

Zur Physiologie der Glykogenbildung.

Von

Dr. Oscar Simon, Badearzt in Carlsbad.

(Aus dem tierphysiologischen Institute der kgl. landwirthschaftlichen Hochschule in Berlin, Vorstand Prof. N. Zuntz.)

(Der Redaction zugegangen am 9. April 1902.)

Die reichen Kenntnisse, welche durch die Arbeiten der Kossel'schen und Hofmeister'schen Schule, durch Friedrich Müller und Emil Fischer über die Chemie der Eiweisskörper gewonnen wurden, zeitigten neuerdings in der physiologischen Forschung reichliche Untersuchungen des Gegenstandes, ob sich die bis in ihre letzten Bausteine verschieden erscheinenden Körper auch nach der Einführung in den Organismus different verhalten. Insbesondere die Frage nach der Potenz der Zuckerbildung der Glykoproteide und des Eieralbumins, jener Körper, in deren Molekül F. Müller¹⁾ und sein Schüler Seemann Chitosamin nachwies, gegenüber den anderen Proteinsubstanzen, wie Casein und Leim, welche, mit Mineralsäure gekocht, keine reducirende Substanz abspalten, steht gegenwärtig noch in lebhafter Discussion.

Schöndorff²⁾ betont neuerdings wieder, dass nur Körper, welche einen nachweisbaren Kohlenhydratpaarling enthalten, auch echte Glykogenbildner wären, die anderen nicht. Dieser Angabe stehen die Versuche von Bendix³⁾ gegenüber, der nach Caseinfütterung beim Hunde recht erheblichen Glykogenansatz constatirte, und Versuche am höheren Wirbelthiere bei den Gattungen Benedix dürften für diese Frage auch mehr

1) Deutsche medic. Wochenschrift 1899, Nr. 13.

2) Pflüger's Archiv, Bd. 88.

3) Diese Zeitschrift Bd. XXXII.

ins Gewicht fallen, als Schöndorff's Versuche am Frosch. Auch ist wohl kaum anzunehmen, dass einem so äusserlichen Merkmal, wie die Fähigkeit, mit kochender Mineralsäure Chitosamin zu liefern, darstellt, eine principielle Dignität in der Physiologie zukommt, da der abgespaltene Complex für sich nicht im Stande ist, dem Organismus Glykogen zu liefern.¹⁾ Dass man überhaupt in der Deutung der künstlichen Spaltungsprodukte als präformirte Gruppen im Molekül sehr vorsichtig sein muss, hat erst jüngst O. Löw²⁾ in lichtvoller Weise erörtert. Ein besonderes Relief für die in Rede stehende Frage erhalten seine Ausführungen in einer Untersuchung von Langstein.³⁾ Derselbe erhielt nach der Aufschliessung von krystallisirtem Serumalbumin durch Alkali einen Körper, der mit 5% H_2SO_4 gekocht Chitosamin liefert, mit 1% HCl ein Produkt entstehen lässt, welches nach dem positiven Ausfall der Furfurolreactionen zu schliessen wohl einen Kohlenhydratcomplex enthält, aber nicht reducirt, kein Chitosamin und keine Pentose ist. Also aus demselben Ausgangsmaterial sehen wir bei nur wenig verschiedener Behandlung grundverschiedene Gruppen auftreten. Die Furfurolreaction mit HCl gibt auch das Casein in schönster Weise, enthält also nach der Deutung, die Hofmeister dem positiven Ausfall dieser Reaction gibt, einen Kohlenhydratcomplex.

Allerdings gelten wohl für diesen und den von Langstein in Serumalbumin, von E. Pick im Fibrin gefundenen Kohlenhydratcomplex in gleicher Weise die Ausführungen F. Müller's⁴⁾ über das Chitosamin, dass nämlich die grossen Zuckermengen, welche der schwere Diabetiker und das Phlorhizinthier aus ihrem Eiweissbestande liefern, auch bei günstigster Verwerthung unmöglich durch die Kohlenhydratgruppen im Proteinmolekül gedeckt werden können. Dasselbe gilt auch von der Nucleinsäure. Kossel und Neumann⁵⁾ er-

1) Fabian, Diese Zeitschrift, Bd. XXVII.

2) Beiträge zur chemischen Physiologie, Bd. 1.

3) Beiträge zur chemischen Phys., Bd. 1.

4) Zeitschrift für Biologie, Bd. 42.

5) Diese Zeitschrift, Bd. XXII.

hielten nach der Behandlung der Thymusnucleinsäure mit Schwefelsäure Lävulinsäure, welche nach Tollens nur aus Hexosen gebildet werden kann. Noll¹⁾ gewann auf dieselbe Weise Lävulinsäure aus der Spermatozoen-Nucleinsäure vom Stör (Steudel).²⁾ Es scheinen demnach manche Nucleinsäuren Hexosen zu enthalten, die aber bei der unbedeutenden Menge, in der sie im Körper auftreten, für die Frage der Zuckerbildung im Organismus belanglos sind. Es müssen deshalb für die Zuckerbildung im Thierkörper noch andere Quellen herangezogen werden. Friedrich Müller³⁾ sprach die Vermuthung aus, dass dieselben in den Hexonbasen zu suchen wären, resp. dem Leucin, als der in grösster Menge bei der Eiweisspaltung auftretenden Aminosäure, die nach der Aehnlichkeit ihrer elementaren Zusammensetzung mit dem Traubenzucker im Organismus leicht zu diesem umgeprägt werden könnte. Die Desamidirung ist im Organismus ein gewöhnlicher Vorgang, und Jacoby⁴⁾ gelang es, in der Leberzelle das Ferment nachzuweisen, welches im Stande ist, fest gebundenen Stickstoff in locker gebundenen zu verwandeln. Dem Einwande, dass es sich beim Leucin um eine gespaltene Kette handle, begegnet F. Müller⁵⁾ mit dem Hinweise, wie leicht Traubenzucker beim Stehen mit Kalkhydrat in Tetraoxycapronsäure übergeht, die eine verzweigte Kette besitzt. Es erscheint also nicht gezwungen, dem Organismus die Fähigkeit einer umgekehrten Wirkung, aus einer verzweigten eine einfache Kette zu bilden, zuzuschreiben. Eine gewisse Stütze fand die Theorie F. Müller's in einer Untersuchung von R. Cohn,⁶⁾ welcher nach Verfütterung von Leucin Glykogenbildung in der Leber constatirte. Ein überzeugendes Resultat geht aber aus Cohn's Untersuchung nicht hervor. Seine Versuche sind an vier Kaninchen angestellt worden; ein fünftes

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXV.

2) Steudel, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV.

3) L. c.

4) Diese Zeitschrift, Bd. XXX.

5) Zeitschr. f. Biologie, Bd. 42, S. 549.

6) Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII.

ging im Beginne des Versuches ein. Von diesen vier Versuchsthieren zeigte eines keine Glykogenbildung; in einem Versuch fehlt das Kontrollthier: ein drittes zeigte nur geringen Glykogenansatz; nur ein Thier zeigte in der Leber grössere Glykogenanhäufung.

Cohn operirte an durch Hungern glykogenarm gemachten Thieren: untersuchte nur die Leber. Folgerungen aus der Untersuchung eines Organes über ein quantitatives Verhalten eines im Gesamtorganismus wandernden Stoffes, wie ihn das Glykogen darstellt, sind keineswegs zwingend. Auch können Kontrollthiere bei ihrer individuellen Verschiedenheit nie beweisen, wie viel Restglykogen im Versuchsthier vorhanden war. So zeigen Cohn's Kontrollthiere unter einander recht grosse Differenzen im Glykogengehalt. Da mir in Ansehung dieser Bedenken die Annahme einer Glykogenbildung aus Leucin durch 2 positive Versuche um so weniger gestützt erschien, als in der Reihe ein negativer ist, hielt ich es bei der Wichtigkeit der Frage geboten, die Versuche unter Vermeidung der angeführten Fehlerquellen zu wiederholen. Külz¹⁾ hat gezeigt, dass wir im Strychnin ein Mittel haben, welches geeignet ist, Kaninchen vollständig glykogenfrei zu machen, eine Methode, deren sich auch Frenzel²⁾ mit Erfolg bei seinen Untersuchungen über Pentosenverwerthung im Organismus bediente. Dieser Autor zeigte auch, dass nach der Strychnisirung die Leber im Stande ist, aus zugeführtem Traubenzucker Glykogen zu bilden. Da auch Bendix³⁾ nach anhaltender Arbeit Thiere glykogenfrei werden sah, nahm ich auf Anregung des Herrn Prof. Zuntz die Strychninversuche Frenzel's wieder auf, in der Annahme, dass die durch Strychnin bedingten Krämpfe einer andauernden Arbeit in Analogie zu setzen sind. Versuche am Frosch brach ich ab, als ein Thier auch nach stundenlangem Tetanus noch reichlichen Glykogengehalt zeigte, eine Beobachtung, die ich nachher auch bei Langendorff⁴⁾

1) Marburg 1891.

2) Pflüger's Archiv, Bd. 56.

3) L. c.

4) Archiv für Anatomie und Physiologie, Bd. 21.

angegeben fand. Zum Versuche wurden Kaninchen zwei Tage lang mit Milch gefüttert, um den Magendarminhalt zu verkleinern, um so einer nachherigen Resorption von Kohlenhydraten zu begegnen und gleichzeitig für das schwerlösliche Leucin günstigere Resorptionsverhältnisse zu schaffen; einen Tag hungerten dann die Thiere. Zur Strychnisirung diente mir eine 0,01%ige Lösung von salpetersaurem Strychnin. In einviertelstündigen Pausen wurde ein Cubikcentimeter injicirt, bis spontane Krämpfe auftraten, nach Ablauf derselben wurden neue Convulsionen durch Zerren der Thiere an der Pfote ausgelöst: beim schwächeren Auftreten derselben neuerdings injicirt, und dieses Verfahren auf 3 Stunden ausgedehnt.

Die Thiere erwiesen sich individuell nicht nur dem Gewichte nach verschieden in der Giftempfänglichkeit. Als Verfütterungsmaterial diente mir im ersten und zweiten Versuche ein Leucin, welches vor vielen Jahren von Kahlbaum bezogen und durch Pankreasverdauung gewonnen war. Ausgangsmaterial kann ich nicht angeben. Das Präparat wurde in heissem Wasser gelöst, durch Fällung mit neutralem und basischem Bleiacetat, Einleiten von Schwefelwasserstoff zur Entfernung des überschüssigen Bleies, wiederholtes Umkrystallisiren in Wasser und ammoniakalischem Alkohol gereinigt. Es resultirte ein graues Pulver, welches, in Wasser gelöst, dasselbe gelblich färbte, nicht reducirte und keine Millon'sche Reaction gab.

Für die anderen Versuche stellte ich mir in Rücksicht des hohen Preises Leucin nach dem Vorgang R. Cohns' ¹⁾ aus Plasmon dar:

500 g Plasmon wurden mit 1500 g rauchender Salzsäure 6 Stunden am Rückflusskühler gekocht, eingedampft.

Der Syrup in 10 l. Wasser aufgenommen, abermals eingedampft, und dieser Vorgang sechsmal wiederholt. Auf diese Weise wurde die grösste Menge der freien HCl verjagt. Der Syrup in 10 l. Wasser aufgenommen, mit Bleiacetat wie oben behandelt. Durch fractionirte Krystallisation und Reinigung in Wasser, ammoniakalischem Alkohol, erhielt ein nur wenig gefärbt erscheinendes Pulver, das keine Millon'sche

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXII.

Reaction gab, also tyrosinfrei war. Auf diese Weise wurden 70 g gewonnen.

Zur Bestimmung des Glykogens hielt ich mich genau an die Vorschrift Pflüger's¹⁾ über die Handhabung der Brücke-Külz'schen Methode. In zwei Vorversuchen zeigten die Kaninchen keine Spur von Glykogen in Leber und Muskel, nachdem dieselben 16 Stunden nach der Strychninisierung getötet worden waren. Drei Thiere gingen im Versuche ein, mehrere konnten nur durch künstliche Athmung am Leben erhalten werden.

Versuch I.

30. I. Ein Kaninchen von 1250 g erhält um 1 h 30 0,0004 g Strychnin; im Ganzen 0,0008 g. Wird am 31./I. 11 h 30 getötet; Leber wiegt 52 g. Körperhälften: A = 390 g, B = 322 g.

Leberglykogen 0. Muskelglykogen 0.

Versuch Ib.

30. I. Ein Kaninchen von 1220 g erhält im Ganzen 0,0009 Strychnin. 1 h 30 Beginn des Versuches.

31. I. Das Thier erhält um 1 h 45 16 g Leucin durch die Schlundsonde eingegossen; die Lösung schwach, alkalisirt durch Na_2CO_3 .

1. II. 9 h getötet. Leber wiegt 51 g. Körperhälfte: A = 377 g, B = 372 g.

Glykogen in Leber und Muskel = 0.

Versuch II:

A. Kaninchen 2109 g erhält am 8./II. 1 h 0,0007 g Strychnin. 9. II. 9 h früh getötet. Leber = 62 g. Körperhälfte: A = 535 g, B = 567 g.

Glykogen in Leber und Muskel = 0.

B. Kaninchen 2240 g erhält am 8. II. 1 h 0,0008 g Strychnin. 9. II. 2 h 18 g Leucin in 120 ccm. Wasser. Leber = 66 g. Körperhälfte: A = 605 g, B = 525 g. 10./II. um 10 h Vormittags getötet.

Glykogen 0. Glykogen 0.

Versuch III.

A. Kaninchen 2270 g erhält am 17./II. 0,0007 g Strychnin. 18. II. getötet. Leber = 71 g. Körperhälfte: A 695 g, B 714 g.

Leberglykogen 0. Glykogen 0.

B. Kaninchen 2280 g erhält am 21./II. 0,0008 g Strychnin. 22. II. 1 h 45 16 g Leucin in 80 ccm. Wasser. 23. II. 10 h Vormittags getötet. Leber = 73 g. Körperhälfte: A = 595 g, B vergessen.

Leberglykogen 0. Körperglykogen 0.

¹⁾ Sein Archiv, Bd. 71.

Versuch IV.

Kaninchen 2207 g erhält am 25./II. 0,0006 g Strychnin. Am 26./II. 2^h Nachmittags 15 g Leucin. Am 27. II. um 10^h 15 getödtet. Leber = 69 g. Körperhälfte: A = 622 g, B = 615 g.

Leber und Muskel vollständig glykogenfrei.

In drei weiteren Fällen gingen die Thiere unmittelbar nach der Eingiessung ein; in einem von diesem war die Flüssigkeit in der Lunge nachzuweisen, in den anderen nicht; in den mitgetheilten Versuchen wurde das Leucin gut vertragen; stets wurde der Darminhalt in Wasser aufgenommen; gekocht; filtrirt; der Vorgang mehrmals wiederholt; eingedampft; nur Spuren von Leucin waren der Resorption entgangen. In meinen Versuchen war offenbar wegen der geringen Flüssigkeitsmenge, die ich anwandte, die Resorption eine bessere als bei Cohn's Thieren. Das Leucin war in heissem Wasser gelöst, unter Zusatz von Na_2CO_3 schwach alkalisch gemacht, fiel aber bei Körpertemperatur stets theilweise wieder aus. Im Versuch III waren in der Schlundsonde 0,75 g geblieben, in den anderen nur unwägbare Massen.

Wenn wir die aus unseren Versuchen gewonnenen Resultate betrachten, so zeigt sich, dass, entgegen den Angaben Cohn's, weder aus dem durch Pankreasverdauung (Versuch I, zur Hälfte Versuch II), noch aus dem durch Säurespaltung aus Casein gewonnenen Leucin im Thierkörper Glykogenbildung stattfindet. Dieses Resultat erscheint im hohen Grade befremdlich, da ich im Leucin zum Mindesten einen indirekten Glykogenbildner im Sinne Cremer's vermuthete, als welcher sich zum Beispiel nach Nebelthau's klassischen Untersuchungen Asparaginsäure und kohlen-saures Ammoniak erwiesen.

Aus meinen Versuchen geht aber zur Evidenz hervor, dass Leucin weder direkter noch indirekter Glykogenbildner ist. Es ist nun zu bedenken, ob damit auch die Leucinthorie des Eiweisszuckers beim schweren Diabetes und beim Phlorhizinthier erschüttert wird. Auf Grund folgender Ueberlegung erscheint es mir doch gewagt, einen solchen Schluss zu ziehen.

Wir dürfen heute kaum mehr vom Leucin, als vielmehr

von Leucinen reden, da es eine grosse Anzahl Isomeren der Aminocapronsäure gibt. So entsteht nach R. Cohn¹⁾ selbst bei der Pankreasverdauung ein Gemenge mehrerer Leucine. Wie sehr sich aber gerade stereoisomere Körper physiologisch verschieden verhalten, haben uns die Untersuchungen Emil Fischer's an den methylieren Hexosen in ihrem Verhalten zur Gährung gelehrt. Das Erepsin Cohnheim's, die autolytischen Fermente, die Jacoby,²⁾ F. Müller und ich³⁾ fanden, mögen ganz andere Leucine liefern, als die secernirten Fermente und siedende Mineralsäuren. Welcher Art das vielleicht beim physiologischen Eiweissabbau als intermediäres Stoffwechselprodukt auftretende Leucin ist, und nur dieses käme als Zuckerquelle in Betracht, entzieht sich vorläufig jeder Kenntniss. L. Schwarz hat gezeigt, dass Eiweisskörper nach Behandlung mit Formaldehyd gegen Pepsin resistent bleiben, vom Trypsin auch weiter angreifbar sind. Das Eiweissmolekül hat demnach verschiedene Schlösser, von denen aus es eröffnet, aufgeschlossen werden kann; das eine Schloss kann verlegt, ein anderes eröffnet werden. So fand ich mit Zerner⁴⁾ im Dünndarm oft das Trypsin unwirksam bei einer Reaction, bei welcher Diastase am günstigsten wirkte und umgekehrt. Es können wohl auch die Aufschliessungsprodukte je nach der Natur des öffnenden Schlüssels verschieden sein.

Kutscher und Seemann⁵⁾ fanden neuerdings, dass Leucin aus dem Darmcanal resorbirt, jenseits der Darmwand verschwindet. Es kommt also gar nicht als solches in die Leber: es ist entweder zu Eiweiss aufgebaut, oder noch weiter gespalten worden. O. Wiener⁶⁾ zeigte, dass verfüttertes Leucin zum Mindesten theilweise in Glycocoll übergeht. Zieht man aber von den sechs Kohlenstoffen des Leucins zwei ab, so ist eine direkte Umprägung zu Glykogen schon nicht mehr

1) Diese Zeitschrift, Bd. XX.

2) l. c.

3) Archiv für klinische Medicin, Bd. 70.

4) Archiv für Verdauungskrankheiten, 1892.

5) Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV.

6) Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. 40.

zu erwarten. Auf dem Wege der Verfütterung ist die Frage der Zuckerbildung aus Leucin auch aus folgender Ueberlegung nicht zu entscheiden.

Nebelthau¹⁾ und später Frenzel²⁾ zeigten am hungernen Thier, Zuntz³⁾ und Lehmann an den Hungerern Cetti und Breithaupt, dass der Körper aus seinem eigenen Bestande Glykogen liefert. Nebelthau fand neuerdings, wie sein Schüler Lehmann⁴⁾ mittheilt, dass Acetamid die Zuckerausscheidung beim Pankreasdiabetes in die Höhe treibt, eine Erscheinung, die nur als mittelbare Zuckerbildung aufzufassen ist. Wir hätten dann im Glykogen respective Zucker nicht nur ein Produkt der Assimilation zu sehen, vielmehr auch ein intermediäres Stoffwechselprodukt des Eiweisszerfalles, welches in Nebelthau's und Zuntz's Versuchen durch Ruhe vor Weiterverbrennung geschützt wurde. Geht auch beim Zerfall des Eiweisses in den Geweben ein Theil über die Glykogenstufe, so ist möglich, dass dieser Theil unter Umständen auch wachsen kann, wie im Diabetes, so in der Phlorhizinvergiftung, bei welcher, wie Zuntz so schön gezeigt hat, die Niere wie eine Saugpumpe Kohlenhydrat an sich reisst und auf diese Weise auch Eiweiss zum Zerfall, Proteinmoleküle zum Einsturz bringt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, auch an dieser Stelle Herrn Professor Zuntz für das Interesse, das er meinen Untersuchungen entgegengebracht hat, meinen besten Dank zu sagen.

1) Zeitschrift für Biologie, Bd. 10.

2) Pflüger's Archiv, Bd. 56.

3) Virchow's Archiv, Bd. 131, Supplement.

4) Lehmann. Inaugural-Dissertation. Halle, 1902.