

pulla, *Pustularia catinus*, *Helvella succosa* und *Laccaria laccata* trat in Massen auf. Auch einige Fruchtkörper von *Amanita phalloides* waren vorhanden. Ich werde dieses relativ kleine Gebiet weiterhin beobachten.

Die Exsikkate von *M. ravenelii* (Berk. et Curt.) Ed. Fischer übergebe ich dem Botanischen Museum Berlin-Dahlem / Herrn J ü l i c h.

L i t e r a t u r :

C o k e r , W. Ch. und C o u c h , N. J.: The *Gasteromycetes* of the Eastern United States and Canada. Chapel Hill 1928.

J e n t s c h , R.: Ein Neufund von *Mutinus ravenelii* (Berk. et Curt.) E. Fischer in der Umgebung von Leipzig. Myk. Mitt. Bl. 13 (1), S. 1–5, 1969.

P i l á t , A.: *Gasteromycetes*. Flora ČSR, Band 1. Prag 1958.

U l b r i c h , E.: in Notizblatt d. Bot. Gartens u. Museums Berlin-Dahlem 15 (6), S. 820–824, 1943.

H. M i c h a e l i s , 01 Berlin 41, Südendstraße 55

Zum Wirkungsmechanismus der Gifte von *Amanita phalloides*

J ü r g e n L a n g n e r

Über Fortschritte in der Aufklärung der Art und Wirkungsweise von Pilzgiften ist in den letzten Jahren hier wiederholt berichtet worden.^{1 2} Im Zentrum des Interesses standen dabei stets die verschiedenen Giftstoffe der *Amanita*-arten, deren Erforschung besonders erfolgreich war. Im folgenden soll über einige neuere Ergebnisse auf dem Gebiet der *Amanita-phalloides*-Gifte referiert werden.

Die Gruppe der Phallotoxine ist inzwischen auf fünf Vertreter angewachsen, von denen vier in ihrer Struktur aufgeklärt werden konnten (Phalloidin, Phalloin, Phallisin und Phallacidin). Das Phallalin B scheint noch nicht ganz gesichert zu sein³. Die Gruppe der Amatoxine umfaßt jetzt wenigstens sechs Vertreter³; zwei von ihnen (δ - und ε -Amanitin) wurden zwar rein dargestellt, ihre eindeutigen Strukturformeln konnten aber noch nicht aufgestellt werden. Die Strukturformeln der 4 anderen sind bekannt (vgl. l. c. 1). Wenigstens die Namen aller Vertreter dieser Gruppe seien aufgeführt: Amanin, α -, β -, γ -, δ - und ε -Amanitin, sowie das chemisch verwandte, aber nicht toxische Amanullin. Dieses Amanitapeptid ist ein treffendes

Beispiel dafür, wie ganz kleine strukturelle Veränderungen die Giftwirkung aufheben — bzw. bewirken können. Das Amanullin hat nämlich nur eine Hydroxylgruppe weniger im Molekül als das γ -Amanitin, das mit einer LD 50 von 0,2 mg je kg weiße Maus zu den stark wirkenden Amatoxinen gehört. Solche Beobachtungen sind für den Wissenschaftler häufig die ersten Hinweise auf den molekularen Wirkungsmechanismus von Giften oder Drogen (vgl. die Erläuterung des Rezeptorbegriffes bei Pohle, l. c. 2). Seine Aufklärung, die das Ziel der Forschung darstellt, ist natürlich erst nach der Isolierung und Reindarstellung der Substanzen möglich.

So begannen auch bei den Phalloidesgiften schon Ende der 50er Jahre nach der damaligen Reindarstellung der ersten Vertreter Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus, indem man die reinen Gifte Versuchstieren zuführte und die Veränderungen der Tiere, ihrer Organe und deren Funktionen beobachtete. (Eine erste Zusammenfassung dieser Ergebnisse enthält⁴).

Wie neuere Untersuchungen zeigten, (vgl.³), wird sowohl im Tierexperiment als auch beim Menschen von beiden Giftgruppen die Leber zuerst betroffen. Schon 15 min nach Zufuhr von Phalloidin konnte man die ersten Veränderungen an Leberzellen elektronenmikroskopisch beobachten (Erweiterung der Schläuche des endoplasmatischen Retikulums), die zu den 1—2 Stunden später meßbaren biochemischen Veränderungen bestimmter Zellfunktionen (Herabsetzung der Eiweißsynthese) in Beziehung zu setzen sind. Man konnte experimentell beweisen, daß das Gift direkt und ausschließlich an diese intrazellulären Membranstrukturen gebunden wird: Man setzte künstlich radioaktiv markiertes Phalloidin einer isoliert durchströmten Leber zu und isolierte danach durch sogenannte fraktionierende Zentrifugation die endoplasmatischen Membranen. An ihnen konnte man die Radioaktivität wiederfinden. — Weitere elektronenmikroskopisch feststellbare Veränderungen der Leber nach Phalloidingabe waren Schwellungen der Mitochondrien (damit in Einklang stehen die Befunde über eine Beeinträchtigung der Energiebildung in der Leber⁴) und die Bildung von Fetttropfchen als Ausdruck einer zunehmenden Beeinträchtigung der gesamten Leberfunktion. Als wesentlich wird allerdings die Hemmung der Proteinsynthese angesehen, ohne daß man schon sagen könnte, an welcher Stelle dieses sehr komplizierten biochemischen Prozesses das Phalloidin angreift.

In diesen Untersuchungen wurde noch ein weiterer Tatbestand bemerkt: Beeinträchtigungen der Leberfunktionen fanden sich nur, wenn Phalloidin dem intakten Tier oder Organ zugeführt wurde. Diese Beobachtung führte einige Forscher zu der Hypothese, daß nicht das

zugeführte Phalloidin selbst der wirksame Giftstoff sein kann, sondern eine erst daraus in der Leber entstehende Verbindung. In dieselbe Richtung deuten Befunde, nach denen in vorher durch Tetrachlorkohlenstoff, ein bekanntes Leberzellgift, geschädigten Lebern die Giftwirkung von Phalloidin viel schwächer ist. Es gibt eine gewisse Gruppe von Enzymen in der Leber, die man als „drogenmetabolisierende“ oder „entgiftende“ Enzyme zusammenfaßt. Sie haben die Aufgabe, körpereigene und körperfremde Stoffe durch bestimmte, oft nur kleine chemische Veränderungen zu entgiften oder ausscheidungsfähig zu machen. Beim Phalloidin könnte ihre Einwirkung aber auch eine Verstärkung oder Herbeiführung der Giftigkeit bewirken. Bei neugeborenen Ratten sind diese Enzyme noch sehr wenig aktiv; die Ratten überstehen sehr hohe Phalloidindosen, ohne zu sterben. Der Beweis dafür, daß tatsächlich das Phalloidinmolekül in der angenommenen Weise modifiziert wird, konnte bisher aber nicht erbracht werden, so daß die Erklärung für die geschilderten Befunde noch als Hypothese betrachtet werden muß.

Die Giftwirkung der Amatoxine, ebenfalls zuerst die Leber betreffend, erwies sich als von der Phalloidinwirkung deutlich verschieden: sie tritt beträchtlich später auf und die benötigten Mengen sind erheblich geringer. Elektronenmikroskopische Beobachtungen nach der Giftzufuhr ließen schon 1 Stunde später den beginnenden Zerfall des Kernkörperchens in den Leberzellen erkennen, deutlich sind die Veränderungen nach 15 Stunden. Danach erst lassen sich cytoplasmatische Veränderungen an den Leberzellen, dann auch in der Niere, nachweisen.

Die italienischen Pathologen Stirpe und Fiume⁵ waren die ersten, die auch die diese morphologischen Veränderungen bewirkenden biochemischen Reaktionen untersuchten. Sie konnten zeigen, daß während der ersten 24 Stunden nach der Giftzufuhr der Ribonukleinsäuregehalt* von Mäuseleber-Zellkernen ständig abnimmt, weil das für die Ribonukleinsäuresynthese benötigte Enzym (RNS-Polymerase) gehemmt wird. Der DNS- und Proteingehalt hingegen blieb über 24 Stunden unverändert, 2—5 Tage nach Giftzufuhr starben die Mäuse an schwerer fettiger Degeneration und Nekrose der Leber und Niere. Die Aktivität des Enzyms RNS-Polymerase konnte auch gehemmt werden, wenn man Amanitin isolierten Zellkernen zusetzte; die hier-

* Die Nukleinsäuren bilden eine an den Lebensvorgängen der Vererbung und der Eiweißsynthese maßgeblich beteiligte biochemische Stoffklasse. Sie kommen in zwei Formen vor: als Desoxyribonukleinsäure (DNS) bilden sie das Erbmaterial im Kern aller Körperzellen, als Ribonukleinsäure (RNS) sind sie innerhalb und außerhalb des Zellkerns an der Eiweißsynthese beteiligt.

zu benötigten Giftkonzentrationen sind außerordentlich gering: 0,000 000 02 g/ml bewirkten bereits eine 80%ige Hemmung. Bedenkt man, daß die RNS-Synthese eine Voraussetzung für die Eiweißsynthese ist und daß durch diesen Prozeß die weiteren Enzyme, die „Werkzeuge“ des gesamten Stoffwechsels, gebildet werden, so kann man sich gut vorstellen, daß die spezifische Hemmung des einen Enzyms RNS-Polymerase durch Amanitin wesentlich für die Vergiftungserscheinungen beim Menschen mit verantwortlich ist.

In der schon zitierten Übersicht von Wieland (vgl. l. c. 3) findet sich der Satz: „Sowohl für Phalloidin, als auch für die Amanitine hat man bis jetzt keinen Einblick in den Wirkungsmechanismus auf molekularer Basis erlangt“. Wie wir sahen, ist die Wissenschaft hier bezüglich der Amanitine inzwischen ein Stück weitergekommen; sinngemäß fährt Wieland dann fort, „man kann erwarten, daß die Vertiefung unserer Kenntnisse auf diesem Gebiet auch von allgemeinerem Interesse für die Zellphysiologie sein könnte“. Diese Aussage hat sich voll bestätigt: die Amanitine sind auf dem besten Wege, ein wichtiges biochemisches Hilfsmittel bei Untersuchungen über die Proteinbiosynthese bei Tieren zu werden. Im letzten Teil dieser Übersicht soll deshalb — vielleicht mehr nur für den an Einzelheiten näher interessierten Leser — hierüber noch einiges gesagt werden.

Aus methodischen Gründen (leichte Züchtbarkeit und Aufbereitungsmöglichkeit, geringere Kompliziertheit der beteiligten Strukturen) sind die grundlegenden Untersuchungen über den Mechanismus der Eiweißsynthese in Lebewesen mit Mikroorganismen durchgeführt worden. Die Aufklärung dieser Vorgänge, ein Glanzpunkt der heutigen Biochemie, verwendete an vielen Stellen zur Untersuchung von Teilreaktionen auch ihre Beeinflussung durch Hemmstoffe. Einige Antibiotika erwiesen sich als Hemmstoffe der Proteinsynthese, d. h. ihre bakterientötende oder -hemmende Wirkung wird durch eine Hemmung der Proteinsynthese in den Bakterien verursacht. Die oben genannte RNS-Polymerase gehört zu einer Gruppe von Enzymen, die in dem komplizierten Prozeß der Eiweißsynthese sowohl bei Bakterien als auch bei höherentwickelten Organismen eine sehr wichtige Rolle spielt, und man hatte bald in dem Antibiotikum Rifamycin eine Verbindung gefunden, die das in Bakterien vorkommende Enzym, nicht aber die RNS-Polymerasen von Säugetieren hemmt. Zur Aufklärung bestimmter Teilschritte der Eiweißsynthese, die im Zellkern stattfinden, war man aber sehr daran interessiert, auch für die Säugetier-RNS-Polymerase einen geeigneten spezifischen Hemmstoff zu finden.

Die Befunde von Fiume und Stirpe veranlaßten deshalb 1969/70 die Arbeitsgruppe um Sekeris in Marburg, den Einfluß des

Amanitins auf eine von ihnen aus Rattenleberzellkernen isolierte RNS-Polymerase genauer zu untersuchen⁶. Sie konnte die Ergebnisse der italienischen Forscher bestätigen und erweitern, indem sie nachwies, daß es durch die Verbindung eines Moleküls Enzym mit einem Molekül Amanitin zur Inaktivierung des Enzyms kommt und daß der entstehende Enzym-Amanitin-Komplex sehr beständig ist. Weitere Versuchsergebnisse mit aus Kalbsthymus gewonnener RNS-Polymerase deuten darauf hin, daß nur eine bestimmte Form des Enzyms (die außerhalb des Nukleolus befindliche Polymerase) von Amanitin gehemmt wird⁸. Bisher wurden α - und γ -Amanitin auf ihre RNS-Polymerase-Hemmwirkung untersucht; sie wirken beide gleichartig^{6,8}.

Damit erwies sich das Amanitin als der erste spezifische Hemmstoff für RNS-Polymerasen in Säugetieren, ähnlich dem Rifamycin für das Bakterienenzym. Es deuten sich auch schon Modellvorstellungen an, die erklären könnten, warum die Bakterien-RNS-Polymerasen nicht durch Amanitin hemmbar sind. Sie bestehen nämlich aus 3 Untereinheiten, die Säugetier-RNS-Polymerasen hingegen aus 4, wobei die vierte eine besonders hochmolekulare Komponente darstellt. Diese trägt offenbar den Amanitin-Bindungsort⁹. Inzwischen ist auch schon eine Arbeit erschienen, in der durch Einsatz des Amanitins eine ganz bestimmte, bisher nicht eindeutig klärbare Frage gelöst werden konnte¹⁰. Bestimmte Hormone der Nebenniere können in der Leber die Synthese spezifischer Enzyme (z. B. Tyrosin aminotransferase) steigern. Bisher war nicht klar, ob an dieser Hormonwirkung eine RNS-Synthese beteiligt oder gar Voraussetzung ist. Da in Tieren nach vorheriger Amanitinapplikation die Steigerung der Enzymsynthese durch Nebennierenhormongabe nicht mehr beobachtet werden konnte, kann diese Frage nun eindeutig bejaht werden. Die Biochemiker und Zellphysiologen haben also bereits von der Aufklärung des molekularen Mechanismus der Amanitinwirkung profitieren können.

Ob die RNS-Polymerase der einzige Angriffsort der Amanitine in der Leber ist, muß noch abgewartet werden, jedenfalls aber ist die Hemmung dieses Enzyms so folgenschwer, daß man die fatalen Konsequenzen der Knollenblätterpilzvergiftung schon aus dieser einen Giftwirkung verstehen könnte. Auch die beobachteten Nierenschädigungen könnten auf diese Enzymhemmung zurückzuführen sein. Da auch das Phalloidin die Eiweißsynthese beeinträchtigt, wenn auch mit anderem Angriffsort als die Amanitine, würde seine Giftwirkung die der Amanitine sicher verstärken.

Ein besseres Verständnis der Wirkungen eines Giftes hat schon oft zu besseren Heilungsmöglichkeiten geführt. Vielleicht bietet sich auch hier diese Aussicht in absehbarer Zeit.

Literatur:

1. W. Herrmann: Myk. Mitt. Bl. 11, S. 19 und 41, 1967.
2. W. Pohle: Myk. Mitt. Bl. 14, S. 23, 1970.
3. Th. Wieland: Science 159, S. 946–952, 1968.
4. Th. Wieland and O. Wieland: Pharmacol. Review 11, S. 87, 1959
5. F. Stirpe and L. Fiume: Biochem. J. 105, S. 779, 1967.
6. K. H. Seifart, C. E. Sekeris: Z. Naturforsch. 24 b, S. 1538, 1969.
7. C. Kedinger, M. Gniazdowski J. L. Mandel jr., F. Gisinger, P. Chambon: Biophys. Biochem. Res. Comm. 38, S. 165, 1970.
8. M. Meihlac, C. Kedinger, P. Chambon, H. Faulstich, M. A. Govindau, Th. Wieland: Febs Letters 9, S. 258, 1970.
9. C. J. Chesterton, P. H. W. Butterworth: Febs Letters 12, S. 301, 1971.
10. C. Sekeris et al.: Febs Letters 9, S. 103–104, 1970.

Dr. J. Langner, Physiologisch-chemisches
Institut der Martin-Luther-Universität, 402 Halle/S.

Exkursionstagung vom 9.—13. September 1970 in Martinfeld (Eichsfeld)

Heinrich Dörfelt

Die Arbeitsgruppe Mykologie (Sektion Mikrobiologie) der Biologischen Gesellschaft der DDR kam im Spätsommer 1970 in Martinfeld gerade rechtzeitig, um reichlich Pilze ernten zu können. Die organisatorischen Dinge lagen in den bewährten Händen von Dr. Peter Hübisch, wodurch ein reibungsloser Ablauf garantiert war. Exkursionen führten die nahezu 20 Teilnehmer während der ersten beiden Tage in die nähere Umgebung von Martinfeld, am dritten Tag in das Pferdebachtal bei Flinsberg. Meist wurden die Pilze in Buchenwäldern über Kalkgesteinen gesammelt, aber auch die Fichtenforste, Gebüsche, Weiden und Wiesen blieben nicht unbeachtet. Zur Bestimmungsarbeit standen mehrere Mikroskope und sehr viel einschlägige Fachliteratur zur Verfügung. Jeder war bemüht, die große Fülle des angefallenen Materiales zu bewältigen. Ohne den selbstlosen Einsatz von Prof. H. H. Handke und von F. Gröger, die einen Mammutanteil der Arbeit bewältigten, wäre sicher die Ausbeute viel geringer gewesen. Besonders zu erwähnen ist auch die Arbeit von Dr. G. Arnold, der kleine Ascomyceten, z. B. der Ordnung *Sphaeriales*,

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mykologisches Mitteilungsblatt](#)

Jahr/Year: 1972

Band/Volume: [16](#)

Autor(en)/Author(s): Langner Jürgen

Artikel/Article: [Zum Wirkungsmechanismus der Gifte von Amanita phalloides 5-10](#)