

Beiträge zur Kenntnis der reduzierenden Substanzen des Blutes.

Vergleichende Bestimmungen des „Blutzuckers“
durch Reduktion, Polarisation und Gärung bei
einigen Fällen von Diabetes und Nephritis.

Von

Wilhelm Stepp.

(Aus der Medizinischen Universitätsklinik zu Gießen.)

(Der Redaktion zugegangen am 28. Juni 1919.)

Untersuchungen über den sogenannten Restkohlenstoff des Blutes¹⁾ von Diabetikern zwangen mich zu der Annahme, daß bei einem beträchtlichen Teil der Diabetesfälle das, was man bisher auf Grund von Reduktionsmethoden als Blutzucker anzusprechen gewohnt war, nur zu einem Teil aus Glukose besteht, zum andern aus nichtzuckerartigen reduzierenden Verbindungen. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen habe ich nun das Drehungsvermögen der enteweißten Blutfiltrate bestimmt, nachdem die Phosphorwolframsäure mit Bleiacetat entfernt und das Filtrat auf $\frac{1}{8}$ bis $\frac{1}{10}$ der verwandten Blutmenge eingeeengt war. Bei acht Diabetesfällen, die ich in dieser Weise untersuchte²⁾, ergaben sich nun recht beträchtliche Unterschiede zwischen Reduktions- und Polarisationswerten. Am größten war der Unterschied bei dem Falle mit dem höchsten „Blutzuckerwert“, am geringsten bei den Fällen mit nur geringer Hyperglykämie; innerhalb der Fehlergrenzen lag er bei

¹⁾ Diese Zeitschr. Bd. 97, S. 213 (1916); ferner D. Archiv f. klin. Med. Bd. 124, S. 177 (1917); s. auch ebenda Bd. 120, S. 384 (1916); vergl. ferner Biochem. Zeitschr. Bd. 87, S. 135 (1918).

²⁾ Zentralbl. f. inn. Med. 1919, Nr. 24.

einem Fall von chronischer Nephritis, wo von einer nennenswerten Blutzuckererhöhung überhaupt nicht gesprochen werden konnte. Die Ergebnisse dieser Versuche ließen verschiedene Deutungen zu. Bei Abwesenheit von linksdrehenden Substanzen durfte man den gefundenen Polarisationswert mit größter Wahrscheinlichkeit als den richtigen Blutzuckerwert ansprechen und annehmen, daß neben Zucker noch andere nichtdrehende Stoffe vorhanden sind. Hatte man dagegen Grund zu der Annahme, daß sich auch linksdrehende Körper im Blut finden, so mußte die gefundene Rechtsdrehung der Glukose einen zu niedrigen Wert angeben. Nach den Untersuchungen von Griesbach und Straßner¹⁾, die im Blut von Tieren sowie im Blut einiger Nierenkranker das Reduktions- und Polarisationsvermögen nebeneinander bestimmten, brauchte man unter normalen Verhältnissen mit der Anwesenheit von linksdrehenden Substanzen nicht zu rechnen. Die Übereinstimmung der mit den verschiedenen Methoden gewonnenen Werte war durchaus befriedigend.

Bei der weiteren Verfolgung der ganzen Frage gelang es mir nun, eine Reihe von neuen Feststellungen zu machen, über die ich im nachfolgenden berichten möchte.

Zunächst überzeugte ich mich davon, daß man in sehr stark konzentrierten Blutfiltraten den Zucker durch Gärung quantitativ sehr gut bestimmen kann. Verarbeitet man z. B. 100 ccm Blut mit einem Reduktionswert von etwa 0,16 ‰ in der Weise, daß man die Filtrate der Phosphorwolframsäurefällung einengt bis zu einem Volumen von 10 ccm, so müßte die Zuckerkonzentration des eingeengten Filtrats — vorausgesetzt, daß der Reduktionswert wirklich Zucker anzeigt — hier 1,6 ‰ betragen. Wenn man also überhaupt den Traubenzucker durch Gärung quantitativ genau bestimmen kann, so müßte das auch in solchen den Zucker in beträchtlicher Konzentration enthaltenden Blutlösungen möglich sein.

Durch einige Versuche mit dem Lohnsteinschen Präzisions-Gärungssaccharimeter hatte ich mich sehr bald

¹⁾ Diese Zeitschr. Bd. 88, S. 199 (1913).

davon überzeugt, daß man damit sehr genaue Bestimmungen ausführen kann. Als ein ganz besonderer Vorzug erschien mir das Arbeiten mit den stark konzentrierten Lösungen. Kleine Fehler hatten hier nur geringe Bedeutung, da sie bei der Umrechnung von der hohen Konzentration, die manchmal das Zehnfache betrug, auf die Ausgangsblutmenge sich durch den entsprechenden Betrag dividierten. Eine Differenz in der zweiten Dezimale würde bei der Ausrechnung sich erst in der dritten Dezimale geltend machen. Wenn man bei dem oben genannten Beispiel bei zwei Kontrollbestimmungen im Gärungsapparat 1,65 und 1,6 % ablesen würde, so würden bei der Umrechnung auf 100 Blut sich Blutzuckerwerte von 0,165 und 0,16 % ergeben. Da sich an dem Lohnsteinschen Apparat gerade Werte zwischen 0 und 1,8 sehr genau ablesen lassen, so würde es keine Schwierigkeiten machen, Blutfiltrate, die eine höhere Konzentration haben, so weit zu verdünnen, daß der zur Ablesung kommende Wert in denjenigen Teil der Skala fällt, innerhalb dessen die Ablesung beinahe auf Hundertstel genau möglich ist. Die Genauigkeit wird sehr erhöht durch Berücksichtigung der Temperatur, wie das Lohnstein mittels einer von ihm aufgestellten Formel tut. Eventuell wird man auch den Barometerstand in Rechnung setzen müssen, was gleichfalls durch eine Formel geschehen kann.

Was die zweite Schwierigkeit anlangt, nämlich die mögliche Anwesenheit von gärungsstörenden Substanzen, so mußte natürlich der bisher bei allen meinen Untersuchungen angewandte Zusatz von Natriumfluorid, das die Gerinnung verhindern sollte, unterbleiben. Statt dessen defibrinierte man einfach das Blut durch vorsichtiges Rühren mit einem Glasstab während des Einfließens in den Meßzylinder und setzte das Rühren noch so lange fort, bis das gesamte Fibrin sich am Glasstab niedergeschlagen hatte. Das Fehlen des Fibrins bzw. des Fibrinogens hatte nun für unsere Untersuchungen keine Bedeutung. Der einzige Körper, der als störend für die Gärung in Frage kommen konnte, die Phosphorwolframsäure, läßt sich durch neutrales Bleiacetat mit größter Leichtigkeit vollkommen quantitativ entfernen. Nach den Untersuchungen

Opplers¹⁾ ist zur vollkommenen Enteiweißung des etwa auf das 10—20fache mit Wasser verdünnten Blutes 10%ige Phosphorwolframsäure in der gleichen bzw. anderthalbfachen Menge des verwandten Blutes ohne irgend einen anderen Zusatz vollkommen ausreichend. Die Entbleiung erfolgte durch mehrstündiges Durchleiten von Schwefelwasserstoff, und ein weiteres Durchleiten von Luft entfernt auch diesen auf das vollkommenste. Auf diesen Punkt ist das allergrößte Gewicht zu legen, da Spuren von Schwefelwasserstoff die Gärung stark behindern können. So hat man in den nun bei 38° im Vakuum zur Einengung gelangenden Filtraten von fremden Körpern nichts anderes mehr als die Essigsäure aus dem Bleiacetat. Um sicher zu sein, daß von dem Blutzucker sich nichts zersetzt, kann man eine Spur freie Mineralsäure hinzufügen (etwa einen Tropfen 25%iger Salzsäure auf 100 ccm Flüssigkeit). Man engt nun bis auf 1—2 ccm ein, immer unter sorgfältiger Beachtung, daß die Wasserbadtemperatur nicht über 40° hinaus steigt. Der Rückstand wird durch ein gehärtetes Filter in ein geeichtes Meßkölbchen, bzw. einen Standzylinder übergeführt, und nun das Destillationskölbchen sorgfältig 4—5mal mit etwa 2 ccm Wasser ausgespült, bis man sicher ist, daß man alles herüberbekommen hat. Während des Überspülens überzeuge man sich davon, daß die Reaktion der eingengten Flüssigkeit sauer geblieben ist. Andernfalls würde man mit Verlusten rechnen müssen. Die so zur Polarisation fertige Flüssigkeit war meistens nur ganz schwach gelblich gefärbt, aber immer vollkommen klar. Die Polarisation wurde in einem 189,4 mm langen Rohr mit einem von der Firma Schmidt und Haensch stammenden Halbschattenapparat vorgenommen. Sehr bewährt hat sich mir zur Erzeugung einer hellen Natriumflamme das von C. Neuberger empfohlene Natriumnitrit an Stelle des Kochsalzes. Der einzige Nachteil ist, daß es infolge des raschen Verdampfens viel häufiger erneuert werden muß als das Kochsalz. Dieser kleine Nachteil wird aber durch die Vorteile des Arbeitens mit

¹ Diese Zeitschr. Bd. 64, S. 393 (1910.)

prachtvollem hellen Natriumlicht reichlich aufgewogen. Wer jemals Natriumnitrit zur Erzeugung einer Natriumflamme verwendet hat, wird meiner Meinung nach kaum wieder zum Kochsalz greifen.

Bei unseren Arbeiten betrogen die Differenzen zwischen den einzelnen Ablesungen am Polarimeter — es wurde stets von 16 Ablesungen das Mittel genommen — meist nicht über $\pm 0,01-0,02^\circ$.

Nach vorgenommener Polarisation wird die Flüssigkeit aus der Drehungsröhre entfernt, und die Gärungsprobe sofort angesetzt. Da man hierfür nur 0,5 ccm benötigt, kann man mit Leichtigkeit zwei Kontrollen anstellen. Als Hefe nahmen wir gewöhnliche frische Bäckerhefe. Bezüglich der Einzelheiten, auf die bei der Ansetzung der Probe zu achten ist, sei auf die verschiedenen Handbücher¹⁾ verwiesen. Nur soviel sei hier angeführt, daß die Temperatur des Raumes stets genau berücksichtigt wurde. Die Gärung selbst wurde im Brutschrank bei 37°C : vorgenommen. Nach 4 Stunden wurde das Röhrchen aus dem Brutschrank entfernt, bei Zimmertemperatur etwa eine Stunde stehen gelassen, dann wurde wieder die Temperatur des Raumes notiert und schließlich der Stand der Quecksilbersäule an der Skala abgelesen. Alsdann wurde die Temperaturkorrektur vorgenommen mittels der Lohnsteinschen Formel:

$$p = p_{35} + \frac{p_{20} - p_{35}}{15} (35 - t)$$
 worin p_{20} und p_{35} die Ablesungen an den beiden für 20° und 35°C . geltenden Skalen und t die Temperatur bedeutet, bei der der Apparat gefüllt und auf die er nach Schluß der Gärung abgekühlt wurde. Es wurde im weiteren Verlauf der Untersuchungen stets gleichzeitig mit zwei Apparaten gearbeitet, sodaß jeder Wert durch eine Kontrollbestimmung gesichert ist. Ferner wurde jedesmal durch blinde Versuche festgestellt, daß die Hefe gärfähig ist und selbst keine gärunsfähigen Stoffe enthält.

Wie genau die Gärungswerte mit den durch Reduktion und Polarisation gefundenen übereinstimmten, mögen die Er-

¹⁾ Neuberg, Spaeth und andere.

gebnisse der Untersuchungen von Lösungen reinen Traubenzuckers zeigen. Es wurden in 3 Versuchen Lösungen von Traubenzucker etwa in den Konzentrationen 0,35%, 0,55% und 0,65% hergestellt.

1. Versuch: Lösung von etwa 0,35% Glukose.

a) Polarisierung	0,355%
b) Gärung	0,358% ¹⁾

2. Versuch: Lösung von etwa 0,55% Glukose.

a) Reduktion nach Lehmann-Maquenne	0,535%
b) Polarisierung	0,53%
c) Gärung	0,54%

3. Versuch: Lösung von etwa 0,65% Glukose.

a) Reduktion nach Lehmann-Maquenne	0,639%
b) Polarisierung	0,64%
c) Gärung	0,64%

Wenn wir uns nun zur Bestimmung des Blutzuckers durch Gärung wenden, so mögen zunächst die Ergebnisse der Polarisierung und Gärung einander gegenübergestellt werden. Beide Operationen wurden in ein und derselben Flüssigkeit, in dem auf ein kleines Volumen eingengten Blutfiltrat, unmittelbar nacheinander vorgenommen. Das hat den großen Vorteil, daß irgendwelche Fehler durch Verluste von Zucker, wie man sie bei nicht ganz vorsichtigem Arbeiten während des Einengens gewärtigen muß, bei diesen parallelen Untersuchungen nicht in Frage kommen. Die am Polarisationsapparat abgelesenen Werte werden durch die Ablesung an der Skala des Gärungsröhrchens in der einfachsten Weise kontrolliert.

Für die Berechnung der in der verarbeiteten Blutmenge enthaltenen Zuckermenge aus dem am Polarimeter abgelesenen

¹⁾ Ebenso wie hier finden sich auch bei den weiter unten mitgeteilten Fällen die Gärungswerte häufig noch bis in die dritte Dezimale angegeben; diese ist selbstverständlich nicht abgelesen, sondern bei der Berechnung aus der Lohnsteinschen Formel erhalten.

Prozentgehalt der enteiweißten und eingeeengten Flüssigkeit haben Oppler und Rona¹⁾ die Formel $x = \frac{c \cdot z \cdot l}{Z \cdot 100}$ aufgestellt, worin c den aliquoten eingeeengten Teil, z den am Polarimeter abgelesenen Prozentgehalt an Zucker, l das Gesamtvolumen der Flüssigkeit (Blut + Wasser + die zur Enteiweißung verwandte Flüssigkeit), Z den nicht eingeeengten aliquoten Teil und x den Zuckergehalt in Milligrammen in der zur Untersuchung entnommenen Blutmenge bedeutet. Diese von Oppler und Rona bei ihren Arbeiten mit der Eisenmethode zuerst benutzte Formel hat dann Oppler auch in seiner späteren Arbeit, wo er die Enteiweißung mit Phosphorwolframsäure durchführte, verwendet. Die durch Zufügen des Bleiacetats zu dem Phosphorwolframsäurefiltrat auftretende Volumenänderung hat Oppler bei der Festsetzung des Volumens des aliquoten Teils Z berücksichtigt. Bequemer ist es, wenn man die Volumina nach dem Zusatz des Bleiacetats und nach dem Abfiltrieren des Schwefelbleis festsetzt und sie in die Formel einführt, die dann folgendermaßen aussieht:

$$x = \frac{z}{100} \cdot c \cdot \frac{V(\text{ges})}{V_1} \cdot \frac{V_2}{V(\text{end})},$$

worin die Buchstaben x , z und c aus der Oppler-Ronaschen Formel beibehalten sind.

Es bedeutet also:

- x den Zucker in mg in der verwandten Blutmenge,
- z den gefundenen Polarisationswert in ‰,
- c das Volumen des eingeeengten Blutfiltrats,
- $V(\text{ges.})$ das abgelesene Gesamtvolumen nach Zusatz der zur Verdünnung verwandten Wassermenge und des Fällungsmittels zu der Ausgangsblutmenge,
- V_1 das Volumen des zur weiteren Verarbeitung genommenen aliquoten Teils des Filtrats nach der Phosphorwolframsäurefällung,
- V_2 das Volumen nach dem Zusatz von Bleiacetat,
- $V(\text{end})$ das Volumen nach dem Abfiltrieren des Schwefelbleis, das zur Einengung gelangt.

¹⁾ Bioch. Zeitschr. Bd. 13, S. 124 (1908).

In Tabelle I finden sich die Ergebnisse der Untersuchungen an Blut von einigen Diabetikern und Nephritikern, sowie an Rinderblut mitgeteilt.

Tabelle I.

Nr.	Blutart	Zucker in % im eingeeengten Blut- filtrat bestimmt durch		Zucker in % im Blut bestimmt durch	
		Polarisation	Gärung	Polarisation	Gärung
1	Diabetiker Kr.	1,36	1,44	0,182	0,192
2	Diabetiker Pe.	0,387	0,39	0,1278	0,1285
3	Diabetiker He.	0,61	0,595	0,1459	0,1423
4	Nephritis Si.	0,516	0,52	0,071	0,0715
5	Nephritis Ho.	0,65	0,704	0,0982	0,1063
	" "	—	—	0,0998 (be Ent- weibung nach Schenck)	—
6a	Rind a	0,36	0,379	0,048	0,05
6b	Rind b	0,67	0,664	0,052	0,051

Der Protokollauszug zu Tabelle I findet sich am Schlusse der Arbeit.

Die Übereinstimmung der für die untersuchten Blutproben erhaltenen Polarisations- und Gärungswerte ist überraschend gut und beweist, daß die direkte Bestimmung des Traubenzuckers im Blut durch Gärung sehr gut möglich ist. Es ist zwar durch die Untersuchungen von Neuberg und Ishida¹⁾ das Vorkommen einer „zuckerfreien Hefegärung“ erwiesen worden, wodurch streng genommen der quantitative Zuckernachweis an Genauigkeit verlieren würde; doch könnte es sich bei der Vergärung von nicht den Zuckern angehörenden Substanzen im Blute nur um ganz kleine Mengen handeln, die quantitativ kaum ins Gewicht fallen würden. Wir dürfen bei der guten Übereinstimmung von Drehungs- und Gärungswerten also annehmen, daß sie uns den wahren Traubenzucker-gehalt des Blutes anzeigen.

Wie bedeutungsvoll die Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen der Polarisation und der Gärung für die Blutzucker-

¹⁾ Biochem. Zeitschr. Bd. 37, S. 142 (1911).

frage ist, tritt ganz besonders hervor, wenn man ihnen die durch Reduktion gewonnenen Zahlen gegenüberstellt (vergl. Tab. II).

Tabelle II.

Nr.	Blutart	Blutzuckergehalt in % bestimmt durch			
		Reduktion		Polarisation	Gärung
		Bertrand	Maquenne		
1	Diabetes Kr.	0,228	0,223	0,182	0,192
2	Diabetes Pc.	0,269	0,272	0,1278	0,1285
3	Diabetes He.	0,238	—	0,1459	0,1423
4	Nephritis Si.	0,167	0,157	0,071	0,0715
5	Nephritis Ho.	0,137	0,136	0,0982	0,1063
6	Rinderblut a	0,116	—	0,048	0,05

Die Unterschiede zwischen Reduktion einerseits und Polarisation und Gärung andererseits sind hier, ebenso wie in den an anderer Stelle mitgeteilten Fällen¹⁾, recht groß, und zwar liegen wiederum die Reduktionswerte zuoberst. Bei Fall 2, 4 und 5 betragen die Reduktionswerte mehr als das Doppelte der Polarisations- und Gärungswerte! Durch diese Befunde erhält die Vorstellung, daß in allen den untersuchten Fällen die Reduktion nur zum Teil auf Traubenzucker zu beziehen ist, eine neue Stütze. Überall da, wo Polarisation und Gärung so gut übereinstimmen, muß man annehmen, daß die andern (nicht zuckerartigen) reduzierenden Substanzen die Ebene des polarisierten Lichts nicht zu drehen vermögen und daß somit linksdrehende Substanzen nicht zugegen sind.

Es haben sich nun im Laufe der weiteren Untersuchungen gewisse Anhaltspunkte dafür ergeben, welcher Art die fraglichen Körper sind. Wie bei meinen früheren Untersuchungen²⁾, hatte ich auch bei den hier mitgeteilten anfangs die Bestimmungen durch Reduktion in einem Teil des nicht eingengten Filtrats der Phosphorwolframsäurefällung ausgeführt. Erst später ging ich dazu über, auch in der zur Polarisation be-

¹⁾ l. c. Zentralbl. f. inn. Med. Hier waren allerdings nur Reduktion und Polarisation miteinander verglichen worden.

²⁾ l. c. Zentralbl. f. inn. Med.

nutzten, stark eingeengten Lösung gleichzeitig mit der Gärungsprobe noch eine Analyse mit der Maquenneschen bzw. Bertrandschen Methode auszuführen. Ich war außerordentlich erstaunt, als sich in einem Teil der in dieser Weise untersuchten Fälle bei der Berechnung des prozentualen Blutzuckergehalts aus dem eingeengten Filtrat wesentlich niedrigere Werte ergaben als aus dem nicht eingeengten. Der erste Gedanke war natürlich der, daß Zucker verloren gegangen wäre. Das konnte aber nicht gut möglich sein. Denn erstens war peinlich darauf geachtet worden, daß die Reaktion während der ganzen Einengungsprozedur deutlich sauer war und daß die Temperatur des Wasserbades 40° nie überstieg. Sodann hätte man erwarten müssen, daß, wenn Zucker verloren gegangen wäre, bei längerem Stehen der eingeengten Lösungen noch eine weitere Abnahme des Zuckergehalts sich gezeigt hätte. Das war aber in besonders darauf gerichteten Versuchen nicht der Fall. Sehr deutlich geht das aus dem folgenden Versuch hervor:

80 ccm Blut eines Diabetikers werden mit Phosphorwolframsäure gefällt. Gesamtvolumen 1000 [V(ges.)], $V_1 = 865$, $V_2 = 885$, $V(\text{end}) = 865$, $c = 10$.

Am 14. IV. 19 wird die Polarisation vorgenommen, das Mittel aus 16 Ablesungen beträgt 1,26 %.

Am 26. IV. 19 wird wiederum polarisiert; es wird wiederum ein Wert von 1,26 % festgestellt.

Am 5. V. 19 hatte Herr Professor Embden-Frankfurt die Freundlichkeit, in seinem Institut die Drehung der gleichen Flüssigkeit zu bestimmen. Der von ihm festgestellte Wert betrug 1,28 %, ein Ergebnis, das als sehr günstig zu bezeichnen ist, zumal die Ablesung mit einem anderen Apparat vorgenommen wurde.

In dieser Flüssigkeit hat also bestimmt innerhalb von drei Wochen keine Zuckerzerstörung stattgefunden, und es besteht auch nicht der geringste Anhaltspunkt für die Annahme, daß hier etwa vorher Zucker verloren gegangen sein sollte.

Ich habe daher in einer Reihe von Fällen, zumeist bei Diabetikern, ganz regelmäßig die Reduktion einmal in dem nicht eingeengten Filtrat sofort nach der Phosphorwolframsäurefällung, dann in dem bis auf einen kleinen Bruchteil (etwa $\frac{1}{6} - \frac{1}{10}$) des ursprünglichen Blutvolumens eingeengten

Blutfiltrat untersucht. In der folgenden Tabelle finden sich ein paar solcher Fälle zusammengestellt¹⁾. In ihr sind gleichzeitig neben den Reduktionswerten auch die Polarisationszahlen aufgeführt.

Tabelle III.

Nr.	Blutart	Zucker in % im Blut ermittelt				
		aus dem nicht eingeeengten Blutfiltrat		aus dem stark eingeeengten Blutfiltrat		
		Bertrand	Maquenne	Bertrand	Maquenne	Polarisation
1	Diabetes St.	0,3	—	0,217	0,224	0,186*)
2	Diabetes Kr.	0,228	0,223	0,197	0,196	0,182
					0,197 (Kontrolle)	
3	Diabetes Pe.	0,269	0,272	0,1456	0,1458	0,1278
4	Diabetes He	0,238	—	0,1948	—	0,1459
5a	Diabetes W.	0,378	—	0,38	—	0,309
5b	Derselbe**)	0,315	—	0,306	—	0,203
6	Nephritis	0,167	0,157	0,084	0,085	0,071
7	Nephritis	0,137	0,136	0,123	—	0,0982
				0,125 (enteiweißt n. Schenck)		
8	Rinderblut	0,116	—	0,0689	0,0695	0,048

Betrachten wir zunächst die Reduktionswerte im nicht eingeeengten und im eingeeengten Blutfiltrat (Tabelle III)! In einem Teil der Fälle ist das Reduktionsvermögen sowohl mit Hilfe des Bertrand'schen wie des Maquenneschen Verfahrens ermittelt worden. Die Übereinstimmung der Analysen in ein und derselben Flüssigkeit ist sehr befriedigend und bürgt für ihre Richtigkeit. Vergleicht man dagegen die aus dem verdünnten, frisch gefällten Blutfiltrat erhaltenen Blutzuckerwerte mit denjenigen, die in den durch Vakuumdestillation stark konzentrierten Filtraten er-

¹⁾ Auch Rinderblut aus dem Schlachthof, das in der gleichen Weise untersucht wurde, findet sich hier aufgeführt.

*) Der Polarisationswert durch Herrn Professor Embden-Frankfurt kontrolliert; vgl. den oben angeführten Versuch.

***) einige Wochen später.

halten wurden, so finden sich bei einigen der untersuchten Fälle recht große Unterschiede. Am größten ist der Unterschied bei Fall Nr. 1, wo er 83 mgr beträgt, in den andern Fällen ist er kleiner, immerhin groß genug, um mit Sicherheit als außerhalb der Fehlergrenze liegend angesehen werden zu können. Sehr bemerkenswert ist übrigens auch die beträchtliche Differenz bei dem untersuchten Rinderblut (Nr. 8 in Tabelle III). Im Gegensatz hierzu sehen wir bei Fall Nr. 5a und b, einem Diabetiker, bei zwei zeitlich auseinanderliegenden Untersuchungen eine solche Differenz in dem Reduktionsvermögen zwischen nicht eingeengten und eingeengten Blutfiltraten nicht. Die Werte sind vielmehr als identisch zu bezeichnen. Die Übereinstimmung ist das eine Mal sogar ganz auffallend gut (0,380 % und 0,378 %). Aus diesem Befund geht hervor, daß die Prozeduren, denen das mit Phosphorwolframsäure entweißte Blut unterworfen wird, an sich durchaus nicht mit einem Verlust von Zucker einherzugehen brauchen. Immerhin wäre es ja möglich, daß andere reduzierende Substanzen, die labiler sind als Zucker, während der vorgenommenen Manipulationen in nicht mehr reduzierende Körper übergegangen sind. Aber man muß noch an eine andere Möglichkeit denken. Es könnte sein, daß unter gewissen Verhältnissen im Blute reduzierende Substanzen erscheinen, die flüchtig sind. Diese werden natürlich bei der Vakuumdestillation zu Verlust gehen. Es ist mir nun in der Tat gelungen, bei dem Diabetiker Fall Nr. 4 (Tabelle III) im Destillat¹⁾ der Phosphorwolframsäurefällung des Blutes reduzierende Substanzen nachzuweisen. Weitere Untersuchungen, deren Ergebnisse einer späteren Mitteilung vorbehalten bleiben sollen, zeigten mir nun, daß im Blute von Diabetikern flüchtige, ammoniakalische Silberlösung in der Kälte reduzierende Substanzen

¹⁾ Von einem aliquoten Teil der Phosphorwolframsäurefällung des Blutes wurde etwa $\frac{1}{3}$ des Volumens in eine mit Kältemischung gekühlte Vorlage abdestilliert und in Wasser aufgefangen. Das Destillat wurde dann mit Bertrandscher Lösung I und II in einem mit Steigrohr versehenen Kölbchen 3 Minuten erhitzt und die Reduktion in der üblichen Weise bestimmt.

vorkommen. Es handelt sich offenbar um Stoffe von Aldehydcharakter. Einige Beobachtungen aus letzter Zeit, die allerdings noch nicht abgeschlossen sind, scheinen mir dafür zu sprechen, daß es sich vielleicht um Acetaldehyd handelt.

Nach der Gegenüberstellung der Reduktionswerte im nicht eingeengten und eingeengten Blutfiltrat wären nun noch die Reduktions- und Polarisationswerte in der eingeengten Flüssigkeit vergleichend zu betrachten (vgl. Tabelle III). Auch hier liegen die Reduktionswerte deutlich höher als die Drehungswerte, aber die Differenz ist verschieden groß, je nachdem das Reduktionsvermögen während der Einengungsprozedur stark oder weniger bzw. gar nicht abgenommen hat. Eine völlige Übereinstimmung zwischen Reduktion und Polarisation besteht jedenfalls nirgends und wir müssen daraus schließen, daß neben den bei der Vakuumdestillation flüchtig gehenden reduzierenden Substanzen außer Zucker noch andere nicht flüchtige vorhanden sind. Möglicherweise handelt es sich um Glukuronsäuren. Mit Untersuchungen über diese Frage bin ich zurzeit noch beschäftigt.

Im folgenden seien die Ergebnisse der hier mitgeteilten Untersuchungen kurz zusammengefaßt:

1. In früheren Untersuchungen war festgestellt worden, daß bei der vergleichenden Bestimmung des Blutzuckers durch Reduktion und Polarisation die Reduktion fast durchweg einen höheren „Blutzucker“ anzeigt als die Drehung. Die Ursache dieser Unstimmigkeit konnte sein entweder eine zu geringe Rechtsdrehung infolge von Anwesenheit linksdrehender Substanzen oder eine erhöhte Reduktion durch die Gegenwart anderer reduzierender Verbindungen neben Zucker. Zur Entscheidung dieser Frage wird der Blutzucker mit Hilfe des Lohnsteinschen Präzisions-Gärungssaccharimeters direkt durch Vergärung bestimmt, nachdem an reinen Zuckerlösungen die Gärungsmethode eine sehr gute Übereinstimmung mit den Reduktionsmethoden (Bertrand und Maquenne) und dem Polarisationsverfahren ergeben hatte.

2. Defibriniertes und mit Phosphorwolframsäure ent-

eiweißtes Blut, das im Vakuum auf etwa $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{10}$ des ursprünglichen Blutvolumens eingeengt ist, eignet sich sehr gut zur Vornahme der quantitativen Blutzuckerbestimmung durch Gärung, da es nach Entfernung der Phosphorwolframsäure durch Bleiacetat mit nachfolgender Entbleiung und nach Austreibung des Schwefelwasserstoffs an fremden Substanzen nichts enthält außer Essigsäure.

3. Die Gärungsprobe wird mit der zur Polarisation benutzten Flüssigkeit im Brutschrank bei 37° C. ausgeführt, der nach beendigter Gärung an der Skala abgelesene (und auf die Temperatur korrigierte) Wert in ‰ Zucker kann ohne weitere Umrechnung mit dem Polarisationswert sofort verglichen werden. In den bisher untersuchten Fällen ist die Übereinstimmung zwischen Polarisations- und Gärungswerten eine sehr genaue.

4. Die gut übereinstimmenden Polarisations- und Gärungswerte zeigen den Blutzucker, den Gehalt des Blutes an Glukose, richtig an. Anhaltspunkte für die Annahme von linksdrehenden Substanzen im Blute haben sich bisher nicht ergeben.

5. Die Reduktionsmethoden, wie die Bertrand'sche und Maquennesche, geben ein Bild von der Gesamtreduktion des Blutes, an der sich außer der Glukose noch andere Substanzen beteiligen.

6. Einen Hinweis auf eine Gruppe von Substanzen, die neben Glukose an der Reduktion des Blutes teilhaben, gibt folgende Beobachtung: Bestimmt man einmal die Reduktion des verdünnten, frisch mit Phosphorwolframsäure gefällten Blutes, das andere Mal die Reduktion in dem zum Zwecke der Polarisation und Gärung stark eingeengten Blute, so ergeben sich — bei einigen der untersuchten Diabetesfälle, nicht bei allen — bei der Umrechnung auf 100 ccm Blut niedrigere Reduktionswerte in dem eingeengten als in dem nicht eingeengten Filtrat.

7. Die Abnahme des Reduktionsvermögens während der Einengung kann, wie besondere auf diese Frage gerichtete

Protokollauszug zu Tabelle I.

Nr.	Blutart	Verwandte Blutmenge	Gesamtvolumen nach dem Zusatz von Phosphorwolframsäure zu dem verdünnten Blut — V (ges.)	Verwandter (aliquoter) Teil des Filtrats — V ₁	Volumen nach Bleiacetatzusatz — V ₂	Volumen nach Entbleiung und Abfiltrieren des Schwefelbleis — V(end)	Volumen des eingeeengten Filtrats — c	Ableseung bei der Polarisation in % — z
1	Diabetes Kr.	100	1350	1050	1075	1035	10	1,86
2	Diabetes Fe.	60	800	422	442	423	10	0,387
3	Diabetes He.	85	1000	540	560	510	10	0,61
4	Nephritis Si.	175	2000	1710	1750	1700	20	0,516
5	Nephritis Ho	100	1310	888	903	887	10	0,65
	Nephritis Ho. (nach Schenck entweißt)	40	360	335	.	316	10	0,326
6a	Rind a	250	2500	1960	2000	1920	25	0,36
6b	Rind b	350	3500	2940	2970	1350*	10	0,67

*) Das Volumen nach dem Entbleien betrug 2950, von diesen wurden jedoch nur 1350 ccm weiter verarbeitet.

Versuche zeigen, nicht durch Zuckerzerstörung erklärt werden, es spricht vielmehr alles dafür, daß unter den reduzierenden Substanzen des Blutes sich solche befinden, die flüchtig sind und bei der Vakuumdestillation verloren gehen. In einem Fall gelang der Nachweis einer Fehlingsche Lösung reduzierenden Substanz in dem Destillate des Phosphorwolframsäurefiltrats. Wahrscheinlich handelt es sich um Aldehyde, manche Befunde deuten auf Acetaldehyd.

8. Aber auch in dem eingeengten Blutfiltrat ist der Reduktionswert noch immer höher als die Polarisations- und Gärungswerte. Das spricht dafür, daß außer Zucker und flüchtigen reduzierenden Substanzen noch andere reduzierende nichtflüchtige, nichtzuckerartige Stoffe im Blute vorkommen.