

ZUM EINFLUß VON HYDROCORTISON AUF DIE ENTGIFTUNGSGESCHWINDIGKEIT DES ÄTHANOLS*

H.-D. FISCHER

Pharmakologisches Institut der Medizinischen Akademie "Carl Gustav Carus",
Dresden

(Received 21 December 1965; accepted 9 February 1966)

Abstract—The subcutaneous administration of hydrocortisone to rabbits over a period of days causes an increase of the alcohol elimination rate, although there is no immediate effect. Parallel to this effect the $\text{NAD}^+:\text{NADH}$ ratio of the liver is increased and the redox potential of liver cell becomes more positive as judged from the values of the lactate: pyruvate ratio. The rate of alcohol elimination is probably related to the degree of reduction of the NAD-system.

There may be a relation between fat metabolism and alcohol elimination.

DAS Hypophysen-Nebennierenrinden-System scheint in gewissen Wechselbeziehungen zur Alkoholintoxikation zu stehen. Ein Faktor in der Ätiologie des Alkoholismus soll z.B. die Hypofunktion dieses Systems sein^{2, 3}. Klinisch wurden ACTH und Nebennierenrinden-Extrakte mit Erfolg bei Alkoholikern und akut Alkoholvergifteten angewendet⁴⁻⁸. Fazekas u. Mitarb.⁹⁻¹² beobachteten an Patienten mit verminderter Nebennierenrinden-Funktion eine deutliche Alkoholüberempfindlichkeit. Verff. fanden bei Versuchen *in vitro* eine Steigerung der ADH-Aktivität in der Leber durch Zusatz von Nebennierenrindenzubereitungen und deuteten Befunde an adrenaletomierten Tieren als Verzögerung der Alkoholentgiftung.

Da die Ergebnisse nicht sehr überzeugend sind und in der Literatur keine Angaben über eine eventuelle Beeinflussung der Alkoholentgiftung durch Corticosteroide zu finden waren, führten wir entsprechende Versuche mit Hydrocortison an Kaninchen durch. Parallel dazu bestimmten wir in Fortsetzung früherer Arbeiten über den Einfluß von Barbituraten auf die Alkoholentgiftung¹³ den Gehalt an Pyridinnucleotiden sowie an Lactat und Pyruvat in der Leber.

METHODEN

Adulte Kaninchen beiderlei Geschlechts erhielten als Nebennierenrinden-Hormon das Handelspräparat "Hydrocortison Roussel" subcutan verabreicht. Die Tiere der Hydrocortisongruppen wurden 5 bzw. 6 Tage lang mit zweimal täglich 5 mg, eine weitere Gruppe mit 10 mg vorbehandelt. Die Alkoholelimination sowie die Leberwerte bestimmten wir nach unseren früheren Angaben¹³.

* Die Ergebnisse stellen einen Teil der Dissertation "Zur Beeinflussbarkeit des Alkoholentgiftungsvermögens" (1) dar und wurden auszugsweise auf der 5. Tagung der Arbeitsgemeinschaft der Industrie- u. Hochschulpharmakologen der DDR, vom 24-26. 9. 65, in Weimar, vorgetragen.

Lactat- und Pyruvatgehalt

Zur Analyse verwendeten wir Lebergewebe, das unmittelbar nach der Entnahme zwischen den Backen einer in flüssigem Stickstoff vorgekühlten Kältezange¹⁴ fixiert wurde¹⁵. Das zu einer dünnen, maximal 1 mm starken Schicht zusammengepreßte glasig gefrorene Gut zerkleinerten wir im Mörser unter flüssigem Stickstoff. Die Einwaage von etwa 1,5 g wurde bei 0° mit 7,5 ml 6 %iger Perchlorsäurelösung homogenisiert. Nach Zentrifugieren (4 min, 3000 g) versetzten wir 6 ml des Überstandes mit 1,5 ml 3,2 M Dikaliumhydrogenphosphat-Lösung. Der Überstand des Kaliumperchlorat-Niederschlages wurde für die Bestimmungen eingesetzt.

Den Lactatgehalt ermittelten wir enzymatisch¹⁶ in Anlehnung an die Vorschriften von Fleiderer u. Dose¹⁷ sowie Horn u. Bruns¹⁸.

Die enzymatische Pyruvatbestimmung¹⁶ geht auf Hess¹⁹ und Thorn u. Mitarb.²⁰ zurück.

ERGEBNISSE

Alkoholentgiftungsgeschwindigkeit

Im akuten Versuch, d.h. bei einmaliger Gabe von 10 mg Hydrocortison während der Alkoholbelastung bzw. bis zu 16 Std. vorher haben wir in keinem Falle eine Änderung der Alkoholelimination feststellen können.

Dagegen war durch mehrtägige Behandlung mit dem Corticosteroid eine Steigerung der Alkoholentgiftungsgeschwindigkeit erzielbar (Tabelle 1). Nach fünftägiger Behandlungsdauer mit 2 × täglich 5 mg Hydrocortison betrug die durchschnittliche Erhöhung über 60 % und stieg nach Verdopplung der Dosis sogar auf 90 % an. Der Effekt klingt nur langsam ab, noch 6 Tage nach der letzten Hydrocortisoninjektion waren erhebliche Restwirkungen nachweisbar.

Um auszuschließen, daß die im verwendeten Präparat neben dem Hormon enthaltenen Substanzen den beobachteten Effekt hervorrufen, wurde einigen Tieren ein Gemisch von Chloramphenicol und Benzylalkohol in analogen Mengen verabreicht. Keines der Kaninchen wies nach 5tägiger Vorbehandlung eine veränderte Alkoholentgiftungsgeschwindigkeit auf.

Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Gehalt der Leber

16 Stunden nach der letzten Injektion, zu einem Zeitpunkt da die Alkoholelimination durch die 6tägige Hydrocortisonbehandlung mit Sicherheit gesteigert sein mußte, wies die Leber statistisch signifikante Veränderungen im Pyridinnucleotidgehalt bzw. in dessen Redox-Zustand auf (Tabelle 2). Der NADH-Gehalt war erheblich abgesunken und der Quotient $\text{NAD}^+ : \text{NADH}$ von 1,7 auf 2,6 angewachsen.

Lactat- und Pyruvatgehalt der Leber

Die gleiche Hydrocortisonbehandlung rief darüber hinaus eine Anhäufung der beiden Metabolite in der Leber hervor. Sowohl der Lactat- als auch der Pyruvatgehalt stiegen auf das Mehrfache. Gleichzeitig änderte sich auch das Verhältnis Lactat: Pyruvat, wenn auch nur schwach signifikant (Tabelle 3).

DISKUSSION

Fazekas^{9, 10} vermutete einen stimulierenden Einfluß einzelner Corticosteroide auf die Alkoholdehydrogenaseaktivität, die er in vitro nachweisen konnte¹². Allerdings überstieg die Erhöhung der Enzymaktivität selbst nach Einstz von 400 μg

TABELLE 1. GESCHWINDIGKEIT DER ALKOHOLENTGIFTUNG (V_e) NACH HYDROCORTISON BZW. EINEM ENTSPRECHENDEN GEMISCH AN
BEGLEITSUBSTANZEN IM VERWENDETEN ORIGINALPRÄPARAT

V_e [mg/kg/h] (individueller Mittelwert vor der Behandlung)	Art der Behandlung	V_e mg/kg/h	1. Tag		Behandlungserfolg am 3. Tag		V_e mg/kg/h	6. Tag
			$\%$ des Anfangswertes indiv.	$\%$ des nach Absetzen des Präparates V_e mg/kg/h	$\%$ des Anf.-W.			
141	Hydrocortison (Roussel) entsprechend 10 mg je Tier ver- teilt auf 2 Injektionen am Tage 5 Tage lang	259	84					
165		242	47			201	22	
207		361	74	64				
189		269	42		251	33		
152		263	73		240	58		
165	Hydrocortison (Roussel) entsprechend 20 mg je Tier verteilt auf 2 Injektionen am Tage 6 Tage lang	277	68			217	32	
147		280	90	90	233	59		
141		301	113		289	105	227	61
182	Chloramphenicol/Benzyl- alkohol entsprechend der Gabe von 15 mg Hydrocortison (R.) je Tier und Tag 5 Tage lang	184						
139		131						
157		163						

Hydrocortison auf 100 mg Frischleber nur selten 20%. Die an adrenaletomierten Tieren beobachtete Plateaubildung im Verlauf des Alkoholbutspiegels spricht nicht für eine verminderte Entgiftungsgeschwindigkeit sondern eher für eine verlangsamte Resorption oder veränderte Verteilung des subcutan injizierten Alkohols. Leider beziehen sich von Santisteban²¹ erhobene Befunde über die verminderte Alkoholverträglichkeit adrenaletomierter Mäuse nur auf die Toxizität ohne Berücksichtigung

TABELLE 2. REDOX-ZUSTAND DES NAD-SYSTEMS DER KANINCHENLEBER NACH 6TÄGIGER HYDROCORTISONBEHANDLUNG (2MAL TÄGLICH 5 mg S.C.)

	Zahl der Tiere n	NAD ⁺ -Gehalt (Frischleber) [μg/g]	NADH-Gehalt (Frischleber) [μg/g]	NAD ⁺ NADH
Kontrollgruppe (Variationsbreite)	16	452 (411–541)	255 (228–299)	1,70 (1,42–1,97)
Hydrocortisongruppe (Variationsbreite)	6	471 (427–556)	157 (133–182)	2,60 (2,19–3,09)
Irrtumswahrscheinlichkeit P		—	<0,1%	<0,1%

TABELLE 3. GEHALT DER KANINCHENLEBER AN LACTAT UND PYRUVAT NACH EINER 6TÄGIGEN BEHANDLUNG MIT HYDROCORTISON (2MAL TÄGLICH 5 mg S.C.)

	Zahl der Tiere n	MS-Gehalt (Frischleber) [μg/g]	BTS-Gehalt (Frischleber) [μg/g]	MS BTS
Kontrollgruppe (Variationsbreite)	8	110 (65–169)	9,7 (7,1–11,8)	12,6 (8,9–14,8)
Hydrocortisongruppe (Variationsbreite)	6	413 (227–446)	42,5 (29,5–52,8)	9,8 (7,7–10,9)
Irrtumswahrscheinlichkeit P		<0,1%	<0,1%	~1%

der Entgiftungsgeschwindigkeit, so daß der Effekt hier auch andere Ursachen haben kann.

Eine direkte unmittelbare Beeinflussung der Alkoholelimination durch das Hydrocortison ist nach unseren Versuchsergebnissen zu verneinen. Dagegen ruft die wiederholte Gabe in Mengen, die ungefähr dem zehnfachen der täglichen physiologischen Ausschüttung an Glucocorticoiden entsprechen, eine erhebliche Beschleunigung der Alkoholelimination hervor.

Bei unseren Arbeiten über die Wirkung von Barbituraten auf die Alkoholentgiftungsgeschwindigkeit¹³ konnten wir feststellen, daß die Enzymaktivitäten und -mengen in der Leber unbeeinflusst blieben, während sich das Coenzymverhältnis auf Kosten des NADH nach höheren Werten hin verschob. Wir sehen hierin die Ursache für die gesteigerte Alkoholentgiftung, denn der geschwindigkeitsbestimmende Schritt beim Abbau des Äthanol unter normalen Stoffwechselbedingungen ist die Dissoziation des ADH-NADH-Komplexes²². Auch eine mehrtägige Hydrocortisonbehandlung führt zu einem Zeitpunkt in dem die Alkoholelimination von Kaninchen um rund

70 % gesteigert sein muß, zu einer Verschiebung des Quotienten $\text{NAD}^+:\text{NADH}$ mit deutlicher Verminderung des NADH-Gehaltes. Darüber hinaus entspricht der Unterschied im Quotienten wie bei den Barbituratversuchen etwa der prozentualen Veränderung der Alkoholeliminationsgeschwindigkeit.

Es besteht demnach nicht nur eine Korrelation zwischen der individuellen Entgiftungsgeschwindigkeit und dem Verhältnis $\text{NAD}^+:\text{NADH}$ bei jedem Einzeltier, sondern man kann aus der durch Hexobarbital und Hydrocortison hervorgerufenen Verschiebung des Quotienten sogar die ungefähre Eliminationsbeschleunigung ablesen (Abb. 1).

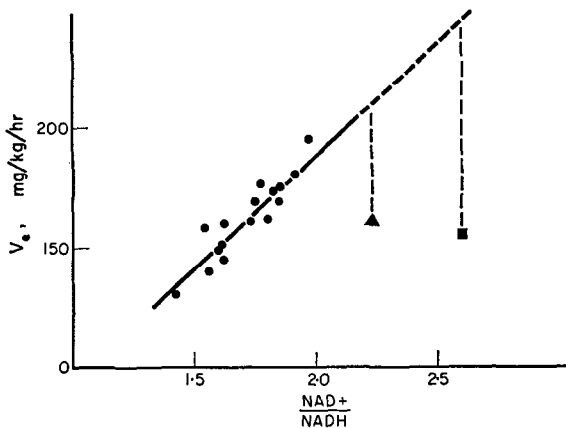


ABB. 1. Abhängigkeit der individuellen Alkoholentgiftungsgeschwindigkeit bei Kaninchen vom Verhältnis $\text{NAD}^+:\text{NADH}$ in der Leber der Tiere.

Der Punkt im Quadrat (Dreieck) stellt den Mittelwert— V_e über $\text{NAD}^+:\text{NADH}$ —der mit Hydrocortison (Hexobarbital) behandelten Tiere dar. Dabei wurde V_e vor, der Quotient aber nach der Behandlung bestimmt.

Die ermittelten Gewebsgehalte sind zwar nicht vergleichbar mit den Konzentrationen im Sinne der thermodynamischen Aktivität, doch scheint die Größe des Quotienten allgemein ein Ausdruck für das Ausmaß der Alkoholentgiftung zu sein. Verantwortlich ist aber allein der NADH-Gehalt und seine Schwankungen; denn eine Änderung des Quotienten infolge eines erhöhten NAD^+ -Gehaltes z.B. durch Applikation von Nicotinsäureamid hat keinen Einfluß auf die Alkoholoxydation¹.

Die Kompartimentierung des NAD lässt aber keine direkte Aussage über das tatsächlich im Hyaloplasma, dem die Leber-ADH enthaltenden Zellraum, vorliegende Redox-Potential zu. Es kann jedoch aus den Gehaltsbestimmungen des Lactat und Pyruvat abgeschätzt werden. Die Fließgleichgewichte der über die sogenannten großen Fermente, zu denen die LDH zählt, mit dem NAD-System gekoppelten Metabolite, kommen dem Massenwirkungsgleichgewicht sehr nahe²³, und der Quotient der Metabolitkonzentrationen des nichtmitochondrialen Zellraums stimmt mit dem Quotienten der Metabolitgehalte des Gewebes überein²⁴.

Das bei den Kontrolltieren ermittelte Verhältnis Lactat:Pyruvat entspricht den Befunden anderer Autoren²³. Die gewählten Versuchsbedingungen für die Gewebsaufbereitung haben demnach keine Alteration des normalen Status hervorgerufen. Die Behandlung der Tiere ruft eine ausgeprägte unterschiedliche Steigerung der

Lactat- und der Pyruvatgehalte hervor. Gleichzeitig tritt eine Verringerung des Quotienten ein. Das entspricht einer Positivierung des Istpotentials um rund 5 mV. Aus der damit verbundenen Erhöhung des Nucleotid-Spiegel-Quotienten²³ dürfen wir ableiten, daß unter der Behandlung im Hyaloplasma tatsächlich eine Bewegung der frei gelösten Nucleotidpartner des dehydrierenden Enzymes stattfindet, die parallel zur Veränderung der Gehaltswerte verläuft.

Der Stau beider Metabolite deutet entweder auf die inaktivierende Beeinflussung des Citratzyklus oder einen gesteigerten glykolytischen Durchsatz. Vielleicht ergeben sich aber daraus auch Beziehungen zum Fettstoffwechsel. Wir beobachteten immer eine Fetthanreicherung in der Leber. Die Beeinträchtigung der Fettsäureoxydation könnte den Alkoholstoffwechsel über eine Änderung des NADH-Gehalts^{25, 26} beeinflussen. Versuche zu dieser Frage werden wir getrennt veröffentlichen.

ZUSAMMENFASSUNG

Die mehrtägige subcutane Gabe von Hydrocortison bewirkt bei Kaninchen eine Beschleunigung des Alkoholabbaus, während eine unmittelbare sofortige Beeinflussung nicht zu beobachten ist.

Parallel dazu wird das Verhältnis $\text{NAD}^+:\text{NADH}$ in der Leber infolge eines signifikant verminderten NADH-Gehalts stark erhöht. Gleichzeitig steigt das Ist-Potential der Leberzelle, wie aus Bestimmungen des Quotienten Lactat:Pyruvat hervorgeht. Das Redox-Verhältnis des NAD Systems ist bei gleichbleibendem NAD^+ -Gehalt von ausschlaggebender Bedeutung für die Geschwindigkeit der Alkoholdehydrierung.

Es wird auf die möglichen Beziehungen des Fettstoffwechsels zum Alkoholabbau hingewiesen.

LITERATUR

1. H.-D. FISCHER, Technische Universität Dresden, Dissertation (1965).
2. M. GROSS, *Quart. J. Stud. Alcohol* **6**, 25 (1945).
3. J. J. SMITH, *N.Y. St. J. Med.* **50**, 1704 (1950).
4. A. TINTERA und H. LOVELL, *Geriatrics* **4**, 274 (1949).
5. J. J. SMITH, *Quart. J. Stud. Alcohol* **11**, 190 (1950).
6. H. BINSWANGER und H. KUNZ, *Schweiz. med. Wschr.* **81**, 338 (1951).
7. W. L. VOEGTLIN, *Quart. J. Stud. Alcohol* **14**, 28 (1953).
8. J. FELDMAN und D. ZUCKER (Ref.), *Schweiz. med. Wschr.* **84**, 730 (1954).
9. I. G. FAZEKAS, *Arch. Tox.* **18**, 205 (1960).
10. I. G. FAZEKAS, *Arch. Tox.* **19**, 205 (1961).
11. I. G. FAZEKAS, B. RENHEI und A. G. FAZEKAS, *Arch. Tox.* **19**, 229 (1961).
12. I. G. FAZEKAS, *Arch. Tox.* **19**, 388 (1961).
13. H.-D. FISCHER, *Biochem. Pharmac.* **11**, 307 (1962).
14. A. WOLLENBERGER, O. RISTAU und G. SCHOFFA, *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **270**, 399 (1960).
15. A. WOLLENBERGER, E. G. KRAUSE und B. E. WAHLER, *Naturwissenschaften* **45**, 294 (1958).
16. H. MATTENHEIMER, *Mikromethoden für das klinisch-chemische und biochemische Laboratorium*, W. de Gruyter, Berlin (1961).
17. G. PFLEIDERER und K. DOSE, *Biochem. Z.* **326**, 436 (1955).
18. H. D. HORN und H. F. BRUNS, *Biochim. biophys. Acta* **21**, 378 (1956).
19. B. HESS, *Klin. Wschr.* **33**, 540 (1955).
20. W. THORN, G. PFLEIDERER, R. A. FROWEIN und G. ROSS, *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **261**, 334 (1955).
21. G. A. SANTISTEBAN, zit. nach, G. A. SANTISTEBAN und T. F. DOGHERTY, *Endocrinology* **54**, 130 (1954).

22. H. THEORELL und R. K. BONNISCHEN, *Acta chem. scand.* **5**, 1105, (1951).
23. T. BÜCHER und M. KLINGENBERG, *Angew. Chem.* **70**, 552 (1958).
24. H. J. HOHORST, F. H. KREUTZ und T. BÜCHER, *Biochem. Z.* **332**, 18 (1959).
25. O. WIELAND und G. LÖFFLER, *Biochem. Z.* **339**, 204 (1963).
26. G. LÖFFLER, F. MATSCHINSKY und O. WIELAND, *Biochem. Z.* **342**, 76 (1965).