(Physiologisches Laboratorium in Bonn.)

Ueber die Entstehung von Glykogen aus Eiweiss.

Von

Bernhard Schöndorff.

(Unter Mitwirkung von cand. med. **Heinrich Offergeld.**)

Vor ungefähr zehn Jahren schrieb E. Külz¹⁾ in der bekannten Festschrift zu E. Ludwig's fünfzigjährigem Doctorjubiläum bezüglich der Bildung von Glykogen aus Eiweiss: „Die Frage, ob aus Eiweiss Glykogen entsteht, ist theils bejaht, theils verneint worden, in Wirklichkeit ist sie bis heute nicht sicher entschieden.“ Und heute nach zehn Jahren stehen wir eigentlich noch auf demselben Standpunkte. Zwar sagt Hammarsten in der neuesten Auflage seines Lehrbuches, dass man jetzt wohl allgemein der Ansicht sein dürfte, dass das Glykogen sowohl aus Eiweiss, wie aus Kohlehydraten entstehe, da es unzweifelhaft sei, dass Verfütterung von reinem Eiweiss zu einer Aufspeicherung von Glykogen führen kann.

Dem gegenüber ist aber doch ganz entschieden zu betonen, dass alle die Versuche, deren Ergebnisse für eine Bildung von Glykogen aus Eiweiss gedeutet wurden, einer objectiven Kritik nicht standhalten können, und dass man sowohl bezüglich des zur Verfütterung benutzten Eiweissmaterials, als auch der Methode der Glykogenbestimmung eine solche Reihe von berechtigten Einwendungen machen kann, dass von einer sicheren positiven Entscheidung der Frage der Glykogenbildung aus Eiweiss wohl nicht mehr die Rede sein kann.

Zur näheren Begründung dieses Satzes wird es aber nothwendig sein, die bisherigen Versuche besonders hinsichtlich folgender Gesichtspunkte genauer zu untersuchen:

1) E. Külz, Beiträge zur Kenntniss des Glykogens. Festschrift der Marburger med. Facultät zum 50jähr. Doctorjubiläum von C. Ludwig. Marburg 1890.

1. Ist das zur Verfütterung benutzte Material frei von Kohlehydraten bezw. Glykogen gewesen?
2. War die angewandte Methode der Glykogenbestimmung eine richtige und zuverlässige?

Schon Cl. Bernard¹⁾, der Entdecker des Glykogens, hatte sich mit dieser Frage beschäftigt. Er fütterte Hunde 7—8 Monate lang mit Fleisch und fand in der Leber 1,9 % Glykogen, dieselbe Menge wie bei gemischter Nahrung.

Dann fütterte er Raubvögel, Nachtulen, die in ihrem Neste gefangen wurden, 3 Monate lang mit rohem Ochsenherzen. Die Leber enthielt einen normalen Zucker- bezw. Glykogengehalt wie bei gemischter Nahrung. Er glaubt, dass die Experimente beweisen, dass der Zucker bezw. das Glykogen weiter vorhanden ist, trotz „der Unmöglichkeit der Einführung stärke- oder zuckerhaltiger Substanzen“.

Ferner gibt er an den verschiedensten Stellen seiner Vorlesungen über Diabetes²⁾ die Möglichkeit einer Bildung von Glykogen aus Eiweiss zu.

S. 284 sagt er z. B.: „Durch Versuche mit Hunden, welche einer bestimmten Kost unterworfen wurden, habe ich schon lange gezeigt, dass die ausschliessliche Ernährung mit Fleisch die Glykogenbildung in der Leber unterhält, während dies z. B. bei ausschliesslicher Fütterung nicht der Fall ist.“

S. 341 theilt er einen Versuch ausführlich mit: Zwei Hunde von 7000 und 4000 g Gewicht hungern 8 Tage. Dann erhält der schwerere Hund an 3 Tagen zusammen 750 g Fibrin und nimmt an Gewicht zu, der leichtere zu derselben Zeit 90 g Stärke und nimmt an Gewicht ab. Dann werden die Thiere getödtet. Die Abkochung der Leber bei dem mit Fibrin gefütterten Hund ist sehr stark molkig getrübt und enthält viel Glykogen, während sie bei dem mit Stärke gefütterten Hund nur leicht molkig getrübt und arm an Glykogen ist.“

„Dieser Versuch spräche also dafür, dass aus Amylum nur wenig oder kein Glykogen erzeugt, während es aus Fibrin gebildet wird. Dies Resultat, welches noch mit ähnlichen in Verbindung zu bringen ist, scheint darauf hinzudeuten, dass der thierische Organismus nicht

1) Leçons de physiologie expérimentale t. 1 p. 69. Paris 1855.

2) Cl. Bernard, Vorlesungen über Diabetes. Uebersetzt von Posner. Berlin 1878.

aus einem ternären Stoff, wie Stärke, wohl aber aus einer complicirteren Substanz, wie das Fibrin, Glykogen zu bilden im Stande ist.“

Die Mängel, die diesen Cl. Bernard'schen Versuchen anhaften und desshalb alle Schlussfolgerungen in Frage stellen, sind zum Theil so evident, dass darüber nur wenige Worte zu sagen sind. Wenn man durch Monate lang durchgeführte Fütterung mit Fleisch bezw. Ochsenherz einen normalen Zucker-, resp. Glykogenehalt der Leber herbeiführt, so ist dies nicht zu verwundern, da man doch gleichzeitig mit dem Eiweiss eine grosse Menge von Glykogen mit verfüttert.

Die Beweiskraft des zweiten Versuches wird durch Cl. Bernard's eigene Bemerkungen über die Anwendung von Controlthieren vollständig hinfällig, abgesehen davon, dass das blosse Aussehen der Leberabkochung doch wohl als kein hinreichend sicheres Zeichen für den grösseren oder geringeren Gehalt an Glykogen angesehen werden kann. S. 327 seiner Vorlesung spricht er sich über die Anwendung von Controlthieren folgendermaassen aus: „Der erste Gedanke, auf den man verfallen musste, wenn man den Einfluss verschiedener Nahrungsmittel auf die Entstehung des Glykogens in der Leber studiren wollte, war der, einige Thiere während der gleichen Zeit hungern zu lassen und ihnen dann die fraglichen Nahrungsmittel zu reichen. Die Autopsie musste dann lehren, bei welcher Ernährungsweise sich die grössere Menge von Glykogen angehäuft hat. Ich habe mich davon überzeugt, dass diese Methode folgenschwere Fehlerquellen in sich schliesst, denn bei verschiedenen Thieren ist auch die Glykogenmenge bei prolongirter Abstinenz eine sehr verschiedene. Im Allgemeinen verschwindet das Glykogen bei jungen und mageren Thieren schneller als bei älteren und fetten. Aber auch die Rasse, der Wuchs, der Kräftezustand der Thiere bedingen hier die mannigfachsten Schwankungen. Kurzum, es ist unmöglich, absolut vergleichbare Versuchsobjecte zu finden.“

Einen besondern Werth legt Cl. Bernard¹⁾ auf eine Versuchsförm, die Entstehung von Glykogen aus Eiweiss zu beweisen, dass man die Eigenschaften gewisser Insektenlarven, Fleischmaden benutzt, aus ihrem Nährmaterial Glykogen zu bilden. „Diese entwickelten sich sehr gut auf parenchymatösen Organen, Muskelfleisch, Leber u. s. w., und enthalten dann, wovon man sich leicht durch ein hier

1) Vorlesungen über Diabetes S. 285.

nicht zu erörterndes Verfahren überzeugen kann, ungeheure Mengen Glykogen.“ Um aber dem Einwand zu begegnen, dass die Muskeln, Leber u. s. w. selbst Glykogen enthalten, wählte er für seine Experimente Muskeln und Leber, welche durch Auswaschen vollkommen von allem Glykogen befreit waren, und erhielt doch stets sehr wohlentwickelte und glykogenreiche Larven. Dann nahm er verschiedene Organe, Leber, Muskeln von Thieren, welche Hungers gestorben und aus denen das Glykogen vollständig verschwunden war, und erhielt immer gleichmässig glykogenreiche Larven; ebenso, wenn er die Larven sich auf Organen entwickeln liess, welche, wie die Niere, Gehirn, Pankreas, niemals die geringste nachweisbare Menge Glykogen enthalten sollen. Dann liess er sie auf gekochtem Albumin sich entwickeln und erhielt dieselben Resultate.

Nun ist es aber seit den Versuchen von Böhm¹⁾, R. Külz²⁾ und vielen Anderen bekannt, dass man nicht durch Auswaschen der Organe, ja nicht einmal durch vielfaches Auskochen im Dampftopfe, alles Glykogen aus den Organen erhalten kann. Ferner haben viele Versuche ergeben, dass es unmöglich ist, durch längeres Hungern das Glykogen aus den Organen zum Schwinden zu bringen. Pflüger³⁾ konnte in dem Muskelfleisch eines Hundes, der 38 Tage gehungert, und das bei 60° getrocknet mehrere Jahre im hiesigen Institut aufbewahrt wurde, noch deutliche Mengen von Glykogen nachweisen. Auch ist es sehr unwahrscheinlich, dass das Glykogen, welches in den Muskeln, der Leber, dem Blut, der Lymphe, den Hoden und Eiern nachgewiesen ist, im Gehirn, den Nieren und dem Pankreas nicht vorkommen soll. Wenn also auch die Thatsache der grossen Glykogenmengen in den Larven richtig wäre, so würde sie doch nichts beweisen für die Glykogenbildung aus Eiweiss, da das Nährmaterial nicht frei von Kohlehydraten war. Aber auch die Anwendung von Albumin schützt nicht vor diesem Fehler. Denn nach den Versuchen von Finn⁴⁾, der in dem Eiweiss eines Eies 0,08—0,09 g Traubenzucker fand (Mittel aus 25 Analysen), von Meissner⁵⁾ der

1) Dieses Archiv Bd. 23 S. 44.

2) Zeitschr. f. Biologie Bd. 22 S. 102.

3) Dieses Archiv Bd. 75 S. 225.

4) Finn, Experimentelle Beiträge zur Glykogen- und Zuckerbildung in der Leber. Diss. Würzburg 1877. S. 22.

5) Zeitschr. f. ration. Med. 3. R. Bd. 7 S. 12.

0,23 g = 8 % auf Trockensubstanz bezogen fand, Lehmann¹⁾ (0,5 %), Barreswill²⁾, Salkowski³⁾, enthält das Eiereiweiss nicht unbedeutende Mengen Traubenzucker.

Ausserdem sind die Versuche Cl. Bernard's von E. Külz⁴⁾ nachgeprüft worden und haben zu einem vollständig negativen Ergebnisse geführt. Külz hat grosse Mengen frischer Eier von *Musca vomitoria* in zwei Hälften getheilt. Die eine Hälfte wurde nach Brücke auf Glykogen untersucht. Sie enthielten keine Spur von Glykogen. Die andere Hälfte liess er mit gekochtem Hühnereiweiss einige Tage in verschlossenen Gefässen stehen. Es gelang ihm aber nicht, wägbare Mengen von Glykogen daraus zu gewinnen. Wenn er die Eier sich auf Pferdefleisch entwickeln liess, gelang es ihm zwar, geringe Mengen von Glykogen daraus darzustellen, aber daraus auf die Entstehung von Glykogen aus Eiweiss zu schliessen, hält er für unrichtig und nicht erwiesen, jedenfalls erhielt er aus Eiweissmäden niemals eine Spur von Glykogen.

Was nun schliesslich noch die Methode⁵⁾ betrifft, die Cl. Bernard für die Glykogenbestimmung wenigstens der Leber benutzte, so warf er die in Stücke geschnittene Leber in kochendes Wasser, zerstiess sie darauf in einem Mörser und setzte etwas Thierkohle hinzu, um die Farbstoffe und Eiweisssubstanzen zu entfernen. Nach einem abermaligen Aufkochen von einigen Minuten und Filtriren des schwärzlichen Dekokts erhielt er eine molkige, flockige, weissliche Flüssigkeit, aus welcher er das Glykogen durch Alkohol ausfällte. Da er nun an keiner Stelle angibt, ob er diese Fällung, die doch sicherlich noch durch viel Eiweiss verunreinigt ist, direct als Glykogen berechnet hat, oder ob er erst eine Reinigung durch Auswaschen mit Alkohol, Behandlung mit Kali und nachher mit Essigsäure vorgenommen hat, ja, ob er nicht, wie aus manchen Bemerkungen hervorzugehen scheint, nur aus dem Aussehen des wässerigen Auszuges auf den Gehalt an Glykogen geschlossen hat, so sind natürlich derartige Versuche, abgesehen davon, dass nach ein-

1) Lehmann, Lehrbuch der physiol. Chemie. 2. Aufl. 1853. Bd. 1 S. 271. Bd. 2 S. 212.

2) Journ. f. prakt. Chemie Bd. 50 S. 134.

3) Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1893 Nr. 30.

4) Dieses Archiv Bd. 24 S. 71.

5) Vorlesungen über Diabetes S. 178.

maligem Auskochen der grösste Theil noch im Rückstand steckt, nicht als Beweise für die Bildung von Glykogen aus Eiweiss zu betrachten.

Der folgende Forscher, Stokvis¹⁾, liess zwei Hunde neun Tage hungern, tötete den einen und fand keinen Zucker in der Leber; den anderen fütterte er acht Tage lang mit Fleisch, in welchem kein Zucker nachzuweisen war, und fand in der Leber 1,32 % Zucker. Wenn auch das Fleisch keinen Zucker enthalten hat, so enthielt es doch jedenfalls Glykogen, aus dem sich der Zucker der Leber gebildet hat.

Mac-Donnell²⁾ äussert sich nur kurz darüber, dass der Glykogengehalt der Leber einer Katze, die nur mit Fleisch ernährt war, nur eine zwei Drittel so grosse Glykogenmenge enthielt, wie die eines Kaninchens, das mit Rüben und Brot ernährt war, trotzdem das Gewicht der Katzenleber bedeutend grösser war als das der Kaninchenleber. Andererseits schliesst er aus seinen Versuchen, dass die Leber auch aus Fibrin, Pflanzenleim und frischem Fleisch Glykogen bilden kann, ohne weder anzugeben, wie er derartige Versuche angestellt, noch welche Methode der Glykogenbestimmung er benutzt hat.

Tscherinow³⁾ stellte hingegen seine Versuche zur Lösung dieser Frage an Hühnern an. Er liess Hühner zwei Tage hungern, wodurch nach seinen Versuchen das Verschwinden des Glykogens bis auf ein Minimum erreicht werden würde, und fütterte dieselben dann 2—4 Tage lang mit Fibrin, Fett und Salz, oder mit Fleisch oder mit Kohlehydraten. Seine Versuchsergebnisse stellen nach ihm vollkommen ausser Zweifel die Thatsache, dass die Kohlehydrate im Futter, wenn sie reichlich zugeführt werden, bereits in wenigen Tagen das Glykogen vermehren, während den Eiweisskörpern und Fetten solche Wirkung nicht zukommt.

Wenn auch seine Versuche im Bezug auf die Frage der Glykogenbildung aus Eiweiss negativ ausgefallen sind und es in diesem

1) Stokvis, Bijdragen tot de kennis van de zuckervorming in de lever. Dissert. Utrecht 1850. Originalref. von Stokvis. Wiener med. Wochenschr. 1857 S. 236 und Canstatt's Jahresber. Bd. 4 S. 350. 1857.

2) Compt. rend. Bd. 60 S. 963—965. 1865 und Journal de la Physiologie, herausgeg. von Brown-Séguard, Bd. 6 S. 554. 1863. (Diese Stelle ist in allen Arbeiten falsch citirt.)

3) Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. in Wien. Math.-naturw. Classe Bd. 51 Abth. 2 S. 412 und Virchow's Archiv Bd. 47 S. 102. 1869.

Falle nicht notwendig sein wird, zu untersuchen, ob sein Fütterungsmaterial frei von Kohlehydraten war, so stellt doch die von ihm angewandte Methode der Glykogenbestimmung seine sämtlichen Versuchsergebnisse in Frage. Er bestimmte nämlich nicht den absoluten Gehalt der Leber an Glykogen, sondern nur den relativen. Er nimmt an, dass die Leber an stickstofflosen Substanzen ausser Glykogen nur solche enthält, die in Alkohol und Aether löslich sind. Er extrahierte also die Leber mit Alkohol und Aether, trocknete den Rückstand und bestimmte seinen Stickstoffgehalt. Dieser Stickstoffgehalt gibt ihm dann einen Maassstab für die relativen Mengen des Glykogens, indem er ihn mit dem Stickstoffgehalt der mit Alkohol und Aether erschöpften Leber vergleicht, den er nach Berechnung aus Bibra'schen Analysen für constant hält. Nun ist zunächst nicht bewiesen, dass die Leber ausser dem Glykogen nur solche Nfreie Substanzen enthält, die in Alkohol und Aether löslich sind, ferner ist es bekanntlich nicht möglich, durch zweimaliges Ausziehen mit Alkohol und Aether die Leber zu extrahieren, dann ist die constante Zahl 15,47 für den Ngehalt der Leber doch nur eine Mittelzahl und nicht einmal die Mittelzahl für Hühnerleber, mit denen er arbeitete, so dass eine Abweichung von nur $\frac{1}{2}\%$ im Ngehalt schon einen Unterschied von 6% für den Glykogengehalt der Leber ausmacht. Diese Betrachtung stellt also die Ergebnisse Tscherinow's vollständig in Frage.

Ebenso wie Tscherinow gelangte auch Dock¹⁾ zu einem negativen Resultate. Er liess ein Kaninchen zwei Tage hungern und spritzte demselben an vier Tagen im ganzen 90 g Eiereiweiss ein. Die Leber zeigte keine Spur von Glykogen, das nach Brücke bestimmt wurde.

In den meisten nun folgenden Arbeiten wird einfach angegeben, das Glykogen würde nach Brücke (ohne nähere Einzelheiten) bestimmt. Nun ist schon von Külz²⁾ mit Recht hervorgehoben worden, dass es nicht zu ersehen ist, ob dieselben das Glykogen nochmals auflösten und seinen Aschegehalt bestimmten. „Beide Operationen sind stets unerlässlich, ganz besonders dann, wenn es sich um geringe Mengen handelt, die zu schärferen Schlüssen verwerthet werden sollen.“ Ausserdem geben die Versuche, bei denen das Brücke'sche

1) Dieses Archiv Bd. 5 S. 576.

2) Festschrift S. 82.

Verfahren wohl zur Reinigung des Glykogens angewandt worden ist, die Organe selbst aber nur mit Wasser ausgezogen sind — und dies ist mit Ausnahme eines Versuches von Weiss bis R. Külz allgemein geschehen —, falsche Werthe, da ja in dem Organrückstand, nachdem es bis zur Erschöpfung mit Wasser ausgezogen ist, noch 20—25 % Glykogen stecken können.

In Folge dessen sind natürlich die Schlüsse, die aus derartigen Versuchsergebnissen gezogen werden, recht zweifelhafter Natur.

Auch Weiss¹⁾ und Luchsinger²⁾ gelangten zu dem Ergebniss, dass aus Eiweiss kein Glykogen entsteht.

Weiss ernährte Hühner, die er zuvor 24 Stunden hatte hungern lassen, zehn Tage lang mit frischem Rindfleisch (jedes Huhn pro Tag $\frac{1}{2}$ — $\frac{2}{3}$ Pfund), dann erhielten dieselben fünf Tage lang „gut ausgewaschenes, ausgepresstes und auf dem Zimmerofen in Porzellantaschen getrocknetes“ Fibrin, das er vor der Fütterung in verdünnter Kochsalzlösung quellen liess. In den Versuchen erhielt er folgende Ergebnisse:

1. Deutliche Spuren, nicht quantitativ untersucht.
2. 0,214 g,
3. 0,13 „
4. 0,069 „
5. keine Spur,
6. 0,018 g,
7. 0,06 „
8. 0,06 „
9. 0,28 „ (nur mit Fibrin und Kochsalz gefüttert),
10. 0,301 „

Nimmt man das Mittel aus diesen Versuchen, so ergeben sich 0,141 g Glykogen in der Leber nach Fleisch- und Fibrinfütterung. Nun fand E. Külz³⁾ nach sechstägigem Hungern bei Hühnern von ungefähr demselben Gewicht Schwankungen im Glykogengehalt der Leber 0—0,1788 g, in den meisten Fällen über 0,1 g. Da nun Weiss die Leber mit Kali zerkocht und den Aschegehalt des Glykogens bestimmt und in Abzug gebracht hat, so haben seine Versuche einen

1) Sitzungsberichte d. kais. Akad. d. Wissensch. in Wien, Abth. 3, Bd. 67 S. 5. 1873.

2) Dieses Archiv Bd. 8 S. 289.

3) Festschrift S. 88.

weit grösseren Werth wie die anderen, und zeigen jedenfalls, dass eine Leber nach Fütterung mit Fleisch und Fibrin nicht mehr Glykogen enthält als nach sechstägigem Hungern, also eine Bildung von Glykogen aus Eiweiss nicht stattgefunden hat.

Luchsinger liess ein Huhn 1 $\frac{1}{2}$ Tage hungern. Darauf erhielt es zwei Tage lang täglich $\frac{1}{4}$ Pfund sehr mageres, sorgfältig von jeglichen Fettresten befreites, fein zerhacktes, ausgesottenes Rindfleisch, dann fünf Tage lang je $\frac{1}{4}$ Pfund gut ausgewaschenes, getrocknetes Fibrin. Die Leber enthielt nur unwägbare (aber durch die Jodreaction nachweisbare) Glykogenmengen. Es hat sich also auch in diesem Versuche kein Glykogen aus Eiweiss gebildet.

Der Widerspruch nun zwischen den Angaben der verschiedenen Forscher veranlasste Naunyn¹⁾, die Frage von Neuem in Angriff zu nehmen, zumal da Hoppe-Seyler²⁾ in seiner Arbeit über den Ort der Eiweisszersetzung ohne Angabe von Belegen und Versuchen sich folgendermaassen darüber äussert: „Wird ein hungerndes Thier nicht mit Zucker, sondern mit Eiweiss gefüttert oder Leim, so steigt gleichfalls der Gehalt an Glykogen in der Leber, und man kann nicht bezweifeln, dass bei Eiweiss- oder Leimfütterung dies Glykogen in der Leber aus Eiweiss oder Leim gebildet ist.“

Naunyn fütterte Hühner bis zu sechs Wochen lang mit ausgekochtem Pferdefleisch. „Er kochte Pferdefleisch zwei Stunden lang tüchtig aus, presste unter der Presse scharf ab und stopfte die Thiere mit den erhaltenen Fleischrückständen unter Hinzufügen der nöthigen Menge einer Lösung von Chlornatrium und phosphorsaurem Kali.

Das Glykogen wurde nach Brücke bestimmt. Die folgende Tabelle S. 69 zeigt die von ihm erhaltenen Resultate:

Er schliesst daraus, dass in den ersten Tagen nach Anwendung dieser Nahrung die Leber in der That glykogenfrei geworden ist, dass nach dieser Zeit der Glykogenehalt der Organe wieder zu steigen anfängt, und wenn die beschriebene Fütterung mehrere Wochen hindurch fortgesetzt wird, dasselbe wieder recht bedeutende Zahlen zeigt, dass also die von Hoppe-Seyler behauptete Thatsache der Glykogenbildung aus Eiweiss richtig ist.

Wenn man nun bedenkt, dass nach den Untersuchungen von Külz³⁾ der Glykogenehalt der Leber von Hühnern, die sechs Tage

1) Arch. f. experim. Pathol. und Pharmakol. Bd. 3 S. 86. 1875.

2) Dieses Archiv Bd. 7 S. 411.

3) Festschrift S. 88.

Nr.	Art und Dauer der Fütterung	Gehalt an Glykogen in Procenten	
		Muskel	Leber
1	6 Tage ausgekochtes Fleisch	0,72	0,02
2	8 " " " "	—	0,24
3	14 " " " "	0,34	0,6
4	2 Wochen " " "	} 0,7	0,46
	1 Woche Fleisch und Fett		
5	5 Wochen ausgekochtes Fleisch . .	0,66	0,6
6	4 " " " " . .	—	0,77
7	6 " " " " . .	—	3,5
8	14 " " " " . .	0,4	1,03
9	14 Tage " " " . .	0,64	0,27
10	8 " " " " . .	0,71	0,4

gehungert haben, noch 1 % betragen kann, so bleibt von allen diesen Versuchen nur ein einziger, Nr. 7, übrig, bei dem der Glykogengehalt der Leber den maximalen Hungerwerth überschritten hat. Ausserdem ist aus seinen Angaben nicht zu ersehen, ob er die Organe nur mit Wasser auszog oder mit Kali aufschloss, ob er die Asche des Glykogens bestimmte und in Abzug brachte. Aber auch dieser eine positive Versuch verliert seine Beweiskraft, da das verfütterte Fleisch nicht frei von Glykogen war.

Abgesehen davon, dass, wie schon erwähnt, nach den Erfahrungen der verschiedensten Autoren bis zur Erschöpfung mit Wasser im Dampftopf ausgekochtes Fleisch noch grosse Mengen Glykogen enthält, so ist es sicher, dass durch zweistündiges Auskochen und nachheriges Auspressen das Fleisch nicht „als eine, absolut von Zucker und (im gewöhnlichen Sinne) zuckergebenden Substanzen freie Nahrung“ zu bezeichnen ist.

Um aber sicher festzustellen, ob es möglich ist, auf die von Naunyn angegebene Weise eine glykogenfreie Nahrung herzustellen, hat Külz¹⁾ von Frerichs eine umfassende Untersuchung darüber anstellen lassen, wie viel Glykogen noch im Fleischrückstand vorhanden sein kann: Ich lasse die auf das Pferdefleisch bezüglichen Zahlen in der Tabelle S. 70 folgen.

Aus diesen Versuchen geht also mit Sicherheit hervor, dass das von Naunyn verfütterte Material noch reich an Glykogen war und nicht frei von „Zucker und zuckergebenden Substanzen“.

1) Festschrift S. 79.

Nummer	Zur Glykogen- bestimmung wurde verwandt	Beschaffenheit bzw. vorbereitende Behandlung des Fleisches	Procent-Gehalt des noch vorhandenen Glykogens
1	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 10px;"> Pferdefleisch von demselben Thiere </div> <div style="font-size: 3em; margin: 0 10px;">}</div> </div>	Frisches todtentstarres Fleisch	0,683
2		2 Stunden mit Wasser ausgekocht und nach dem Kochen in der Hackmaschine zerkleinertes Fleisch. In Versuch 3 und 4 wurde noch abgepresst	0,237
3		—	0,211
4		—	0,202
5		8 Stunden mit Wasser im Dampftopf ausgekochtes Fleisch	0,142
6			0,135
7		Das Fleisch lag 8 Stunden bei 40° C. im Brütöfen	0,075
8		Nach 8 stündigem Liegen im Brütöfen (40°) wurde das Fleisch noch 2 mal 8 Stunden mit Wasser im Dampftöpfe ausgekocht. Nach beiden Abkochungen wurde abgepresst, nach der ersten das Wasser erneuert	0
9			0
10	Pferdefleisch	4 Stunden mit Wasser im Dampftöpfe ausgekocht und kräftig abgepresst	0,068
11	Pferdefleisch	Seit 2, Monaten eingepökelt Fleisch 2 Stunden mit Wasser im Dampftöpfe ausgekocht und abgepresst	0,096

Auch die jetzt folgenden Versuche von Wolffberg¹⁾ bringen die Frage nicht zur Entscheidung. Er stellte seine Versuche ebenfalls an Hühnern an, die eine vorbereitende Hungerzeit von 2×24 Stunden durchmachten. Dann wurden sie mit Fleischpulver gefüttert, das auf folgende Weise hergestellt war: „Sehr mageres todtenstarres Pferdefleisch wurde in glatte Riemen geschnitten, aus denen man mit möglichster Sorgfalt alle nicht muskulösen Theile entfernte. Die Riemen wurden in warmer Luft getrocknet und gepulvert. Von diesem Pulver wussten wir, dass es wegen der stark saueren Reaction beim Eintrocknen frei ist von Kohlehydraten“. Das Glykogen wurde nach Brücke bestimmt durch Auskochen mit Wasser, bis die colirte Flüssigkeit keine Opalescenz mehr zeigte, die Asche des Glykogens in Abzug gebracht. Er erhielt folgende Ergebnisse:

Nr.	Versuchsthier	Hungerzeit	Fütterungszeit	Menge des gefütterten Fleischpulvers	Glykogengehalt der Leber in Procent
1	Hühner	2 Tage	10 Tage	450 g	1,56
2	"	2 "	10 "	470 "	1,45
3	"	2 "	9 "	290 "	0,145 (7 Stunden nach der letzten Fütterung getödtet)
4	"	2 "	10 "	380 "	0,22 (24 Stunden nach der letzten Fütterung getödtet)

Er schliesst aus den beiden ersten Versuchen, dass „Lebern von Hühnern, welche vorher zwei Tage gehungert haben, nach Fütterung mit hinreichenden Mengen einer zweckmässig ausgewählten Eiweisskost während der Verdauung hinreichende Mengen Glykogen enthalten“, während die beiden letzten Versuche beweisen sollen, „wie schnell das Glykogen selbst nach bedeutender Anhäufung unter günstigen Umständen aus der Leber verschwindet“. Nun widersprechen die beiden ersten Versuche vollständig den beiden letzten. Denn in einem Zeitraum von 24 Stunden kann doch das

1) Zeitschr. f. Biologie Bd 12 S. 277.

hypothetisch aus Eiweiss gebildete Glykogen nicht schon wieder verschwunden sein? Ferner kann ja nach einer zweitägigen Hungerzeit der Glykogengehalt der Leber doch noch über 1 % betragen. Ausserdem ist das von ihm benutzte Fleischpulver nicht frei von Glykogen gewesen, wie von Külz¹⁾ nachgewiesen ist, der sich Fleischpulver nach Wolffberg's Methode darstellte und den Glykogengehalt bestimmte:

Nr.	Ursprung und Herstellung des Fleischpulvers	Glykogengehalt des Pulvers in Procent
1	Pferdefleischpulver, das von einem auswärtigen physiologischen Institute bezogen und genau nach Wolffberg's Methode bereitet wurde	0,097
2	Mageres Kuhfleisch wird mit der Hackmaschine zerkleinert auf Holztellern ausgebreitet, an der Sonne getrocknet und gepulvert . . .	0,055
3	Kuhfleisch in Riemen zerschnitten, sonst wie Versuch 2	0,134
4	Ochsenfleisch in Riemen zerschnitten und ebenso behandelt	0,302

Während die letzten Forscher Hühner als Versuchsthiere benutzten, kam v. Mering²⁾ zu dem schon von Cl. Bernard als Versuchsthier verwandten Hund zurück. Er liess mittelgrosse Hunde 14 Tage hungern und fand nach einer dreimonatlichen Fütterung mit magerem Pferdefleisch 17,1 g Glykogen in der Leber, in einem anderen Versuche nach einer vierwöchentlichen Fütterung 10,2 g, nach einer 14tägigen 8,3 g.

Er macht zwar keine Angaben weder über das Gewicht des Hundes, noch über die Menge des verfütterten Fleisches. Nehmen wir aber das Gewicht des Hundes zu 15 kg an und die Menge des täglich verfütterten Fleisches zu 500 g, welche jedenfalls kaum als zu gross angesehen werden kann. Nun enthält mageres, von gröberen Fetttheilen befreites Pferdefleisch im Mittel 1,7 % Glykogen — ich nehme das Mittel aus fünf verschiedenen Fleischsorten, die ich selbst³⁾ nach der Brücke-Külz'schen Methode analysirt habe, der Hund hat

1) Festschrift S. 81.

2) Dieses Archiv Bd. 14 S. 281.

3) Dieses Archiv Bd. 67 S. 395.

also pro Tag vielleicht 8,5 g Glykogen erhalten. Unter diesen Umständen ist der erwähnte Glykogengehalt der Leber nichts Auffallendes, und das Glykogen braucht gar nicht aus Eiweiss entstanden zu sein.

Ausserdem genügt bei Hunden eine 14—18 tägige Carenz sicher nicht, um eine vollständige Glykogenfreiheit zu garantiren, wie schon Cl. Bernard¹⁾ nachgewiesen hat, der bei Hunden, besonders bei älteren, nach 14 tägigem Hungern noch grosse Mengen von Glykogen in der Leber nachweisen konnte.

Wohl von der Erwägung ausgehend, dass das von ihm verfütterte Pferdefleisch noch Glykogen enthielt, gab er einem anderen grösseren Jagdhunde drei Tage lang täglich das Eiweiss von 20 Eiern. Das Eiweiss wurde vorher coagulirt und mit Alkohol und Wasser ausgewaschen. Die Leber enthielt 4,96 g Glykogen. Ein Controlthier von annähernd gleicher Grösse enthielt 0,48 g nach 18 tägigem Hungern. Die Annahme v. Mering's, dass das Eiereiweiss frei von Kohlehydraten sei, ist heute aber nicht mehr zulässig. Ich habe schon S. 63 erwähnt, dass das Eiereiweiss nicht unbedeutende Mengen von Traubenzucker enthält, der durch Coaguliren, Auswaschen mit Alkohol und Wasser sicher nicht entfernt ist, da bekanntlich Traubenzucker den Eiweissstoffen mit grösserer Zähigkeit anhaftet und beim Fällen mitgerissen wird, sodass es unmöglich ist, denselben durch Auswaschen zu entfernen.

Ausserdem sind in neuester Zeit eine Reihe von Untersuchungen bekannt geworden, aus denen hervorgeht, dass das Eiereiweiss kein einheitlicher Körper ist, sondern aus Eiweissstoffen, dem Ovalbumin und Erieglobulin, und einem Mucoid, dem Ovomucoid, besteht. Das Ovomucoid, von Neumeister²⁾, Salkowski³⁾, Mörner⁴⁾ dargestellt, ist ein Glykoproteid, welches leicht Zucker abspaltet und ungefähr 10 % der Trockensubstanz des Hühnereiweisses ausmacht. Auch das Ovalbumin ist nach den Untersuchungen von Hofmeister⁵⁾, Blumenthal⁶⁾, Eichholz⁷⁾, Fränkel⁸⁾, See-

1) Vorlesungen über Diabetes S. 330.

2) Zeitschr. f. Biologie Bd. 27 S. 369.

3) Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1893 S. 513 und 706.

4) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 18 S. 25.

5) Ebendasselbst Bd. 14, 16, 24.

6) Deutsche med. Wochenschr. 1899 S. 827.

7) Journ. of Physiology. July 1898.

8) Sitzungsber. d. k. Akademie in Wien. Dec. 1898.

mann¹⁾, Krawkow²⁾ ein Glykoproteid, das eine durch Säuren abspaltbare Kohlehydratgruppe enthält, und zwar berechnet Hofmeister den Gehalt an Kohlehydrat zu 15 %. Diese Thatsache wird zwar von Möerner und Spencer bestritten und als Folge der Verunreinigung durch Ovomuroid erklärt. Aber da Ovalbumin vom Ovomuroid nicht zu trennen ist, so ist doch das Eiereiweiss als kein kohlehydratfreies Futter zu betrachten.

Um noch einen anderen Eiweisskörper zu verfüttern, wurde im folgenden Versuche Fibrin als Nahrung gegeben. Eine grosse Dogge erhielt nach 21 tägigem Hunger 4 Tage lang je 450—500 g gut ausgewaschenes Ochsenfibrin. Die Leber enthielt 16,3 g Glykogen, die Leber eines Controlthieres nur 0,48 g.

Aber auch das Fibrin ist kein kohlehydratfreier Eiweisskörper. Zunächst gelang es Krawkow, auch aus Fibrin ein Osazon darzustellen. Dann enthält das Fibrin sicherlich Glykogen. Nach den Untersuchungen von Salomon³⁾, Huppert⁴⁾, Dastre⁵⁾, Kaufmann⁶⁾ ist es als sicher anzusehen, dass das Blut glykogenhaltig ist, und zwar befindet sich nach den übereinstimmenden Resultaten der Autoren das Glykogen hauptsächlich in den weissen Blutkörperchen, in welchen es auch im Eiter und der Lymphe nachgewiesen wurde. Nun geschieht die Bildung des Fibrins dadurch, dass sich weisse Blutkörperchen in grosser Menge auflösen und eine Substanz liefern, die die Gerinnung verursacht, also in das gebildete Fibrin eingeschlossen werden. Ferner schliesst das Fibrin bei seiner Bildung eine grosse Menge unveränderter weisser Blutkörperchen, vielleicht sogar Traubenzucker des Blutes ein. Da nun alle diese Substanzen durch einfaches Auswaschen nicht zu entfernen sind, so ist auch das Fibrin als kohlehydrathaltige Nahrung anzusehen.

Von allen Versuchen wäre nur ein einziger zu verwerthen, indem v. Mering einem Kaninchen in 36 Stunden 24 g Caseïnpepton gab und in der Leber 0,56 g Glykogen fand. Denn das Caseïn ist nach den übereinstimmenden Versuchen von Pavy⁷⁾ und Krawkow⁸⁾

1) Arch. f. Verdauungskrankheiten. October 1898.

2) Dieses Archiv Bd. 65.

3) Deutsche med. Wochenschr. 1877 Nr. 8 und 35.

4) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 18 S. 144.

5) Archive de Physiologie (5) 7 p. 538.

6) Compt. rend. t. 120 p. 567.

7) Pavy, Die Physiol. d. Kohlehydrate. Deutsch von Grube. Wien 1895.

8) l. c.

und neuerdings Wohlgemuth¹⁾ ein Eiweisskörper, der keine Kohlehydratgruppe enthält. Da er aber nicht weiss, wie gross der Glykogenegehalt bei Beginn des Versuches war und E. Külz²⁾ noch nach 6 tägigem Hunger 0,39 g Glykogen in der Kaninchenleber fand, so ist auch dieser Versuch nicht als ein Beweis für die Glykogenbildung aus Eiweiss zu betrachten, zumal da in Bezug auf die Methode nur angegeben ist, dass das Glykogen nach Brücke bestimmt ist, nicht aber, ob die Asche des Glykogens in Abzug gebracht ist.

Betrachten wir nunmehr die Versuche, die von Finn³⁾ zur Lösung dieser Frage aufgestellt sind, so ist zunächst zu bemerken, dass auch er Kaninchen zu seinen Versuchen benutzte. Er liess dieselben 6 Tage hungern und fütterte sie dann mit Fibrin. Fünf Versuche ergaben ein vollständig negatives Resultat, was nach Finn's Ansicht daher kam, dass am Schluss des Versuches sich die Fibrinflocken noch fast unverändert im Magen der Thiere vorfanden.

In weiteren fünf Versuchen fütterte er Kaninchen nach 5 tägigem Hungern mit dem Weissen vom Hühnerei, und um dem Einwand zu begegnen, dass das Verfütterte noch Traubenzucker enthielt, mit Eiweiss, aus dem durch Alkohol der Traubenzucker entfernt war. Die Thiere wurden am Ende des 7. Versuchstages getödtet.

Bei der Fütterung mit gewöhnlichem Eiweiss enthielt die Leber der Thiere:

0,174 — 0,089 — 0,212 — 0,482 g Glykogen,
mit gereinigtem Eiweiss:

0,142 — 0,234 — 0,312 — 0,392 g.

Nun hat E. Külz bei Kaninchen nach 6 tägigem Hungern den Glykogenegehalt der Leber bestimmt und fand z. B.:

0,158 — 0,107 — 0,3291 — 0,3283 — 0,293 g Glykogen.

Es liegt also kein zwingender Grund vor, die geringen Glykogenmengen, die Finn gefunden, aus dem zugeführten Eiweiss herzuleiten. Ausserdem fütterte er noch Hunde und Katzen nach einer 14tägigen Hungerzeit mit Fibrin, und zwar erhielten die Hunde in 25—30 Versuchstagen ungefähr 6 kg Fibrin, während die Katzen im Ganzen 2 kg in 20 Tagen frassen.

1) Berl. klin. Wochenschr. Nr. 34 S. 748. 20. Aug. 1900.

2) Festschrift S. 100.

3) B. Finn, Experimentelle Beiträge zur Glykogen- und Zuckerbildung in der Leber. Dissert. Würzburg 1877.

Die Hundeversuche ergaben einen Glykogengehalt von:

8,571 — 11,842 — 12,23 g,

die Katzenversuche einen solchen von:

1,913 — 1,684 g.

Abgesehen davon, dass keine Angabe über die Grösse, das Alter u. s. w. der Thiere gemacht ist und man aus der absoluten Menge des Glykogens nichts schliessen kann, da bekanntlich eine 14 tägige Carenz bei Fleischfressern nicht genügt, um die Leber glykogenfrei zu machen, so ist ja auch das verfütterte Fibrin, wie ich bei den v. Mering'schen Versuchen auseinandergesetzt, nicht frei von Kohlehydraten gewesen. Ferner ist keine Angabe gemacht, ob die Asche des Glykogens bestimmt und in Abzug gebracht ist. In Folge dieser Gründe lassen auch diese Versuche keine sicheren Schlüsse ziehen.

Die vielen zum Theil sich widersprechenden Angaben in der Literatur, die Mängel, die den einzelnen Versuchen anhaften, besonders aber der von R. Külz geführte Nachweis, dass die bisherigen Glykogenanalysen falsch seien, zum Theil zu geringe, zum Theil zu hohe Werthe geliefert haben, führten E. Külz dazu, der Frage der Glykogenbildung aus Eiweiss von Neuem näher zu treten und dieselbe entweder in positivem oder negativem Sinne zur Entscheidung zu bringen.

Durch die Erfahrungen belehrt, die er bei den Nachuntersuchungen der von den verschiedenen Forschern benutzten Eiweissstoffe gemacht hatte, stellte er sich zunächst ein Fleischpulver her, dass weder Glykogen noch Zucker, noch sonst einen reducirenden Körper, selbst nicht nach Kochen mit verdünnter Salzsäure enthielt.

Er zerkleinerte zunächst das von Fett und Sehnen befreite Fleisch möglichst fein und liess es 4 Tage bei Zimmertemperatur liegen. Dann liess er den in einem grossen Fass mit 45 Liter Wasser von 40° C. durchgerührten Fleischbrei 2 volle Tage in einem stark geheizten Zimmer stehen. Die Temperatur des Wassers im Fasse schwankte zwischen 30° und 38° C. Der abgepresste Rückstand wurde zunächst im warmen Zimmer und dann bei höherer Temperatur getrocknet und gepulvert.

Wenn auch Külz in dem Fleischpulver kein Glykogen mehr nachweisen konnte, so ist es doch im höchsten Grade wahrscheinlich, dass dasselbe doch noch glykogenhaltig war. Denn zunächst steht es

nach den Untersuchungen von Pflüger¹⁾ fest, dass auch die E. Külz'sche Methode der Glykogenbestimmung zu niedrige Werthe liefert, da ein Theil des Glykogens in dem Eiweissniederschlag, der durch Fällen mit Brücke'schem Reagens entsteht, steckt und durch einfaches Auswaschen nicht entfernt werden kann. So konnte z. B. Pflüger in den Muskeln eines Hundes nach 38 tägigem Hungern nach der von ihm verbesserten Külz'schen Methode noch 0,0182% Glykogen nachweisen, während ich mich vergeblich bemüht hatte, nach der Brücke-Külz'schen Methode solches darin zu finden. Dann haben die neuesten Versuche von Nering²⁾ ergeben, dass ein Theil des Glykogens im Muskel chemisch gebunden ist und auch durch Kochen mit Kali nicht vollständig aus demselben zu erhalten ist.

Die ersten Versuche stellte Külz an Tauben an, die nach 3 tägigem Hungern mit dem Fleischpulver gefüttert wurden. „Aber in keinem Versuche führte die Fütterung mit Fleischpulver zu einer Anhäufung des Leberglykogens, die den maximalen Werth der Carenz-leber übersteigt.“

Die Vermuthung, dass die Taube kein für die Entscheidung der Frage günstiges Versuchsthier sei, bestimmte ihn, in den folgenden Versuchen Hühner zu benutzen. Zunächst bestimmte er in einer grossen Reihe von Versuchen den Glykogengehalt der Leber und der Muskulatur von Hühnern nach 6 tägigem Hungern. Nehmen wir aus seinen Zahlen die Maximalwerthe des Glykogengehalts der Leber und der Muskeln heraus, so ergibt sich:

Dauer der Carenz	Glykogengehalt der Leber		Glykogengehalt der Muskulatur in g
	in g	in Procent	
6 Tage	0,1314	0,82	1,2625
6 „	0,1193	0,95	0,9595
6 „	0,1325	0,90	—
7 „	0,1130	0,81	1,7006
7 „	0,1332	0,97	—
6 „	0,0596	0,43	1,7011

Er folgert daraus, dass auch nach 6 tägigem Hungern der Glykogengehalt der Hühnerleber bis zu beinahe 1% betragen kann

1) Dieses Archiv Bd. 75 S. 120.

2) Dieses Archiv Bd. 81 S. 8.

und das Glykogen der gesammten Muskulatur noch 1,7 g. Sonderbarer Weise ist gerade in dem Falle, wo die Leber noch 0,97% Glykogen enthält, das Glykogen der Muskulatur nicht bestimmt worden, wird aber wahrscheinlich wohl noch über 1,7 g betragen haben.

Die Fütterungsversuche an Hühnern, die nach 3 tägigem Hungern verschieden lange bis zu 43 Tagen mit dem Fleischpulver gefüttert wurden, ergaben für die Leber und Muskulatur folgende Werthe:

Nr.	Dauer der Fütterung	Gesammtmenge des verfütterten Fleischpulvers	Glykogengehalt	
			der Leber in Procent	der Muskeln in g
1	8 Tage	450 g	0,291	1,7824
2	15 "	1040 "	0,137	1,653
3	18 "	1180 "	0,93	1,7482
4	28 "	1910 "	0,725	1,9564
5	11 "	550 "	1,447	0,9862
6	43 "	3210 "	0,740	2,4736

In der Leber wurde also nur ein einziges Mal der Maximalwerth der Carenzleber überschritten, und zwar gerade in dem Versuche, wo die Fütterung nur 11 Tage gedauert hat, während bei einer Fütterung von 43 Tagen der Maximalwerth der Carenzleber nicht erreicht wird.

Auch Külz kann aus diesem Resultate nicht einen Beweis für eine Glykogenbildung aus Eiweiss erblicken, da doch die Möglichkeit vorhanden wäre, dass sein Fleischpulver noch ein Kohlehydrat enthielte, es aber doch jetzt sicher ist, dass dasselbe noch Glykogen enthalten hat. Desshalb stellt er seine nächsten Versuche mit reinen Eiweisskörpern an. Von diesen scheiden zunächst einmal aus den schon erörterten Gründen die Versuche aus, bei denen zur Fütterung Fibrin, Eieralbumin und Serumalbumin¹⁾ benutzt wurden, weil dieselben noch Kohlehydrate enthielten.

Für die Entscheidung der Frage bleiben also nur die Versuche übrig, in denen Casein zur Fütterung benutzt wurde. Da nun in den 3 ersten Caseinversuchen das Casein noch grosse Mengen Fett enthielt, und Külz selbst diesen Fettgehalt als einen Versuchseinwand betrachtet, so bleibt schliesslich ein einziger Versuch übrig,

1) Auch aus Serumalbumin hat Krawkow ein Osazon dargestellt.

der, abgesehen von der Falschheit der Methode der Glykogenbestimmung, unter möglichster Vermeidung von Versuchsfehlern an- gestellt ist, und dieser Versuch ist nicht positiv, sondern negativ ausgefallen. Denn die Leber des Huhnes, das nach 6 tägigem Hungern 6 Tage mit Casein gefüttert wurde, enthielt 1,03 %, die Muskulatur 1,4789 g Glykogen.

Nun war der Maximalwerth der Carenzleber 0,97 % und der Carenzmuskulatur noch 1,7 g. Bei solchen geringen, doch innerhalb des Bereiches der Fehlergrenzen liegenden Unterschieden kann wohl von einer Bildung von Glykogen aus einem reinen Eiweisskörper nicht mehr die Rede sein.

Die kritische Besprechung der bisherigen Untersuchungen hat also ergeben, dass in der ganzen Literatur kein Versuch existirt, der absolut einwandsfrei und mit genügender Sicherheit feststellt, dass aus Eiweiss Glykogen entsteht.

Da es aber für eine Reihe von physiologischen Fragen von Wichtigkeit ist, die Möglichkeit der Glykogenbildung aus Eiweiss in dem einen oder anderen Sinne zu entscheiden, so folgte ich gerne einer Aufforderung von Herrn Prof. Pflüger, diese Frage nochmals experimentell zu prüfen.

Zunächst stand es für uns fest, dass als einziges brauchbares Fütterungsmaterial das Casein in Betracht kam, da es ein Eiweisskörper ist, in dem keine Kohlehydratgruppe nachgewiesen worden, da es leicht in grösseren Mengen dargestellt und vollständig frei von Milchzucker erhalten werden konnte.

Das Casein wurde nach der Methode von Hammarsten dargestellt. Die Milch wurde zu dem Ende mit 4 Vol. Wasser verdünnt und das Casein mit wenig Essigsäure ausgefällt. Das ausgeschiedene Casein wird durch Auswaschen, wiederholtes Auflösen mit Hülfe von möglichst wenig NaOH, Filtration, Ausfällen mit Essigsäure und vielfaches Auswaschen mit Wasser so lange gereinigt, bis kein Zucker mehr nachzuweisen war. Dann wurde es mit Alkohol und Aether gewaschen, in vacuo über Schwefelsäure getrocknet, fein gepulvert und unter mehrmaliger erneuter Pulverisirung 8 Tage lang im Soxleth'schen Extractionsapparat mit Aether behandelt und in vacuo über Schwefelsäure getrocknet.

Bezüglich der Versuchsanordnung war es für uns selbstverständlich, dass wir uns nicht darauf beschränken konnten, den Glykogen-

gehalt der Leber allein zu bestimmen, sondern dass nur eine Bestimmung des Glykogengehaltes des ganzen Thieres einem exacten Versuche entsprechen konnte. Denn, nachdem von Athanasiu¹⁾ nachgewiesen war, dass bei der Phosphorvergiftung eine Wanderung des Fettes von den Muskeln nach der Leber stattfindet und dadurch eine scheinbare Vermehrung des Fettgehaltes der Leber hervorgerufen wird, während der Gesamtfettgehalt des Thieres unverändert bleibt, war doch immerhin die Möglichkeit vorhanden, dass auch für das Glykogen ähnliche Erscheinungen sich zeigen konnten.

Als Versuchsthiere benutzte ich Frösche, da man einerseits von diesen Thieren eine grosse Anzahl zu einem Versuche benutzen und dadurch den Beobachtungsfehler, der sich in Folge der individuellen Unterschiede der einzelnen Thiere ergibt, nach grösster Möglichkeit verringern kann, andererseits die Ernährung der Thiere sehr bequem mittelst der Schlundsonde auszuführen war.

Es wurden in jedem Versuche 3 Versuchsreihen durchgeführt, und zu jeder Versuchsreihe dieselbe Zahl von Fröschen benutzt, deren Gesamtgewicht fast vollständig übereinstimmte. Wenn eben möglich, wurden zu den Versuchen nur Thiere gleichen Geschlechts und gleichen Gewichts benutzt, sonst wurden die Frösche, sowohl in Bezug auf das Geschlecht als auch in Bezug auf das Gewicht gleichmässig auf die 3 Versuchsreihen vertheilt.

Die erste Reihe der Frösche wurde zur Bestimmung des Glykogengehaltes der Thiere am Anfange des Versuches benutzt. Die zweite Reihe wurde mit Casein gefüttert. Das Casein wurde in einer verdünnten Natriumbicarbonatlösung gelöst, und jeder Frosch erhielt pro Tag 1 ccm einer 10%igen Lösung = 0,1 g Casein. In der dritten Versuchsreihe wurde den Thieren eine verdünnte Natriumbicarbonatlösung eingespritzt, und zwar jedem Thiere 1 ccm einer Lösung, deren Gehalt an Natriumbicarbonat dem Gehalt der Caseinlösung an solchem entsprach.

Die Bestimmung des Glykogens geschah nach der Methode von Pflüger-Nerking²⁾, indem die Frösche nach Betäubung mit Chloroform sofort in siedende Kalilauge gebracht wurden, worin sie sich in sehr kurzer Zeit bis auf die Knochen auflösten. Es wurde dafür Sorge getragen, dass bei den verschiedenen Versuchsreihen

1) Dieses Archiv Bd. 71 S. 318.

2) Dieses Archiv Bd. 76 S. 531.

eines Versuches absolute gleiche Bedingungen in Bezug auf die Glykogenanalyse beobachtet wurden, sowohl bezüglich der Kochdauer als auch der nachherigen Bestimmung des Glykogens.

Die Angaben über den Glykogengehalt der Frösche sind immer auf das Gewicht der Frösche bei Beginn des Versuches, also auf das Anfangsgewicht bezogen, zu verstehen. Vor dem Versuch wurden die Frösche längere Zeit ohne Nahrung im Institute unter gleichen Bedingungen gehalten.

Versuch I.

Zum Versuche wurden 3×11 Frösche benutzt, und zwar 5 Männchen und 6 Weibchen. Die Frösche wurden 19 Tage lang gefüttert.

1. Glykogengehalt der Frösche am Anfang des Versuches.

373 g Frosch.

Die Frösche enthalten 0,3647 % Glykogen.

2. Glykogengehalt der Frösche nach Caseinfütterung.

(Ein Frosch starb während des Versuches.)

322,9 g Frosch am Beginn des Versuches

304,3 „ „ „ Ende „ „

Die Frösche enthalten 0,3309 % Glykogen.

3. Glykogengehalt der Hungerfrösche.

(Ein Frosch starb während des Versuches.)

335,5 g Frosch am Anfang des Versuches

305,8 „ „ „ Ende „ „

Die Frösche enthalten 0,2436 % Glykogen.

100 g Frosch enthalten also:

1. bei Beginn des Versuches 0,3647 % Glykogen,
2. nach Caseinfütterung 0,3309 % „
3. nach Hunger 0,2436 % „

Versuch II.

Zum Versuche 3×42 Frösche (Männchen) benutzt. Die Frösche 13 Tage gefüttert.

1. Glykogengehalt der Frösche am Anfange des Versuches.

891,4 g Frosch.

Die Frösche enthalten 0,2118 % Glykogen.

2. Glykogengehalt der Frösche nach Caseinfütterung.

837,6 g Frosch am Anfang des Versuches,

961,5 g „ „ Ende „ „

Die Frösche enthalten 0,2327 % Glykogen.

3. Glykogengehalt der Hungerfrösche.

888,9 g Frosch am Anfang des Versuches,

892,3 g „ „ Ende „ „

Die Frösche enthalten 0,1479 % Glykogen. 100 g Frosch enthalten also:

1. bei Beginn des Versuches 0,2118 % Glykogen,

2. nach Caseinfütterung . 0,2327 % „

3. nach Hunger 0,1479 % „

Versuch III.

Zum Versuche wurden 3×25 Frösche benutzt, und zwar 8 Männchen und 17 Weibchen in jeder Reihe. Die Fütterung dauerte 8 Tage.

1. Glykogengehalt der Frösche am Anfange des Versuches.

630,6 g Frosch.

Die Frösche enthalten 0,2344 % Glykogen.

2. Glykogengehalt der Frösche nach Caseinfütterung.

627,4 g Frosch am Anfang des Versuches,

682,0 g „ „ Ende „ „

Die Frösche enthalten 0,1608 % Glykogen.

3. Glykogengehalt der Hungerfrösche.

632 g Frosch am Anfang des Versuches,

636 g „ „ Ende „ „

Die Frösche enthalten 0,1786 % Glykogen. 100 g Frosch enthalten also:

1. bei Beginn des Versuches 0,2344 g Glykogen,

2. nach Caseinfütterung . 0,1608 g „

3. nach Hunger 0,1786 g „

Versuch IV.

Beim Versuch wurden 3×33 Frösche benutzt, und zwar 14 Weibchen und 19 Männchen. Die Fütterung dauerte 11 Tage.

1. Glykogengehalt der Frösche am Anfang des Versuches.

591,3 g Frosch.

Die Frösche enthalten 0,2209 % Glykogen.

2. Glykogengehalt der Frösche nach Caseinfütterung.

571,5 g Frosch am Anfang des Versuches,

591,5 g „ „ Ende „ „

Die Frösche enthalten 0,2659 % Glykogen.

3. Glykogengehalt der Hungerfrösche.

597,9 g Frosch am Anfang des Versuches,

581,0 g „ „ Ende „ „

Die Frösche enthalten 0,1864 % Glykogen. 100 g Frosch enthalten also:

1. am Anfang des Versuches 0,2209 g Glykogen,
2. nach Caseinfütterung . 0,2659 g „
3. nach Hunger 0,1864 g „

Nr. des Versuches		Anzahl der Frösche	Anfangsgewicht in g	Endgewicht in g	Menge des gefütterten Caseins in g pro die	Glykogengehalt in Procent des Anfangsgewichts
1	Controlfrösche	11	373,0	—	—	0,3647
	Caseinfrösche	10	322,9	304,3	0,1	0,3309
	Hungerfrösche	10	335,3	305,8	—	0,2436
2	Controlfrösche	42	891,4	—	—	0,2118
	Caseinfrösche	42	887,6	961,5	0,1	0,2327
	Hungerfrösche	42	888,9	892,3	—	0,1479
3	Controlfrösche	25	630,6	—	—	0,2344
	Caseinfrösche	25	627,4	682,0	0,1	0,1608
	Hungerfrösche	25	632,0	636,0	—	0,1786
4	Controlfrösche	33	591,3	—	—	0,2209
	Caseinfrösche	32	571,5	591,5	0,1	0,2659
	Hungerfrösche	33	597,9	581,0	—	0,1864

Fassen wir nun die Ergebnisse der Versuche der Caseinfütterung zusammen, so ergibt sich in zwei Fällen eine Abnahme des Glykogengehalts nach Caseinfütterung:

Versuch 1 — 0,0338 g auf 100 g Thier,

„ 3 — 0,0736 g „ 100 g „

in zwei Fällen eine Zunahme des Glykogengehalts:

Versuch 2 + 0,0209 g auf 100 g Thier,

„ 4 + 0,045 g „ 100 g „

Um nun den allgemeinen Mittelwerth zu finden, kann man nicht einfach die Differenzen addiren und daraus das algebraische Mittel berechnen, sondern da bei jedem Versuche die Anzahl der Thiere verschieden ist, muss auch die Zahl der Thiere in Betracht gezogen werden. Denn die Ergebnisse der Versuche, in denen die Anzahl der Thiere eine grössere ist, nähern sich natürlich viel mehr dem allgemeinen Mittelwerthe als die Ergebnisse der Versuche mit einer kleineren Zahl der Thiere.

Man muss also in jedem Versuch die Differenz in + oder — für 100 g Thier mit der Zahl der Individuen multipliciren und daraus das Mittel nehmen, indem man die algebraische Summe dieser Producte durch die Zahl sämmtlicher Individuen dividirt.

1. Die + - Gruppe:

Nr.	Differenz für 100 g Thier		Zahl der Thiere
2	0,0209	×	42 = 0,8778
4	0,045	×	32 = 1,44
			<hr/> 74 + 2,3178.

2. Die — - Gruppe.

Nr.	Differenz für 100 g Thier		Zahl der Thiere
1	0,0338	×	10 = 0,338
3	0,0736	×	25 = 1,84
			<hr/> 35 — 2,178

Man erhält also:

$$\frac{+ 2,3178 - 2,178}{74 + 35} = \frac{0,1398}{109} = 0,001 \text{ g Glykogen,}$$

d. h. 100 g Frosch haben nach Fütterung mit Casein eine Vermehrung ihres Glykogengehalts um 0,001 g erhalten, oder Fütterung mit Casein führt keine Vermehrung des Gesamtglykogengehalts der Thiere herbei.

Ich glaube durch diese Versuche mit absoluter Sicherheit bewiesen zu haben, dass aus einem Eiweisskörper, der keine Kohlehydratgruppe enthält, kein Glykogen entsteht.

Aus diesen Versuchen geht die bemerkenswerthe Thatsache hervor, dass die Frösche, welche mit Casein gefüttert worden sind, das in ihnen vorrätige Glykogen gespart haben, weil offenbar, wie bei den Warmblütern, das in der Nahrung zugeführte Eiweiss in

erster Linie für die Bedürfnisse des Stoffwechsels oxydirt wird. Von besonderer Wichtigkeit erscheint es deshalb, dass die mit Eiweiss gefütterten Frösche, im Gegensatz zu den hungernden, eine beträchtliche Gewichtszunahme erfahren haben, die doch wohl nur auf Fleischansatz bezogen werden kann. Trotz der hieraus folgenden im Ueberschuss zugeführten Eiweissmenge hat sich also kein Glykogen gebildet. Beim Hungern haben dagegen die Frösche ihr Glykogen zur Bestreitung ihrer Bedürfnisse verbraucht, sodass also beim Hungern der Glykogenbestand des Froschkörpers in allen Versuchen bedeutend verringert ist, und zwar haben 100 g Frosch im Mittel nur 0,111 g an Glykogen abgenommen.

Zum Schlusse möchte ich noch bemerken, dass in Folge der Untersuchung von Nerking natürlich auch diese Versuche mit einer gewissen Reserve aufzunehmen sind. Jedenfalls beweisen sie aber doch die Thatsache, dass alle bisherigen Versuche, die für eine Bildung aus Eiweiss gedeutet wurden, falsch sind.

Herrn Geheimrath Pflüger spreche ich für die Anregung und vielfache Unterstützung, die er mir auch bei dieser Arbeit hat zu Theil werden lassen, meinen herzlichsten Dank aus.