

Toxicity, Etiology and Therapeutic control of specific toxicity

Arch. fur exper. Path und Pharmako
Vol 160
1931 p 687-691.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Rostock.

Ätiologie und therapeutische Beeinflussbarkeit der spezifischen toxischen Wirkungen des Methylalkohols.

Von

E. Keeser.

(Eingegangen am 10. V. 1931.)

Die Vermutung, daß die Ursache der spezifischen, d. h. nicht durch seine Eigenschaft als primärer Alkohol bedingten Giftwirkungen des Methylalkohols darauf beruht, daß aus ihm im Organismus zunächst Formaldehyd gebildet wird, wurde schon wiederholt ausgesprochen¹. Es gelang nun, wie an anderer Stelle bereits kurz berichtet wurde², im Liquor, im Glaskörper sowie in der Bauchhöhlenflüssigkeit von Kaninchen, die mit Methylalkohol vergiftet worden waren, dieses intermediäre Stoffwechselprodukt nachzuweisen. Aus der Beobachtung jedoch, daß bei derart vergifteten Tieren in den genannten Flüssigkeiten Formaldehyd oft auch nicht gefunden wurde, scheint hervorzugehen, daß der Nachweis nur in bestimmten Stadien der Vergiftung bzw. nur kurze Zeit möglich ist. Da die Klärung der Bedingungen, unter denen Formaldehyd gefunden wird, nur durch Versuche an einer großen Zahl von Tieren möglich ist, suchten wir nach einer anderen Methode, mit deren Hilfe die Bildung von Formaldehyd aus Methylalkohol im Organismus regelmäßig und leicht nachgewiesen werden kann.

Zunächst gingen wir in folgender Weise vor: Es wurde zu Gehirnschubstanz, die mit Glaspulver zerrieben und in Tyrode aufgeschwemmt war, Methylalkohol zugesetzt. Nach mehrstündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° fällten wir das Eiweiß dieser Aufschwemmungen durch einige Tropfen 20% ig. Sulfosalizylsäure, die sich als das noch am ehesten verwendbare Enteiweißungsmittel erwies, aus und filtrierten durch ein aschefreies Filter. Hierbei traten

¹ H. Brückner, Zentralbl. f. Gewerbehyg., N. F. 1924, Bd. 1, S. 17. —
F. Flury, Verhandl. d. deutsch. pharmakol. Ges. 1928.

² E. Keeser, Dtsch. med. Wochenschr. 1931, Jhg. 57, S. 398.

Formaldehyde in cerebrospinal fluid
and vitreous humor

jedoch im Filtrat bei Zusatz der von uns für den Nachweis von Formaldehyd gebrauchten Reagentien (s. später) Verfärbungen auf, die die bei Anwesenheit von kleinen Mengen Formaldehyd auftretende charakteristische Farbreaktion verdeckten.

Für den etwaigen Nachweis von Formaldehyd im Organismus durch die von uns verwendeten Reagentien kommen somit nur Bestandteile des Organismus in Betracht, die nicht enteiweißt werden müssen. Einen solchen fanden wir im Glaskörper frisch getöteter Kälber. Dieser stellt ein Oxydations-Reduktionssystem dar¹, das sehr eiweißarm ist, also die von uns geforderten Bedingungen erfüllt. Außerdem schien der Glaskörper für unsere Untersuchungen auch deswegen besonders interessant, weil angenommen wird, daß Glaskörper und Liquor grundsätzlich identisch sind².

Formaldehyd wurde in der Weise nachgewiesen, daß 0,05 g Resorzin einigen Kubikzentimetern der zu untersuchenden Flüssigkeit zugesetzt, dann eine etwa der Menge der Untersuchungsflüssigkeit entsprechende Menge 50% iger Natronlauge hinzugefügt und aufgeköcht wurde. Die hierbei zunächst auftretende Gelbfärbung schlägt bei Anwesenheit von Formaldehyd beim Erkalten in Rot um³. Außerdem bedienen wir uns des Nachweises von Formaldehyd durch Phlorogluzin³. Es darf nur reinstes Resorzin verwendet und die Abkühlung der aufgeköchten, Resorzin enthaltenden Untersuchungsflüssigkeit darf nicht durch Spülen mit fließendem Leitungswasser (Auftreten von bräunlich-gelben Verfärbungen) beschleunigt werden. Schließlich empfiehlt es sich, da Methylalkohol stets mehr oder weniger große Mengen Formaldehyd enthält, Kontrollen anzusetzen. Der von uns verwendete Methylalkohol wurde außerdem noch einer wiederholten Destillation unterworfen; hierdurch gelang es, aus ihm Formaldehyd praktisch vollständig zu entfernen. — Das beim Kochen gerinnende Eiweiß des Glaskörpers stört den Ausfall der Reaktion nicht.

Die Glaskörper von frisch geschlachteten Kälbern wurden unter Vermeidung von Verunreinigung durch pigmenthaltige Bestandteile des Bulbus auspräpariert, in einem Glaszylinder gemischt, um für die zu vergleichenden Versuche ein möglichst gleichartiges Ausgangsmaterial zu erhalten, und durch kräftiges Schütteln verflüssigt. Darauf wurden die Versuche in der beschriebenen Weise angesetzt⁴. Bei Pufferung von 20 ccm Glaskörper durch 10 ccm Phosphatgemisch nach Sörensen auf $p_H = 6,23$ bzw. $p_H = 7,73$ zeigte sich kein Unterschied in der Stärke der

¹ P. Reiss und J. Roche, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol 1930, Bd. 103, S. 1154, 1156. — S. auch F. Wasmuth, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmacol. 1929, Bd. 142, S. 32.

² R. Greef, Handb. d. spez. pathol. Anat. u. Histol. von F. Henke und O. Lubarsch 1928, Bd. 11.

³ P. Rona, Praktikum d. physiol. Chem. 1929.

⁴ E. Keeser, a. a. O.

Formaldehydreaktion. Somit scheint durch den Ausfall der im Liquor, im Glaskörper und in der Bauchhöhlenflüssigkeit von Kaninchen erhaltenen Befunde sowie durch das Ergebnis der mit dem verflüssigten Glaskörper von Kälbern angestellten Versuche sichergestellt, daß im Organismus aus Methylalkohol zunächst Formaldehyd gebildet wird. Daß die spezifischen toxischen Wirkungen dieses Alkohols auf das genannte im Stoffwechsel entstehende Produkt zurückzuführen sind, muß deswegen angenommen werden, weil der sehr reaktionsfähige Formaldehyd die normale Struktur des Eiweißes im Organismus verändert und weil die pathologisch-anatomischen Veränderungen, die Methylalkohol im Organismus verursacht, mit denjenigen weitgehend übereinstimmen, die bei der Einwirkung von Formaldehyd auf lebendes Gewebe auftreten, die Wirkungen von Methylalkohol bzw. Formaldehyd sich somit nicht qualitativ, sondern nur topographisch durch die Verschiedenheit der Stellen, an denen unter gewöhnlichen Bedingungen Methylalkohol bzw. Formaldehyd ihre Wirkung entfalten, unterscheiden¹. Schließlich spricht für die genannte Ansicht auch, daß die Theorien, die zur Deutung der spezifischen Giftwirkungen des Methylalkohols aufgestellt wurden, zum Teil bereits als nicht haltbar erkannt wurden, zum Teil den für Methylalkoholvergiftung charakteristischen Symptomenkomplex nicht zu erklären vermögen².

Nachdem gefunden worden war, daß aus Methylalkohol im Organismus zunächst Formaldehyd gebildet wird, lag es nahe zu untersuchen, ob und zutreffendenfalls bis zu welchem Grade die Entstehung der spezifischen toxischen Wirkungen des Methylalkohols durch Zufuhr von Ammoniak verhindert werden kann, da Formaldehyd und Ammoniak sich mit Leichtigkeit quantitativ zu Hexamethylentetramin kondensieren. Hierbei wurde folgendes gefunden:

	Ausfall der Resorzinreaktion nach 6stündigem Aufenthalt der Ansätze im Brutschrank bei 37° C
a) 10 ccm Aqua destillata + 3 ccm Methylalkohol.	—
b) 10 ccm Glaskörper + 3 ccm Methylalkohol	++
c) 10 ccm Glaskörper + 3 ccm Methylalkohol + 1 g Ammoniumkarbonat	—

¹ E. Petri, Handb. d. spez. pathol. Anat. u. Histol. von F. Henke u. O. Lubarsch 1930, Bd. 10. — A. J. Kunkel, Handb. d. Toxikologie I, Jena 1899. — E. Kobert, Lehrbuch d. Intoxikationen. — Vgl. auch Weyer, Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psychiatrie 1927, Bd. 111, S. 370.

² J. Pohl, Toxikologie v. E. Starkenstein, E. Rost und J. Pohl 1929. — H. Curschmann, Münch. med. Wochenschr. 1926, S. 1407. — H. Brückner, a. a. O. — E. Keeser, a. a. O.

Bei Zusatz von Ammoniumkarbonat zu Methylalkohol enthaltender Glaskörperflüssigkeit konnte somit unter den genannten Versuchsbedingungen Formaldehyd nicht nachgewiesen werden; zu den gleichen Ergebnissen führten auch andere unter mannigfaltiger Abänderung der Konzentration an Methylalkohol und Ammoniumkarbonat angestellte Versuche.

	Ergebnis der Resorzinreaktion nach 6 Stunden
a) 10 ccm Glaskörper + 10 ccm Formaldehydlösung (0,1%) .	+++
b) 10 ccm Glaskörper + 10 ccm Formaldehydlösung (0,1%) + 20 mg Ammoniumkarbonat	+
c) 10 ccm Aqua destillata + 10 ccm Formaldehydlösung (0,1%)	+++
d) 10 ccm Aqua destillata + 10 ccm Formaldehydlösung (0,1%) + 20 mg Ammoniumkarbonat	+

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Bildung von Hexamethylentetramin im Glaskörper ebenso leicht erfolgt wie in destilliertem Wasser. Daß der in den vorstehend geschilderten Versuchen erwähnte Ausfall der Proben auf Anwesenheit von Formaldehyd nach Zusatz von Ammoniumkarbonat auf die Bildung von Hexamethylentetramin zurückzuführen ist, wurde dadurch sichergestellt, daß der mit Methylalkohol bzw. Formaldehyd und Ammoniumkarbonat versetzten Glaskörperflüssigkeit nach Beendigung des Aufenthalts im Brutschrank Jodjodkalium zugesetzt wurde: Hierbei bildeten sich dieselben Kristallformen, die auch bei Zusatz von Jodjodkalium zu einer wässrigen Lösung von Hexamethylentetramin erhalten wurden. Des weiteren ergab Zusatz von gesättigter Magnesiumsulfatlösung und frisch bereiteter gesättigter Kaliumferricyanidlösung die für Anwesenheit von Hexamethylentetramin charakteristischen gelben Kristallschuppen¹.

An Kaninchen vorgenommene orientierende Versuche über die praktische Möglichkeit, durch Darreichung von Ammoniumkarbonat das Auftreten der bei Methylalkoholzufuhr zu beobachtenden Organschädigungen zu verhindern bzw. therapeutisch zu beeinflussen, bestätigten diese Annahme insofern, als die Tiere, die 2 Wochen lang täglich 3 ccm Methylalkohol und außerdem 0,5 g Ammoniumkarbonat/kg Körpergewicht in verdünnter wässriger Lösung erhalten hatten, bei makroskopischer Betrachtung weniger ausgedehnte Veränderungen ihrer Organe zeigten als diejenigen Tiere, denen nur Methylalkohol verabfolgt worden war.

¹ A. Mayrhofer, Mikrochemie d. Arzneimittel u. Gifte 1928, Bd. 2, S. 91.

Zusammenfassung.

1. Im Liquor und Glaskörper sowie in der Bauchhöhlenflüssigkeit von Kaninchen, die mit Methylalkohol vergiftet waren, wurde Formaldehyd gefunden.

2. Vom Glaskörper frisch getöteter Kälber wird Methylalkohol zu Formaldehyd oxydiert; bei Zusatz von Ammoniumkarbonat bildet sich aus dem entstandenen Formaldehyd Hexamethylentetramin.

3. Verabreichung von Ammoniumkarbonat scheint geeignet, der Entstehung der für Methylalkoholvergiftung charakteristischen Organschädigungen entgegenzuwirken.