

Ueber die postmortale Zuckerbildung in der Leber.

Von

R. Boehm und F. A. Hoffmann

in Dorpat.

Im XXII. Bande dieses Archivs p. 214 ff. haben Seegen und Kratschmer eine Reihe von Versuchen veröffentlicht, auf Grund derer sie zu dem Ergebnisse gelangen, dass der Leberzucker nicht, wie man seit Bernard und Hensen meint, ausschliesslich aus Glycogen entstehe, sondern dass er unzweifelhaft auch aus anderem Material gebildet werde. Mit Recht bezeichnen die genannten Autoren dieses Resultat als ein wichtiges und überraschendes; es würde in der That unsere bisherigen Vorstellungen von den chemischen Vorgängen in der Leber principiell modificiren; um so mehr wird aber eine strenge Kritik der Untersuchungen, welche zu derartigen Schlussfolgerungen geführt haben, am Platze sein. S. und K. haben die Leber verschiedener Thiere in der Weise behandelt, dass sie von einer solchen erst ganz frisch und dann nach bestimmten Zeiträumen annähernd gleich grosse Stücke abschnitten und auf Zucker und Glycogen untersuchten; die geläufige Ansicht über die stattfindende Zuckerbildung verlangt, dass entsprechend dem beim Liegen entstandenen Zucker das Glycogen in der Leber abgenommen habe. Die erforderlichen quantitativen Belege glauben die Autoren dadurch erbringen zu können, dass sie den Zuckergehalt ihrer Leberdecocte vor und nach dem 24stündigen Erhitzen mit Salzsäure durch Titrirung feststellen. Die Differenz zwischen beiden Bestimmungen entspricht derjenigen Zuckermenge, welche durch die Einwirkung der Säure auf Glycogen (und Dextrin) sich gebildet hatte ¹⁾. Daraus kann

1) In der tabellarischen Zusammenstellung ihrer Resultate auf p. 224 geben S. und K. in der letzten Columnne auch den Gehalt an Glycogen in % an. Die Zahlen entsprechen aber nur den Differenzen zwischen dem Zuckergehalte der Decocte vor und nach der Behandlung mit Salzsäure, sie müssen

man also berechnen, wie viel Glycogen (resp. Glycogen+Dextrin) in dem betreffenden Leberstücke vorhanden war. — Der Vergleich mit vorher und nachher untersuchten Stücken derselben Leber würde so die Antwort auf die gestellte Frage bringen.

Diese Schlussfolgerung wie auch die Methode, welche die Autoren nun befolgen, um den Zucker im 24h mit Salzsäure gekochten Decocte zu bestimmen, nöthigen uns zu einigen kritischen Bemerkungen.

Die Zuckerbestimmungen wurden nach Fehling ausgeführt; p. 220 heisst es: „In einer Flüssigkeitsportion wurde der Zucker-gehalt durch Titrirung mit Fehling'scher Lösung festgestellt. Anfangs versuchten wir es, den Zucker direct im Leberdecocte zu bestimmen, aber die Bestimmungen fielen in Folge der Anwesenheit des Glycogens und vieler löslicher Eiweisskörper schlecht aus. Verdünnung des Decoctes besserte die Sache nicht, die Kupferoxydulausscheidung ging nicht schön von statten, die Lösung bekam jenen violetten Ton, der durch Anwesenheit von Albuminaten veranlasst ist und der es unmöglich macht, die beendigte Reduction zu präcisiren. Wir haben es daher vorgezogen, eine gemessene Menge des Decoctes mit der 4—5fachen Menge 90% Alkohols zu versetzen, das Alkoholfiltrat bis zum Verschwinden des Alkoholgeruchs einzuengen und in diesem den Zucker zu bestimmen. Die Titrirung kann jetzt sehr elegant und mit voller Präcision wie in einer reinen Zuckerlösung ausgeführt werden.“ Es ist dies nebenbei gesagt ungefähr dasselbe Verfahren, welches wir bereits vor 3 Jahren zur Titrirung des Leberzuckers vorgeschlagen haben.

Viel weniger scrupulös sind die Verfasser bei der Titrirung derjenigen Leberdecocte verfahren, welche sie 24 Stunden in zugeschmolzener Röhre mit Salzsäure erhitzen hatten. Hier haben sie die aus der Röhre genommene Flüssigkeit, „die gewöhnlich sehr dunkel war“, auf 100 cem verdünnt, filtrirt und ohne Weiteres titirt. Hier scheinen also die Eiweisskörper nicht genirt zu haben. Zunächst sind nun aber Vergleichen zweier unter so verschiedenen Bedingungen ausgeführter quantitativen Bestimmungen, wie sie die Titrirung einmal einer durch Alkoholfällung gereinigten

um den wirklichen Glycogengehalt zu zeigen, noch durch 1,111 dividirt werden; dadurch werden die in der letzten Columnne enthaltenen Zahlen bedeutend kleiner.

annähernd eiweissfreien und beinahe farblosen — das andere Mal einer 24h mit Salzsäure erhitzten dunkelbraunen und eiweisshaltigen Flüssigkeit darstellen, in hohem Grade anfechtbar. Bei Versuchen, die wir in Veranlassung der Angaben S. und K.'s ausführten, war uns eine auch nur annähernd befriedigende Titrirung eines solchen 24 Stunden mit Salzsäure erhitzten Leberdecoctes gradezu unmöglich; auch bei starker Verdünnung, Filtration und vorsichtigster Neutralisation entstanden beim Einfließen in die Fehling'sche Lösung sofort Farbenntüancen wie grün, violett etc., welche die Feststellung der Endreaction um so mehr vereitelten, als sich das Kupferoxydul nicht ordentlich abschied. Auch ein Leberdecoct, welches zuvor mit Alkohol ausgefällt worden war, nahm nach 24stündigem Erhitzen mit Salzsäure noch eine dunkelbraune Färbung an und liess sich nicht titriren. Erst nachdem die verschiedenen durch die Einwirkung der Säure gebildeten Zersetzungsproducte nach vorausgehendem vorsichtigen Neutralisiren mit einer Lösung von essigsauerm Kupferoxyd gefällt, aus dem Filtrat das Kupfer durch H_2S entfernt, endlich aus dem zweiten Filtrat H_2S durch Erwärmen verjagt worden war, erhielt man eine titrirbare Flüssigkeit.

Aber auch unter der Voraussetzung, dass die Titrirung selbst ohne Weiteres den wünschenswerthen Verlauf nimmt, ist das von S. und K. eingeschlagene Verfahren nicht vorwurfsfrei; denn es ist unberechenbar, nach welchen Gesetzen die Reduction des Kupfers in einer Flüssigkeit erfolgt, welche die unbekannten Producte der 24stündigen Einwirkung von Salzsäure auf Eiweisskörper, verschiedene Nhaltige Extractivstoffe und Kohlehydrate enthält. Die Möglichkeit, dass hierbei auch Spaltungen und Zersetzungen sich vollziehen, bei denen Kupferoxyd reducirende Substanzen (abgesehen von Zucker) entstehen, ist so lange nicht von der Hand zu weisen, so lange nicht alle im Leberauszuge enthaltene Körper genau bekannt sind. Den Beweis, dass derartige reducirende Substanzen aus dem Leberdecocte durch Einwirkung von Salzsäure nicht gebildet werden, hat derjenige zu erbringen, der auf die Abwesenheit solcher in thierischen Flüssigkeiten bekanntlich sehr verbreiteter Substanzen die Anwendbarkeit einer quantitativen Methode stützen will, nicht aber kann diese Beweisführung demjenigen zugeschoben werden, der gegen dieses den Regeln exacten Arbeitens

widersprechende Verfahren Einsprache erhebt. Dass Controllversuche an Milz, Nieren und Gehirn ausgeführt für die Leber nichts beweisen, ist selbstverständlich.

Sehen wir nun aber von den Fehlerquellen der Methode ganz ab und geben wir die Möglichkeit zu, dass alle Zuckerbestimmungen annähernd richtige Werthe ergeben haben, so können wir trotzdem dem von S. und K. daraus gezogenen Schlusse, dass die postmortale Zuckerbildung ausser aus dem Glycogen noch aus einem anderweitigen Material erfolge, nicht ohne Weiteres beitreten.

Die Versuche von S. und K. ergeben zunächst in Uebereinstimmung mit den bisherigen Erfahrungen eine Zunahme des Zuckers in der Leber, die ungefähr 24 Stunden nach dem Tode ihr Maximum erreicht. Dieser Zunahme des Zuckers müsste nach der alten Anschauung eine Abnahme des Glycogens entsprechen, anstatt dessen zeigt sich, dass in dem betreffenden Leberdecocte nach Ueberführung sämtlichen Glycogens und Dextrins in Zucker (durch Erhitzen mit Salzsäure) auch die Gesamtsumme des Zuckers eine beträchtliche Zunahme erfahren hat. Dieses auffallende Verhalten drängt zu der Vermuthung, dass nicht nur aus den Kohlehydraten, sondern auch noch aus einer anderen Substanz Zucker entstanden sei. Bei dem totalen Mangel jeden Anhaltspunktes über die Natur dieser Substanz ist nun die Aufstellung, dass sie alsbald nach dem Tode innerhalb 24 Stunden vollständig spontan in Zucker übergeht, während das Glycogen nur relativ kleine Zuckermengen liefert, eine rein willkürliche. Nichts zwingt uns nach dem von Seegen und Kratschmer beigebrachten Versuchsmaterial zu der Annahme, dass diese Zuckerbildung überhaupt eine spontane gewesen ist; mit ebenso grosser Berechtigung können sie auch sagen, dass diese hypothetische, zuckerbildende Substanz im Leberdecoct enthalten war und erst durch das 24 stündige Kochen mit HCl in Zucker übergeführt worden ist.

Die Zahlen in der Columnne „Zucker“ in der Tabelle p. 224 der Abhandlung von S. und K. würden dann den durch den Uebergang von Glycogen in Zucker bedingten Zuckerzuwachs angeben; in den Zahlen der Columnne „Zucker und Glycogen“ könnte aber der durch diese Zuckerbildung bedingte Glycogenschwund deshalb nicht zum Ausdruck gelangen, weil er durch die neu hinzugekommenen Zuckermengen übercompensirt wird, welche aus der hypothetischen zuckerbildenden Substanz durch Kochen mit

Salzsäure entstanden sind. Es wäre endlich drittens natürlich ebenso gut denkbar, dass sowohl vom Glycogen als auch von der hypothetischen glycogenen Substanz ein Theil spontan in Zucker übergeht, der Rest aber erst durch Kochen mit Salzsäure in Zucker übergeführt wird. Die Versuche S. und K.'s sagen über diese Verhältnisse absolut nichts aus; sie ergeben nur einen Zuckerüberschuss; ob derselbe spontan oder erst beim Kochen mit Salzsäure entstanden ist, darüber erlauben sie nicht einmal eine Vermuthung.

Es ist nun aber klar, dass so lange zwischen den oben dargelegten Alternativen eine definitive Entscheidung durch das Experiment nicht herbeigeführt ist, die Behauptung, dass in der Leber Zucker auch aus einem anderen Material als Glycogen entsteht, noch den sehr wesentlichen Zusatz erhalten müsste, dass es sehr fraglich ist, ob dieser bisher unbekannte Modus der Zuckerbildung ein natürlicher oder ein künstlicher ist.

Diese Frage kann aber in sehr einfacher Weise dadurch entschieden werden, dass wir Glycogen und eventuell Dextrin, deren glycogene Eigenschaft definitiv feststeht, nicht indirect, sondern direct im Leberdecoct quantitativ bestimmen. Stellt sich dabei heraus, dass der Zuckerzuwachs nicht durch eine entsprechende Abnahme des Glycogens gedeckt wird, dass also die Summe Glycogen+Zucker in zwei zu verschiedener Zeit nach dem Tode untersuchten Leberstücken nicht annähernd gleich bleibt, sondern erheblich zunimmt, dann erst wird man zugeben müssen, dass nicht aller vorhandene Zucker aus den Kohlehydraten entstanden sein kann.

Den soeben angedeuteten Weg haben wir bereits vor 3 Jahren eingeschlagen; der damals angestellte ¹⁾, hier nochmals abgedruckte Versuch ergab ein Resultat, welches uns keine Veranlassung bot, an der Bildung des Zuckers aus Glycogen zu zweifeln.

Katze von 2,60 Kilo mit Rindfleisch gefüttert. Leber 154,0 gr schwer = $\frac{1}{17}$ des Körpergewichts.

I. Stück der Leber 73 grm gibt 3040 cem Decoct, 100 davon enteiweisst geben 70 cem. Davon reduciren 27 cem 2,0 cem Fehling-scher Lösung. Das erste Leberstück enthält also 0,7873 grm, die

1) Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmacologie Bd. VIII, p. 283.

ganze Leber 1,65 grm Zucker. Aus 2940 ccm erhält man 7,761 grm Glycogen, die ganze Leber also 16,91 grm.

II. Stück der Leber 81 grm, 3 Stunden später in Arbeit genommen, liefert 3340 ccm Decoct; nach dem Enteiweissen reduciren 19,4 ccm; 2 ccm Fehlingscher Lösung, das Stück enthält daher 1,7 grm, die ganze Leber 3,2 grm Zucker. Aus 3240 ccm erhält man 8,143 grm Glycogen also für die ganze Leber 15,95 grm.

Daraus ergibt sich I. Stück Zucker 1,65

16,91 Glycogen als Zucker 18,87

Summa 20,52

II. Stück Zucker 3,2

15,95 Glycogen als Zucker 17,70

Summa 20,90

d. i. eine Differenz von 0,38 grm oder von 1,8%.

Es findet sich allerdings auch in diesem Versuche ein Ueberschuss an Zucker von 0,38 g (= 1,1 % der Gesamtmenge) zu Gunsten des zweiten, 3 Stunden nach dem Tode des Thieres untersuchten Leberstückes; indessen erschien uns diese Differenz viel zu klein, als dass wir irgend welchen Werth darauf legen zu dürfen glaubten. Ein Fehler von $\pm 1\%$ der gesammten vorhandenen Menge von Kohlehydraten ist durch die zahlreichen Manipulationen, welche derartige Versuche mit sich bringen, recht wohl erklärt. Bei aller Accuratesse des Arbeitens sind eben doch alle die Methoden, welche bei einer derartigen quantitativen Vergleichsbestimmung Anwendung finden, mit Fehlerquellen behaftet, deren Einfluss auf das Gesamtergebniss nur zu leicht unterschätzt wird.

Da nun aber das Resultat unseres früheren Versuches durch die neuen Angaben S. und K.'s in Frage gestellt erscheint, sahen wir uns um so mehr veranlasst, noch einige neue Versuche anzustellen, als man uns immerhin den Vorwurf machen konnte, dass wir nur einen einzigen Versuch zur Stütze unserer Ansicht vorbringen können und dass wir in diesem Versuche ausserdem noch die Möglichkeit des Vorhandenseins von Dextrin neben Glycogen nicht berücksichtigt hatten. Wir haben schon früher die Eventualität ins Auge gefasst, es könnten in der Leber neben Zucker andere Kohlehydratmodifikationen aus Glycogen entstehen ¹⁾, haben

1) Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmacologie Bd. X, p. 13.

aber damals kein Dextrin in der Leber gefunden; jetzt, nachdem Seegen und Kratschmer selbst das gelegentliche Vorkommen eines solchen Körpers gezeigt¹⁾ haben, muss diese Möglichkeit bei jedem Versuche im Auge behalten werden.

Die Methode unserer Untersuchung gestaltete sich daher in folgender Weise. Die Leber entnahmen wir möglichst rasch den frisch getödteten Thieren (1 Katze²⁾, 1 Hund); das erste Stück kam sofort in Arbeit, das zweite nachdem es 24h in einer verdeckten Porzellanschale bei Zimmertemperatur gelegen hatte. Später als nach 24 Stunden haben wir keine Leberstücke untersucht, da es uns vorerst darauf ankam, die Veränderungen zu vermeiden, welche durch die Fäulniss in der Leber bedingt werden. Die Leberstücke wurden selbstverständlich gewogen und dann, wie wir das schon in unserer früheren Abhandlung³⁾ angaben, so lange mit Wasser ausgekocht, bis das Decoct keine Glycogenreaction mehr gab. Um hierbei nach Möglichkeit Täuschungen vorzubeugen, dampften wir bei den späteren Auskochungen, nachdem die Hauptmasse des Glycogens bereits entfernt und nur noch kleine Mengen im Leberbrei zurückgeblieben waren, jedes Mal behufs Feststellung der qualitativen Glycogenreaction 100 cem des Decocts auf 3—4 cem ein und stellten mit dieser Probe nach dem Enteiweissen durch Essigsäure die Glycogenreaction mit Jod an: erst wenn sie in diesem Falle ausblieb, wurde mit dem Auskochen aufgehört.

Die Decocte wurden nun auf dem Wasserbade auf ca. 200—400 cem eingeengt, nach dem Erkalten gemessen und in zwei Portionen getheilt. Die eine (I) kleinere diente zur Bestimmung des Zuckers (resp. Dextrins), die andere (II) grössere zur Darstellung des Glycogens. Die Portion I wurde mit der dreifachen

1) Dieses Archiv. Bd. XXII. Die Natur des Leberzuckers.

2) Auch bei S. und K. findet sich wieder einmal das Vorurtheil, dass mit Katzen schwer zu manipuliren, dass an ein vorheriges Auffüttern wie bei Hunden nicht zu denken sei. Diese Behauptung ist durchaus grundlos, Katzen lassen sich eben so gut, ja besser auffüttern wie der Hund, weil sie sich leichter an die Gefangenschaft gewöhnen und die gezwungene Ruhe des Käfigs besser wie jener ertragen. Wir arbeiten seit vielen Jahren fast ausschliesslich mit Katzen und haben schon an einer andern Stelle die Vorzüge hervorgehoben, welche dieses Versuchsthier vor dem Hunde bietet.

3) Beiträge zur Physiologie des Kohlehydratstoffwechsels I. Abhandlung. Archiv für experiment. Pathol. u. Pharmacol. Bd. VIII. p. 276.

Menge Alkohol (96 %) versetzt, in einem Becherglase einmal gehörig aufgeköcht, filtrirt, der Niederschlag gut mit heissem Spiritus nachgewaschen, das Filtrat vom Alkohol befreit. Der Rückstand wurde behufs Entfernung von Fett zunächst mit Aether gut ausgeschüttelt, nach dem Abgiessen des Aethers zur Verjagung der zurückbleibenden Aethermengen auf dem Wasserbade erwärmt, bis kein Aethergeruch mehr wahrgenommen wurde und hierauf durch ein möglichst kleines Filter filtrirt; nachdem das Filter gut gewaschen war, musste aller Zucker und eventuell Dextrin im Filtrat vorhanden sein, dessen Volumen genau bestimmt wurde. Die Farbe dieser Flüssigkeit war bernsteingelb, sie war so klar, dass sie bequem im Polarisationsapparate untersucht werden konnte. Es wurde nun der Zuckergehalt der Lösung durch Titriren nach Fehling festgestellt und mit dem Ergebnisse der Polarisation verglichen. Unsere früheren Untersuchungen lehren, dass die verschiedenen Dextrine, welche aus dem Glycogen entstehen, 3,5 bis 4 mal so stark nach rechts drehen als Traubenzucker; waren daher irgend nennenswerthe Mengen von Dextrin in die alkoholische Lösung übergegangen, so mussten wir davon sofort durch eine erhebliche Differenz der durch Polarisation einerseits und der durch Titrirung andererseits erhaltenen Zuckerzahl unterrichtet werden. Durch Subtraction der durch Titrirung gewonnenen Procentzahl von der durch Polarisation gefundenen erhält man die durch das Dextrin bedingte Drehung, woraus dann annähernd die Quantität des vorhandenen Dextrins berechnet werden kann. Unsere Versuche werden zeigen, dass wir unter 6 mal nur ein einziges Mal in die Lage kamen, eine solche Berechnung anzustellen, dass also nur ein einziges Mal nennenswerthe Quantitäten von Dextrin und zwar im Decoct des II. Leberstücks vorhanden waren. Wir wurden sofort darauf aufmerksam; denn die Polarisation ergab noch einmal so viel Zucker wie die Titrirung. Da es sich hier um Mengen handelte, die nach unseren früheren Erfahrungen isolirt werden konnten, so versuchten wir aus einem Theil unseres Decoctes das Dextrin darzustellen. Wir dampften zunächst die wässrige Lösung bis zum dicken Syrup ein und versetzten dann mit sehr viel Alkohol; es erfolgte alsbald die Ausscheidung einer zähen schmierigen Masse, die an den Wänden des Gefässes haftete. Der nach einigem Stehen klar abgegossene Spiritus wurde wieder bis zum Syrup eingedampft und nochmals mit absolutem Alkohol behandelt. Durch

mehrmaliges Wiederholen dieser Procedur erhielten wir schliesslich ca. 0,028 g einer noch etwas gefärbten Substanz, die in Wasser leicht löslich war, Kupferoxyd bei Zusatz von Alkali in Lösung hielt, aber beim Kochen nicht reducirte, etwa 3,5 mal so stark wie Zucker nach rechts drehte, mit Jod sich nicht, mit Kalilauge beim Erwärmen sich citronengelb färbte. Es sind dies aber genau die Eigenschaften, welche wir für das nach der Injection von Glycogen in den Blutkreislauf durch den Harn ausgeschiedene und aus demselben chemisch rein dargestellte Achroodextrin festgestellt haben, und es unterliegt somit auch keinem Zweifel, dass in diesem Falle in der Leber (Stück, welches 24h gelegen hatte) Achroodextrin gebildet worden war. Da die Substanz, wie wir schon früher zeigten, bei gleichzeitiger Anwesenheit von viel Zucker sehr schwer durch Alkohol gefällt wird, so konnten wir nicht daran denken, sie durch Isolirung und Wägung zu bestimmen. Die Bestimmung aber als Zucker nach vorherigem Erhitzen mit einer Mineralsäure hätte aus den oben angegebenen Gründen wenigstens eine vorherige Entfernung der N haltigen Extractivstoffe durch essigsaures Kupfer erfordert, eine Methode, von der aber erst näher festgestellt werden müsste, ob nicht durch das Kupferacetat Dextrin oder Zucker mit niedergerissen werden: so haben wir uns in dem einen Falle, um den es sich hier handelte, daran genügen lassen, die Polarisation zur approximativen Bestimmung der vorhandenen Dextrinmenge zu verwerthen.

Es hat sich also gezeigt, dass unter 6 Bestimmungen ¹⁾ nur ein Mal erhebliche Mengen von Dextrin vorhanden waren, in den sofort nach dem Tode untersuchten Leberstücken haben wir niemals Dextrin gefunden, das 24 Stunden aufbewahrte Leberstück, welches Dextrin enthielt, war gegenüber den anderen beiden Versuchen ganz auffallend stark sauer geworden. Wir wollen nicht die Möglichkeit abstreiten, dass auch in den übrigen von uns untersuchten Decocten Spuren von Achroodextrin vorhanden waren; zum Theil wird ja Achroodextrin jedenfalls schon bei der ersten Alkoholfällung mit niedergerissen, also mit dem Glycogen zusammen bestimmt und gewogen; Spuren die in den Alkoholextract über-

1) Ausser den zwei schon erwähnten Thieren wurde noch die Leber eines dritten ebenso gehaltenen, eines Hundes, zur Untersuchung auf Dextrin und auf linksdrehende Substanz verarbeitet.

gehen, ohne im Polarisationsapparate eine merkliche Ablenkung zu bedingen, können aber für unsere Zwecke nicht mehr in Betracht kommen, wenn man bedenkt, dass eine Flüssigkeit, welche 0,1 % Dextrin enthält, schon eine Ablenkung von 0,35 zeigt (unser Apparat nach Jellet-Cornu giebt 0,1 mit aller Sicherheit an).

Bei der Vergleichung der Polarisations- und Titrirungs-Resultate wurden wir nun aber auf eine weitere interessante Thatsache aufmerksam, nemlich auf das Vorhandensein eines links drehenden Körpers im Leberdecoct. Auch dieser Substanz sind Seegen und Kratschmer zuerst auf die Spur gekommen¹⁾, haben sie aber nicht weiter verfolgt. Wie diese beiden Autoren fanden auch wir, dass die Leberdecocte nach Ausfällung mit 3 vol. Alkohol und weiterer Behandlung cf. sup. häufig im Polarisationsapparate eine geringere Rechtsdrehung ergaben, als man nach der Titrirung erwarten musste. Wir haben dieses Factum fünf Mal unter sechs Bestimmungen constatirt. Es wurden erhalten:

% Zucker	1	2	3 ²⁾	4 ²⁾	5
titrirt	1,13	2,17	1,2	0,88	1,8
polarisirt	0,6	1,6	0,6	0,4	1,0

Da auch denkbar war, dass sich in der Flüssigkeit ein Körper befand, welcher das Kupfer stärker als der Zucker reducirt, so musste vor Allem der Beweis geliefert werden, dass auch wirklich eine links drehende Substanz vorlag.

Es gelang nun ziemlich leicht, dieselbe, wenn auch nur in kleinen Mengen zu isoliren. Die Lösung wird zur Syrupsdicke eingedampft und mit viel starkem Alkohol versetzt. Nach längerem Stehen bildet sich ein flockiger weissgrauer Niederschlag, welchen man abfiltrirt. Das Filtrat wird wieder eingedampft und der Syrup nochmals mit Spiritus behandelt, wobei ein neuer Niederschlag erhalten wird. Man wiederholt dieses Verfahren solange als man noch erhebliche Ausbeute an Niederschlägen erhält, diese auf einem Filter gesammelt löst man in wenig Wasser. Diese Lösung im

1) Seegen und Kratschmer: Die Natur des Leberzuckers. Dieses Archiv Bd. 22. p. 209.

2) Diese beiden Zahlen stammen aus einem Versuche, welcher nur speciell für die Untersuchung der linksdrehenden Substanz angestellt wurde.

Polarisationsapparate untersucht ergab eine Linksdrehung bis zu 0,6 des für Zuckerablesung eingetheilten Instrumentes.

Wir haben noch nicht genügend reine Substanz dargestellt, um die Drehungsconstante derselben festzustellen, vorläufig aber können wir folgendes über sie aussagen: mit Kupfersulfat und Kali gab der in Wasser ganz leicht lösliche Körper sofort die für Peptone charakteristische Violettfärbung, beim Kochen aber keine Spur einer Reduction, durch Sublimatlösung wurde er bei leichtem Erwärmen gefällt und durch Zersetzung mit Schwefelwasserstoff aus dem Niederschlag wieder erhalten; Salpetersäure gibt keinen Niederschlag und beim Erwärmen keine Gelbfärbung; Kochen und auch vorsichtiger Zusatz von Essigsäure erzeugt keinen Niederschlag, Millons Reagens keine Rothfärbung, dagegen erfolgt auf Zusatz von Ferrocyankalium und Essigsäure eine flockige Trübung; auf Platinblech verbrannte die Substanz unter sehr intensiver Entwicklung des für N haltige thierische Substanzen charakteristischen Geruches. Nach all diesen Reactionen kann es kaum zweifelhaft sein, dass wir es mit einer eiweissähnlichen Substanz zu thun haben, welche den Peptonen sehr nahe steht. Wir erinnern noch daran, dass Maly in ganz analoger Weise durch fractionirte Alkoholfällung reines Pepton aus Verdauungsgemischen isolirt hat, ferner dass Salkowsky¹⁾ neuerdings in der Leber eines an Leucaemie verstorbenen Individuums offenbar einen ganz ähnlichen Körper fand. Es bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten, zu entscheiden unter welchen Bedingungen sich dieser Eiweisskörper in der Leber vorfindet, so wie auch sein chemisches Verhalten noch präciser festzustellen.

Die oben bereits angegebenen Zahlen zeigen, dass in Folge der Anwesenheit des linksdrehenden Körpers in unseren Decocten fast immer eine geringere Rechtsdrehung beobachtet wurde als man nach der Zuckertitrirung erwarten musste. Es ist danach schon in hohem Grade unwahrscheinlich, dass neben dem Zucker und dem linksdrehenden Stoffe noch Dextrin vorhanden war. Um uns gegen einen derartigen Einwurf indessen ganz sicher zu stellen, haben wir die Lösung nach Ausfällung mit Sublimat filtrirt und von Neuem polarisirt. Da Dextrin durch Sublimat nicht gefällt wird, so hätte im Falle seiner Anwesenheit das Filtrat nach rechts drehen müssen.

1) Virchow's Archiv Bd. 81.

Das Glycogen wurde aus der Portion II des Decoctes ganz in der bekannten Weise nach Brücke dargestellt. Schliesslich wurde alles auf Zucker berechnet und die Gesamtsumme desselben in beiden Leberstücken verglichen, so wie die Differenzen zwischen dem frischen Stück und dem, welches 24h gelegen hatte, in Bezug auf Zucker und Glycogen festgestellt. Aus der folgenden Tabelle ersieht man dies in übersichtlicher Zusammenstellung:

Versuchsthier.	Gewicht des verarbeiteten Stückes.	Erstes Stück.			Zweites Stück, 24h später untersucht.			Differenz beider Summen.	Differenz in %.
		Glycogen.	Zucker.	Summa als Zucker.	Glycogen.	Zucker.	Summa als Zucker.		
Katze 3 Kilo Gewicht	133,2	6,883	1,9764	9,6234	5,511	3,440	9,563	0,0604	0,6%
Hund 25,6 Kilo Gew.	150	5,3462	1,9495	7,8891	2,5949 dazu Dextrin 1,0845	3,796	7,8827	0,0064	0,08%

Zu beiden Versuchen sind ausgewählte Thiere genommen, welche vorher lange Zeit mit Fleisch gefüttert worden waren.

In der Columnne „verarbeitetes Lebergewicht“ würde im ersten Versuche für das zweite Stück 110,8 zu setzen sein, um die Resultate aber vergleichter zu machen haben wir sie auf das Gewicht des ersten Stückes umgerechnet. Im zweiten Versuche haben wir beide zu verarbeitende Leberstücke gleich genommen.

Vergleicht man nun die beiden mit Glycogen überschriebenen Columnen mit einander, so sieht man dass dasselbe innerhalb 24h ganz erheblich geschwunden ist, im ersten Versuche um 20%, im zweiten (das Dextrin noch als Glycogen beim zweiten Stück mit verrechnet) um über 30%. Vergleichen wir dann die Zahlen in den beiden mit Zucker überschriebenen Columnen, so finden wir, dass sie sich ganz dem Glycogen entgegengesetzt verhalten, sie nehmen ab, wie das Glycogen zunimmt, und so ergibt sich, dass die Summen in beiden Fällen sehr gut übereinstimmen. Diese Uebereinstimmung ist eine so genaue, dass wir bemerken müssen, auch eine grössere Differenz würde die Beweiskraft der Versuche nicht im geringsten alteriren. Die Fehler sind eben bei den zu Gebote stehenden Methoden und den complicirten Manipulationen so er-

hebblich, dass Differenzen von 1—2% nicht in Anschlag gebracht werden dürfen. Besonders sind es die Titirungen, auf deren Wirkung in dieser Richtung wir aufmerksam machen müssen. Man nehme beispielsweise an, dass wir 500 ccm Decoct hätten, wovon wir 100 zur Zuckerbestimmung nehmen. Bei einem Gesammtzucker-gehalt von 3,5 g würde man von diesen 100 wieder 10 auf 100 verdünnen um eine gute Titirung ausführen zu können. Die Titirung giebt nun in der dritten Decimale entschieden nicht mehr zuverlässige Zahlen; würde aber der begangene Fehler nur 0,002 betragen, so müsste er zur Berechnung auf 500 ccm mit 50 multiplicirt werden und würde so auf 0,1 steigen, 0,1 sind von 3,5 aber 2,85%! Einen so grossen Fehler muss man also bei Anwendung der Titirung unter unsern Verhältnissen für möglich anerkennen.

Wir müssen also dabei stehen bleiben, dass wir die Entstehung von Zucker vollständig aus dem gleichzeitigen Glycogenschwund erklären können. S. und K. haben, wie unser zweiter Versuch zeigte, Recht gehabt mit der Vermuthung, dass auch Dextrin auftreten könne, und wenn es auch nur gelegentlich aufzutreten scheint, so muss es jedenfalls in Rechnung gesetzt werden. Auch von diesem Dextrin müssen wir nach dem einen vorliegenden Versuche behaupten, dass es aus dem Glycogen entstanden sei und dass nicht nöthig ist, eine andere Quelle für die Erklärung seiner Herkunft in Anspruch zu nehmen.

Betrachten wir nun also die Punkte, in welchen Seegen und Kratschmer die positiven Resultate ihrer Untersuchungen zusammenfassen, so haben wir es an dieser Stelle mit den Nummern 2 und 4 zu thun. In 2 heisst es: „das wichtigste Ergebniss unserer Untersuchungen ist, dass der Leberzucker nicht, wie Bernard meinte, ausschliesslich aus Glycogen entsteht, sondern dass er unzweifelhaft auch aus anderm Material gebildet wird.“ Hiergegen können wir nur bemerken, dass unsere Versuche uns zwingen, bei Bernard's Ansicht zu beharren; richtig mag sein, dass in der Leber neben dem Glycogen Substanzen vorhanden sind, aus denen man künstlich durch ein sehr eingreifendes Verfahren Zucker gewinnen kann. Der 4. Punkt lautet: „das Leberglycogen erfährt erst, nachdem die Leber lange Zeit aus dem Körper entfernt ist, im Allgemeinen erst nach 48 Stunden eine wesentliche Abnahme, es scheint also in der Leber weit widerstandsfähiger als dies bisher nach Bernard angenommen wurde.“ Auch hiergegen sprechen

unsere Versuche direct, übrigens aber haben wir in unserm Raisonnement schon gezeigt, dass S. u. K. nach der Natur ihrer Methode überhaupt einen Fehler begehen, wenn sie über das Glycogen etwas aussagen; es ist zu verwundern, dass sie, abgesehen von dem Widerspruche, in welchem sie sich zu den zahlreichen Untersuchungen ihrer Vorgänger über das Leberglycogen befinden, ihre eigenen Untersuchungen nicht höher schätzen. Bei Katze B (l. c. p. 238), wo sie auch Glycogenbestimmungen nach Brücke vorgenommen haben, finden sie selbst:

nach 2 Minuten 3,34

nach 1 Stunde 2,95

nach 24 Stunden 1,25 also eine Abnahme von 32% in 24h!

Wir haben keine Versuche, welche das Verhalten des Glycogens besser characterisiren könnten.

Anhang.

Versuchsprotocolle.

I. Versuch. Sehr starker Kater von 5,3 Kilo, wochenlang vorher regelmässig mit Pferdefleisch gefüttert, strangulirt. Leber 244,0 grm.

1. Portion. 133,2 grm ca. 20 Minuten nach dem Tode ins kochende Wasser gebracht, gaben 2700 ccm Decoct; davon 2600 eingedampft auf 430. Von diesen A. 100 auf Zucker, B. 330 auf Glycogen verarbeitet.

A. Nach dem Behandeln mit Alc. etc. erhält man 39,0 ccm Filtrat. Polarisation ergiebt Rechtsdrehung 0,6. 20,0 ccm von obigen 39 auf 100 verdünnt, titrirt; zu 10 ccm Fehl. Lösung verbraucht 22,1, demnach in 100 (= 20) 0,226, in 39 (= 100) 0,4407, in 430 (= 2600) 1,9032, in 2700 = 1,9764 grm Zucker.

B. 330 Decoct gaben 5,0867 Glycogen (aschefrei), also 2700 = 6,883 grm Glycogen = 7,6470 Zucker.

2. Portion. 110,8 grm gaben nach dem Eindampfen des Decoctes 475 ccm, davon A. 100 auf Zucker, B. 375 auf Glycogen verarbeitet.

A. Nach Behandlung mit Alcohol etc. restiren 27 ccm Filtrat, polarisirt 1,6 nach rechts. 9 (von 27) auf 90 verdünnt; 22,4 davon reduciren 10 ccm Fehl. Lösung also in 90 (= 9) 0,2009 grm Zucker; in 27 (= 100) 0,6027; in

75 ccm 2,8628 grm Zucker. Da dies für 110,8 grm Leber gefunden ist, so giebt es für 133,2 grm = 3,440 grm Zucker.

B. 375 ccm gaben 4,585 Glycogen (aschefrei), also in 475 ccm 4,585 grm. Da dies für 110,8 grm Leber gefunden ist, so giebt es für 133,2 grm = 5,511 grm Glycogen oder 6,123 grm Zucker.

II. Versuch. Hund von 25,6 Kilo seit $\frac{1}{2}$ Jahr im Stall regelmässig gefüttert, strangulirt, Leber 929 grm.

1. Portion. 150 grm (ca. 20 Min. nach dem Tode in kochendes Wasser) geben 2807 ccm, davon 98,5 sofort auf Zucker verarbeitet. Nach dem Enteiweissen 100, davon 36,5 zur Titrirung auf 5 ccm Fehl. Lösung verbraucht, demnach in 100 (98,5) 0,0684; in 2807 = 1,9495 grm Zucker. 2709 ccm nach dem Eindampfen 200 ccm, davon 50 zur Zuckerbestimmung (A), 150 zur Glycogenbestimmung (B).

A. 50 nach dem Enteiweissen wieder 50 polarisiren, 0,4 %. 10 auf 100 verdünnt, zu 6 ccm Fehl. Lösung verbraucht 33,3, demnach in 100 (= 10) 0,0902, in 200 (= 2709) 1,8042, in 2807 = 1,8705 grm Zucker.

B. 150 grm geben 3,8698 grm Glycogen (aschefrei) demnach in 200 (= 2709) 5,1597; in 2807 = 5,3462 Glycogen = 5,9396 Zucker.

2. Portion. 150 gr gaben 292 ccm, davon A. 76 ccm zur Bestimmung von Zucker und Dextrin, B. 216 ccm zur Glycogenbestimmung.

A. 76 ccm polaris. 2,6, also in 292 ccm 7,592 grm Zucker; 10 auf 100 verdünnt 18,5 reduciren 5 ccm Fehl. Lös. also

in 292 ccm 3,796 „ „

Differenz der Polarisation und Titrirung 3,796 = 1,0845 Dextrin entsprechend 1,2048 grm Zucker.

B. 216 ccm gaben 1,9197 Glycogen (aschefrei), daher in 292 2,594 Glycogen = 2,8819 Zucker.