Zur Frage des Blutzuckers.

Von

A. Stasiak.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Budapest. Direktor: Prof. Géza Farkas.)
(Der Redaktion zugegangen am 7. August 1922.)

Verschiedene Autoren stellten wiederholt fest, daß es im Blut Substanzen gibt, die nach der Hydrolyse mit Mineralsäuren reduzierende Körper abspalten, so daß die im wesentlichen durch Glucose¹⁾ verursachte Reduktion des Blutes nach der Hydrolyse zunimmt. Diese Tatsache wurde zum ersten Male durch Pavy¹⁾ festgestellt. Nach ihm beschäftigte sich hauptsächlich Lépines²⁾ mit dieser Frage und gelangte dabei zum Begriffe des „sucre virtuel“, den er aber ziemlich inkonsequent gebraucht. Neuere diesbezügliche Versuche stammen hauptsächlich von Bierry³⁾, der aber Lépines Ergebnisse nur teilweise bestätigen konnte (ebenso Ege⁴⁾.

Da ja das Blut bekanntlich kohlenhydrathaltige Eiweißkörper enthält, so ist die Reduktionszunahme nach der Hydrolyse selbstverständlich. Fraglich ist aber, ob es außer diesen Kohlenhydratgruppen im eiweißfreien Blutfiltrate auch noch Substanzen gibt, welche eine Zunahme der Reduktion nach der Hydrolyse verursachen.

Von positiven Ergebnissen berichten Pavy¹⁾, der im Blute

¹⁾ Richtiger wäre es, von Reduktionswert, in Glucose berechnet, zu sprechen, da ja das Blut außer Glucose in kleinen Mengen nach Best²³⁾ auch andere Kohlenhydrate, ferner andersartige reduzierende Körper enthält, wie Glucuronsäure, Kreatin, Kreatinin, Harnsäure und das von Stepp²⁴⁾ gefundene Aldehyd.

das Eiweiß mit Äthyl- bzw. Methylalkohol fällt; Lépine⁶⁾ erwähnt an einer Stelle nach Enteiweißung des Blutes mit kochender Na_2SO_4 -Lösung eine Zunahme des Reduktionswertes, ohne Analysenwerte mitzuteilen; Frank und Brettschneider⁶⁾ gebrauchen kolloidales Eisenhydroxyd und kommen zu positiven Ergebnissen sowohl für Plasma wie auch für Blutkörperchen; ebenso (?) Cooper und Walker⁷⁾¹⁾; Cammidge⁸⁾ fällt das Eiweiß im Blute mit Natriumwolframat und kommt zum gleichen Ergebnis.

Hingegen berichtet Bierry⁹⁾, daß er keine Zunahme des Reduktionsvermögens fand weder im Blute, noch im Plasma, wenn er das Eiweiß durch Hitze, Quecksilberacetat oder Alkohol fällt, und neben anderen ist es hauptsächlich dieser Befund, der ihm zur Annahme des „sucre protéidique“ führt, den er mit dem „sucre en combinaison“ identifiziert. v. Körösy¹⁰⁾ fällt im Blute das Eiweiß mit kolloidalem Eisenhydroxyd, Gutmann und Adler¹¹⁾ mit Sublimat, Krok¹²⁾ nach Bangs Methode und kommen hierbei zu negativen Resultaten.

Bei Beginn meiner Arbeit stellte ich mir nun die Frage: kann sich im enteiweißten Blütfiltrate außer der direkt bestimmbaren, als Glucose angesprochenen Reduktion auch noch ein Teil des „kombinierten Zuckers“ finden? Unter „kombiniertem Zucker“ verstehe ich alle die reduzierenden Substanzen, welche der direkten Bestimmung als Glucose nicht zugänglich sind, doch nach der Hydrolyse reduzierend wirken. Somit soll der Begriff auch den „sucre protéidique“ umfassen, welcher letzterer in meinen Versuchen aber ausgeschlossen ist.

Anfänglich wollte ich untersuchen, wie sich das eiweißfreie Blütfiltrat vor und nach der Hydrolyse mit 2%iger Salzsäure verhält, wenn ich das Eiweiß einestheils nach Pavys¹³⁾ Vorschrift mit Äthylalkohol, anderenteils mit kolloidalem Eisenhydroxyd fälle. Die Bestimmung der Reduktion des Filtrates geschah nach Bertrand.

Doch die Ergebnisse der ersten Versuche zeigten bereits,

¹⁾ Näheres über die Enteiweißungsmethode ist aus dem mir zugänglichen Referate nicht ersichtlich.

daß Alkohol zur Enteiweißung des Blutes nicht geeignet ist, das Filtrat einesteils mit 20%iger Sulfosalicylsäure deutliche Fällung gab, anderenteils es einen bedeutend niedrigeren Zuckergehalt zeigte, als das Filtrat des mit kolloidalem Eisenhydroxyd enteiweißten Blutes. Sowohl diese als auch die späteren Angaben beziehen sich auf 100 ccm Blut.

Tabelle I.

Nr.	Blut	Fällung mit Eisenhydroxyd Glucose ‰	Fällung mit Alkohol Glucose ‰
1.	Hund; aus der Carotis	0,209	0,148
		0,204	0,138
2.	desgl.	0,106	0,013 0,013
3.	desgl.	0,124	0,043
		0,125	0,049
4.	Defbrin. Pferdeblut	0,050 0,050	0,011

Ähnliche Resultate erhielt auch Shaffer¹⁴, der einerseits mit Methylalkohol, andererseits mit kolloidalem Eisenhydroxyd enteiweißt; der Zuckergehalt des Methylalkoholfiltrates ist bedeutend geringer, als des Filtrates nach Fällung mit kolloidalem Eisenhydroxyd. Diese Resultate bestimmten mich dazu, Alkohol als Fällungsmittel nicht zu verwenden.

Ich blieb daher bei der Fällung mit kolloidalem Eisenhydroxyd und suchte ein Verfahren, welches mit womöglich kleinen Blutmengen arbeitet. Meinem Zweck entsprach verhältnismäßig am besten die Methode von Möckel und Frank¹⁵), obzwar hier die Einzelbestimmungen noch 5 ccm Blut erfordern.

Als Versuchstiere verwandte ich Hunde. Bei den ersten Versuchen habe ich bei Äthernarkose die A. carotis auspräpariert und durch eine Kanüle ca. 50 ccm Blut entnommen. Zur Verhinderung der Gerinnung gebrauchte ich Natriumcitrat. 5—5 ccm des so gewonnenen Blutes enteiweißte ich nach

Möckel und Frank; in einem Teil der Filtrate bestimmte ich sogleich die Reduktion, den anderen Teil brachte ich auf 2% Salzsäuregehalt und kochte ihn 2 Stunden lang am Rückflußkühler. Die Verbindung des Kochkolbens und Rückflußkühlers geschah ohne Kork- oder Gummipfropfen ganz einfach so, daß ich den kugelförmigen Kükler in den Hals des ca. 200 ccm fassenden Kjeldahlschen Kochkolbens setzte. Ich überzeugte mich davon, daß bis zum Ende der Hydrolyse weder im Volumen noch im Säuregehalt der Flüssigkeit eine Veränderung eintrat. Nach beendeter Hydrolyse kühlte ich die Flüssigkeiten ab, neutralisierte unter beständigem Kühlen und ermittelte dann ihren Reduktionswert. Die so erhaltenen Werte zeigt Tabelle II.

Tabelle II.

Blutentnahme aus der A. carotis; Äthernarkose.

Nr.	Vor der Hydrolyse Glucose %	Nach der Hydrolyse Glucose %	Differenz
1.	0,209 } 0,206 0,204 }	0,224 } 0,223 0,223 }	+ 0,017
2.	0,124 } 0,124 0,125 }	0,115 } 0,117 0,120 }	- 0,007
3.	0,122 } 0,126 0,130 }	0,141 } 0,147 0,154 }	+ 0,021
4.	0,208 } 0,205 0,202 }	0,234 } 0,232 0,230 }	+ 0,028

In 3 Fällen sehen wir also nach der Hydrolyse höhere Reduktionswerte, in einem Fall (Nr. 2) ist die Differenz innerhalb des Versuchsfehlers = 0 zu nehmen.

Meine Zuckerwerte sind relativ hoch, obgleich sie in die von Bang¹⁷⁾ angegebenen Grenzen fallen. Sie können ihre Erklärung finden teilweise in der durch die Fesselung bedingten psychischen Hyperglykämie, teilweise in dem Einfluß der Narkose. Es war naheliegend daran zu denken, ob die Differenz der Reduktionswerte vor und nach der Hydrolyse nicht ver-

schwindet oder sich vermindert, wenn ich die experimentelle Hyperglykämie soweit als möglich ausschalte. Darum trachtete ich die Blutentnahme dahin zu gestalten, daß dieselbe möglichst kurze Zeit in Anspruch nehme und die Narkose womöglich wegfalle. Deshalb entnahm ich im folgenden das Blut der frei präparierten V. jugularis mittels Punktion; anfangs narkotisierte ich kurze Zeit, später gebrauchte ich Äthylchloridanästhesie. Um den eventuellen Einfluß der Narkose und andauernder Fesselung zu untersuchen, ließ ich das Tier nach der ersten Blutentnahme 1—1 1/2 Stunden narkotisieren und wiederholte dann die Punktion an der Jugularis. Doch gelang ich, wie Tabelle III zeigt, auch so zu keinen anderen Ergebnissen.

Tabelle III.

Blutentnahme aus der Jugularis.

Nr.	Verfahren bei der Blutentnahme	Vor der Hydrolyse Glucose %	Nach der Hydrolyse Glucose %	Differenz
1.	5 Minuten Äthernarkose	0,156 } 0,146 } 0,151	0,200 } 0,195 } 0,197	+ 0,046
	nach 1 1/2 Stdn. Äthernarkose	0,202 } 0,209 } 0,205	0,261 } 0,266 } 0,263	0,058
2.	desgl.	0,138 } 0,139 } 0,138	0,136	- 0,002
	desgl.	0,142 } 0,146 } 0,144	0,178 } 0,183 } 0,180	+ 0,036
3.	desgl.	0,103 } 0,103 } 0,103	0,174 } 0,181 } 0,177	+ 0,074
	desgl.	0,283 } 0,278 } 0,280	0,332 } 0,332 } 0,332	+ 0,052
4.	Äthylchlorid- anästhesie	0,050 } 0,050 } 0,050	0,089 } 0,090 } 0,089	+ 0,039
	nach 1 Stunde Äthernarkose	0,089 } 0,090 } 0,089	0,206 } 0,210 } 0,208	+ 0,119
5.	Äthylchlorid- anästhesie	0,036 } 0,036 } 0,036	0,090 } 0,090 } 0,090	+ 0,054

Diese Fälle zeigen selbst bei der ersten Blutentnahme eher noch höhere Differenzen als die ersten Versuche, mit Ausnahme von Nr. 2, wo die Differenz in der ersten Blutprobe gleich 0 ist.

Zu den weiteren Versuchen wählte ich zur Blutentnahme ein noch rascheres Verfahren, die Herzpunktion.

Tabelle IV zeigt die Ergebnisse von 13 Untersuchungen; in fünf derselben (Nr. 2, 3, 5, 8, 12) ist die Differenz gleich 0, in den übrigen schwankt sie zwischen 0,016—0,079. Auch unter den neun, auf andere Weise entnommenen Blutproben (Tabelle II und III) sind zwei, die keine Differenz zeigen, während in den übrigen Fällen die Differenz 0,017—0,074 beträgt, einen extremen Fall (Nr. 4, Tb. III) ausgenommen, wo nach 1 stündiger Äthernarkose die Differenz 0,119 betrug.

Nach diesen Ergebnissen muß die Antwort auf die im Anfang gestellte Frage lauten: in den meisten Fällen finden wir im eiweißfreien Blutfiltrate ein Zunehmen des Reduktionsvermögens nach Salzsäurehydrolyse. Somit besteht der kombinierte Zucker des Blutes mindestens aus zwei Teilen: dem Eiweißzucker und dem in diesen Versuchen nachgewiesenen zuckerabspaltenden Bestandteile des eiweißfreien Blutfiltrates.

Nun stellte sich die nächste Frage: welche ist die Substanz, die das Anwachsen des Reduktionsvermögens nach der Hydrolyse bedingt? In Betracht käme, von glykosidartigen Körpern und gepaarten Glucuronsäuren abgesehen, ein Disaccharid, ehestens Maltose, anderseits kolloidale Polysaccharide, wie Glykogen- oder dextrinähnliche Substanzen. Bezüglich der letzteren wäre der Beobachtung von Freund¹⁸⁾ zu gedenken, der aus dem Blute das sogenannte „tierische Gummi“ darstellte, ferner der von Huppert¹⁹⁾, Pflüger²⁰⁾ und Schöndorff²¹⁾ nachgewiesenen minimalen Glykogenmengen. Diese Körper könnten ja als Vorläufer der wenig bekannten, aus dem Harne darstellbaren Polysaccharide betrachtet werden, wie dies Cammidge⁶⁾ für die von ihm im Blute und Harne nachgewiesenen polysaccharidartigen Substanzen wahrscheinlich macht.

Tabelle IV.

Nr.	Verfahren bei der Blutentnahme	Vor der Hydrolyse Glucose ‰	Nach der Hydrolyse Glucose ‰	Differenz
1.	Herzpunktion	0,060 } 0,059 0,058 }	0,100 } 0,099 0,098 }	+ 0,040
2.	desgl.	0,095 } 0,093 0,092 }	0,098 } 0,098 0,098 }	+ 0,005
3.	desgl.	0,080 } 0,080 0,081 }	0,080 } 0,080 0,080 }	0
4.	desgl.	0,040	0,117 } 0,119 0,122 }	+ 0,079
5.	desgl.	0,084 } 0,086 0,088 }	0,084 } 0,088 0,092 }	+ 0,002
6.	desgl.	0,108 } 0,110 0,112 }	0,156 } 0,156 0,156 }	+ 0,046
7.	desgl.	0,093 } 0,091 0,089 }	0,128 } 0,122 0,117 }	+ 0,031
8.	desgl.	0,116 } 0,112 0,108 }	0,108 } 0,105 0,103 }	- 0,007
9.	desgl.	0,089 } 0,089 0,089 }	0,107 } 0,104 0,102 }	+ 0,015
10.	desgl.	0,075 } 0,073 0,071 }	0,137 } 0,135 0,133 }	+ 0,062
11.	desgl.	0,070 } 0,068 0,066 }	0,112 } 0,112 0,112 }	+ 0,044
12.	desgl.	0,084	0,084 } 0,084 0,084 }	0
	nach 1 St. Äthernarkose Herzpunktion	0,210 } 0,210 0,210 }	0,205 } 0,205 0,205 }	- 0,005
13.	Herzpunktion	0,071 } 0,073 0,075 }	0,089 } 0,089 0,089 }	+ 0,016
	nach 1 St. Äthernarkose Herzpunktion	0,178 } 0,175 0,172 }	0,224 } 0,222 0,220 }	+ 0,047

Die Anwesenheit von Maltose neben Glucose im Blutfiltrate suchte ich durch die Osazonprobe festzustellen. Ich stellte aus dem Blutfiltrate (Tb. IV, Nr. 10 u. 11) die Osazone²³) dar, trocknete die mit Wasser und Benzol gut ausgewaschene kleine Krystallmenge, verrieb sie dann mit wenig Aceton und filtrierte. Aus dem Filtrate schieden sich jedoch keine Maltosazonkrystalle aus, während ich aus einem Maltose-Glucosegemisch von je 0,65% auf ähnliche Weise Maltosazonkrystalle erhalten habe. Übrigens konnte ich mir dann auch aus den Reduktionswerten berechnen, daß die Zunahme der Reduktion nicht auf Maltose zurückzuführen sein kann, da sonst die direkt bestimmte Reduktion des Blutfiltrates (aus Nr. 11 berechnet) nur zu ca. 25% von Glucose und zu ca. 75% von Maltose herrühren müßte.

Demnach enthält das Blut keine Maltose, wenigstens nicht in solchen Mengen, welche hier in Betracht kämen. Es muß also ein anderer, nach der Säurehydrolyse reduzierende Substanzen liefernder Körper im Blute vorhanden sein. Sollte dies ein kolloidales Polysaccharid sein, so mußte es wenigstens teilweise der Fällung durch kolloidales Eisenhydroxyd entgangen sein. Um dies zu entscheiden, mischte ich 5 ccm verschiedene, ca. 0,1%ige Polysaccharidlösungen (Amylum solub. Merck, Amylum tritici, Amylum solani, Dextrin, Glykogen) zu 5 ccm Blut, dessen Reduktionsvermögen nach der Hydrolyse ich bereits kannte, fällte das Gemisch mit kolloidalem Eisenhydroxyd und hydrolysierte das Filtrat (Tabelle V).

Diese Versuche zeigen, daß das kolloidale Eisenhydroxyd Dextrin überhaupt nicht fällt, von den verschiedenen Stärkearten und Glykogen geht auch ein größerer Teil der gesamten zugesetzten Menge in das Filtrat über.

Über ähnliche Versuche berichten auch Guttman und Adler¹¹), doch gebrauchten dieselben Sublimat als Fällungsmittel; in ihren Versuchen gelangte Amylum solub. Kahlbaum in das Filtrat, Glykogen und Amylum solani wurde aber ausgefällt, wie dies für Glykogen auch bei einem meiner Versuche — Tab. VI, Nr. 1 — nahezu zutraf. Auffallend war nun, daß dieselben Autoren in ihren Versuchen auch keine Zu-

Tabelle V.

Polysaccharidart	Reduktion des Polysaccharids nach der Hydrolyse in Glucose %	Reduktion des Blutes nach der Hydrolyse in Glucose %	Reduktion des Blut-Polysaccharidgemisches n. der Hydrolyse in Glucose %
Amylum solub. Merck	0,166 } 0,167 0,168 }	0,044 } 0,046 ¹⁾ 0,048 }	0,142 } 0,146 0,150 }
Amylum solani	0,994 } 0,997 0,100 }	0,112 } 0,112 0,112 }	0,156 } 0,159 0,162 }
Amylum tritici	0,120 } 0,120 0,120 }	Spuren ¹⁾	0,077 } 0,074 0,072 }
Dextrin	0,102 } 0,101 0,101 }	0,112 } 0,112 0,112 }	0,210 } 0,210 0,210 }
Glykogen	0,069 } 0,068 0,068 }	0,085 } 0,085 0,086 }	0,132 } 0,131 0,130 }
"	0,080 } 0,079 0,078 }	0,139 } 0,137 0,135 }	0,169 } 0,168 0,167 }

nahme des Reduktionswertes nach der Hydrolyse feststellen konnten. Darum stellte ich vergleichende Versuche an, indem ich in demselben Blute einesteils mit kolloidalem Eisenhydroxyd, andernteils mit Sublimat nach Schenk das Eiweiß fällte und dann den Reduktionswert vor und nach der Hydrolyse bestimmte (Tabelle VI).

Aus diesen Versuchen sehen wir, daß das Filtrat desselben Blutes nach der Hydrolyse bei Enteiweißung mit kolloidalem Eisenhydroxyd eine deutliche Differenz zeigt, während bei Fällung mit Sublimat dieselbe nicht nachzuweisen ist. Demgemäß wird also die Substanz, welche das Anwachsen des Reduktionswertes nach der Hydrolyse bedingt, durch Sublimat gefällt durch kolloidales Eisenhydroxyd jedoch jedenfalls nicht vollständig, ähnlich wie das Glykogen. Ich muß aber bemerken, daß keines der Blutfiltrate eine Jod-

¹⁾ Seit der Blutentnahme sind mehr als 24 Stunden verstrichen, daher die niedrigen Reduktionswerte.

Tabelle VI.

Reduktion des zugesetzten Glykogens nach der Hydrolyse in Glucose %	Fällung mit kolloid. Eisenhydroxyd				Fällung mit Sublimat			
	Reduktion des Blutes vor der Hydrolyse in Glucose %	Dasselbe nach der Hydrolyse in Glucose %	Diffe- renz	Reduktion des Blut- glykogen- gemisches nach der Hydrolyse in Glucose %	Reduktion des Blutes vor der Hydrolyse in Glucose %	Dasselbe nach der Hydrolyse in Glucose %	Diffe- renz	Reduktion des Blut- glykogen- gemisches nach der Hydrolyse in Glucose %
1. 0,080 } 0,079 0,078 }	0,114 } 0,114 } 0,114 }	0,139 } 0,137 } 0,135 }	+ 0,028	0,179 } 0,178 } 0,177 }	0,105 } 0,099 } 0,094 }	0,099 } 0,099 } 0,099 }	0	0,108 } 0,107 } 0,106 }
2.	0,119 } 0,122 }	0,156 } 0,152 }	+ 0,034		0,099 } 0,097 }	0,097 } 0,097 }	-0,001	
3.	0,088 } 0,088 }	0,142 } 0,145 }	+ 0,055		0,078 } 0,080 }	0,082 } 0,080 }	+0,002	

Nr.

reaktion gab. Somit weisen diese Versuche darauf hin, daß es sich um die Gegenwart eines kolloidalen Polysaccharides handeln dürfte. Was für eines muß vorläufig dahingestellt bleiben.

Zusammenfassung.

1. Hundeblut, sowohl arteriöses, wie venöses, enthält außer dem direkt bestimmbaren Traubenzucker ein komplexes Kohlenhydrat, welches das Anwachsen des Reduktionsvermögens im eiweißfreien Blutfiltrate nach der Hydrolyse mit 2%iger Salzsäure bewirkt.

2. Das komplexe Kohlenhydrat ist nicht Maltose; möglicherweise ist es ein kolloidales Polysaccharid.

Literatur.

1. Pavy, F. W., *Physiol. d. Kohlenhydrate*. Leipzig, Deuticke 1895; *On carbohydrate metabolism*. London, Churchill, 1906.
2. Lépine, R., *Le diabète sucré*. Paris, Alcan, 1909.
3. Bierry, H., und Mitarbeiter, C. R. Bd. 156, S. 480 u. 2010 (1913); Bd. 158, S. 61, 278, 516 (1914); Bd. 168, S. 1225 (1919); Bd. 172, S. 244, 1445 (1921); Bd. 173, S. 56 (1921); C. R. Soc. Biol. Bd. 72, S. 928 (1912); Bd. 73, S. 453, 454, 706, 707 (1912); Bd. 81, S. 476 (?); Bd. 83, S. 894, 1590 (1920). Seit Kriegsbeginn zit. nach Zentrbl. f. Bioch. u. Biophys. bzw. Berichte üb. d. gesamt. Physiol.
4. Ege, R., *Biochem. Zs.* Bd. 87, S. 92 (1918).
5. Lépine, R., *Le diabète sucré*. Paris, Alcan, 1909, S. 61.
6. Frank, E., u. Brettschneider, A., *Diese Zs.* Bd. 76, S. 233 (1911).
7. Cooper, E. A., u. Walker, H., *Ref. Berichte f. die gesamte Physiol.* Bd. 9, S. 243 (1921).
8. Cammidge, P. J., *The Lancet* Bd. 199, S. 393 (1920).
9. Bierry, H., C. R. Bd. 158, S. 278 (1914).
10. v. Körösy, K., *Diese Zs.* Bd. 86, S. 366 (1913).
11. Gutmann, S., u. Adler, O., *Biochem. Zs.* Bd. 83, S. 11 (1917).
12. Krok, G., *Biochem. Zs.* Bd. 92, S. 84 (1918).
13. Pavy, F. W., *Physiol. d. Kohlenhydrate*. Leipzig, Deuticke, 1895, S. 64.
14. Shaffer, Ph. A., *Journ. of Biol. Chem.* Bd. 19, S. 284 (1914).
15. Möckel, K., u. Frank, E., *Diese Zs.* Bd. 69, S. 85 (1910).

16. Bang, I., Der Blutzucker. Wiesbaden, Bergmann, 1913, S. 31.
 17. Freund, E., Zentrbl. f. Physiol. Bd. 6, S. 345 (1892).
 18. Huppert, Diese Zs. Bd. 18, S. 151 (1894).
 19. Pflüger, E., Das Glykogen. II. Aufl. Bonn, Hager, 1905, S. 165, 181.
 20. Schöndorff, B., Pflügers Archiv Bd. 99, S. 191 (1903).
 21. Lipmann, E. S., Chemie d. Zuckerarten, III. Aufl. Braunschweig, Vieweg, 1904, S. 1500.
 22. Best, I. W., Ref.: Zentrbl. f. Bioch. u. Biophys. Bd. 20, S. 474 (1919).
 23. Stepp, W., Biochem. Zs. Bd. 107, S. 60 (1920).
-