sei verzeichnet, daß der Fettgehalt der Leber des Meerschweinchens unter massiver Verabreichung von Conteben keine merkliche Zunahme erfährt. Die Fettextraktionswerte schwanken in gewissen Grenzen, sind aber so wenig

Tabelle 2. *Versuchsprotokoll bei der „verbesserten“ Methode von WARBURG.*

Versuch Nr. 10 (17. 4. 53), Tier Nr. 60 (Glykolyse und Atmung). Ringerlösung 3 cm³: Nr. 6, Nr. 8. Ringerlösung 10 cm³: Nr. 7, Nr. 10. Getötet 9 Uhr 30 min, Eingbracht 10 Uhr 30 min. Bad 38°, Exzenterstellung 40 mm, Schüttelgeschwindigkeit 120 Schw./min. Filterblatt und Trockenleber 3873 mg. Filterblatt allein 782 mg. Trockengewicht 3091 mg. Fettgewicht 322 mg. Fett/g Trockengewicht 107 mg.

Gefäß Nr.	Z Thb	h	Z Thb	h	Z Thb	h	Z Thb	h	$\frac{K_{O_2}}{K_{CO_2}}$	Berechnung: 11—12 ³⁰
6	11	150	11 ³⁰	144	12	143	12 ³⁰	142	1,2	$h = -7$ mm
	149		150		150		148		1,35	$H' = -26$ mm
7	11	150	11 ³⁰	138	12	134	12 ³⁰	123	0,56	$H = -29$ mm
	149		150		150		148		1,08	$\gamma = -0,82$
8	11	150	11 ³⁰	148	12	147	12 ³⁰	146	1,22	$Q_{O_2} = -2,9$
	149		150		150		148		1,38	$Q_{CO_2} = -0,4$ (0)
10	11	150	11 ³⁰	138	12	130	12 ³⁰	118	0,5	$h = -3$ mm
	149		150		150		148		1,02	$H' = -31$ mm
										$H = -20,4$ mm
										$\gamma = -0,9$
										$Q_{O_2} = -2,34$
										$Q_{CO_2} = -0,2$ (0)

Mittelwert $Q_{O_2} = 2,62$

Z = Zeit; Thb = Therobarometer; K = Gefäßkonstante.

Nr.	Filter- blatt mg	Schnitt- gewicht mg	Schnitt- fläche mm ²	Schnitt- dicke mm
6	118,62	6,69	130	0,26
7	117	6,01	135	0,22
8	118,36	4,93	124	0,20
10	117,84	7,56	160	0,24

charakteristisch, daß sich daraus keine Schlüsse ziehen lassen. Sie erreichen auch nie die Höhe derjenigen von ZISCHKA bei experimenteller Diphtherieintoxikation. Dementsprechend fielen sowohl die Fettfärbung am Gefrierschnitt als auch am Paraffinschnitt negativ aus. Die Versuche bestätigen unsere Beobachtungen am Menschen.

Demgegenüber zeigten die Atmungswerte mit Fortschreiten der Thsc.-Applikation ein ständiges Absinken und zwar sowohl bei Messung der Atmung mit Hilfe der „verbesserten“ als auch bei Anwendung der direkten Methode (Tabellen 3 und 4). Für die gesunde Leber des Meer-schweinchens ergaben die eigenen Messungen einen Mittelwert der Atmung von 6,85, der etwas tiefer liegt als derjenige von ZISCHKA ($Q_{O_2} = 9$). Dies ist zurückzuführen auf die verschiedenen Versuchsbedingungen und die etwas abweichende Vorbehandlung des Untersuchungsmaterials. Mit Zunahme der verabreichten Thsc.-Menge fällt die Atmung auf einen Mittelwert von 3,61 ab. Für die aerobe Glykolyse ließ sich eine ähnliche

Tabelle 3. *Ergebnisse mit Hilfe der „verbesserten“ Methode.*

Datum	Tier-Nr.	Gewicht in g		Dosis in mg	Q_{O_2} Mittel- werte	Q_{CO_2}	Fett mg/g Trocken- gewicht
		Beginn	Tötung				
27. 3.	50	225	220	4×400	7,44	0	68
30. 3.	53	300	310	6×400	4,14	0	92
1. 4.	51	250	245	8×400	3,68	+ 0,07	101
4. 4.	57	350	290	11×400	7,5	+ 0,49	95
8. 4.	58	275	240	14×400	6,75	0	84
10. 4.	56	360	340	16×400	3,75	0	92
13. 4.	62	380	340	18×400	2,3	0	83
15. 4.	66	350	345	20×400	3	0	87
17. 4.	60	450	345	22×400	2,62	0	107
Mittelwert $Q_{O_2} = 4,57$							

Tabelle 4. *Ergebnisse mit Hilfe der „direkten“ Methode.*

Datum	Tier Nr.	Gewicht in g		Dosis in mg	Q_{O_2} Mittel- werte	Fett mg/g Trocken- gewicht
		Be- ginn	Tö- tung			
2. 6.	86	290	275	5×400	4,6	58
4. 6.	84	320	315	7×400	4,1	82
6. 6.	80	310	275	9×400	3,8	106
8. 6.	87	270	275	10×400	3	118
10. 6.	83	290	270	12×400	5,2	189
12. 6.	91	300	285	14×400	4	114
15. 6.	90	290	275	16×400	1,6	140
17. 6.	85	410	375	17×400	3,4	96
19. 6.	89	310	300	19×400	3,1	148
23. 6.	81	375	310	22×400	3,3	172

Mittelwert $Q_{O_2} = 3,61$

gesetzmäßige Erniedrigung nicht nachweisen. Sie ist, wie bekannt, im Gegensatz zu malignen Geschwülsten im normalen Körpergewebe außerordentlich gering und wird meist praktisch mit 0 angegeben. Auch für unsere Beobachtungsreihen traf das zu und änderte sich auch nicht bei den „kranken“ Tieren.

Um die Ergebnisse unserer 3 Versuchsreihen statistisch zu sichern, haben wir die Standardabweichung bestimmt (Tabelle 5). Wird zur Entscheidung der Frage, ob die Differenz der Mittelwerte M_1 und M_2 im Vergleich zu M_3 echt ist oder noch im Bereich des Zufalls liegt, eine Sicherungsgrenze von 0,27% angenommen, so muß der Quotient

$$Q = \frac{M_3 - M_1}{\sigma_D} \quad \text{bzw.} \quad \frac{M_3 - M_2}{\sigma_D} > 3 \text{ sein,}$$

$$\text{wobei } \sigma_D = \sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_3} + \frac{\sigma_3^2}{n_1}} \quad \text{bzw.} \quad \sqrt{\frac{\sigma_2^2}{n_3} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}} \text{ ist.}$$

Die Sicherungsgrenze 0,27% bedeutet dabei, daß zur Entscheidung der vorliegenden Frage nur solche Werte vernachlässigt werden dürfen,

für deren Eintreten die Wahrscheinlichkeit 0,27 % beträgt, die also unter etwa 300 und mehr Fällen nur einmal zu erwarten sind.

Für I und II ergibt sich

$$Q = \frac{6,85 - 3,61}{\sqrt{\frac{0,935^2}{28} + \frac{1,97^2}{38}}} = 8,87 > 3.$$

Für I und III ergibt sich

$$Q = \frac{6,85 - 4,57}{\sqrt{\frac{1,96^2}{28} + \frac{1,97^2}{18}}} = 3,85 > 3.$$

Bei dem Vergleich zwischen II und III ist zu bedenken, daß die Versuchsbedingungen in beiden Reihen insofern voneinander abweichen, als die Schnitte der gesunden Tiere in einer Ringerlösung ohne Zucker, die der kranken in einer solchen mit Zucker atmeten. Wenn auch nach MINAMI der Zusatz von Nahrungsstoffen die Atmung nicht oder nur wenig beeinflußt, so zeigt doch die bereits erwähnte Konstanz der Manometerausschläge in der Versuchsreihe II, daß die Glykolyse das Absinken der Atmungsgröße verlangsamen kann und im vorliegenden Versuch zu dem größeren Mittelwert $M_2 = 4,57$ beigetragen hat. Die vorliegenden Ausführungen ergaben, daß das Absinken der Atmung in Leberschnitten von Tb I-behandelten Meerschweinchen gegenüber gesunden Tieren als statistisch gesichert betrachtet werden kann.

Tabelle 5.

	Zahl der Bestimmungen n	Mittelwert M	Standard- abweichung σ
Kranke Tiere			
I. Direkte Methode	$n_1 = 38$	$M_1 = 3,61$	$\sigma_1 = \pm 0,935$
II. Glykolyse und Atmung . . .	$n_2 = 18$	$M_2 = 4,57$	$\sigma_2 = \pm 1,96$
Gesunde Tiere			
III. Direkte Methode	$n_3 = 28$	$M_3 = 6,85$	$\sigma_3 = \pm 1,97$

Ein Vergleich der Gasstoffwechseluntersuchungen mit den zugehörigen histologischen Bildern, die jeweils aus unmittelbar benachbarten Leberschnitten gewonnen wurden, ergibt eine Reihe von Besonderheiten. Das feingewebliche Bild der Meerschweinchenleber unterscheidet sich von der menschlichen unter anderem durch stärkere Grade der Glykogenspeicherung, die in der Regel zu einem pflanzenzellähnlichen Bild führt.

Die im Versuche stehenden Tiere zeigten demgegenüber häufiger ein dichtes glykogenarmes Protoplasma, wie es von MEERSEMAN und PROUST als inaktive Zustandsform bei Erschöpfung der Reservestoffe beschrieben worden ist. Eine deutliche Beziehung zur Menge des verarbeiteten Thsc. war dabei nicht nachzuweisen. Ferner fanden sich

wechselnde Grade einer wolkigen oder feinkörnigen Trübung. Dabei waren die Leberzellen in der Regel groß. Lediglich bei den nicht in ihrem Stoffwechsel untersuchten spontan verendeten Tieren sahen wir akute Zellverkleinerungen, wie sie aus den Anfangsstadien der akuten Leberdystrophie bekannt sind.

Am interessantesten waren Veränderungen am Zellkern, die wir auf die zunehmende Herabsetzung der Atmung beziehen möchten. Die Leberzellkerne beim Meerschweinchen zeigen in der Regel eine ziemlich gleichmäßige Verteilung des Chromatins mit 4—8 feinnetzigen Verdich-



Abb. 2. Regelrechte Leberzellkerne beim Meerschweinchen.

tungen und einem Nucleolus. Der Chromatingehalt kann beträchtlich sein, so daß sich die Zellen gleichmäßig intensiv anfärben (Abb. 2). Mit zunehmendem Absinken der Atmungswerte vergrößert sich die Chromatinstruktur, wobei zwischen Nucleolus und Kernwand Chromatinbrücken auftreten (Abb. 3 und 4). Ob es sich hierbei um ähnliche Erscheinungen handelt, wie sie ALTMANN und GÖNNERT bei experimenteller Bilharziose am Gallengangssystem der weißen Maus fanden und als Vorstadien einer Zellhypertrophie deuteten, scheint uns fraglich. Die herabgesetzte Atmung spricht für einen regressiven Prozeß. Der Nucleolus kann in diesem Stadium der Kernwand fest anliegen; gelegentlich buckelt sich die Kernmembran deutlich gegen das Protoplasma der Zelle vor. Immer häufiger treten im Verlauf der Versuche Kerne mit Kernwandhyperchromatose auf, wobei sich gleichzeitig das Innere des Kernes immer mehr aufhellt. Ausgesprochene Pyknose und Karyolyse sind selten und werden auch bei Tieren, die am längsten im Versuch standen, nur gelegentlich beobachtet. Nur bei den in der zweiten Hälfte der Versuchszeit spontan verendeten Tieren kommen Nekrosen einzelner Leberzellen vor. Dieses

zeitlich ausgedehnte Verharren der Leberzellen in einem Zustand herabgesetzter Lebenstätigkeit spricht nicht für eine massive Giftwirkung auf die gesamte Zelle. Man muß vielmehr annehmen, daß durch Thsc. eine

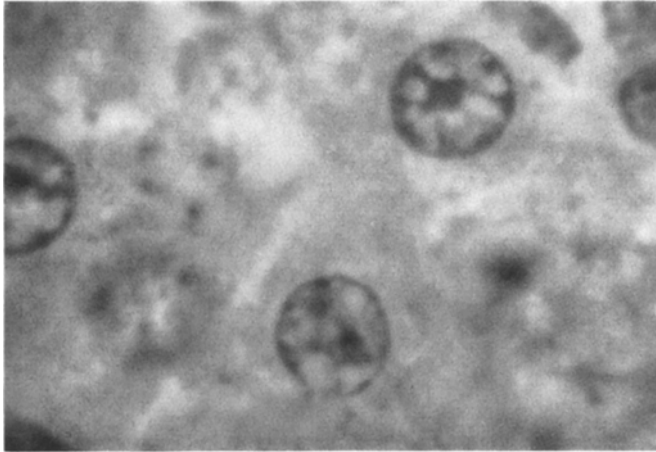


Abb. 3. Vergrößerung der Chromatinstruktur der Leberzellkerne. Meerschweinchen.

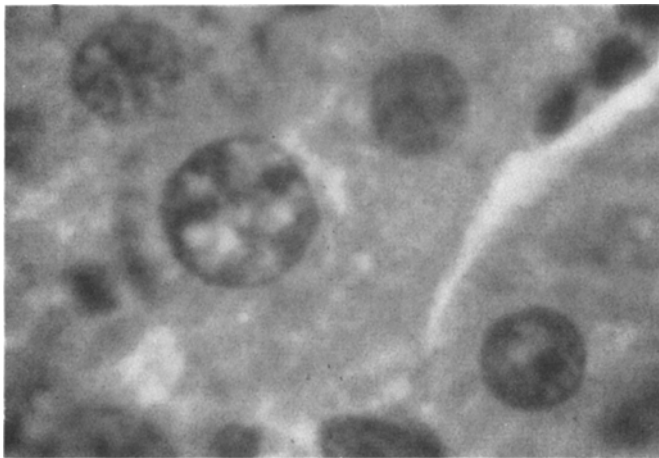


Abb. 4. Einzelner vergrößerter Leberzellkern mit Kernwandhyperchromatose. In der linken Hälfte des Gesichtsfeldes zwei regelrechte Leberzellkerne.

viel feinere und gezielte Störung der Stoffwechselmechanismen des Zellkernes bewirkt wird, wie sie z. B. in der Herabsetzung der Atmung zum Ausdruck kommt.

In diesem Zusammenhang müssen Befunde erwähnt werden, die bei einer Anzahl akuter Contebenvergiftungen am Menschen erhoben worden sind. Dabei ergibt sich auf den ersten Blick eine ganz verwirrende Fülle

verschiedenartiger Störungen, die aber, wie wir glauben, auf ein gemeinsames Prinzip zurückgeführt werden können. So können Thsc. Empfindlichkeit gegen Nahrungseiweiß (Käse, Fisch) auslösen. Sie sollen dabei als Hapten wirken, das sich mit dem betreffenden Eiweiß zum Vollantigen ergänzt (STÜHMER). Andere Folgen der Thsc.-Medikation (Nachlassen der exsudativen Reaktionsbereitschaft, Abfall der Blutsenkung) sollen über das vegetative Nervensystem verursacht werden (STURM, KALKOFF). Interessant ist die neuerdings nachgewiesene Speicherung von Conteben in der Nebenniere (HINRICHS), die den Gedanken an eine direkte Beeinflussung der Nebennierenrindenhormone und damit auch der unspezifischen Abwehrmechanismen nahelegt. Ob von hier aus auch die bei Contebenmedikation nicht selten beobachtete schwere Adipositas (OTTO) eine Erklärung findet, müssen weitere experimentelle Forschungen ergeben. Auch die morphologischen Organbefunde bei akuten Contebenvergiftungen sind sehr verschiedenartig. Ein Teil der Beobachter (GÜLZOW) denkt an Permeabilitätsstörungen der Gefäßendstrecken, womit das fast stets vorhandene Hirnödem erklärt wird. Aber die Analyse sämtlicher bisher bekanntgewordenen Fälle (MERKEL, HEEPE, HEINE, ESSER und FERENBACH, PECKHOLZ) zeigt, daß im Vordergrund schwere Zellschädigungen in den verschiedensten Organen stehen, die sich nicht befriedigend auf eine gleichzeitige Kreislaufstörung zurückführen lassen. Im Gehirn kommt es vor allem zu einem Zugrundegehen von Ganglienzellen. Auch die regressiven Veränderungen an den Epithelien der Leber und Niere (Verfettung, Trübung, Schwellung) sind nicht von einer wesentlichen Beeinträchtigung der Zirkulation begleitet. So haben bereits HEINE sowie Esser und FERENBACH vermutet, daß Tb I unmittelbar in den Zellstoffwechsel eingreift und die letzteren sprechen in Anlehnung an VANOTTI von einer Insuffizienz der Zellkatalysatoren. Da in dem Fall von ESSER und FERENBACH ein Vitamin B₂-Mangel im Spiele war, wird eine akute Schädigung der B₂-haltigen Atmungsfermente für möglich gehalten, ein Standpunkt, den auch PECKHOLZ für die Erklärung ihres eigenen Falles bezieht. Wir möchten auch die eigenen Befunde in dieser Richtung gedeutet wissen. An welcher Stelle der Fermentketten die Lähmung oder Unterbrechung erfolgt und auf welche Weise, entzieht sich zunächst unserer Kenntnis. Es ist durchaus möglich, daß verschiedene äußere (Vitamin B₂-Mangel) und innere (organspezifische Stoffwechselgefährdung der Zelle) Bedingungen für das Manifestwerden der degenerativen Zellveränderung im Einzelfall verantwortlich sind. Möglicherweise lassen sich aber aus diesem allgemeinen Prinzip der Fermenthemmung heraus auch die vegetativ-nervösen und hormonalen oder eiweißchemischen Wirkungskomponenten der Thsc. verständlich machen.

An der Leber könnte sich — um an den Ausgangspunkt der Betrachtung zurückzukehren — eine derartige Fermenthemmung sowohl in den Leberzellen als auch am Capillarsystem der Läppchen, insbesondere an den Kupferzellen auswirken. Sind aber alle Baubestandteile der Leber von dieser Schädigung betroffen, so sind die Voraussetzungen für das Entstehen einer Cirrhose gegeben.

Zusammenfassung.

Bei der Behandlung der Tuberkulose mit Thiosemicarbazonen (Thsc.) werden über den einfachen Bakteriostaseeffekt hinaus Nebenwirkungen beobachtet, die für eine sehr komplexe Wirkung des Pharmakons auf den Organismus sprechen. Im Vordergrund steht die Schädigung der Leber und eine Änderung der Plasmazusammensetzung des Blutes. Die häufig beobachtete Leberverfettung kommt auch bei unbehandelten Tuberkulosen vor und kann nicht als Maß der Schädigung gelten. Dagegen findet man nach Behandlung mit Thsc. häufig Lebercirrhosen, die zum Teil erst mikroskopisch nachweisbar sind.

Um die Wirkung der Thsc. experimentell unter vereinfachten Bedingungen zu studieren, wurde eine Gruppe von Meerschweinchen mit hohen Dosen des Wirkstoffes vergiftet und die Leber der Tiere in verschiedenen Zeitabständen histologisch und stoffwechselchemisch in der Warburg-Apparatur untersucht. Dabei ergab sich eine fortschreitende Herabsetzung der Atmung auf etwa die Hälfte des Ausgangswertes. Histologisch fanden sich gleichzeitig Glykogenverlust der Leberzellen und Kernveränderungen in Gestalt von Chromatinverklumpung und Kernwandhyperchromatose, oft in Verbindung mit Vergrößerung der Kerne. Die Veränderungen werden als Folge eines elektiven Angreifens des Wirkstoffes am Fermentapparat der Zelle gedeutet, womit die Befunde gut mit akuten Vergiftungen durch Thsc. am Menschen in Einklang stehen. Der Schädigungsmechanismus ist geeignet, die Entstehung von Lebercirrhosen verständlich zu machen.

Literatur.

ALTMANN, H.W., u. R. GÖNNERT: Beitr. path. Anat. **112**, 8 (1952). — AXENFELD, H., u. K. BRASS: Frankf. Z. Path. **57**, 147 (1943). — BÖHLKE, E., u. H. H. HENKEL: Klin. Wschr. **1952**, 449—456. — BÖHM, FR.: Klin. Wschr. **1950**, 548. — Z. Tbk. **92**, H. 5/6 (1949). — BRANDNER, R.: Dtsch. med. Wschr. **1949**, 926. — DOMAGK, G.: Beitr. Klin. Tbk. **101** (1948). — Chemotherapie der Tuberkulose mit den Thiosemicarbazonen. Stuttgart 1950. — EIBL, H., W. ZISCHKA, J. DREHER, O. F. SCHWARZ u. O. HOFFMANN-OSTENHOF: Mh. Chem. (Wien) **81**, 616 (1950). — ESSER, H., u. H. FERENBACH: Münch. med. Wschr. **1950**, 761. — FISCHER, W.: Virchows Arch. **208**, 1 (1912). — FRUNDER, H.: Hoppe-Seylers Z. **291** (1952). — GEKS, F. J.: Klin. Wschr. **1949**, 609. — Z. Hyg. **130**, 522 (1950). — GÜLZOW, M.: Z.

exper. Med. **1950**, H. 1, 26, 40. — HECKNER, F.: Beitr. Klin. Tbk. **105**, 31 (1951). —
 HEEPE, F.: Mschr. Kinderheilk. **8**, 349 (1949). — HEINE, J.: Tuberkulosearzt **8**,
 433 (1950). — HINRICHS, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **218**, 85 (1953). —
 JAHNKE, K., u. W. SCHOLTAN: Z. exper. Med. **1950**, H. 1, 13. — KALK, H.: Dtsch.
 med. Wschr. **1950**, 40. — Med. Klin. **1951**, 385. — KALKOFF, K.W.: Beitr. Klin. Tbk.
101, 395 (1948). — KIENLE, F. R., u. F. R. KNÜCHEL: Dtsch. med. Wschr. **1949**,
 499. — KINSEL u. Mitarb.: Amer. J. Med. **6**, 292 (1949). — KNÜCHEL, F.: Ärztl.
 Forsch. **3**, 109 (1949). — KOCH, O., u. R. BUCHHOLZ: Beitr. path. Anat. **111**, 321
 (1951). — KÖNN, G.: Beitr. path. Anat. **111**, 337 (1951). — LEMBKE, A., u. E. KRÜGER-
 THIEMER: Literaturstudien zum Tuberkuloseproblem unter besonderer Berück-
 sichtigung antituberkulöser Stoffe. Jena: Gustav Fischer 1952. — LIEBERMEISTER,
 G.: Zit. nach LEMBKE u. KRÜGER-THIEMER. — LINDENSCHMIDT, TH.-O.: Klin.
 Wschr. **1950**, 29. — MERKEL, W.: Tuberkulosearzt **9**, 518 (1949). — MINAMI, S.:
 Biochem. Z. **142**, 334 (1924). — OTTO, H.: Z. inn. Med. **7**, H. 6, 244. — PECK-
 HOLZ, J.: Z. inn. Med. **7**, H. 5, 216. — POPPER, H.: Amer. J. Med. **6**, 278
 (1949). — SALFELDER, K.: Frankf. Z. Path. **63**, 143 (1952). — SCHWARZ, O. F.,
 H. EIBL, W. ZISCHKA u. O. HOFFMANN-OSTENHOF: Mh. Chem. (Wien) **82**, 391
 (1951). — STÜHMER, A.: Med. Klin. **1949**, 864. — STURM, A.: Dtsch. med. Wschr.
1949, 726. — TRAUTWEIN, H.: Angew. Chem. **62**, 3, 80 (1950). — Ärztl. Forsch. **4**,
 95 (1950). — WARBURG, O.: Biochem. Z. **152**, 51, 309 (1924). — WEBER, E.: Grund-
 riß der biologischen Statistik, Jena: Gustav Fischer 1950. — ZISCHKA, W., H. EIB,
 F. SCHWARZ u. O. HOFFMANN-OSTENHOF: Mh. Chem. (Wien) **82**, 571 (1951).

Prof. Dr. med. habil. G. HOLLE, Pathologisches Institut der Universität
 Greifswald, Friedrich-Loeffler-Str. 23e.