

Ein einfaches Verfahren der Blutzuckerbestimmung.

Von

K. Moeckel und E. Frank.

(Aus der inneren Abteilung des städtischen Krankenhauses in Wiesbaden.)

(Der Redaktion zugegangen am 11. März 1910.)

Die Bestimmung des Blutzuckergehaltes ist für den Physiologen und den Kliniker gleichermaßen wichtig. Weder ein Fall von menschlichem Diabetes noch irgend eine der Formen experimentell erzeugbarer Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels erscheint vollständig untersucht, wenn dem Verhalten des Blutzuckers keine Aufmerksamkeit geschenkt ist. Es bestehen ja zwischen der Größe der im Urin ausgeschiedenen Zuckermenge und dem prozentischen Werte des Blutzuckers keine einheitlichen Beziehungen. Es braucht nur daran erinnert zu werden, daß die meisten Glykosurien einer Hyperglykämie ihren Ursprung verdanken, daß aber einige, z. B. die durch Phlorhizin hervorgerufene, bei gegen die Norm nicht oder gar nach unten verschobener Blutzuckerkonzentration zustande kommen. Des ferneren ist diejenige Höhe des Blutzuckerwertes, bei der die Nieren Zucker zu sezernieren beginnen, für verschiedene Tierarten und wohl auch individuell sehr verschieden: so kommt es bekanntlich beim Pankreasdiabetes der Vögel trotz exorbitanter Blutzuckerwerte in der Regel nicht zur Glykosurie, und für den Hund sind ebenfalls Beispiele¹⁾ beigebracht, welche zeigen, daß einer beträchtlichen Anreicherung von Zucker im Blute eine Zuckerausscheidung nicht zu entsprechen braucht. Es darf also aus dem Ausbleiben des Zuckers im Harne niemals darauf geschlossen werden, daß ein in Frage stehender Eingriff den normalen Zuckerstoffwechsel nicht alteriert resp. den pathologischen zur Norm zurückgeführt habe.

¹⁾ Siehe Hesse und Mohr, Zeitschrift für experim. Pathologie und Therapie, 1909, Bd. VI, H. 1.

An die Stelle der unzulänglichen Methoden der Blutzuckerbestimmung, mit denen die ältere Physiologie an die Lösung von Blutzuckerproblemen herantrat, sind in neuerer Zeit exakte Verfahren getreten. Mit ihrer Hilfe hat manche aus früheren Untersuchungen gewonnene Anschauung wesentliche Korrekturen erfahren und ist eine Reihe neuer Kenntnisse ermittelt worden. Immerhin ist das Verhalten des Blutzuckers unter mancherlei experimentellen Bedingungen noch nicht hinreichend studiert worden und bei vielen den Kohlenhydratstoffwechsel betreffenden Untersuchungen sowie in der Klinik wird es wenig berücksichtigt, wohl deshalb, weil die quantitative Blutzuckeranalyse keine ganz einfache und rasch zum Ziele führende Methode darstellt, ein Umstand, der besonders bei Reihenuntersuchungen erschwerend ins Gewicht fällt.

Eine Vereinfachung der Methode hätte darin zu bestehen, daß in möglichst kurzer Zeit und mit denkbar geringem Apparate die zu untersuchende Blutmenge für die quantitative Zuckerbestimmung fertig gemacht wird; mit anderen Worten, die Entweißung müßte so vollzogen werden, daß einerseits die Ausfällung des Eiweißes rasch erfolge, andererseits das eiweißfreie Filtrat weder durch seine Quantität noch durch seine Qualität Präparationen für die eigentliche Zuckerbestimmung erfordere, wie etwa Eindampfen oder Entfernung von störenden Bestandteilen. Verwendet man kleine Blutmengen, so läßt sich in der Tat mit Hilfe des von Michaelis und Rona¹⁾ für Enteiweißungen, speziell auch des Blutes, eingeführten kolloidalen Eisenhydroxydes in kurzer Zeit eine der Zuckerbestimmung unterwerfbare Lösung herstellen, und es fragt sich nur, ob es quantitative Methoden gibt, die für so geringe Zuckermengen Exaktheit des Resultates bei einfacher Ausführbarkeit verbürgen. Für die von G. Bertrand²⁾ angegebene Methode der Zuckerbestimmung

¹⁾ Die Autoren haben nachgewiesen, daß das Eisenhydroxyd Traubenzucker nicht adsorbiert; dies gilt nach unseren Untersuchungen auch für den Milchzucker, wie im Gegensatz zu Angaben von Schlayer und Takayasu (Deutsches Archiv f. klin. Medizin, Bd. XCVIII) bemerkt sei.

²⁾ Die Ausführung der Bertrandschen Methode wird hier im einzelnen nicht beschrieben, da außer in dem französ. Original (Bull. de la société chim. de France, Bd. XXXV, S. 1285, 1906) sich auch eine genaue

glauben wir dies nach unseren Untersuchungen behaupten zu dürfen. Wir haben uns durch zahlreiche Bestimmungen mit reinstem, dreimal umkrystallisiertem Traubenzucker davon überzeugt, daß man bei exaktem Arbeiten und bei Verwendung reiner Chemikalien zur Herstellung der Bertrand'schen Lösungen Traubenzuckergehalte bis zu 0,5 mg herab recht genau bestimmen kann. Da die von Bertrand selbst aufgestellten Tabellen nur Werte von 10 mg Traubenzucker aufwärts berücksichtigen, geben wir im folgenden zunächst eine Tabelle, welche die einander zugeordneten Kupfer- und Traubenzuckerwerte für das Bereich von 0,5 mg bis 10 mg enthält. Unseren Zwecken entsprechend, haben wir ein Volumen der zuckerhaltigen Flüssigkeit von 50 ccm gewählt (nicht, wie Bertrand, von 20 ccm).

Tabelle

Cu in mg	Glukose in mg	Cu in mg	Glukose in mg
1,1	0,5	11,5	5,5
2,2	1,0	12,5	6,0
3,3	1,5	13,5	6,5
4,4	2,0	14,5	7,0
5,5	2,5	15,5	7,5
6,5	3,0	16,5	8,0
7,5	3,5	17,5	8,5
8,5	4,0	18,5	9,0
9,5	4,5	19,5	9,5
10,5	5,0	20,5	10,0

Die im folgenden zu beschreibende Methode bezieht sich auf die Bestimmung des Zuckers im Plasma resp. Serum. Im Gegensatz zu reinen Zuckerlösungen und zum Plasma resp. Serum haben wir mit dem Filtrate des Gesamtblutes oft falsche Werte erhalten. Wir glauben jetzt gefunden zu haben, woran dies lag, wollen aber die von uns neuerdings geübte Methode der Bestimmung des Traubenzuckers im Gesamtblut nicht eher veröffentlichen, als bis sie sich in einer großen Anzahl von Fällen bewährt hat. Sollten wir bei der weiteren Nachprüfung wider Erwarten auf Schwierigkeiten stoßen, dann wäre zu

untersuchen, ob Methoden wie die von Bang, die nicht mit dem ausfallenden Kupferoxydul, sondern mit dem überschüssigen Kupfer arbeiten oder solche, bei denen das Kupferoxydul in Lösung gehalten wird, wie bei der Pavyschen, richtige Resultate geben.

Im übrigen wäre die Unanwendbarkeit der Methode auf das Gesamtblut kein sehr erheblicher Nachteil, es sei denn, daß sich die Untersuchung gerade auf physiologische oder pathologische Differenzen der Zuckergehalte des Gesamtblutes und des Plasmas richtete. Nach den Untersuchungen von Michaelis und Rona¹⁾ sind diese Differenzen sowohl im normalen als auch im zuckerreichen Blute im allgemeinen gering; es wird daher meist gleichgültig sein, ob man Gesamtblut oder Plasma zur Bestimmung des Zuckergehaltes verwendet. Von manchen Gesichtspunkten aus ist aber das Plasma vorzuziehen: ändert sich z. B. die Relation Plasmavolumen zu Blutkörperchenvolumen beträchtlich, dann könnten ohne jede Vermehrung des im Blute befindlichen Zuckers, lediglich durch Steigerung der physiologischen Differenzen des Gehaltes von Plasma und Körperchen Hyper- resp. Hypoglykämien vorgetäuscht werden, wenn die Bestimmung im Gesamtblut ausgeführt wird; bei Verwendung des Plasmas entfällt natürlich diese Fehlerquelle. Des ferneren kommt es in allen Fällen, in denen das Verhältnis von Blutzucker zu Urinzucker ins Auge gefaßt wird, doch eigentlich auf den Plasmazucker an: es kann z. B. von einem renalen Diabetes nur gesprochen werden, wenn der Zuckergehalt des Plasmas normale oder subnormale Werte aufweist, da doch wohl nur dessen Höhe auf das In-Funktion-treten der Niere von Einfluß ist.

Für Plasma oder Serum gilt nun folgendes: 5 ccm lassen sich mit Hilfe von 10 ccm kolloidalen Eisenhydroxydes in einem Gesamtvolumen von 100 ccm Flüssigkeit fast momentan entweißen. Als Elektrolyt können kleine Mengen von Magnesiumsulfat oder von Seignettesalz in Anwendung gezogen werden. Letzteres ist deshalb vorzuziehen, weil bei Verwendung von Magnesiumsulfat beim Kochen der Fehlingschen Lösung oft

¹⁾ Biochem. Zeitschrift, 1909, Bd. XVIII.

Magnesiumhydroxyd ausfällt und das Filtrieren durch das Asbestfilter ein wenig erschwert. Bei Hyperglykämie genügen oft auch weniger als 5 ccm Plasma zur Bestimmung, während man bei Verdacht auf Hypoglykämie besser mehr nimmt; nach unseren Erfahrungen können meistens noch 10 ccm in der angegebenen Weise enteiweißt werden; gelingt die Entfernung des Eiweißes nicht quantitativ, so kann sie durch nachträglichen (im äußersten Falle noch einmal zu wiederholenden) Zusatz von 1—2 ccm des Eisenhydroxydes erzielt werden. Man braucht den Eiweiß-Eisenniederschlag nicht absetzen zu lassen, da die Filtration auch ohne das in wenigen Minuten vonstatten geht. Mit 50 ccm des Filtrates wird dann die Bestimmung nach Bertrand ausgeführt.

Wir haben das eben skizzierte Verfahren in mehrfacher Weise auf seine Exaktheit geprüft: Einerseits wurden zu einem von einige Tage altem Blut stammenden, fast zuckerfreiem Serum, dessen Reduktionswert zuvor festgestellt war, Zuckermengen verschiedenster Größe im Betrage der bei Blutzuckeranalysen zu erwartenden hinzugesetzt: die wiedergefundenen Werte differierten kaum wesentlich von den verwendeten; der maximale Fehler betrug 5%.

Zweitens wurde eine Reihe von Doppelbestimmungen mit Plasma und Serum von Menschen und Tieren (Hunden, Kaninchen) ausgeführt und dabei stets eine scharfe Übereinstimmung der beiden Einzelbestimmungen erzielt.

Drittens wurde als Lösung I von Bertrand eine solche verwendet, die neben dem Kupfersulfat noch eine abgewogene Menge Traubenzucker (5 mg in 20 ccm) enthielt, und gezeigt, daß die nach Abzug des Reduktionswertes dieser Lösung¹⁾ übrig bleibende Reduktionsgröße genau mit derjenigen übereinstimmte, welche bei einer Parallelbestimmung ohne Zuckerzusatz sich ergab.

Im einzelnen gestaltet sich die Ausführung der Blutzuckerbestimmung folgendermaßen: Etwa 12—15 ccm Blut werden unter dauerndem Rühren in einem Porzellanschälchen aufge-

¹⁾ der nach unserer Erfahrung dauernd konstant bleibt.

fangen, das eine Messerspitze Fluornatrium enthält. In einer automatischen Zentrifuge wird alsdann das Plasma zur Abscheidung gebracht. (Bei genügend hoher Tourenzahl sind hierzu kaum mehr als 10 Minuten nötig.) Darauf wird das Plasma abgesaugt, wobei es nichts schadet, wenn auch kleine Mengen von Blutkörperchen mitgenommen werden. Nun pipettiert man genau 5 ccm Plasma (doch können, wie erwähnt, auch Mengen bis zu 10 ccm verwendet werden) in ein Meßkölbchen von 100 ccm und verdünnt auf etwa 50 ccm, dazu fügt man 10 ccm des Liquor Ferri oxydat. dialysat. (n. Vorschr. d. deutsch. Apoth.-Ver.) Merck,¹⁾ säuert mit einem Tropfen konzentrierter Essigsäure an und schüttelt kurz nach Zusatz von 0,2 g Magnesiumsulfat oder besser von zwei bis drei erbsengroßen Krystallen von Seignettesalz. Man füllt dann auf 100 ccm auf, wobei einige Tropfen Äther etwa störenden Schaum entfernen, schüttelt nochmals kurz und läßt eine Minute stehen. Darauf filtriert man durch ein Faltenfilter, das natürlich zuckerfrei sein muß, und überzeugt sich von der Eiweißfreiheit des Filtrates, indem man ein wenig davon mit ein paar Tropfen einer 20%igen Sulfosalicylsäurelösung versetzt. Tritt noch eine Trübung ein, so ist das Filtrat noch mit 1–2 ccm des Ferrum oxydat. zu versetzen, ein wenig zu schütteln und noch einmal zu filtrieren. Von dem eiweißfreien Filtrat pipettiert man 50 ccm in ein Jenenser Kölbchen von 250–300 ccm und führt damit die Bestimmung nach Bertrand aus. Durch einen blinden Versuch hat man sich bei der Herstellung der Bertrandschen Lösungen davon zu überzeugen, daß diese an sich nicht reduzieren. Zur Titration bedient man sich, um genauer dosieren zu können, am besten einer Permanganatlösung von halbem Gehalt, die man sich in der Weise herstellt, daß man gleiche Teile der ursprünglichen Permanganatlösung und destillierten Wassers vermischt; es dürfte sich empfehlen, sich immer nur kleine Mengen herzustellen, da sich die verdünnte Permanganatlösung nur einige Tage hält; am besten bereitet man sie jeden Tag frisch. Beim Titrieren muß man von der Permanganatlösung

¹⁾ Für 7–10 ccm Plasma verwendet man am besten gleich 12 bis 14 ccm Liquor Ferri.

tropfenweise zusetzen; die Endreaktion — hervorgerufen durch den ersten Tropfen, der das Grün der Eisenlösung in Rosa umschlagen läßt — ist bei natürlichem und künstlichem Lichte absolut scharf, sie muß bei dem nicht ganz unbedeutenden Fehler, den jeder Tropfen zuviel bedingt, peinlich genau getroffen werden. Bei einem Plasmazuckergehalt von 0,1 % wird die verbrauchte Menge der aufs doppelte verdünnten Permanganatlösung ungefähr 1 ccm betragen. Die ganze Bestimmung erfordert für den Geübten vom Augenblicke der beendeten Blutentnahme an nicht mehr als 35—40 Minuten.

Zum Schluß sei ein Beispiel angeführt, das den Nutzen der Methode für klinische Zwecke dartut. Es handelt sich um einen Diabetiker, dem erst die Kohlenhydrate aus der Nahrung entzogen und nach einiger Zeit Kohlenhydratzulagen bis zu 100 g gegeben wurden.

Datum	Harnzucker in g	Harnzucker in %	Plasmazucker in %	Bemerkungen
6.—7. II. 10	22	1,63	—	1. Tag der kohlehydratfreien Diät.
7.—8.	9	0,6	0,19	
10.—11.	7,2	0,63	—	
11.—12.	0	0	—	Nylander negativ.
12.—13.	0	0	0,155	desgl.
22.—23.	6	0,3	—	100 g Kohlenhydrate pro die (Brot, Kartoffeln, Milch).
23.—24.	Spur		—	desgl.
24.—25.	„		0,18	