XVI.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik zu Breslau.

(Stellvertretender Direktor: Prof. Dr. Forschbach.)

Untersuchungen über die Kohlehydratverwertung des normalen und diabetischen Muskels. I.

Von

J. Forschbach und H. Schäffer.

Seit mehreren Jahrzehnten steht die Diabetesforschung bei der Frage nach der Ursache der Hyperglykämie und Glykosurie: Erlischt mit dem Wegfall des Pankreashormons primär die Fähigkeit des Organismus, das Hexosemolekül direkt oder nach vorhergehender Spaltung bis zu CO_2 und H_2O zu oxydieren, wodurch sekundär eine Überproduktion von Zucker aus Nichtkohlehydraten hervorgerufen wird (Minkowski), oder handelt es sich um eine primäre Steigerung des Zuflusses von Zucker (v. Noorden), der zum Teil aus Eiweiß, vielleicht auch aus Fett, neu gebildet wird, zum Teil präformiert aus dem Darm zufließt und, da er nicht mehr als Glykogen oder Fett abgelagert werden kann, in die Blutbahn und den Harn gelangt. In letzterem Fall kann die Zuckerverbrennung völlig erhalten, ja über die Norm gesteigert sein. Der Körper bestreitet seinen Energiebedarf fast ausschließlich auf Kosten der Kohlehydrate, und nur der im Übermaß zufließende Zucker muß ungenutzt ausgeschieden werden.

Ferner wäre es denkbar, daß die primäre Überproduktion infolge der Überschwemmung des Blutes und der Organe mit Zucker sekundär zu einer Hemmung im Kohlehydratabbau der zuckerverbrauchenden Stellen, vor allem der Muskeln führt. Die vermehrte Lieferung von Zucker aus präformierten Kohlehydraten und die Mehrbildung aus Nichtkohlehydraten stehen beim experimentellen Pankreasdiabetes außer allem Zweifel. Das Hauptproblem der Zuckerverbrennung hin-

gegen ist, obgleich auf verschiedenen Wegen angegriffen, nach dem Urteil aller berufener Kritiker nicht gelöst.

Man kann die für die Entscheidung der Frage wichtigen Ergebnisse einteilen in solche, die am Gesamtorganismus und solche, die am überlebenden isolierten Organ des pankreaslosen Tieres gewonnen sind. Die Beweiskraft jedes einzelnen ist in den neueren Referaten (Weintraud¹⁾, Magnus-Levy²⁾, Gigon³⁾, v. Noorden⁴⁾ u. a.) so oft besprochen, daß wir uns auf die Zufügung einzelner nicht ausgedrückter Gesichtspunkte und auf die Berücksichtigung der noch wenig zitierten neueren Literatur beschränken dürfen.

Zur ersten Gruppe gehören Versuche, die am diabetischen Tier den Einfluß der Muskulararbeit, bei der normalerweise die stärkste Kohlehydratverbrennung stattfindet, auf die Zuckerausscheidung im Harn festzustellen suchen. Dabei zeigt Seo⁵⁾ abweichend von Heinsheimer und Mohr⁶⁾, daß bei Totalexstirpation der Bauchspeicheldrüse, der für die Entscheidung der Frage ausschließlich gültigen Bedingung, Muskulararbeit keine Verminderung, oft sogar Steigerung der Glykosurie macht. Das Resultat würde wertvoller, wenn eine Blutzuckerkurve (Mikromethode) zur Kurve des Harnzuckers in Parallele gesetzt würde.

Ein Teil der Arbeiten, die eine Zuckerverwertung zu erweisen suchen, geht von der Tatsache aus, daß der Blutzucker normaler Tiere nach der Leberausschaltung bzw. Eventeration eine bedeutende Abnahme erfährt. Dies ist durch die Arbeiten von Bock und Hoffmann, Minkowski, Hédon, Seegen, Schenck, Kaufmann, Kausch, Tangl und Harley, Pavy und Siau⁷⁾ einwandfrei festgestellt. Kaufmann⁸⁾ untersuchte nun dasselbe am pankreaslosen Tier. Er unterband Aorta und Vena cava oberhalb des Zwerchfells, so daß weder Zucker aus der Leber ins Blut einströmen noch durch die Nieren abströmen konnte, und fand ebenfalls ein Absinken des Blutzuckers. Also sollte auch das diabetische Tier den Zucker verwerten können. Hédon⁹⁾ konnte diese Angabe seines Landsmannes nicht bestätigen.

1) Die deutsche Klinik XII, S. 147.

2) Oppenheimer, Handb. d. Biochemie IV, S. 1.

3) Ergebnisse der inneren Med. u. d. Kinderheilkunde IX.

4) Die Zuckerkrankheit, 6. Aufl., 1912.

5) Arch. f. exp. Path. u. Therapie 1908, Bd. 59, S. 341.

6) Zeitschr. f. exp. Path. 1906, II, S. 670; 1907, IV, S. 710.

7) Zit. nach Magnus-Levy, Hdbch. d. Bioch. IV, S. 314.

8) Cpt. r. de la Soc. de Biol. 1894, Bd. 46, S. 233.

9) Arch. de Phys. 1893, Bd. 24, S. 245.

Vor wenigen Jahren haben nun Macleod und Pearce¹⁾ sowie Patterson und Starling²⁾ diese Versuche unter ähnlichen Bedingungen wieder aufgenommen. Nach der Leberausschaltung bzw. Eventeration finden auch sie an diabetischen Tieren ebenso wie an normalen ein Absinken des Blutzuckers.

In einer Kritik dieser Versuche bemängeln Verzář und v. Fejér³⁾ das Fehlen von Wassergehaltsbestimmungen im Blut zu Beginn und am Ende des Versuchs, um den möglichen Einfluß einer Hydrämie auf das Resultat der Blutzuckeranalysen auszuschalten. Eine Wiederholung der Versuche unter den von Verzář und v. Fejér geforderten Bedingungen durch die Autoren selbst sowie durch zwei Schüler Verzářs, Krauß und Seiner⁴⁾, führte zu einer Bestätigung des ersten Resultates.

Während aber die Amerikaner aus ihren Ergebnissen den Schluß ziehen, daß auch das pankreaslose Tier Zucker zu verbrennen imstande sei, sind Krauß und Seiner vorsichtiger in der Deutung ihrer Befunde. Sie betonen mit Recht, daß aus der Tatsache des Verschwindens des Zuckers noch nicht darauf geschlossen werden kann, daß dieser auch wirklich bis zu den Endprodukten verbrannt worden ist, solange nicht die Möglichkeit eines unvollständigen Abbaues oder einer Synthese zu Glykogen oder einem Disaccharid (S. Levene und Meyer⁵⁾) ausgeschlossen werden kann, und daß außerdem die am eventerierten Tier gewonnenen Resultate nicht ohne weiteres auf das nur pankreaslose Tier übertragbar seien, da vielleicht durch die Entfernung der Leber Hemmungen beseitigt werden, die beim diabetischen Tier die Zuckerverbrennung verhindern.

Porges und Salomon⁶⁾ untersuchten den respiratorischen Quotienten nach Ausschaltung der Abdominalorgane. Sie unterbanden am gesunden Tier Aorta und Vena cava dicht unterhalb des Zwerchfells und fanden nach diesem Eingriff ein regelmäßiges Ansteigen des R.-Q. Ihre Deutung des Ergebnisses ist folgende: Die Leber allein hat die Funktion, Fette und Eiweiß oxydativ abzubauen und für den Organismus zu verwerten. Fehlt die Leber, so kann nur noch Kohlehydrat verbrannt werden, daher steigt der R.-Q. Die

1) Americ. Journ. of Physiol. 1909, Bd. 23, S. 278; 1913, Bd. 32, S. 184; 1914, Bd. 33, S. 378.

2) Journ. of Physiol. 1913, Bd. 47, S. 137.

3) Biochem. Zeitschr. 1913, Bd. 53, S. 140.

4) Ebenda 1914, Bd. 66, S. 56.

5) Journ. of biolog. Chem. 1911, Bd. 9, S. 97.

6) Biochem. Zeitschr. 1910, Bd. 27, S. 130 und 143.

pankreaslosen Tiere zeigen das gleiche Verhalten und müssen demnach ebenfalls Kohlehydrate verwerten können. Diese Versuche sind nicht lange ohne Widerspruch geblieben.

Verzár¹⁾ bestreitet mit Recht, daß aus der Erhöhung des R.-Q. notwendig auf gesteigerte Kohlehydratverbrennung geschlossen werden muß. Er bedient sich zur Leberausschaltung nicht der Eventeration, sondern einer von Quairollo angegebenen Operation und vermeidet damit einen Teil der Fehlerquellen, die ein so gewaltsamer Eingriff wie die Eventeration notwendig in sich schließt. Auch bei seinen Versuchen findet sich ein, wenn auch geringes Ansteigen des R.-Q. Dies beruht darauf, daß nach der Leberausschaltung die O₂-Aufnahme stärker absinkt als die gleichzeitige CO₂-Abgabe, wodurch der R.-Q. steigen muß. Es ist nicht zulässig, hieraus mit Porges eine Steigerung der Kohlehydratverbrennung zu folgern. N. Zuntz²⁾ schließt sich dieser Auffassung an. Außerdem haben Rolly³⁾ sowie Fischler und Grafe⁴⁾ die Ergebnisse von Porges und Salomon entschieden bekämpft.

Rolly findet zwar nach der Leberausschaltung ebenfalls eine Erhöhung des R.-Q.; in einigen Versuchen übersteigt dieser sogar die Einheit. Aber gerade hieraus folgt, daß eine Erhöhung der Kohlehydratverbrennung zum mindesten nicht die einzige Ursache dieses Ansteigens sein kann. Vielmehr weist Rolly⁵⁾ nach, daß die Ausschaltung der Abdominalorgane mit einer Alkaleszenzverminderung des Blutes einhergeht und daher zu einer Austreibung von CO₂ führen muß. Ob daneben nicht noch andere Vorgänge mitspielen, bleibt dahingestellt.

Auch Fischler und Grafe kommen auf Grund ihrer Versuche, in denen sie die Leber durch Anlegung einer Eckschen Fistel und Unterbindung der Leberarterie mittels einer zweizeitigen Operation vollkommen ausschalten, zu dem Ergebnis, »daß die Erhöhung des R.-Q. nach der Operation unmöglich auf eine vermehrte Zuckerverbrennung zurückgeführt werden kann«. Zur Erklärung ziehen sie ebenfalls die starke CO₂-Austreibung aus dem Blute heran. Ihre Versuche unterscheiden sich durch die längere Versuchsdauer wesentlich von denen ihrer Vorgänger. Sie können zeigen, daß auf den Anstieg des R.-Q. innerhalb der ersten 6 Stunden nach der Operation

1) Biochem. Zeitschr. Bd. 34, S. 52.

2) Oppenheimer, Handb. der Bioch. IV, S. 836.

3) Arch. f. klin. Med. 1912, Bd. 105, S. 495.

4) Ebenda Bd. 108, S. 516.

5) Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 22 und 23.

eine zweite Periode (7—12 Stunden) folgt, in der der R.-Q. entweder niedriger oder gerade so hoch ist, wie in der Zeit vor der Operation. In noch länger dauernden Versuchen folgt noch eine Schlußperiode, in der wieder ein geringer Anstieg zu erkennen ist. Die Werte der mittleren Periode sind für Schlußfolgerungen als die maßgebenden zu betrachten, da die Tiere sich zu dieser Zeit einerseits von den Folgen der Operation bereits erholt haben, andererseits noch nicht als moribund anzusehen sind. Hiermit halten sie den Beweis für erbracht, daß die Ausschaltung der Leber keine wesentliche Herabsetzung der Oxydationsfähigkeit für Eiweiß und Fett nach sich zieht.

Mit diesem Befund fallen die Voraussetzungen, auf denen Porges und Salomon ihre Folgerungen aufbauen.

Ebensowenig stichhaltig sind alle Schlüsse, die aus der Steigerung der Glykosurie nach Injektion von Phloridzin und Adrenalin, aus dem häufigen Fehlen der Acidosis und aus dem Verhalten der Glykosurie bei Wechsel der Außentemperatur (Lüthje) zugunsten einer Zuckerverbrennung gezogen sind.

Andererseits haben unmittelbare Beweiskraft auch nicht die Momente, die Minkowski für die Aufhebung der Zuckerverwertung ins Feld führt.

Per os und subkan eingeführter Traubenzucker wird im Harn des diabetischen Tieres vollkommen ausgeschieden. Davon hat sich der eine von uns in nicht veröffentlichten Untersuchungen von neuem überzeugt. Doch kann man sich denken, daß auch bei völlig erhaltener Kohlehydratverbrennung solcher zugeführter Traubenzucker wieder ausgeschieden wird, nachdem der gesamte Energiebedarf bereits auf Kosten der Kohlehydrate gedeckt ist.

Ebenso spricht die Konstanz des D:N nur indirekt für die Aufhebung der Kohlehydratverwertung, da es nicht feststeht, daß wirklich der gesamte aus Eiweiß neugebildete Zucker im Harn wieder erscheint und nicht daneben noch weitere Kohlehydratmengen im Körper zur Bestreitung des Energiebedarfs Verwendung finden.

Einen neuen Weg haben Verzár und v. Fejér¹⁾ eingeschlagen, indem sie den respiratorischen Gaswechsel zur Beantwortung der vorliegenden Frage heranzogen.

Subkutane Injektion von Dextrose führt am normalen Tier stets zur Erhöhung des R.-Q., womit sich die Verwertung des Zuckers im Stoffwechsel kundgibt. Verhalten sich pankreasdiabetische Tiere ebenso, so müssen auch sie Zucker verbrennen können.

1) Biochem. Zeitschr. 1913, Bd. 53, S. 140.

Die Versuche ergaben, daß die Tiere etwa bis zum 4. Tage nach der Pankreasexstirpation auf subkutane Zuckerzufuhr mit einer Erhöhung des R.-Q. reagierten. Nach dieser Zeit war keine deutliche Beeinflussung des Gaswechsels mehr erkennbar. Außerdem finden sie, daß Lävulose noch zu einer Zeit verbrannt werden kann, in der die Oxydation von Dextrose schon völlig daniederliegt, bis später auch diese Fähigkeit verloren geht.

Die Autoren sind sich bewußt, daß hierin wohl eine starke Stütze, aber doch kein überzeugender Beweis für die Theorie der gestörten Zuckerverbrennung zu erblicken ist (vgl. auch die Einwände Min-kowskis¹⁾ gegen die Verwertung des R.-Q.). Auch die in ihrer V. Mitteilung²⁾ erwähnten Tatsachen sind in hohem Maße geeignet, ihre früheren Ergebnisse zu stützen. Sie kommen zusammenfassend zu dem Schluß: »Es bleibt deshalb wohl kaum eine andere Erklärungsmöglichkeit, als daß die Fähigkeit, Zucker zu oxydieren, primär gestört ist.«

Unter einfacheren, klareren Bedingungen scheint die zweite Gruppe von Arbeiten durchgeführt, die sich auf die Untersuchung des einzelnen Organes beschränkt. Diese Versuchsrichtung ist erst jüngsten Datums. Ihre Ausbildung wurde ermöglicht durch die Entwicklung der modernen Technik der Durchströmung überlebender Organe, die es gestattet, ein Dazwischentreten autolytischer Vorgänge mehrere Stunden nach Entfernung des Organs aus dem Körper mit Sicherheit auszuschließen.

Die ersten Versuche am überlebenden Herzen pankreasloser Hunde unternahmen Hamburger³⁾ sowie Knowlton und Starling⁴⁾, nachdem Johannes Müller, Locke und Rosenheim⁵⁾, Rhode⁶⁾ und Camis⁷⁾ gezeigt hatten, daß das normale überlebende Warmblüterherz deutlich nachweisbare Traubenzuckermengen aus einer Nährflüssigkeit verbraucht.

Knowlton und Starling kommen zu dem Ergebnis, daß das isolierte Herz pankreasloser Hunde im Gegensatz zum normalen keine oder nur geringe Zuckermengen zu verwerten imstande ist.

1) Med. Klinik 1911, Nr. 27, S. 1031.

2) Bioch. Zeitschr. 1914, Bd. 66, S. 75.

3) Magy. Orv. Arch. Bd. 12, S. 279—283; Ztrbl. f. Bioch. u. Biophys. 1912, Bd. 13, S. 27; zit. nach Verzár und Fejér, Bioch. Zeitschr. 1913, Bd. 53, S. 142.

4) Journ. of Phys. Bd. 45, S. 146 und Ztrbl. f. Phys. Bd. 26, S. 169—175.

5) Ebenda Bd. 36, S. 205.

6) Zeitschr. f. phys. Chemie Bd. 68, S. 181.

7) Zeitschr. f. allg. Phys. Bd. 8, S. 371.

Diese Angaben wurden kurz darauf von Maclean und Smedley bestätigt, und es schien somit der erste experimentelle Beweis für eine Aufhebung der Zuckerverbrennung im Pankreasdiabetes vorzuliegen.

Aber im Hinblick auf die entgegengesetzten Ergebnisse von Macleod und Pearce¹⁾ wiederholte Starling im Verein mit Patterson und Cruickshank²⁾ seine Versuche und konnte bei Einhaltung strengerer Versuchsbedingungen seine ursprünglichen Angaben nicht bestätigen. Demnach sind beträchtliche Unterschiede im Zuckerverbrauch normaler und diabetischer Herzen nicht zu konstatieren. Und zwar scheint der Zuckerverbrauch vom Glykogengehalt des Herzens abhängig zu sein. Erst wenn das Glykogen verbraucht ist, wird der Zucker der Nährlösung angegriffen. Da nun die diabetischen Herzen oft einen beträchtlichen Glykogengehalt aufweisen, so erklärt sich hieraus der scheinbare Nichtverbrauch von Zucker in den ersten Versuchen.

Im Anschluß an diese Arbeiten am diabetischen Herzen hat Landsberg³⁾ die gleiche Frage am künstlich durchbluteten Skelettmuskel zu entscheiden gesucht. Er durchströmte die Hinterextremitäten diabetischer Hunde mit zuckerhaltiger Ringer-Blutlösung, während sie durch faradischen Strom zu Kontraktionen gereizt wurden und bestimmte die Zuckerkonzentration der Nährflüssigkeit zu Beginn und am Ende des Versuchs.

Seine Analysen zeigen keinen wesentlichen Unterschied zwischen dem Zuckerverbrauch normaler und diabetischer Tiere. Auch der diabetische Muskel vermag nach ihm extra corpus Traubenzucker anzugreifen, und zwar erscheint dieses Vermögen quantitativ nicht herabgesetzt. Der Verfasser ist vorsichtig genug, diese Resultate nicht auf den Gesamtorganismus zu übertragen.

Alle diese Versuche am isolierten Organ müssen aber unseres Erachtens von vornherein darauf verzichten, über Vorgänge im Organismus etwas auszusagen.

Diesen letzten Standpunkt möchten wir besonders betonen im Hinblick auf die Versuche von Knowlton und Starling, sowie von Landsberg.

So interessant ihre Ergebnisse an sich sind, für das Verhalten des Muskels im lebenden diabetischen Tier haben sie keine Beweiskraft. Es ist sehr wohl möglich, daß der isolierte diabetische Muskel Zucker genau so gut verwerten kann wie der normale; daß er aber

1) a. a. O.

2) Journ. of Phys. Bd. 47, S. 1, 137 und 381.

3) Arch. f. klin. Med. 1914, Bd. 115.

diese Fähigkeit nicht besaß, solange er einen Teil des diabetischen Körpers bildete. Um dies zu verstehen, kann man sich etwa die folgende Vorstellung bilden: Zum Bestande jedes Muskels gehört eine Reihe von Zymasen und Oxydasen, deren Aufgabe es ist, das Hexosemolekül bis zu seinen letzten Bruchstücken oxydativ abzubauen. Dieses Fermentgetriebe bedarf, um sich den wechselnden Erfordernissen des Stoffwechsels anzupassen, einer Regulation, die geleistet wird durch Änderungen in den Wirkungsbedingungen der Fermente. Diese Änderungen herbeizuführen, ist die Aufgabe der verschiedenen inneren Sekrete, die im Blute kreisen. Steigt der Energiebedarf des Muskels, so wirken sie auf den Fermentmechanismus in ihrer Gesamtheit im Sinne einer Förderung; ruht der Muskel, so rufen sie Hemmung hervor oder verhalten sich indifferent. Wird ihre Korrelation durch Entfernung einer fördernden Komponente (etwa durch die Pankreasexstirpation) gestört, so kommt es zum Überwiegen der hemmenden, eine Vorstellung, die durch die Arbeiten von Eppinger, Rudinger und Falta sehr wahrscheinlich geworden ist.

Dieser letztere Zustand würde beim pankreaslosen Tier vorliegen. Entfernt man nun den diabetischen Muskel aus dem Körper und läßt ihn bei künstlicher Durchströmung arbeiten, so befindet er sich unter gleichen Verhältnissen wie der isolierte normale Muskel. Denn jetzt sind beide den Einflüssen der inneren Sekretion, wenigstens nach Aufbrauch des etwa vorhandenen Hormonvorrats, entzogen, und nur der in ihnen vorhandene Fermentmechanismus ist für ihre kohlehydratabbauende Tätigkeit maßgebend. Daß dieser aber durch die Pankreasexstirpation eine Änderung erfahren sollte, ist schwerlich einzusehen.

Hierdurch wird es verständlich, ja sogar wahrscheinlich, daß der ausgeschnittene diabetische Muskel sich nicht von dem normalen unterscheidet, und es ist klar, daß die Resultate der englischen Autoren und Landsbergs keine Schlüsse auf das Verhalten des diabetischen Gesamtorganismus gestatten.

Die Erhaltung der normalen Zirkulation scheint also unerläßlich, wenn man an einem zuckerverbrauchenden Organ in der Norm und vergleichsweise im Diabetes experimentieren will. Unter dieser Bedingung sollte nun durch unsere Versuche entschieden werden:

1. Läßt sich der Kohlehydratverbrauch des arbeitenden Muskels an einem Sinken seines Gesamtkohlehydratgehaltes wie seiner einzelnen Kohlehydratkomponenten zahlenmäßig nachweisen?

2. Läßt sich eventuell die gleiche Verschiebung im Kohlehydratgehalt auch am Muskel des pankreaslosen Tieres erkennen?

I.

Daß der frische, von Blut befreite, schnell abgetötete Säugetiermuskul Traubenzucker enthält, ist eigentlich selbstverständlich. Es wäre deshalb erstaunlich gewesen, wenn Embden¹⁾ den unter sterilen Bedingungen schnell gewonnenen Preßsaft des Hundes kohlehydratfrei befunden hätte. Embden hat diesen Irrtum berichtigt und den Befund des einen von uns (Forschbach) bestätigt, daß die enteiweißten Preßsäfte stark reduzieren. Bei den Versuchen von Forschbach war mehrmals die auffallende Abnahme dieser reduzierenden Substanzen im Preßsaft an ermüdeten Hundemuskeln beobachtet worden. Doch reichten die Versuche für eine exakte Messung nicht aus.

Wir müssen nun zunächst das Verhalten der Kohlehydrate im Hundemuskel unter unseren Versuchsbedingungen in Ruhe und nach Arbeit festzulegen suchen.

Am Warmblütermuskel innerhalb der Zirkulation ist nur das Verhalten des Glykogens von Seegen²⁾ genauer untersucht worden, der eine beträchtliche Abnahme unter dem Einfluß der Arbeit feststellte.

Über die Glukose findet sich in den Lehrbüchern noch immer die alte Angabe Rankes³⁾, der zufolge der Froschmuskel, der ausgeschnittene wie der in der Zirkulation befindliche, beim Tetanisieren zuckerreicher wird. Dagegen fehlen Untersuchungen über die Glukose im lebenden arbeitenden Muskel von Warmblütern.

Es war daher zu prüfen, ob die Angaben Rankes auch für diesen gültig sind, oder ob sich etwa ein Absinken der Muskelglukose zeigen ließe.

Das letztere war uns von vornherein wahrscheinlicher, da man allgemein annimmt, daß die Muskelarbeit mit einem Kohlehydratverbrauch einhergeht, wenngleich diese Lehre sich im wesentlichen nur auf den Schwund des Glykogens stützt, den die meisten älteren Autoren zu Unrecht mit einem Kohlehydratschwund identifizierten. Auch die erwähnten Erfahrungen am Preßsaft wiesen darauf hin.

Neben Glykogen und Glykose enthält der Muskel aber noch Zwischenprodukte des Glykogenabbaues, Dextrine und ein Disaccharid, über deren Natur noch keine Einigkeit erzielt ist. Wie

1) Embden, Kalbelah, Engel, Bioch. Zeitschr. 1912, Bd. 45, S. 45 ff.; Kondo, Ebenda S. 63 ff.

2) Arch. f. Anat. u. Phys. 1895, S. 242 und 1896, S. 383.

3) Ranke, Der Tetanus. Leipzig 1865.

aus unseren Versuchen hervorgeht, ist die Menge dieser Stoffe durchaus nicht zu vernachlässigen und kann, zumal im diabetischen Muskel, einen sehr beträchtlichen Teil der Gesamtkohlehydrate ausmachen.

Erst vor kurzer Zeit haben Parnas und Wagner¹⁾ in einer verdienstvollen Arbeit darauf hingewiesen, daß die Summe des Glykogens und der Glykose allein nur ein unvollständiges Bild vom Kohlehydratbestand eines Muskels zu geben vermag, solange man nicht die Menge der Gesamtkohlehydrate kennt. Mit Hilfe eigener Methoden bestimmten sie den Gesamtkohlehydratbestand isolierter Froschmuskeln unter den verschiedensten äußeren Bedingungen.

Über das Verhalten der Gesamtkohlehydrate des Hundemuskels während der Arbeit liegen bisher keine Angaben vor.

Methodik.

Sämtliche Versuche wurden an mittelgroßen oder kleineren Hunden in Morphium-Äthernarkose vorgenommen. Um bakterielle Einflüsse auf die Analysenresultate auszuschalten, wurde auf möglichst aseptisches Vorgehen besonderer Wert gelegt und unter Anwendung von Eiskühlung gearbeitet. Nach der Morphiuminjektion wurde der ganze Unterkörper des Tieres abrasiert und sorgfältig mit Jodtinktur desinfiziert. In Narkose wurde sodann die Muskulatur des einen Oberschenkels mittels der faradischen Ströme eines Bergonié-Apparates zu kräftigen tetanischen Kontraktionen gereizt, während das andere Bein ruhig dalag, um später zur Ermittlung der Ruhewerte zu dienen. Die Dauer des Einzeltetanus betrug etwa $\frac{1}{3}$ Sekunde. Die Zahl der Tetani schwankte in den einzelnen Versuchen von 30—46 in der Minute. Die Reizung geschah mittels zweier Plattenelektroden, von denen die größere an der Rückseite, die kleinere an der Vorderseite des Oberschenkels meist etwas oberhalb des Knies im Sulcus medialis angebracht wurde. Die Lage der Elektroden mußte dabei jedesmal so ausprobiert werden, daß auch bei stärkeren Strömen keine Stromschleifen auf die andere Seite übergingen und dadurch auch das Ruhebein zum Mitzucken brachten. Sobald die Zuckungen nach mehreren Stunden schwächer zu werden begannen, wurde das Tier durch Verbluten aus der Carotis getötet, nach Eröffnung des Abdomens Aorta und V. cava durchschnitten und unter gleichmäßigen passiven Bewegungen beider Beine möglichst vollkommen aus diesen entfernt. Jede Extremität wurde dann mitsamt der dazu gehörigen Beckenhälfte in der Art. sacroiliaca vom Sakrum abgetrennt, sofort auf eisgekühlten Schalen die gesamte Oberschenkelmuskulatur beider Seiten abpräpariert und mit Pinzette und Schere von allem anhaftenden Fett und Bindegewebe befreit. Ruhe- und Arbeitsmuskeln wurden nun gleichzeitig durch zwei Fleischmaschinen getrieben, die längere Zeit vorher auf Eis gelegen hatten, der Fleischbrei auf kalten Schalen aufgefangen, gründlich durchmischt, sogleich in zwei bzw. drei Portionen in Erlenmeyer-Kolben von genau bekanntem Gewicht eingefüllt

1) Bioch. Zeitschr. 1914, Bd. 61, S. 387.

und diese sofort mit Gummistöpseln verschlossen. Während des nun folgenden Wägens der gefüllten Kolben standen die nichtgebrauchten auf Eis. Schließlich wurden alle Proben gleichzeitig abgetötet, und zwar die zur Glykogenbestimmung dienenden durch Übergießen mit siedender 60%iger KOH die zur Gesamtkohlehydrat- bzw. Glukosebestimmung mit siedendem Wasser, bzw. 96%igem Alkohol. Näheres ist bei den einzelnen Versuchen angegeben. Auf Schnelligkeit und gute Eiskühlung wurde stets geachtet, um nicht nur beim normalen, sondern vor allem beim diabetischen Muskel, dessen Glykogenbestand an sich schon stark reduziert ist, den postmortalen Glykogenschwund nach Möglichkeit einzuschränken.

Die Glykogenbestimmung wurde stets nach Pflügers Methode vorgenommen, in der Art, wie er sie zuletzt beschrieben hat¹⁾. Nach der Inversion wurde die Glukose nach der Methode von Lehmann-Maquerne titriert. Die Ausführung geschah in der im Embdenseschen Institut üblichen Weise²⁾.

Zur Bestimmung der Glukose wurde von dem zum Abtöten benutzten Alkohol in ein Becherglas abgegossen, der Muskelbrei in einen großen Porzellanmörser von etwa 40 cm Ø übergeführt und mit einem großen Pistill $\frac{1}{2}$ —1 Stunde lang zu einer feinen, gleichmäßigen Paste zerrieben. Pistill und Mörser waren der Einrichtung nachgebildet, die Buchner bei seinem Verfahren der Zymasedarstellung zum Zerreiben der Hefezellen anwendet und haben sich auch für den vorliegenden Zweck recht bewährt. Man bringt den feinen Muskelbrei unter öfterem Ausspülen des Mörsers mit Alkohol und Aufpipettieren der letzten Anteile in das Becherglas mit dem vorher abgegossenen Alkohol zurück, gibt so viel Alkohol hinzu, daß auf 50 g Muskeln etwa 400—500 cm Alkohol kommen und läßt unter öfterem Umrühren etwa 12 Stunden stehen. Nach dieser Zeit wird durch ein Filter aus dichter, gut ausgekochter stärkefreier Leinwand abgesaugt, der abgepreßte Rückstand jetzt in 60%igem Alkohol suspendiert und die Extraktion noch zweimal in 60%igem Alkohol wiederholt. Der nun bleibende Rückstand diente zur Bestimmung der Gesamtkohlehydrate³⁾, während die vereinigten alkoholischen Filtrate in der von Parnas und Wagner⁴⁾ geübten Weise bei schwach saurer Reaktion auf dem Wasserbade eingeeengt und durch Wasserzusatz allmählich in eine wässrige Lösung übergeführt wurden. Man neutralisiert genau mit Soda, fällt mit 50%iger Quecksilberazetatlösung, füllt das mit H₂S entquecksilberte und eingeeengte Filtrat auf ein bestimmtes Volumen auf und titriert die Glukose nach Lehmann-Maquerne.

Vor Anwendung dieser Methode haben wir uns jedoch überzeugt, daß die schließlich erhaltene reduzierende Substanz wirklich Glukose, und zwar nur Glukose ist. War es doch wohl denkbar, daß ein etwa im Muskel vorhandenes Disaccharid in das alkoholische Filtrat überging und die erhaltene Reduktion nicht allein der Glukose zukam. Wir haben deshalb in sämtlichen Versuchen am normalen wie am diabetischen Tier die

1) Abderhalden, Handb. d. bioch. Arbeitsmethoden II, S. 872.

2) Griesbach, Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 89.

3) S. weiter unten.

4) a. a. O., S. 392.

erhaltenen Endflüssigkeiten nach der Titration der Hydrolyse unterworfen: In keinem Falle trat eine Vermehrung der Reduktion ein. Die Anwesenheit von Disacchariden war demnach auszuschließen.

Um ferner den Nachweis zu erbringen, daß es sich wirklich um Glukose handelte, wurde das Osazon dargestellt. Mit Alkohol, Chloroform und Äther gründlich gewaschen und zweimal aus Pyridin-Alkohol umkristallisiert, ergab es den Schmelzpunkt 204—205°. Mikroskopisch waren die für Glukosazon charakteristischen Nadeln und Büschel erkennbar.

Zweitens wurde versucht, eine Übereinstimmung zwischen den polarimetrisch und titrimetrisch ermittelten Werten zu erzielen.

Prüft man die schließlich erhaltene Flüssigkeit auf ihr optisches Verhalten, so findet man sie in der Regel inaktiv oder schwach linksdrehend. Trotzdem läßt sich eine Übereinstimmung zwischen Drehung und Reduktion erreichen, wenn man sich eines von Neuberg¹⁾ angegebenen Verfahrens bedient. Neuberg fand, daß sich Zuckerarten in Flüssigkeiten tierischen oder pflanzlichen Ursprungs, die zugleich linksdrehende tiefere Eiweißspaltprodukte, Aminosäuren, Peptone, Amide usw. enthalten, exakt polarimetrisch bestimmen lassen, wenn man letztere durch eine kombinierte Quecksilberazetat- und Phosphorwolframsäurefällung beseitigt. Diese wurde im vorliegenden Falle angewandt und im Versuch 1 gute Übereinstimmung erzielt.

Versuch 1.

500 ccm mit Hg-Azetat gefällter und entquecksilberter Muskelextrakt werden mit 50%iger Phosphorwolframsäure ausgefällt, unter Zusatz von Kieselgur abfiltriert, Phosphorwolframsäure mit Baryt in Substanz unter stetem Rühren entfernt, filtriert, und die schwach bläulich gefärbte Flüssigkeit durch ein paar Tropfen HNO_3 entfärbt.

Gehalt an Glukose.

Polarisation 0,079%, Titration 0,075% (Lehmann-Maquenne).
Weniger befriedigend war das Ergebnis von

Versuch 2.

170 ccm Muskelextrakt wurden in gleicher Weise behandelt wie in Versuch 1.

Gehalt an Glukose.

Polarisation 0,143%, Titration 0,218% (Lehmann-Maquenne).

Es waren also scheinbar noch linksdrehende Substanzen vorhanden. Es mußte daher versucht werden, die Phosphorwolframsäurefällung vollständiger vorzunehmen. Nun hat diese die Eigenschaft, daß sich ein Punkt vollständiger Ausfällung überhaupt nicht genau erreichen läßt, denn bei einer Konzentration, bei der gewisse Substanzen erst ausgefällt werden, gehen bereits gefällte schon wieder in Lösung. Um diese Schwierigkeit zu umgehen, wurde im folgenden Versuch fraktioniert ausgefällt, indem

1) Bioch. Zeitschr. Bd. 37, S. 142.

nach Fällung der Hauptmenge der Niederschlag jedesmal vor dem Zusetzen neuer Mengen des Fällungsmittels abfiltriert wurde. Vor der letzten Fällung wurde die Flüssigkeit stark konzentriert. Das Ergebnis zeigt

Versuch 3.

170 ccm Muskelextrakt; 4 mal fraktioniert mit Phosphorwolframsäure gefällt, weitere Behandlung wie in Versuch 1.

Gehalt an Glukose.

Polarisation 0,045 %, Titration 0,046 % (Bertrand), 0,03 % (Lehmann-Maquenne).

Hierdurch ist zur Genüge bewiesen, daß in der Tat die Reduktion in der aus dem alkoholischen Muskelextrakt erhaltenen Flüssigkeit nur auf Glukose zu beziehen ist.

Wesentlich umständlicher als die Bestimmung der Glukose gestaltet sich die der Gesamtkohlehydrate. In einem Versuch wurden Glukose und Gesamtkohlehydrate in je einer gesonderten Muskelportion ermittelt; in den übrigen diente eine Portion zur Bestimmung beider.

Die Gesamtkohlehydrate des frischen Muskels ergaben sich als Summe der Glukose im alkoholischen Extrakt und der Gesamtkohlehydrate in dessen Rückstand.

Als Methode der Gesamtkohlehydratbestimmung kam vor allem das von Parnas und Wagner benutzte Verfahren in Betracht, das kurz zusammengefaßt folgenden Weg einschlägt:

Die Muskeln werden 3 mal mit siedendem Wasser erschöpft und im Rückstand das Glykogen nach Pflüger bestimmt. Die vereinigten wässrigen Filtrate, die einen Teil des Glykogens, Zwischenprodukte und Glukose enthalten, werden mit 2 % H_2SO_4 hydrolysiert, die Schwefelsäure mit Barytlauge entfernt. Man neutralisiert, fällt N-haltige Extraktivstoffe mit Hg-Azetat aus, entquecksilbert mit H_2S , engt ein, hydrolysiert nochmals mit HCl und bestimmt die Glukose in der neutralen, auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllten Endflüssigkeit durch Titration nach Bertrand.

In mehreren Versuchen haben wir uns überzeugt, daß dieses Verfahren bei Kontrollbestimmungen gut übereinstimmende Werte liefert. Aber für den einzelnen Arbeiter ist es doch recht umständlich und zeitraubend, zumal wenn mehrere Bestimmungen zugleich auszuführen sind.

Wir haben uns deshalb bemüht, einen Weg zu finden, der bei gleicher Exaktheit auf einfachere Weise zum Ziel führt und zugleich einen Einwand ausschließt, den man gegen die Methode von Parnas und Wagner vorbringen könnte.

Diese bestimmen im Muskelrückstand, der 3 mal mit Wasser extrahiert ist, nur das Glykogen. Sie setzten also voraus, daß alle Dextrine in den wässrigen Extrakt übergegangen sind. Das ist nicht bewiesen. Es ist im Gegenteil wohl denkbar, daß höhere Dextrine durch wässrige Extraktion überhaupt nicht völlig aus dem Muskel auszuziehen sind, ähnlich wie man dies durch die Arbeiten Pflügers vom Glykogen weiß.

In der Annahme, daß dies in der Tat bei der Parnasschen Methode eine Rolle spielen könnte, wurden wir dadurch bestärkt, daß diese bei

drei vergleichenden Bestimmungen stets etwas niedrigere Werte lieferte, als das von uns angewandte Verfahren.

Nach dem Vorschlage des einen von uns (Schäffer) wurde eine Modifikation der Methode von Parnas und Wagner ausgestaltet, die sowohl deren zeitraubende Wasserextraktion wie auch die gesonderte Glykogenanalyse vermeidet.

Hierbei wird der zerkleinerte Muskelbrei zunächst mit schwacher Salzsäure völlig aufgeschlossen, nach weiterem Säurezusatz hydrolysiert¹⁾, um alle höheren Kohlehydrate in niedere Zucker zu verwandeln, die saure Flüssigkeit mit Sublimat (nach Schenck) enteiweißt, das neutrale Filtrat mit Hg-Azetat von N-haltigen Extraktivstoffen befreit und nun so weiter behandelt, wie Parnas und Wagner es für die vereinigten Filtrate (A + B) angeben²⁾.

Wir übergehen hier die zahlreichen Vorversuche und heben nur hervor, daß Kontrollbestimmungen untereinander gute Übereinstimmung zeigten.

Im einzelnen wird das Verfahren folgendermaßen ausgeführt:

Man bringt etwa 50 g gut zerkleinerten, frischen Muskelbrei oder auch den abgepreßten, zerriebenen Rückstand des zur Glukosebestimmung dienenden alkoholischen Filtrats, der einer bekannten Menge frischen Muskels entspricht, in einen großen Erlenmeyer-Kolben, dessen Bodenfläche etwa 15 cm Durchmesser haben soll, fügt etwa 300 ccm Wasser hinzu, schüttelt gut um, um größere Partikel zu verteilen, setzt auf 100 ccm Wasser 1 ccm rauchende HCl ($D = 1,19$) hinzu, so daß die Flüssigkeit etwa 0,4% HCl enthält und beginnt nun auf dem Baboblech am Rückflußkühler mit sehr kleiner Flamme vorsichtig zu erhitzen. Die Muskulatur quillt hierbei zu einer dicken Flüssigkeit auf, die beim weiteren Erhitzen wieder dünnflüssiger wird, und ist nach $\frac{1}{2}$ —1 Stunde vollkommen zerfallen, **so daß keinerlei größere Teile mehr zu erkennen sind.** Nunmehr fügt man so viel rauchende Salzsäure hinzu, daß die Flüssigkeit im ganzen 2% HCl enthält und erhitzt 3 Stunden lang im Wasserbad oder im Dampftopf auf 100°. Nach dem Erkalten spült man mit 300 ccm 5%iger Sublimatlösung in einen 750 ccm-Meßkolben über, schüttelt kräftig um, füllt mit Wasser bis zur Marke auf und läßt über Nacht im Eisschrank stehen. Am nächsten Morgen saugt man, ohnenachzuwaschen, ab, leitet durch das Filtrat Schwefelwasserstoff, filtriert wieder und vertreibt den überschüssigen H_2S durch einen Luftstrom. 500 ccm des Filtrats werden mit Natronlauge genau neutralisiert, mit 50%iger Hg-Azetatlösung gefällt. Vom Niederschlag wird abfiltriert und mit einer Hg-Azetatlösung von gleicher Hg-Konzentration wie die ausgefällte Lösung nachgewaschen. Ein wesentlicher Überschuß des Fällungs-

1) Die HCl-Hydrolyse des gesamten Organbreies wurde zuerst von Röhm ann (Biochemie 1908, S. 231) zur Bestimmung der Gesamtkohlehydrate in der Leber angewandt.

2) a. a. O., S. 394.

mittels muß vermieden werden, da der Niederschlag im Überschuß des Hg-Azetats wieder löslich ist. Man entquecksilbert durch H_2S , saugt unter Nachwaschen mit Wasser vom Sulfidniederschlag ab, vertreibt H_2S durch Durchleiten von Luft und engt auf dem Wasserbade unter steter Kontrolle der Reaktion, die schwach sauer bleiben muß, ein. Man verfährt hierbei zweckmäßig so, daß man die Eindampfschale nicht direkt auf das Wasserbad, sondern auf ein Ringstativ etwas oberhalb des Kesselrandes setzt. Durch Höher- oder Niedrigerstellen des Stativrings kann man die Entfernung von Wasserbad und Schale und damit die Temperatur der Flüssigkeit beliebig regulieren. In dem Maße, als das Volum abnimmt, wird die Schale vom Wasserbad entfernt und dadurch ein Absetzen von braunen Zersetzungsprodukten am Rande der Lösung gegen Ende des Einengens mit Sicherheit vermieden. Man gibt jetzt starke Salzsäure hinzu, bis rotes Kongopapier gerade gebläut wird und spült in einem 150 ccm-Kolben hinüber, an dem man eine Marke für 100 ccm angebracht hat. Mit dem Spülwasser füllt man auf 100 ccm auf, gibt noch 2 ccm rauchende Salzsäure hinzu und erhitzt $1\frac{1}{2}$ Stunden auf 100° . Nach dem Erkalten wird neutralisiert und bis zur Marke aufgefüllt. Nuncmehr ist die Lösung zur Titration nach Lehmann-Maqueenne bereit. Letztere Methode bietet vor der Bertrandschen, die Parnas und Wagner anwenden, neben ihrer größeren Einfachheit auch den Vorteil, daß selbst größere Salzmengen die Bestimmung in keiner Weise stören (Embden u. a.).

Die Menge der Zwischenprodukte (Dextrine, Disaccharide) ist stets rechnerisch ermittelt worden:

Gesamtkohlehydrate — (Glykogen + Glukose) = Zwischenprodukte.

Schließlich mußte noch eine Fehlerquelle vermieden werden, die in früheren Versuchen über den Einfluß der Arbeit auf den Kohlehydratgehalt des Muskels nicht berücksichtigt worden ist. Ranke hat schon 1865 nachgewiesen, daß der Wassergehalt der Muskeln bei der Arbeit steigt. Hierdurch allein könnte beim Vergleich von Ruhe- und Arbeitsmuskeln eine Abnahme der Kohlehydrate im Arbeitsmuskel vorgetäuscht werden. Wir haben deshalb in allen Versuchen Trockensubstanzbestimmungen ausgeführt und die gefundenen Arbeitswerte auf den Trockensubstanzgehalt der Ruhemuskeln umgerechnet, so daß sie mit den Ruhewerten direkt vergleichbar wurden.

II. Versuche am normalen Tier.

Versuch 1.

16. X. 1916. Hund von 11,8 kg Gewicht. Kräftige Zuckungen. Um die Arbeitsleistung zu vergrößern, wird das Bein mit Sandkissen belastet und derart gelagert, daß es bei jeder Zuckung ein angebundenes, mehrere Kilo schweres Gewicht hebt. Die Reizung beginnt mit Strömen von 5 Milliampère, wird nach 1 Stunde auf 10, nach $2\frac{3}{4}$ Stunden

auf 24, nach 3 Stunden auf 65 Milliampere verstärkt. Weiteres Verstärken ist unmöglich, da sonst auch das andere Bein mitzuckt. Die Zahl der Tetani beträgt 46 pro Minute. Nach 5 stündiger Arbeit werden die Zuckungen sehr schwach und der Versuch wird abgebrochen. Vom Arbeits- und Ruhemuskel werden symmetrische Teile der Oberschenkelmuskulatur abpräpariert und je zwei Proben abgewogen. In der einen wird das Glykogen, in der anderen Glukose und Gesamtkohlehydrate bestimmt. Das Resultat zeigt Tabelle 1.

Wie man sieht, hat unter dem Einfluß der Arbeit eine beträchtliche Abnahme der Gesamtkohlehydrate auf 33,33 % des Ausgangswertes stattgefunden, an der sowohl das Glykogen, die Zwischenprodukte (Dextrine und Disaccharide¹⁾), als auch

1) Daß der Muskel ein Disaccharid enthält, ist schon von älteren Autoren auf Grund der Zunahme der Reduktion nach Hydrolyse von Muskelextrakten angenommen worden (Pavy, Panormoff). Wir haben in Sonderversuchen dies wiederholt bestätigt. Für die Identifizierung dieser Körper haben wir eine besondere Methode ausgearbeitet, die durch augenblickliche Abtötung des Muskels auch die kürzeste Fermentfortwirkung unterbindet. Diese Versuche sollen an anderer Stelle veröffentlicht werden.

Tabelle 1 (Normalversuch vom 16. X. 1916)*).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Zustand des Muskels	Gewichte		Glykogen (als Glukose)		Gesamtkohlehydrate im Rückstand des alkoholischen Filtrats (Glykogen und Zwischenprodukte)		Zwischenprodukte	Glukose		Gesamtkohlehydrate	Bemerkungen
	Glykogen	Gesamtkohlehydrate und Glukose	mg	%	mg	%		mg	%		
Ruhe . . .	97,37	77,89	491	0,504	478	0,614	0,110	149	0,192	0,806	Trockensubstanz 24,01 %
Arbeit. . .	68,24	72,45	48	0,070	112	0,155	0,085	72	0,099	0,254	22,63 %
Arbeit kor.	64,32	68,29	—	0,074	—	0,164	0,090	—	0,105	0,269	Ungerechnet auf 24,01 % Trockensubstanz

*) In dieser und den folgenden Tabellen sind die direkt vergleichbaren Werte fett gedruckt.

die Glukose beteiligt ist. Am deutlichsten ist das Absinken des Glykogens, dessen Bestand nach der Arbeit nur noch 14,7% des Anfangswertes beträgt. Die Glukose ist etwa auf die Hälfte abgesunken; die kleinste Differenz zeigen die Zwischenprodukte. Der Schwund des Glykogens steht mit den von Seegen¹⁾ erhaltenen Resultaten im Einklang. Hingegen steht die Abnahme der Glukose im Widerspruch zu den Angaben Rankes, die am Froschmuskel gewonnen sind.

Zur Beurteilung ist folgendes hinzuzufügen: Wie wir heute besonders durch die Arbeiten Lessers²⁾ wissen, findet in der Anoxybiose ein ungleich stärkerer Glykogenschwund statt als bei normaler O₂-Zufuhr. Anoxybiotische Verhältnisse liegen in gewissem Umfange aber auch bei unserer Versuchsanordnung vor. Zuntz³⁾ weist darauf hin, daß im Gegensatz zur normalen willkürlichen Innervation, die zur Gefäßerweiterung führt (Chauveau und Kauffmann), die elektrische Reizung der Muskeln mit einer Erregung der Vasokonstriktoren verbunden ist. Auf diese Weise kommt es zum Abnehmen der durchströmenden Blutmenge und damit leicht zum O₂-Mangel. Ein solcher ist aber für die Zwecke dieser Versuche gerade erwünscht. Denn wenn der von Zuntz⁴⁾ aufgestellte Satz richtig ist, daß die besondere Rolle der Kohlehydrate im Stoffwechsel des Muskels darin besteht, daß sie die alleinige Energiequelle in der Anoxybiose bilden, so wird der Muskel durch die elektrische Reizung gleichsam gezwungen, in erster Linie auf Kosten der Kohlehydrate zu arbeiten. Auf diese Weise werden die Ausschläge größer.

Der jeweilige Bestand des Muskels an Glukose hängt von dem gegenseitigen Verhältnis zweier Faktoren ab: dem Verbrauch im Stoffwechsel einerseits, der Nachlieferung aus dem Muskelglykogen und dem Blute andererseits. Der Versuch zeigt nun, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen der Verbrauch die Nachlieferung bei weitem übertrifft, so daß ein Kohlehydratverbrauch während der Muskularbeit bei erhaltener Zirkulation mit starkem Ausschlag erkennbar wird. Vielleicht spielt hierbei der gesteigerte Kohlehydratverbrauch in der Anoxybiose mit.

1) a. a. O.

2) Zeitschr. f. Biol. Bd. 56, S. 467.

3) Oppenheimers Handb. d. Bioch. IV, S. 842.

4) a. a. O., S. 846.

Versuch 2.

27. X. 1916. Hund von 5,5 kg Gewicht. Schlecht genährtes Tier. Die Zuckungen sind von mäßiger Stärke, halten aber 7 Stunden an, ohne wesentlich schwächer zu werden. Pro Minute erfolgen 36 Tetani. Die Stromstärke wird allmählich von 20 auf 35 Milliampère verstärkt. Nach Beendigung der Reizung werden die Muskeln beider Oberschenkel abpräpariert und von jedem Muskelbrei 3 Portionen abgewogen. Glukose und Gesamtkohlehydrate wurden in je einer besonderen Probe bestimmt. Aus äußeren Gründen mußte in diesem Versuch die sonst stets angewandte Eiskühlung während des Abpräparierens und Wägens fortfallen, und außerdem verstrichen etwa $\frac{3}{4}$ Stunden bis zur Abtötung der Muskelpartionen. Hieraus erklären sich die niedrigen Werte für das Glykogen und die hohen für die Glukose. Sie sind der Ausdruck postmortaler Vorgänge. Im übrigen bringt dieser Versuch die Bestätigung des ersten. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Wieder zeigt sich ein bedeutender Glykogenschwund infolge der Arbeit. Beträchtlich ist auch die Abnahme der Glukose, geringer die der Zwischenprodukte. Dementsprechend sind die Gesamtkohlehydrate auf etwa 66 % des Anfangswertes abgesunken.

Im Vergleich zu Versuch 1 sind die Differenzen zwischen Arbeits- und Ruhemuskel hier geringer. Es liegt nahe, zur Erklärung an eine Parallelität zwischen dem Kohlehydratverbrauch und der Größe der geleisteten Arbeit zu denken. Eine solche ist, zumal in der Anoxybiose, bei der ja nach Zuntz die

Tabelle 2 (Normalversuch vom 27. X. 1916.)

1	2	3	4	Gewichte		5	6	7	8	9	10	11	12
	Zustand des Muskels	Glykogen g	Glukose g	Gesamtkohlehydrate g	Glykogen (als Glukose) mg	Glukose (als Glukose) mg	Glykogen (als Glukose) %	Glukose (als Glukose) mg	Glukose (als Glukose) %	Zwischenprodukte %	Gesamtkohlehydrate mg	Gesamtkohlehydrate %	Bemerkungen
Ruhe . . .		41,22	49,56	32,09	156	221	0,379	221	0,446	0,238	341	1,063	Trockensubstanz 21,36 %
Arbeit . . .		51,71	55,94	45,28	81	190	0,157	190	0,339	0,199	315	0,695	21,03 %
Arbeit korr.		50,91	55,07	44,58	—	—	0,159	—	0,344	0,202	—	0,705	Ungerechnet auf 21,36 % Trockensubstanz

Kohlehydrate die alleinige Quelle der Muskelkraft bilden, ohne Zweifel auch bei erhaltener Zirkulation vorhanden, sofern man unter »Größe der Arbeit« nicht die Gesamtmenge der in einem Versuch geleisteten Arbeit, sondern die Größe der Arbeit pro Zeiteinheit, also den Effekt, versteht.

Nun dürfte zwar die Gesamtmenge der Arbeit dieses Versuchs in Anbetracht der längeren Versuchsdauer nicht wesentlich hinter der des vorigen Versuchs zurückstehen; aber der Effekt war bedeutend geringer und macht den kleineren Kohlehydratverlust ohne weiteres verständlich.

Neben dieser geringeren Leistungsfähigkeit kommt der schlechte Ernährungszustand des Tieres auch in dem hohen Wassergehalt seiner Muskeln zum Ausdruck.

Ergebnis: Die Gesamtkohlehydratmenge normaler, in der Zirkulation befindlicher Hundemuskeln erfährt bei der Arbeit eine beträchtliche Abnahme. An dieser sind sämtliche einzelnen Kohlehydrate beteiligt: Das Glykogen (Bestätigung der Angaben Seegens), die Zwischenprodukte (Dextrine und das Disaccharid) und die Glukose.

Im folgenden haben wir die gleiche Versuchsanordnung auf pankreaslose Hunde übertragen.

III. Versuche am pankreasdiabetischen Tier.

Versuch 1.

Einem kräftigen Hund von 16 kg Gewicht wird am 29. X. 1916 das Pankreas total entfernt. Bei der makroskopischen Prüfung sind keinerlei Reste von Drüsengewebe mehr erkennbar. Das Tier übersteht den Eingriff sehr gut und zeigt große Freßgier. Das nähere Verhalten geht aus Tabelle 3 hervor. In der zweiten Spalte bedeutet die erste Zahl das wirkliche Harnvolumen, die zweite das Spülwasser des Käfigs.

Tabelle 3.

Datum	Harnmenge ccm	Spezi- fisches Gewicht	Zucker		Stickstoff		D : N	Bemerkungen
			%	pro die g	%	pro die g		
1. XI.	1900 + 100	1018	2,1	42,00	0,76	15,23	2,76	Gewicht 15,1 kg. Hunger.
2. XI.	2100 + 120	1025	3,7	84,14	1,04	23,12	3,53	50 g Pferdefleisch.
3. XI.	1170 + 140	1039	5,0	65,50	1,62	21,27	3,07	Gewicht 13,4 kg. 500 g Pferdefleisch.
4. XI.	1770 + 230	1037	4,2	84,00	1,75	35,11	2,39	1000 g Pferdefleisch.

Am 5. XI. 1916, also am 7. Tage nach der Pankreasexstirpation, findet der Versuch statt. Das Gewicht des Tieres ist jetzt auf 10,9 kg

gesunken. Trotz der starken Abmagerung unterscheidet sich der Kräftezustand kaum von dem eines normalen Tieres. Die Bauchwunde zeigt nur an zwei Nähten eine geringe Eiterung.

Die Einzelheiten dieses Versuchs entsprechen völlig den Normalversuchen. Die kräftigen Zukungen halten $5\frac{1}{4}$ Stunden in fast gleichbleibender Stärke an. Der Reizstrom wird allmählich von 30 auf 40 Milliampère verstärkt. Zahl der Tetani pro Minute 30. Es werden je zwei Portionen abgewogen und in der einen Glykogen, in der anderen Gesamtkohlehydrate und Glukose bestimmt.

Bei der Sektion findet sich ein kleiner abgekapselter Eiterherd am Pylorus. Im übrigen zeigt das Peritoneum keinerlei entzündliche Veränderungen. Duodenum in gutem Zustande.

Das Lebergewicht beträgt 333,5 g oder 3,04 % des Körpergewichts. Das ist ein hoher Wert, wenn man die von Pavy an unterernährten Tieren gefundenen Zahlen als Norm zugrunde legt, der auf eine starke Fettinfiltration der Leber hinweist.

Die Versuchsergebnisse zeigt Tabelle 4.

Das Verhalten des Glykogens stimmt mit den bisherigen Befunden überein. Die minimalen Mengen im Ruhemuskel sind durch die Arbeit praktisch vollkommen verschwunden. Deutliche und auffallende Unterschiede aber zeigen die Zwischenprodukte und die Glukose. Ganz im Gegensatz zum Muskel des nor-

Tabelle 4 (Versuche vom 5. XI. 1916).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Zustand des Muskels.	Gewichte		Gesamt- kohle- hydrate und Glukose	Glykogen (als Glukose)	Gesamtkohlehydrate im Rückstand des alkoholischen Filtrats (Glykogen und Zwischenprodukte)		Zwischen- produkte	Glukose		Gesamt- kohle- hydrate	Bemerkungen
	Glykogen g	Gesamt- kohle- hydrate und Glukose g			m/g	%		m/g	%		
Ruhe . . .	121,36	62,51	78	0,065	108	0,173	0,108	106	0,170	0,343	Trockensubstanz 24,06 %
Arbeit . . .	213,06	71,72	17	0,008	96	0,134	0,126	132	0,211	0,345	» 23,68 »
Arbeit korr.	208,82	70,29	—	0,008	—	0,137	0,129	—	0,215	0,352	Umgerechnet auf 24,06 % Trockensubstanz.

malen Tieres sind ihre Werte nicht nur nicht abgesunken, sondern sogar in die Höhe gegangen. Und zwar ist die Zunahme der Glukose und der Zwischenprodukte zusammengekommen von ähnlicher Größe wie die gleichzeitige Abnahme des Glykogens:

$$\begin{array}{rcl}
 \text{Glukose} + \text{Zwischenprodukte} & (\text{Arbeit}) & = 0,344 \% \\
 \text{»} + \text{»} & (\text{Ruhe}) & = 0,278 \% \\
 \hline
 & \text{Zunahme} & = 0,066 \% \\
 \\
 \text{Glykogen} & (\text{Ruhe}) & = 0,065 \% \\
 \text{»} & (\text{Arbeit}) & = 0,008 \% \\
 \hline
 & \text{Abnahme} & = 0,057 \%
 \end{array}$$

Die Gesamtkohlehydrate sind innerhalb der Fehlergrenzen konstant geblieben, während beide vorigen Versuche unter den entsprechenden Bedingungen gewaltige Abnahmen erkennen ließen.

Das wichtige Ergebnis dieses Versuchs besteht also darin, daß der diabetische Muskel trotz kräftiger Arbeitsleistung seine Kohlehydrate nicht vermindert hat. Nur innerhalb des Kohlehydratbestandes haben sich Änderungen vollzogen. Das spärlich vorhandene Glykogen ist von diastatischen Fermenten angegriffen worden, und die Produkte seiner Spaltung haben die schon in der Ruhe vorhandenen Abbaustufen entsprechend vermehrt. Das präformierte Hexosemolekül aber ist unangetastet geblieben, und die Zunahme seines Wertes scheint auf Kosten des verschwundenen Glykogens zu kommen.

Ist diese Deutung richtig, so muß die Gesamtkohlehydratmenge gleich geblieben sein, und das wird durch die Analyse in der Tat bestätigt.

In gleicher Richtung liegt das Ergebnis von

Versuch 2.

Hund von 7,5 kg Gewicht. Am 8. XI. 1916 totale Pankreasexstirpation. Während der folgenden Tage verweigert das Tier jede Nahrungs-

Tabelle 5.

Datum	Harn- menge ccm	Spezi- fisches Gewicht	Zucker		Stickstoff		D : N	Bemerkungen
			%	pro die g	%	pro die g		
11. XI.	320	1031	3,4	10,88	2,26	7,23	1,50	Hunger.
12. XI.	410	1026	2,2	9,02	1,36	5,57	1,62	»
13. XI.	350	1044	4,8	16,80	2,04	7,14	2,35	Einige Gramm Fleisch.
14. XI.	380	1052	5,2	19,76	1,89	7,18	2,75	Gewicht 6,3 kg. 50 g Pferdefleisch.

aufnahme und magert sichtlich ab. Nur an den beiden letzten Tagen vor dem Versuch nimmt es geringe Mengen Fleisch und etwas Wasser zu sich.

Die ausgeschiedenen Zucker- und Stickstoffmengen sind in Tabelle 5 verzeichnet.

7 Tage nach der Entfernung des Pankreas, am 15. XI. 1916, findet der Versuch statt. Die Zukungen sind von mäßiger Stärke und halten 3 Stunden hindurch an.

Der Reizstrom beginnt mit 30 Milliampère und wird schließlich bis auf 60 verstärkt. Pro Minute führen die Muskeln 45 Tetani aus. Gesamtkohlehydrate und Glukose werden wieder in derselben Muskelportion bestimmt.

Bei der Sektion finden sich multiple Abszesse der Bauchwunde und von dieser ausgehend eine zirkumskripte Peritonitis. Magen und Duodenum sind mit der Umgebung Verwachsungen eingegangen.

Die Leber ohne Gallenblase wiegt 174 g und macht somit 2,76 % des Körpergewichts aus.

Unmittelbar nach Eintritt der Narkose und am Ende des Versuchs wurde der Blutzucker bestimmt. Dieser zeigt ganz besonders hohe Werte, die zum Teil auf die Eindickung des Blutes durch mangelnde Flüssigkeitszufuhr, teils auch auf die Wirkung der Narkotika zu beziehen sind.

Nach Eintritt der Narkose: 0,555 %.
Am Ende » » » 0,608 %

Die Bestimmung geschah nach der Methode von Möckel und Frank. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

Wie es bei dem hungernden Tier zu erwarten war, ist der Glykogenbestand außer-

Tabelle 6 (Versuch vom 15. XI. 1916).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Zustand des Muskels	Glykogen g	Gewichte Gesamt- Kohle- hydrate und Glukose g	Glykogen (als Glukose) mg	Glykogen (als Glukose) %	Gesamtkohlehydrate im Rückstand des alkoholischen Filtrats (Glykogen- und Zwischenprodukte) mg	Gesamtkohlehydrate %	Zwischen- produkte %	Glukose mg	Glukose %	Gesamt- kohle- hydrate %	Bemerkungen
Ruhe	82,78	52,63	15	0,018	63	0,119	0,101	120	0,229	0,348	Trockensubstanz 27,46 %
Arbeit	100,97	68,63	5,8	0,0058	89	0,130	0,124	147	0,214	0,344	» 26,57 %
Arbeit korrig.	97,70	66,40	—	0,006	—	0,134	0,128	—	0,221	0,355	Ungerechnet auf 27,46 % Trockensubstanz

ordentlich gering. Trotzdem sind noch innerhalb dieser engen Grenzen Unterschiede erkennbar, die besonders bei Anstellung der qualitativen Jodprobe hervortraten. Diese war in Lösungen gleicher Konzentration im Ruhemuskel noch deutlich vorhanden, blieb aber im Arbeitsmuskel völlig aus. Letzterer ist demnach als glykogenfrei zu betrachten, und die in der Tabelle aufgeführten Werte haben nur rechnerischen Wert.

Die Zwischenprodukte zeigen eine geringe Vermehrung, die man auf den Abbau des Glykogens zurückführen könnte. Die Werte liegen jedoch innerhalb der Fehlergrenzen und erlauben daher keine Schlüsse.

Die Glukose ist im Gegensatz zum vorigen Versuch konstant geblieben. Wir sehen hierin eine Bestätigung der Annahme, daß die Vermehrung der Glukose in Versuch 1 auf Kosten des abgebauten Glykogens zu setzen ist. In diesem Versuche dagegen fehlt es an Glykogen, infolgedessen kann die Menge der Glukose nicht zunehmen, sie bleibt konstant.

Dies ist das wichtigste Ergebnis dieses Versuchs. Auch er zeigt im Gegensatz zu den Normalversuchen, daß die präformierte Glukose im diabetischen Muskel nicht abnimmt.

Wieder ist dementsprechend die Gesamtkohlehydratmenge völlig die gleiche geblieben, und dies alles, obwohl der Muskel 3 Stunden lang gearbeitet hat.

Hinzuweisen wäre noch auf den hohen Trockensubstanzgehalt der Muskeln als Folge der geringen Wasseraufnahme des Tieres.

Ergebnis: Die Muskeln pankreasdiabetischer Hunde zeigen unter den gleichen Verhältnissen ein deutlich von der Norm abweichendes Verhalten: Bei der Arbeit findet keine Abnahme der Gesamtkohlehydrate statt. Die Menge der Glukose und der Zwischenprodukte bleibt konstant oder nimmt in dem Maße zu als das Glykogen abgebaut wird. Der Glykogenabbau zeigt keine Abweichung von der Norm.

Der naheliegende Schluß, daß damit die Unfähigkeit des diabetischen Muskels, Glukose anzugreifen, erwiesen sei, ist noch gegen einige Einwände zu verteidigen. Da wir infolge der durch den Krieg bedingten Hindernisse vorläufig nicht über die Durchführung der vorliegenden Versuche hinauskommen konnten, so wollen wir die Diskussion erst im Zusammenhang bringen, wenn die Versuche erweitert und ergänzt sind. Nur noch auf ein wichtiges Ergebnis sei hier hin-

gewiesen, das sich unmittelbar aus den Analysen ergibt. Wie man aus vielfachen Bestimmungen weiß, liegt der Blutzuckergehalt total diabetischer Hunde bei etwa 0,3—0,5%. Im zweiten Versuch betrug der Wert am Anfang des Versuches 0,555%. Hiermit vergleiche man den Glukosegehalt der diabetischen Muskeln: Dieser erhebt sich nicht deutlich über die Norm. Man sieht, daß man zu Unrecht schlechthin von einer Überschwemmung der Gewebe mit Zucker im Diabetes spricht. Offenbar besitzen die Muskeln Vorrichtungen, die es ihnen ermöglichen, ihren Zuckergehalt auf einer bestimmten Höhe zu erhalten, unbeeinflusst von der Höhe des Blutzuckers. Es können also nicht allein rein osmotische Verhältnisse für den Zuckeraustausch zwischen Blut und Muskel maßgebend sein, und man wird hieraus entnehmen, daß bei gesteigertem Zuckerverbrauch des Muskels die Nachlieferung nicht einfach deshalb eintritt, weil entstandene osmotische Druckdifferenzen das gestörte Gleichgewicht wieder herzustellen bestrebt sind.

Daß der Körper auch sonst die Fähigkeit hat, Unterschiede der Zuckerkonzentration aufrecht zu erhalten, zeigen z. B. die vergleichenden Analysen im Blut und im Liquor cerebrospinalis.

Die Tatsache, daß der Zuckergehalt der diabetischen Muskeln keine abnorme Höhe aufweist, ist noch in anderer Hinsicht von prinzipieller Bedeutung. Es wurde oben die Anschauung erwähnt, daß im Diabetes die Überproduktion von Zucker primär vorhanden sei und diese erst sekundär durch Überschwemmung des Blutes und der Organe zu einer Hemmung des Zuckerabbaues führe.

Es kann aber, wie die Analysen zeigen, von einer Überschwemmung der Muskeln mit Zucker gar nicht die Rede sein. Die Annahme einer sekundären Hemmung der Kohlehydratverwertung infolge Überladung der Muskeln mit Zucker kommt demnach in Wegfall.

Außerdem zeigt sich hierin die Schwäche der schon von Handmann¹⁾ widerlegten Annahme, daß die Zuckeranreicherung der Gewebe im Diabetes an der verminderten Resistenz des diabetischen Organismus gegen Infektionen Schuld trage.

1) Arch. f. klin. Med. 1911, Bd. 102, S. 1.