

Beiträge zur Physiologie des Blutzuckers.

III. Mitteilung.

Zur Frage der «Restreduktion» des Blutes nach der Vergärung.

Von

E. Frank und A. Bretschneider.

(Aus der inneren Abteilung des städtischen Krankenhauses zu Wiesbaden.)
(Der Redaktion zugegangen am 7. Februar 1911.)

Schon derjenige, welcher den Traubenzucker als einen von der Art der Nahrung völlig unabhängigen Bestandteil des Blutes erkannt und sich über seine Quantität zuerst orientiert hat, Claude Bernard, hat die Frage aufgeworfen, ob der Traubenzucker die einzige Substanz des eiweißfreien Blutes sei, die Metalloxyde reduziere. Er hat sich dafür entschieden, daß das Blut nach Stehen mit Hefe seine Reduktionsfähigkeit vollständig verliere. Dem ist in der Folgezeit öfters widersprochen worden. In neuerer Zeit glaubte Otto¹⁾ den Beweis erbracht zu haben, daß nach der Vergärung des enteweißten Blutes sich noch nennenswerte Mengen reduzierender Substanz nachweisen lassen. Schenk²⁾ zweifelt seine Ergebnisse an, mit der Begründung, daß die angewendete Enteweißungsmethode (Alkoholfällung) keine Gewähr für Eiweißfreiheit des Filtrates biete, daß aber schon geringe Eiweißmengen bei der von Otto benutzten Titration nach Knapp Reduktionen vortäuschen könnten. Er selbst erwähnt Versuche von Gürber, die bei Anwendung der gleichen Titrationmethode auf das mit Sublimat und Salzsäure sicher vollständig enteweißte Blut jede Restreduktion hätten vermissen lassen.

Dazu stimmen nun wieder die neuerdings von Schülern Bangs mit dessen Kupfermethode ausgeführten Untersuchungen

¹⁾ Pflügers Archiv, Bd. XXXV.

²⁾ Pflügers Archiv, Bd. LVII.

nicht: Andersson¹⁾ findet im Gesamtblute des Kaninchens nach der Vergärung eine Reduktion, die 0,03% Traubenzucker entspricht; bei Hyperglykämie nach Aderlaß kann der unvergärbare Anteil auf 0,12% steigen. Lyttkens und Sandgren²⁾ haben, gleichfalls beim Kaninchen, in sechs Fällen Blutkörperchen und Plasma gesondert untersucht: sie kommen zu dem Resultat, daß im Serum ein Teil, in den Blutkörperchen aber die gesamte reduzierende Substanz der Vergärung widersteht.

Da es sich sowohl bei der von Gürber als auch bei der von den dänischen Autoren geübten Methodik um zwei an sich exakte Verfahren handelt, liegt der Gedanke nahe, daß die Differenzen methodisch begründet sind, d. h. daß die Quecksilbermethode gewisse reduzierende Substanzen nicht anzeigt, welche nach Bang mitbestimmt werden. Schon Hollinger³⁾ und Embden⁴⁾ haben darauf hingewiesen, daß die mit der Knappschen Methode ermittelten Blutzuckerwerte niedriger sind als die mit einer Kupfermethode (der jodometrischen Lehmanns) gewonnenen. Was nun die Kupfermethoden anbetrifft, so sind auch diese nicht als gleichartig zu betrachten. Es gibt offenbar Substanzen, welche die Fehlingsche Lösung reduzieren, ohne daß es zu einem Ausfallen von Kupferoxydul kommt. Befinden sich solche Stoffe neben Traubenzucker in einer Lösung, so muß es naturgemäß einen Unterschied machen, ob man bei der quantitativen Bestimmung von dem gerade verbrauchten Kupfersulfat ausgeht (wie das alte Verfahren nach Fehling oder die Methode von Bang) oder ob man mit dem Kupferoxydulniederschlag arbeitet (wie Pflüger-Allihn oder Bertrand). Kreatinin, Harnsäure, Urochrom entgehen in verdünnten Lösungen, z. B. in den Konzentrationen, in welchen sie im Harne vorkommen, wie Funk⁵⁾ gezeigt hat, vollständig der Bestimmung nach Bertrand, während sie, wie Bang nachwies, nach seiner

¹⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. XII.

²⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. XXVI.

³⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. XVII.

⁴⁾ Kongreß für innere Medizin 1910: Diskussionsbemerkungen zum Vortrag XXIX.

⁵⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LXIX.

Methode Reduktionszahlen liefern. Die Reduktion des normalen Harnes beträgt nach Funk bei Anwendung der Bertrandschen Methode 0,002—0,042% (als Glukose berechnet), während Lavesson¹⁾ nach Bang Werte zwischen 0,11 und 0,437 findet.

Da die Methode Bertrands erheblich weniger reduzierende Substanz anzeigt als die Bangs, erschien es uns interessant, die Reduktionskraft des vergorenen Blutes nach Bertrand zu untersuchen. Wir hofften auf diese Weise unsere Vermutung, daß der Streit um die Existenz einer Restreduktion aus der Verschiedenheit der angewandten Methode seine Nahrung zieht, verifizieren zu können.

Unsere Untersuchungen erstrecken sich auf eine Anzahl gesunder Menschen, einige Diabetiker sowie auf Hunde und Kaninchen, die durch Adrenalininjektionen oder durch einen Aderlaß hyperglykämisch geworden waren. In der Mehrzahl der Fälle wurden die Bestimmungen im Serum ausgeführt, doch haben wir auch über das Verhalten des Gesamtblutes genügend Erfahrungen gesammelt.

Wir geben zunächst unsere Resultate in Tabellenform:

Vorbemerkungen.

Für die Gärversuche im Serum wurden 10 ccm mit 20 ccm kolloidalen Eisenhydroxydes in einem Gesamtvolumen von 100 ccm Flüssigkeit enteiweißt; das gesamte Filtrat wurde, durch einen Tropfen einer 10%igen Weinsäurelösung ganz schwach sauer, mit 1—2 g frischer, jedesmal durch Versuche mit reiner Traubenzuckerlösung kontrollierter Hefe angesetzt und 24 Stunden bei 34° C. belassen. Durch 1 ccm Eisenhydroxyd wurde die Lösung von der Hefe befreit und mit 50 ccm die Bestimmung nach Bertrand ausgeführt. Was das Gesamtblut anlangt, so haben wir in zwei Fällen sehr hyperglykämischen Blutes nur 5 ccm zur Untersuchung verwendet (Tabelle II, Nr. 2 u. 3), in den anderen Fällen wurden 10 ccm Gesamtblut mit 40 ccm Eisenhydroxyd in 200 bis 250 ccm Flüssigkeit enteiweißt, das gesamte Filtrat (etwa 60—75% der ursprünglichen Flüssigkeitsmenge) mit 2—3 g Hefe versetzt; nach der Vergärung wurde die gesamte Flüssigkeitsmenge im Vacuum bei 42° C. auf 50 ccm eingeeengt und die Zuckerbestimmung vorgenommen; es wurde also in diesen Fällen ein noch etwas größerer Anteil des zur Enteiweißung verwendeten Quantums als beim Serum der Reduktion unterworfen.

Um recht genau arbeiten zu können, benutzten wir als Lösung

¹⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. IV.

Bertrand I eine Kupfersulfatlösung, die einen in den verschiedenen Versuchsreihen verschieden großen Zusatz reinsten Traubenzuckers erhielt. Neben der Bestimmung in der vergorenen Flüssigkeit wurde jedesmal eine Kontrollbestimmung in der «Kupfer-Zucker-Lösung» ausgeführt, so daß eine etwa spontan eintretende Schwankung des Titors dieser Lösung nicht übersehen werden konnte.

Um einen Begriff von der Genauigkeit des Verfahrens unter den von uns gewählten Bedingungen zu geben, sei hervorgehoben, daß bei einem Blutzuckergehalt von 0,025% noch ein Ausschlag von 0,5 ccm über den Permanganattiter der Kupferzuckerlösung erfolgt; auch Spuren reduzierender Substanz mußten also noch deutlich wahrgenommen werden; erst Werte von 0,005% fallen in die Fehlergrenze.

Waren also die von Bangs Schülern festgestellten Minimalwerte der Restreduktion (0,03—0,04%) auch nach Bertrand vorhanden, dann mußten sie bei unserem Vorgehen mit aller Schärfe hervortreten.

Aus Tabelle IA folgt, daß nach der Vergärung die reduzierende Substanz aus dem Serum und aus dem Gesamtblut des normalen Menschen, falls man mit der Methode Bertrands untersucht, vollständig verschwunden ist. Das gleiche gilt, wie einige der Zahlen von hyperglykämischen Kaninchen a fortiori, Fall 5, Tabelle II B, direkt lehrt, auch für das Kaninchen. Beim Hunde verfügen wir nur über zwei Adrenalinversuche, aber die minimale Reduktion (0,01%), die in dem einen Falle bei recht hohem Ausgangswerte zurückbleibt, läßt es wahrscheinlich erscheinen, daß auch bei diesem Tiere normalerweise eine Restreduktion bei der von uns gewählten Methode nicht existiert. Zudem liegen Angaben von Rona und Takahashi¹⁾ vor, die beim Hunde vor und nach der Vergärung polarisierten und in einigen Fällen zugleich auch titrimetrisch nach Bertrand prüften: sie fanden nach der Vergärung keine Reduktion. Interessant ist es auch, aus zweien ihrer Versuche zu ersehen, daß beim Hunde, bei dem kein anderer drehender Körper das Resultat der Polarisation beeinträchtigt, der durch Polarisation und der nach Bertrand gewonnene Wert außerordentlich scharf übereinstimmt.

Somit ist nachgewiesen, daß bei Mensch und Säugetier unter physiologischen Bedingungen reduzierende Körper, welche

¹⁾ Biochem. Zeitschrift Bd. XXX.

Tabelle I.
Versuche am Menschen.

Nr.	Zucker- gehalt vor der Vergärung ‰	Zucker- gehalt nach der Vergärung ‰	Perman- ganat nach der Vergärung ccm	Perman- ganat der Kupfer- Zucker- lösung ccm	Bemerkungen
A. Normalfälle.					
a) Serum.					
1	0,1	0	2,2	2,2	Gärdauer 24 Stunden.
2	0,1	0,005	2,3	2,2	Desgl.
3	0,12	0,005	2,3	2,2	„
4	0,09	0	2,2	2,2	„
5	0,09	0	2,2	2,2	„
6	0,055	0	0,2	0,2	Kontrolle mit Bertrand I ohne Zuckerzusatz. Gärdauer 24 Stunden.
7	0,135	0	0,2	0,2	Desgl.
8	0,105	0	2,4	2,4	Gärdauer 24 Stunden.
9	0,135	0	2,4	2,4	Desgl.
10	0,11	0	2,4	2,4	Gärdauer 6 Stunden.
β) Gesamtblut.					
11	0,11	0	2,3	2,3	Gärdauer 6 Stunden.
12	0,08	0	2,3	2,3	Desgl.
13	0,07	0	2,9	2,9	„
14	0,076	0	2,9	2,9	„
B. Diabetiker.					
a) Serum.					
15	0,25	0,005	2,3	2,2	Gärdauer 24 Stunden. Desgl.
16	0,243	0	0,2	0,2	Blut wurde 5 1/2 Stunden post mortem untersucht.
17	0,388	0	2,4	2,4	Gärdauer 24 Stunden.
β) Gesamtblut.					
18	0,44	0	2,9	2,9	Gärdauer 6 Stunden.

Tabelle II.
Versuche an Tieren.

Nr.	Zucker- gehalt vor der Vergärung %	Zucker- gehalt nach der Vergärung %	Perman- ganat nach der Vergärung ccm	Perman- ganat der Kupfer- Zucker- lösung ccm	Bemerkungen
A. Adrenalin-Hyperglykämie.					
1. Kaninchen. — a) Serum.					
1	0,64	0,015	2,7	2,4	Gärdauer 24 Stunden. Gewicht 3200 g; 0,003 g Adrenalin subcutan.
2	0,68	0,017	2,65	2,3	Gärdauer 24 Stunden. Gewicht 4900 g; 0,005 g Adrenalin.
β) Gesamtblut.					
2	0,47	0	2,3	2,3	Gärdauer 24 Stunden. Gewicht 4900 g; 0,005 g Adrenalin.
3	0,77	0,03	2,7	2,4	Gärdauer 24 Stunden. Gewicht 2300 g; 0,002 g Adrenalin.
4	0,28	0,0035	3,0	2,9	Gärdauer 24 Stunden. Gewicht 1980 g; 0,002 g Adrenalin.
2. Hunde. — Serum.					
1	0,275	0,03	2,7	2,4	Gärdauer 24 Stunden. Gewicht 13000 g; 0,008 g Adrenalin; 5 ccm Serum.
2	0,52	0,01	2,6	2,4	Gärdauer 24 Stunden. Gewicht 7300 g; 7 mg Adrenalin; 10 ccm Serum.
B. Aderlaß-Hyperglykämie.					
Kaninchen. — Serum.					
5	0,1 (vor Ader- laß 0,07)	0	2,4	2,4	Gärdauer 24 Stunden.
6	0,27	0,0075	2,3	2,15	Desgl.
7	0,96	0	2,3	2,3	Gärdauer 6 Stunden. Bestimmung $\frac{3}{4}$ Stunde nach Ent- ziehung von 50 ccm Blut aus der Carotis.

etwa der Vergärung entgehen, von der Bertrandschen Methode nicht angezeigt werden: es mußte naturgemäß von Interesse sein, zu erfahren, wie sich das Blut spontan oder experimentell diabetischer Individuen verhalten würde. Wir haben deshalb Serum und Gesamtblut von Zuckerkranken untersucht, sowie von Tieren, bei denen durch subcutane Adrenalininjektion oder durch Aderlaß eine (auf überrascher Umwandlung von Leberglykogen in Traubenzucker beruhende) Hyperglykämie erzeugt war. Tabelle IB enthält die bei den Diabetikern gewonnenen Resultate: sie unterscheiden sich in nichts von den für die Normalfälle erhaltenen; auch hier fehlt nach der Vergärung jede Spur einer Reduktion. Ganz ähnlich ist es bei der Aderlaßhyperglykämie des Kaninchens: die reduzierende Substanz wird, selbst wenn sie, wie bei Tier 7 (Tabelle IIB), auf den exorbitanten Wert von fast 1% (!) gestiegen war, in der vergorenen Lösung völlig vermisst. Etwas anders sind die Ergebnisse bei der Adrenalinhyperglykämie; zwar kann auch hier die reduzierende Substanz mit Hilfe der Hefe restlos zum Verschwinden gebracht werden: in der Mehrzahl der Fälle bleiben jedoch Restreduktionen, die allerdings nur zweimal (mit 0,03%) über das hinausgehen, was man mit allem Rechte noch als «Spur» wird bezeichnen dürfen.

Es handelt sich demnach selbst bei extremer Hyperglykämie nur um sehr kleine Mengen, die von der Hefe nicht angegriffen werden. Diese geringen Reste dürfen aber mit Sicherheit als unvergärbbar bezeichnet werden: dem Einwande, daß in solchen Fällen der Gärungsprozeß in 24 Stunden noch nicht beendet gewesen sei, können wir mit dem Hinweise darauf begegnen, daß wir einige Male im normalen und hyperglykämischen Blute die Gärung nur 6 Stunden dauern ließen (cf. die Tabellen) und stets (z. B. auch bei dem Tiere mit 0,96% Serumzucker) die reduzierende Substanz quantitativ zerstört fanden.

Es ist bemerkenswert, daß sich bei den durch Adrenalin hyperglykämischen Kaninchen Serum und Gesamtblut ganz gleich verhalten; keinesfalls ist das Gesamtblut von dem Serum durch den Besitz einer Restreduktion bevorzugt: einmal findet sich

sogar im Serum ein unvergorener Anteil (0,017%), während das Gesamtblut frei ist.

Hierin liegt ein wesentlicher Unterschied gegen die Resultate mit der Bangschen Methode. Aus den Untersuchungen von Lyttkens und Sandgren¹⁾ geht, wie schon erwähnt, hervor, daß die reduzierende Substanz, die in den Blutkörperchen vorhanden ist, nicht vergärt. Dieser reduzierende, nicht gärende Stoff der Blutkörperchen, der etwa 0,07% beträgt (als Traubenzucker berechnet), scheint bei Hyperglykämien zuzunehmen (bis auf 0,3%): ja, nach einem Versuche mit Adrenalin (der allerdings mit gleichem Erfolge noch öfter wiederholt werden müßte) scheint es sogar, daß in die Blutkörperchen nur dieser gärungsunfähige Körper eindringt, während der Traubenzucker sich im Plasma anhäuft.

Alle diese Dinge sind bei Anwendung der Bertrandischen Methode höchstens angedeutet. Auch im Gesamtblute entgehen nur minimale Anteile der Vergärung. Wenn also wirklich, wie die Autoren angeben, in den Blutkörperchen des Kaninchens Traubenzucker nicht vorkommt, so würde sich ergeben, daß die reduzierenden Stoffe der Körperchen (die gelegentlich recht reichlich vorkommen) nicht nur nicht vergären, sondern auch auf die Fehlingsche Lösung nicht so einwirken, daß ein Niederschlag von Kupferoxydul entsteht. Das gleiche gilt natürlich für die Restreduktion des Serums (die zwischen 0,035% und 0,1% schwankt).

Bei Mensch und Hund sind — im Gegensatze zum Kaninchen — die Blutkörperchen sicher traubenzuckerhaltig: denn wie in einer früheren Arbeit²⁾ auseinandergesetzt wurde, findet man im Gesamtblut oft die gleiche, mitunter sogar noch eine stärkere Reduktion als im Plasma; in der vorliegenden Arbeit wird nun gezeigt, daß im Gesamtblut des Normalen und des Diabetikers durch die Vergärung die Reduktionsfähigkeit völlig aufgehoben wird, und für den Hund haben Rona und

¹⁾ l. c.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LXX.

Takahashi¹⁾ gezeigt, daß nach Hefebehandlung die Rechtsdrehung schwindet. Unzweifelhaft ist also beim Menschen und beim Hunde alles, was in den Blutkörperchen nach Bertrand reduziert oder optisch aktiv ist, Traubenzucker (resp. was natürlich immer in Betracht kommt, auch spurweise Lävulose oder Maltose). Es muß natürlich dahingestellt bleiben, ob außer dem Traubenzucker beim Menschen und Hund in den Blutkörperchen oder im Serum auch jene beim Kaninchen in ersteren prädominierende Substanz sich findet: nach Bertrand haben wir reduzierende, nicht gärende Substanz beim Menschen überhaupt nicht, bei der Adrenalinhyperglykämie des Hundes nur in denselben höchst geringen Mengen aufgefunden wie beim Kaninchen.

Welche Vorstellung soll man sich nun von dem chemischen Charakter der die Restreduktion gebenden Stoffe bilden? Wir gehen, um unsere Vermutungen über diesen Punkt plausibel zu machen, auf den Harn zurück. Wie Lavesson²⁾ gezeigt hat, machen Harnsäure, Kreatinin und normaler Traubenzuckergehalt nicht das Ganze der nach Bang bestimmbar Totalreduktion des Harnes aus, sondern etwa die Hälfte d. h. mindestens 0,1% ist auf unbekannt Substanzen zu beziehen. Nach Bertrand ist auch im Harn die Restreduktion minimal; denn die von Funk³⁾ nach dieser Methode bestimmte Totalreduktion des Harnes liegt etwa in denselben Grenzen wie der normale Traubenzuckergehalt bei Lavesson. Von nicht gärenden Kohlenhydraten sind im Harn nachgewiesen Isomaltose und Dextrine: diese Stoffe stellen Intermediärprodukte beim Diastasierungsprozesse dar: solche Substanzen müssen naturgemäß auch bei der Umwandlung von Glykogen zu Traubenzucker in der Leber auftreten, und es erscheint wohl möglich, daß sie in geringen Mengen bereits normalerweise ins Blut übertreten, in größeren dann, wenn, z. B. unter dem Einflusse des Adrenalins, in kurzer Zeit sehr reichlich Glykogen abgebaut wird. Diese Zwischenprodukte (Dextrine) reduzieren die

¹⁾ l. c.

²⁾ l. c.

³⁾ l. c.

Fehlingsche Lösung um so weniger, je näher sie dem Ausgangsmaterial stehen, um so kräftiger, je weiter die Umwandlung durch das Enzym vor sich gegangen ist.¹⁾ Es ist nun gut denkbar, daß mit dieser quantitativ verschiedenen Beeinflussung der Fehlingschen Lösung qualitative Unterschiede Hand in Hand gehen d. h. daß erst durch die Isomaltose und die niedrigsten Dextrine wirklich Kupferoxydulniederschläge hervorgerufen werden, während die komplexeren Dextrine (ähnlich wie Kreatin, Harnsäure, Urochrom) die Fehlingsche Lösung zwar reduzieren, aber keine Kupferoxydulfällung erzeugen: damit würde es sich (nach den eingangs dieser Arbeit gegebenen Auseinandersetzungen) zwanglos erklären, daß wir selbst auch bei extremer Hyperglykämie höchstens ganz geringfügige Restreduktionen finden, während die mit der Bangschen Methode Arbeitenden von ganz ansehnlichen Quoten zu berichten haben.

In einer früheren Arbeit²⁾ hat der eine von uns in etwas einseitiger Weise für den höheren Wert, den die kolorimetrischen Methoden der Blutzuckerbestimmung gegenüber den Reduktionsmethoden liefern, die gepaarten Glukuronsäuren verantwortlich gemacht. In der vorliegenden Arbeit wird die Erfahrung gewonnen, daß zwischen den Resultaten der Kupfermethoden erhebliche Differenzen bestehen können, daß es Kupfermethoden gibt, welche den kolorimetrischen näherstehende Werte liefern als z. B. die Bertrandsche Methode. Die Vermutung, daß die Differenzen der Kupfermethoden durch die Anwesenheit von Intermediärprodukten zwischen Glykogen und Dextrose bedingt sind, führt zu der Vorstellung, daß dasjenige Plus, welches die kolorimetrischen Methoden vor allen Arten der Reduktionsmethoden voraus haben, zum Teil gleichfalls auf Glykogendextrine zu beziehen ist, nur daß diese dem Glykogen noch so nahe stehen, daß eine Einwirkung auf die Fehlingsche Lösung ganz ausbleibt.

Wir möchten schließlich nicht verfehlen, auf die praktische Seite der hier erörterten Dinge einzugehen. Das Ziel der Blutzuckeruntersuchung ist die quantitative Ermittlung des im

¹⁾ Musculus und v. Mering, Diese Zeitschrift, Bd. II.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LXX.

Blut gelösten Traubenzuckers. Selbst wenn sich die Substanzen der «Restgruppe» in Zukunft physiologisch wichtig erweisen sollten, bleibt es für eine große Reihe von Fragen aus dem Gebiete des Kohlenhydratstoffwechsels unumgänglich, über den Gehalt des Blutes an Traubenzucker möglichst genau orientiert zu sein. Allen Blutzuckerbestimmungen haftete bis jetzt eigentlich immer das Gefühl der Unsicherheit an, daß ein individuell verschieden großer Betrag, der nicht Traubenzucker sei, mit in Rechnung gezogen werde und eventuell zu falschen Schlüssen verleite. Aus der vorliegenden Arbeit geht nun hervor, daß die mit der Methode Bertrands erhaltenen Reduktionswerte im Plasma und Gesamtblut quantitativ auf Traubenzucker zu beziehen sind, selbst wenn es sich um exzessive Grade von Hyperglykämie handelt.
