

INSULIN

Seine Darstellung, physiologische und pharmakologische
Wirkung mit besonderer Berücksichtigung seiner
Wertbestimmung (Eichung)

von

A. Grevenstuk
Assistent

und

Prof. Dr. E. Laqueur
Direktor

des pharmako-therapeutischen Laboratoriums der Universität Amsterdam



Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH

ISBN 978-3-642-89385-8 ISBN 978-3-642-91241-2 (eBook)
DOI 10.1007/978-3-642-91241-2

Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung
in fremde Sprachen vorbehalten.

Copyright by Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1925
Ursprünglich erschienen bei J. F. Bergmann in München 1925

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Inhaltsverzeichnis	1
Literaturverzeichnis	2
I. Einleitung. Bantings Fortschritt gegenüber früheren Untersuchungen	16
II. Physiologische Wirkung auf normale Organismen und Gewebe	21
A. Auf den Gesamtorganismus	21
a) Kaninchen (Vergiftungsbild)	21
b) Andere Tiere	27
c) Mensch	34
B. Wirkung auf verschiedene Funktionen und Organe	38
a) Intra corpus	38
b) Extra corpus	55
C. Wirkung auf Blut	68
a) Farbe, Zähigkeit, Gerinnung, Oberflächenspannung	68
b) Blutzellen	70
c) Blutzuckergehalt	70
1. Freier Zucker	70
2. Gebundener Zucker	79
d) Übrige Blutbestandteile	98
Anhang: Cerebrospinalflüssigkeit	105
D. Harn	105
Anhang: Milch	107
E. Gaswechsel und Energiewechsel	107
a) Intra corpus	107
b) Extra corpus	121
F. Gewebe	125
a) Intra corpus	125
b) Extra corpus	128
III. Physiologische Wirkung auf abnorme Organismen und Organe	129
A. Am Tiere	129
a) Nach Organexstirpationen	129
b) Insulinwirkung gegen Piquêre, Asphyxie usw.	135
B. Wirkung auf den kranken Menschen	136

	Seite
IV. Beeinflussung der Insulinwirkung durch andere Stoffe	139
A. Kohlenhydrate (Gegenmittel gegen die toxische Insulinwirkung)	139
B. Organextrakte	143
C. Andere Stoffe	150
V. Bedeutung der Art der Verabreichung des Insulins	152
VI. Bestimmung der Wirkungsstärke	158
A. Definitionen der Einheit	158
B. Beachtung verschiedener Faktoren bei der Eichung	161
C. Die den Definitionen zugrunde liegenden Massstäbe, im besonderen Erzeugen von Krämpfen oder Sinkenlassen des Blutzuckers bis zur „Krampfgrenze“	167
D. Technik der Eichung	174
E. Einzelheiten zur Technik der üblichen Eichung am Kaninchen	176
F. Versuche, Kaninchen durch andere Tiere zu ersetzen	179
G. Eichungen nach dem Prinzip, Störungen auszugleichen	181
Anhang: Glukoseäquivalent	184
H. Übertragung der Eichung auf den Menschen	185
a) Beziehung von Dosis und Wirkung, Schwellenwerte, Konzentrationswirkungskurve	185
b) Klinische Nacheichung	193
Doppelte Krampfgrenze	194
c) Einstellung nach klinischen Wertbestimmungen	196
VII. Eigenschaften des Insulins	199
A. Physikalische Eigenschaften	199
B. Chemische Eigenschaften	203
VIII. Bereitungsmethoden	213
IX. Herkunft und Menge des Insulins und Anwesenheit ausserhalb des Pankreas	235
A. Anwesenheit, Vorrat im Pankreas	235
B. Anwesenheit ausserhalb des Pankreas	240
X. Anti-Insulin	244
XI. Andere insulinartige Stoffe	247
XII. Zusammenfassung und Schluss (Theorie)	254
Sachregister	268
Autorenregister	278

Literatur.

1. Patentbeschreibung Toronto. Journ. Am. Med. Ass. I. 1617. 1923.
2. „ „ Lilly. Journ. Am. Med. Ass. I. 1851. 1923.
3. Abderhalden, E. und E. Wertheimer, Pflüg. Arch. 203. 439. 1924.
4. Abe, Y., Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 103, 73. 1924.
5. Achard, Ch., A. Ribot und L. Binet, C.-R. Soc. Biol. 82. 788. 1919.
6. Dieselben, Ibid. 82. 1232. 1919.
7. Ackermann, Klin. Wochenschr. I. 955. 1924.
8. Adler, L., Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 91. 110. 1921.
9. Ahlgren, G., Klin. Wochenschr. I. 667. 1924.
10. Derselbe, Ibid. I. 1158. 1924.
11. Derselbe, Ibid. II. 1222. 1924.

12. Derselbe, *Quart. Journ. Exp. Physiol. Suppl.* Nr. 46. 1923.
13. Derselbe, *Skand. Arch. f. Physiol.* **44**. 167. 1923.
14. Allan, F. N., *Am. Journ. Physiol.* **67**. 275. 1924.
15. Derselbe, *Journ. Biol. Chem.* **59**. XXVIII. 1924.
16. Allan, F. N., D. J. Bowie, J. J. R. Macleod und W. L. Robinson, *Brit. Journ. Exp. Pathol.* **5**. 75. 1924. *Zit. nach Journ. Am. Med. Ass.* **II**. 153. 1924.
17. Allen und Hanbury, *Lancet.* **I**. 101. 1924.
18. Allen, R. S., H. A. Piper, C. P. Kimball und J. R. Murlin, *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* **20**. 519. 1923.
19. Alles, G. A. und H. M. Winegarden, *Journ. Biol. Chem.* **58**. 225. 1923.
20. Ambard, L., F. Schmidt und M. Arnovlyévitch, *C.-R. Soc. Biol.* **90**. 790. 1924.
21. Arnovlyévitch, M., *C.-R. Soc. Biol.* **91**. 287. 1924.
22. Arnovlyévitch, M. und F. Schmid, *C.-R. Soc. Biol.* **90**. 788. 1924.
23. Arnstein, A., *Wien. klin. Wochenschr.* **622**. 1924.
24. Ashby, J. S., *Am. Journ. Physiol.* **67**. 77. 1923.
25. Audova, A. und R. Wagner, *C.-R. Soc. Biol.* **90**. 308. 1924.
26. Dieselben, *Klin. Wochenschr.* **I**. 231. 1924.
27. Azuma, R. und W. Hartree, *Bioch. Journ.* **17**. 875. 1923.
28. Babkin, B. P., *Brit. Journ. Exp. Pathol.* **4**, 310. 1923. *Zit. nach Journ. Am. Med. Ass.* **I**. 500. 1924.
29. Banting, F. G. und C. H. Best, *Journ. Lab. a. Clin. Med.* **7**. 1922. Nr. 5; *Univ. of Toronto Studies, Physiol. Series* Nr. 45.
30. Dieselben, *Journ. Lab. a. Clin. Med.* **7**. 1922. Nr. 8; *Univ. of Toronto Studies, Physiol. Series* Nr. 46.
31. Dieselben, *Quart. Journ. Exp. Physiol. Suppl.* Nr. 48. 1924.
32. Banting, F. G., C. H. Best, J. B. Collip, W. R. Campbell, A. A. Fletcher, J. J. R. Macleod und E. C. Noble, *Transact. Assoc. Am. Physicians.* 1922; *University of Toronto Studies, Physiol. Series* Nr. 57.
33. Banting, F. G., C. H. Best, J. B. Collip, J. J. R. Macleod und E. C. Noble, *Am. Journ. Physiol.* **62**. 162. 1922.
34. Dieselben, *Am. Journ. Physiol.* **62**. 559. 1922.
35. Dieselben, *Transact. Roy. Soc. Canada. Sect. V.* 1922. *Univ. of Toronto Studies, Physiol. Series* Nr. 48.
36. Banting, F. G., C. H. Best, G. M. Dobbin und J. A. Gilchrist, *Am. Journ. Physiol.* **63**. 391. 1923.
37. Dieselben, *Journ. Pharmacol. a. Exp. Ther.* **21**. 191. 1923.
38. Banting, F. G., C. H. Best und J. J. R. Macleod, *Am. Journ. Physiol.* **59**. 479. 1922.
39. Banting, F. G., W. R. Campbell und A. A. Fletcher, *Insulin og Diabetes, København*, **II**. 50. 67. 1923.
40. Banting, F. G. und S. Gairns, *Quart. Journ. Exp. Physiol. Suppl.* Nr. 48. 1923; *Am. Journ. Physiol.* **68**. 24. 1924.
41. Barenne, J. G. Dusser de und G. C. E. Burger, *Versl. Kon. Ak. v. Wet. Amsterdam, Wiss. u. Nat. Afd.* **33**. 273. 1924.
42. Barre, J. la, *C.-R. Soc. Biol.* **90**. 1038. 1924.
43. Derselbe, *Ibid.* **91**. 393. 1924.
44. Bauer, R., *Klin. Wochenschr.* **I**. 302. 1924.
45. Baur, H., *Münch. Med. Wochenschr.* **I**. 187. 1924.
46. Baur, H., R. Kuhn und L. Wacker, *Münch. Med. Wochenschr.* **I**. 169. 1924.
47. Benedict, S. R., *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* **21**. 529. 1924.
48. Berkeley, C., *Journ. Biol. Chem.* **58**. 611. 1923.
49. Derselbe, *Nature* **112**. 724. 1923.
50. Bertram, *Klin. Wochenschr.* **I**. 907. 1924.
51. Best, C. H. und J. J. R. Macleod, *Am. Journ. Physiol.* **63**. 390. 1923.
52. Dieselben, *Journ. Biol. Chem.* **55**. XXIX. 1923.

53. Best, C. H. und D. A. Scott, Journ. Biol. Chem. **57**. 709. 1923.
54. Dieselben, Journ. Am. Med. Ass. II. 382. 1923.
55. Best, C. H., R. G. Smith und D. A. Scott, Am. Journ. Physiol. **68**. 161. 1924. Journ. Biol. Chem. **59**. XXX. 1924.
56. Bickel, A. und J. A. Collazo, Dtsch. Med. Wochenschr. II, 1408. 1923.
57. Biedl, A., Dtsch. Med. Wochenschr. II. 937. 1923.
58. Derselbe, Klin. Wochenschr. II. 1910. 1923.
59. Derselbe, Quart. Journ. Exp. Physiol. Suppl. Nr. 59. 60. 1923.
60. Bierich, R., Klin. Wochenschr. I. 221. 1924.
61. Bierry, H., C.-R. Ac. Sc. **168**. 1225. 1918.
62. Derselbe, Ibid. **169**. 1112. 1919.
63. Bierry, H. und L. Fandard, Ibid. **156**. 480. 1913.
64. Dieselben, Ibid. **156**. 2010. 1913.
65. Dieselben, Ibid. **158**. 61. 1914.
66. Dieselben, Ibid. **158**. 516. 1914.
67. Dieselben, C.-R. Soc. Biol. **72**. 928. 1912.
68. Dieselben, Ibid. **73**. 96. 454. 707. 1912.
69. Bierry, H. und A. Ranc, C.-R. Ac. Sc. **158**. 278. 1914.
70. Dieselben, C.-R. Soc. Biol. **77**. 386. 1914.
71. Bierry, H. und L. Randoïn-Fandard, C.-R. Soc. Biol. **81**. 476. 1918.
72. Bierry, H. und F. Rathery, C.-R. Ac. Sc. **172**. 244. 1921.
73. Dieselben, Ibid. **172**. 1445. 1921.
74. Dieselben, C.-R. Soc. Biol. **83**. 1590. 1920.
75. Bierry, H., F. Rathery und F. Bordet, C.-R. Ac. Sc. **174**. 970. 1922.
76. Bierry, H., F. Rathery, J. Gournay u. R. Kourilsky, C.-R. Soc. Biol. **90**. 615. 1924.
77. Bierry, H., E. Rathery und Kourilsky, C.-R. Soc. Biol. **90**. 36. 1924.
78. Dieselben, Ibid. **90**. 417. 1924.
79. Dieselben, Presse méd. I. 163. 1924.
80. Bierry, H., E. Rathery und Levina, C.-R. Ac. Sc. **173**. 56. 1921.
81. Bissinger, E., E. J. Lesser und K. Zipf, Klin. Wochenschr. II. 2233. 1923.
82. Blatherwick, N. R., M. Bell und E. Hill, Journ. Biol. Chem. **59**. XXV. 1924.
83. Dieselben, Ibid. **61**. 241. 1924.
84. Blatherwick, N. R., M. L. Long, M. Bell, L. C. Maxwell und E. Hill, Am. Journ. Physiol. **69**. 155. 1924.
85. Dieselben, Journ. Biol. Chem. **59**. XXXVI. 1924.
86. Blum, L., C.-R. Ac. Sc. **178**. 1225. 1924.
87. Derselbe, C.-R. Soc. Biol. **91**. 199. 1924.
88. Blum, L., Ch. Achard und F. Rathery, Insulin og Diabetes. København. II. 43. 1923.
89. Blum, L., Carlier und H. Schwab, C.-R. Soc. Biol. **88**. 1156. 1923.
90. Blum, L. und H. Schwab, C.-R. Soc. Biol. **88**. 463. 1923.
91. Dieselben, Ibid. **89**. 195. 1923.
92. Bodansky, A., Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **20**. 538. 1923.
93. Derselbe, Ibid. **21**. 46. 1923.
94. Derselbe, Ibid. **21**. 416. 1924.
95. Derselbe, Quart. Journ. Exp. Physiol. Suppl. Nr. 62. 1923.
96. Bodansky, A. und S. Simpson, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **21**. 280. 1924.
97. Boden, E., P. Neukirch und F. Wankell, Klin. Wochenschr. II. 1396. 1924.
98. Boerner-Patzelt, D., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. **99**. 253. 1923.
99. Boivin, A., J. Oddo und Chosson, C.-R. Soc. Biol. **90**. 853. 1924.
100. Boothby, W. M. und L. G. Rowntree, Journ. Pharmacol. a. Exp. Ther. **22**. 99. 1923.
101. Bornstein, A., Klin. Wochenschr. I. 555. 1924.
102. Bornstein, A., Griesbach und Holm, Klin. Wochenschr. I. 681. 1924.
103. Bornstein, A. und K. Holm, Deutsch. med. Wochenschr. I. 503. 1924.
104. Bouckaert, J. P. und W. Stricker, C.-R. Soc. Biol. **91**. 100. 1924.

105. Dieselben, *Ibid.* **91**. 102. 1924.
106. Bowie, D. J. und W. L. Robinson, *Journ. Lab. a. Clin. Med.* **8**. Nr. 9. 1923.
107. Brenckmann, E. und A. Feuerbach, *C.-R. Soc. Biol.* **89**. 1113. 1923.
108. Briggs, A. P., I. Koechig, E. A. Doisy und C. J. Weber, *Journ. Biol. Chem.* **58**. 721. 1924.
109. Brugsch, Th., *Deutsch. med. Wochenschr.* **I**. 491. 1924.
110. Derselbe, *Klin. Wochenschr.* **I**. 759. 1924.
111. Derselbe, *Med. Klin.* **3**. 1924.
112. Brugsch, Th., A. Benatt, H. Horsters u. R. Katz, *Bioch. Zeitschr.* **147**. 117. 1924.
113. Brugsch, Th., S. v. Exten und H. Horsters, *Bioch. Zeitschr.* **150**. 49. 1924.
114. Brugsch, Th. und H. Horsters, *Bioch. Zeitschr.* **147**. 150. 1924.
115. Brugsch, Th., H. Horsters und R. Katz, *Bioch. Zeitschr.* **149**. 24. 1924.
116. Büchner, S. und E. Grafe, *Klin. Wochenschr.* **II**. 2320. 1923.
117. Bulatao, E. und A. J. Carlson, *Am. Journ. Physiol.* **69**. 107. 1924.
118. Burgess, N., J. M. H. Campbell, A. A. Osman, W. W. Payne und E. P. Poulton, *Lancet* **II**. 777. 1923.
119. Burn, J. H., *Journ. of Physiol.* **57**. 318. XXXVIII. 1923.
120. Cammidge, P. J., *Brit. Med. Journ.* **II**. 997. 1922.
121. Derselbe, *Ibid.* **I**. 787. 1923.
122. Cammidge, P. J., J. A. C. Forsyth, H. A. H. Howard, *Lancet* **II**. 1324. 1922.
123. Cammidge, P. J. und H. A. H. Howard, *Brit. Med. Journ.* **I**. 405. 1924. *Lancet* **I**. 465. 1924.
124. Dieselben, *Lancet* **II**. 91. 1924.
125. Campbell, J. A. und H. W. Dudley, *Journ. of Physiol.* **58**. 348. 1924.
126. Campbell, W. R. und A. A. Fletcher, *Journ. Am. Med. Ass.* **I**. 1641. 1923.
127. Cannon, W. B., M. A. McIver und S. W. Bliss, *Am. Journ. Physiol.* **69**. 46. 1924.
128. Carrasco-Formiguera, R., *Brit. Med. Journ.* **II**. 1143. 1922.
129. McCarthy, E. R. und H. C. Olmstead, *Am. Journ. Physiol.* **65**. 252. 1923.
- 129a. Castro, F. de, *Travaux du Laboratoire de Recherches biologiques de l'Université de Madrid* **21**. 1923.
130. Chabanier, H., M. Lebert und C. Lobo-Onell, *Bull. Soc. Chim. Biol.* **5**. 389. 1923.
131. Dieselben, *C.-R. Soc. Biol.* **88**. 480. 1923.
132. Cheinisse, *Presse méd.* **I**. 126. 1924.
133. Citron, J. und S. G. Zondek, *Klin. Wochenschr.* **II**. 1243. 1924.
134. Clark, A. H., *Journ. Exp. Med.* **24**. 621. 1916.
135. Derselbe, *Ibidem.* **26**. 721. 1917.
136. Cloedt, J. de und J. van Canneyt, *C.-R. Soc. Biol.* **91**. 92. 1924.
- 136a. Clough, H. D., R. S. Allen und J. R. Murlin, *Am. Journ. Physiol.* **68**. 140, 213. 1924.
137. Dieselben, *Quart. Journ. Exp. Physiol.* 1923. *Suppl.* Nr. 88. 1923.
138. Clough, H. D., R. S. Allen und E. W. Root jr., *Am. Journ. Physiol.* **66**. 461. 1923.
139. Clough, H. D. und J. R. Murlin, *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* **20**. 417. 1923.
140. Clough, H. D., A. M. Stokes, C. B. F. Gibbs, N. C. Stone und J. R. Murlin, *Journ. Biol. Chem.* **55**. XXX. 1923.
141. Dieselben, *Proceed. Soc. Exp. Biol. a. Med.* **20**. 66. 1923.
142. Collazo, J. A. und M. Dobreff, *Klin. Wochenschr.* **II**. 1226. 1924.
143. Collazo, J. A. und M. Haendel, *Deutsch. med. Wochenschr.* **II**. 1546. 1923.
144. Collazo, J. A., M. Haendel und P. Rubino, *Klin. Wochenschr.* **I**. 323. 1924.
145. Dieselben, *Deutsch. med. Wochenschr.* **I**. 747. 1924.
146. Collip, J. B., *Am. Journ. Physiol.* **63**. 391. 1923.
147. Derselbe, *Journ. Biol. Chem.* **55**. XXXVIII. 1923.
148. Derselbe, *Ibid.* **55**. XXXIX. 1923.
149. Derselbe, *Ibid.* **55**. XL. 1923.
150. Derselbe, *Ibid.* **56**. 513. 1923.
151. Derselbe, *Ibid.* **57**. 65. 1923.

152. Derselbe, *Ibid.* 58. 163. 1923.
153. Derselbe, *Proc. Soc. Exp. Biol. u. Med.* 20. 321. 1923.
154. Colwell, A. R., *Journ. Biol. Chem.* 61. 289. 1924.
155. Condorelli, L., *Bull. Reale Accad. Med. Roma.* 50. 97. 1924.
156. Derselbe, *Giornale di clinica medica.* 5. 1924. 10. Febr. *Zit. nach Presse méd. I.* 1924. Nr. 28.
157. Derselbe, *Policlinico* 125. (1. März.) 1924.
158. Cori, C. F., *Journ. Pharmacol. a. Exp. Ther.* 23. 99. 1924.
159. Derselbe, *Proc. Soc. Exp. Biol. u. Med.* 21. 417. 1924.
160. Derselbe, *Ibid.* 21. 419. 1924.
161. Cori, C. F., G. T. Cori und H. Goltz, *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* 21. 121, 122. 1923. *Journ. Pharmacol. a. Exp. Ther.* 22. 355. 1923.
162. Cori, C. F., G. T. Cori und G. W. Pucher, *Journ. Pharm. Exp. Ther.* 21. 377. 1923.
163. Cori, K. F., G. W. Pucher und G. T. Cori, *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* 20. 522. 1923.
164. McCormick, N. A. und J. J. R. Macleod, *Transact. Roy. Soc. Canada. Sect. V.* 63. 1923.
165. McCormick, N. A., J. J. R. Macleod, E. C. Noble und K. O'Brien, *Journ. of Physiol.* 57. 234. 1923.
166. McCormick, N. A., J. J. R. Macleod und M. K. O'Brien, *Transact. Roy. Soc. Canada. Sect. V.* 57. 1923.
167. McCormick, N. A., J. J. R. Macleod, M. K. O'Brien und E. C. Noble, *Am. Journ. Physiol.* 63. 389. 1923.
168. McCormick, N. A. und E. C. Noble, *Journ. Biol. Chem.* 59. XXIX. 1924.
- 168a. McCormick, N. A., E. C. Noble und M. K. O'Brien, *Am. Journ. Physiol.* 68. 144. 1924.
169. Cowie, D. M. und J. P. Parsons, *Journ. Am. Med. Ass. I.* 1641. 1923.
170. Cowie, D. M., J. P. Parsons und T. Raphael, *Michigan State Med. Soc. Journ.* 22. 383. 1923. *Zit. nach Journ. Am. Med. Ass. II.* 1472. 1923.
171. Cramer, W., *Brit. Journ. Exp. Path.* 5. 128. 1924.
172. Creveld, S. van, *Quart. Journ. Exp. Physiol. Suppl. Nr.* 98. 1923.
173. Creveld, S. van und E. van Dam, *Ned. Tijdschr. v. Geneesk. II.* 1498. 1923.
174. Crofton, W. M., *Lancet II.* 1195. 1922.
175. Csépai, K. und St. Weiss, *Klin. Wochenschr. II.* 1497. 1924.
176. Cullen, G. E. und L. Jonas, *Journ. Biol. Chem.* 57. 541. 1923.
177. Dale, H. H., *Lancet I.* 989. 1923.
- 177a. Derselbe, *Brit. Med. Journ. II.* 1241. 1922.
178. David, *Verhandl. Deutsch. Ges. f. inn. Mediz., Kongress Kissingen. München.* 1924. S. 138.
179. Davies, H. W., C. G. Lambie, D. M. Lyon, J. Meakins und W. Robson, *Brit. Med. Journ. I.* 847, 857. 1923.
180. Delaville und M. Richter-Quittner, *C.-R. Soc. Biol.* 91. 595. 1924.
181. Delezenne, Hallion und Ledebt, *Bull. Ac. Méd. Paris. Zit. nach Journ. Am. Med. Ass. I.* 163. 1924.
182. Dieselben, *Presse méd. II.* 923. 1923.
183. Denis, W. und U. Giles, *Journ. Biol. Chem.* 56. 739. 1923.
184. Denis, W. und H. V. Hume, *Journ. Biol. Chem.* 60. 603. 1924.
185. Depisch, F., F. Högler und K. Überraack, *Klin. Wochenschr. I.* 619. 1924.
186. Dieselben, *Ibid. I.* 1064. 1924.
187. Dieselben, *Ibid. II.* 1272. 1924.
188. Desgrez, A., H. Bierry und F. Rathery, *C.-R. Ac. Sc.* 173. 259. 1921.
189. Dieselben, *C.-R. Soc. Biol.* 89. 473. 1923.
190. Dieselben, *Paris médical* 201. 1923.
191. Dieselben, *Presse méd. II.* 934. 1923.
192. Dieselben, *Ibid. I.* 284. 1924.

193. Desgrez, A. und R. Moog, C-R. Ac. Sc. 172. 551. 1921.
194. Dickson, B. R., G. S. Eadie, J. J. R. Macleod und F. R. Pember, Am. Journ. Physiol. 68. 145. 1924. Quart. Journ. Exp. Physiol. 14. 123. 1924.
195. Dodds, E. C. und F. Dickens, Brit. Journ. Exp. Path. 5. 115. 1924.
196. Dieselben, Lancet I. 330. 1924.
197. Doisy, E. A., M. Somogyi und P. A. Shaffer, Journ. Biol. Chem. 55. XXXI. 1923.
198. Doisy, E. A. und C. J. Weber, Journ. Biol. Chem. 59. XXXIV. 1924.
199. Drabkin, D. L., J. H. Page und D. J. Edwards, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 21. 309. 1924.
200. Dubin, H. E. und H. B. Corbitt, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 21. 16. 1923.
201. Ducheneau, L., C-R. Soc. Biol. 90. 248, 1924.
202. Dudley, H. W., Bioch. Journ. 17. 376. 1923.
203. Derselbe, Ibid. 18. 665. 1924.
204. Dudley, H. W., P. P. Laidlaw, J. W. Trevan und E. M. Boock, Journ. of Physiol. 57. XLVII. 1923.
205. Dudley, H. W. und G. F. Marrian, Biochem. Journ. 17. 435. 1923.
206. Dudley, H. W. und W. W. Starling, Biochem. Journ. 18. 147. 1924.
207. Düttmann, G., Klin. Wochenschr. II. 1586. 1924.
208. Eadie, G. S., Brit. Med. Journ. II. 60. 1923.
209. Eadie, G. S. und J. J. R. Macleod, Am. Journ. Physiol. 64. 285. 1923.
210. Eadie, G. S., J. J. R. Macleod und E. C. Noble, Am. Journ. Physiol. 65. 462. 1923.
211. Eddy, N. B., Am. Journ. Physiol. 69. 432. 1924.
212. Editorial, Journ. Am. Med. Ass. I. 1238. 1923.
213. Dasselbe, Ibid. I. 1560. 1924.
214. Dasselbe, Lancet II. 1041. 1923.
215. Dasselbe, Ibid. II. 1366. 1923.
216. Dasselbe, Ibid. I. 507. 1924.
217. Edwards, D. J. und I. H. Page, Am. Journ. Physiol. 69. 177. 1924.
218. Edwards, D. J., I. H. Page und R. K. Brown, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 21. 170. 1924.
219. Ehrmann, R. und A. Jacoby, Dtsch. Med. Wochenschr. I. 138. 1924.
220. Eisler, M. und L. Porthelm, Biochem. Zeitschr. 148. 566. 1924.
221. Elias, H. und A. Löw, Biochem. Zeitschr. 138. 279. 1923.
222. Elias, H., C. Popescu-Inotesti und C. S. Radoslav, Bioch. Zeitschr. 138. 284. 294. 299. 1923.
- 222a. Ellis, M. M., Am. Journ. Physiol. 68. 119. 1924.
223. Elschnig, A., Med. Klinik. I. 7. 1924.
224. Epstein, A. A. und N. E. Rosenthal, Journ. Am. Med. Ass. I. 1990. 1924.
225. Faber, K., Insulin og Diabetes. II. 18. København 1923.
226. Falta, W., Klin. Wochenschr. I. 430. 1924.
227. Derselbe, Ibid. I. 955. 1924.
228. Fandard, L. und A. Ranc, C-R. Soc. Biol. 74. 740. 1913.
229. Fenger, F. und R. S. Wilson, Journ. Biol. Chem. 59. 83. 1924.
230. Fetzer, L. W., Journ. Am. Med. Ass. II. 772. 1923.
231. Feyertag, H., Klin. Wochenschr. I. 17. 1924.
232. Fischler, F., Münch. Med. Wochenschr. II. 1407. 1923.
233. Fisher, N. F., Am. Journ. Physiol. 67. 57. 1923.
234. Derselbe, Am. Journ. Physiol. 67. 65. 1923.
235. Derselbe, Ibid. 67. 634. 1924.
236. Derselbe, Journ. Am. med. Ass. II. 920. 1923.
237. Fisher, N. F. und E. B. McKinley, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 21. 248. 1924.
238. Fisher, N. F. und B. E. Noble, Am. Journ. Physiol. 67. 72. 1923.
239. Fisher, D. und M. W. Snell, Journ. Am. Med. Ass. I. 699. 1924.
240. Flury, F., Klin. Wochenschr. II. 2157. 1923.
241. Foerster und Heuner, Klin. Wochenschr. I. 1099. 1924.

242. Fonseca, F., Dtsch. Med. Wochenschr. I. 362. 1924.
243. Forrest, W. D., Brit. Med. Journ. II. 917. 1923.
244. Forrest, W. D., W. Smith und L. B. Winter, Journ. of Physiol. 57. 224. 1923.
245. Fraenkel, E. und Benatt, Klin. Wochenschr. II. 1379. 1924.
246. Frank, E., M. Nothmann und A. Wagner, Klin. Wochenschr. I. 581. 1924.
247. Dieselben, Klin. Wochenschr. I. 759. 1924; Verhandl. Dtsch. Ges. f. inn. Med. Kissingen. S. 126. München 1924.
248. Dieselben, Klin. Wochenschr. II. 1404. 1924; Verhandl. Dtsch. Ges. f. inn. Med. Kissingen. S. 124. München 1924.
249. Fraser, S. T., Journ. Lab. a. Clin. Med. 8. 425. 1923. Zit. nach Lesser in Berichte über die ges. Physiologie 21, 58, 1924.
250. Fredericq, H., C.-R. Soc. Biol. 88. 625. 1923.
251. Freudenberg, Klin. Wochenschr. II. 1469. 1924.
252. Freund, E., Wiener Klin. Wochenschr. II. 528. 1923.
253. Freund, E. und H. Popper, Klin. Wochenschr. II. 1865. 1923.
254. Friedmann, G. A., Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 20. 516. 1923.
255. Friedmann, G. A. und J. Gottesman, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 19. 209. 215. 388. 1922.
256. Funk, C. und H. B. Corbitt, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 20. 422. 1923.
257. Fürth, O., Bioch. Ztschr. 150. 265. 1924.
258. Gabbe, E., Klin. Wochenschr. I. 612. 1924.
259. Derselbe, Ibid. II. 1606. 1924.
260. Derselbe, Verhandl. Dtsch. Ges. f. inn. Med. Kissingen. S. 126. München 1924.
261. Garrelon, L. und D. Santenoise, C.-R. Soc. Biol. 90. 470. 1924.
262. Dieselben, Presse méd. I. 163. 1924.
263. Garrod, A. E., Lancet I. 1091. 1923.
264. Geelmuyden, H. C., Klin. Wochenschr. II. 1677. 1923.
265. Gentil, F., C.-R. Soc. Biol. 88. 1323. 1923.
266. Gey, G. O. und W. Thalhimer, Journ. Am. Med. Ass. I. 1609. 1924.
267. Gibbs, C. B. F., Clough, Stone und Murlin, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 20. 67. 1923.
268. Gibbs, C. B. F. und J. R. Murlin, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 20. 198. 1923.
269. Gibbs, C. B. F., E. W. Root jr. und J. R. Murlin, Quart. Journ. Exp. Physiol. Suppl. Nr. 128. 1923.
270. Gibbs, C. B. F. und C. C. Sutter, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 20. 419. 1923.
271. Gigon, Verhandl. Dtsch. Ges. f. inn. Med. Kissingen. S. 123. München 1924.
272. Gigon und Staub, Klin. Wochenschr. II. 1670. 1923.
273. Ginsberg, G., Journ. Am. Med. Ass. I. 1517. 1924.
274. Giusti, L. und C. T. Rietti, C.-R. Soc. Biol. 90. 252. 1924.
275. Gley, E., C.-R. Soc. Biol. 87. 1322. 1922.
276. Goffin, Journ. Am. Med. Ass. I. 1877. 1924.
277. Gonzalez, P. und R. Carrasco-Formiguera, C.-R. Soc. de Biol. 89. 1237. 1923.
278. Gottschalk, A., Dtsch. Med. Wochenschr. I. 538. 1924.
279. Derselbe, Klin. Wochenschr. II. 1356. 1924.
280. Derselbe, Verhandl. Dtsch. Ges. f. inn. Med. Kissingen. S. 119. München 1924.
281. Grafe, E., Dtsch. Med. Wochenschr. I. 489. 1924.
282. Derselbe, Klin. Wochenschr. II. 1601. 1924.
283. Grevenstuck, A., E. Laqueur und W. Riebensahm, Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. I. 1630. 1923.
284. Griesbach, Holm, Bornstein und Lichtwitz, Klin. Wochenschr. II. 2266. 1923.
285. Grigaut, A., P. Brodin und Rouzard, C.-R. Soc. Biol. 77. 91. 1914.
286. Gruat, E. und F. Rathery, C.-R. Soc. Biol. 83. 896. 1920.
287. McGuire, G. und K. G. Falk, Journ. Biol. Chem. 60. 489. 1924.
288. György, P. und H. Vollmer, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 95. 200. 1922.

289. Hachen, D. S. und C. A. Mills, *Am. Journ. Physiol.* **65.** 395. 1923.
 290. Haendel, M. und K. Tadenuma, *Münch. med. Wochenschr.* **I.** 854. 1924.
 291. Hagedorn, H. C., *Insulin og Diabetes.* **II.** 26. 32. København 1923.
 292. Haldane, J. B. S., *Lancet.* **I.** 537. 1924.
 293. Harrison, G. A., *Brit. Med. Journ.* **II.** 1204. 1923.
 294. Harrop jr., G. A. und E. M. Benedict, *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* **20.** 430. 1923.
 294a. Hartmann, H. U., *Bioch. Zeitschr.* **146.** 307. 1924.
 295. Hawley, E. E. und J. R. Murlin, *Journ. Biol. Chem.* **59.** XXXII. 1923.
 296. Hédon, E., *Arch. int. de physiol.* **18.** 213. 1921.
 297. Derselbe, *C.-R. Soc. de Biol.* **90.** 920. 1924.
 298. Hédon, E. u. L., *C.-R. Ac. d. Sc.* **178.** 1633. 1924.
 299. Dieselben, *C.-R. Soc. Biol.* **89.** 1194. 1923.
 300. Hédon, L., *C.-R. Ac. d. Sc.* **178.** 146. 1924.
 301. Hemmingsen, A. M., *Skand. Arch. f. Physiol.* **46.** 56. 1924.
 302. Hendrix, B. M. und A. J. McAmis, *Journ. Biol. Chem.* **59.** XXII. 1924.
 303. Hepburn, J. und J. K. Latchford, *Am. Journ. Physiol.* **62.** 177. 1922.
 304. Hepburn, J., J. K. Latchford, N. A. McCormick und J. J. R. Macleod, *Am. Journ. Physiol.* **69.** 555. 1924.
 305. Heymans, C. und M. Matton, *Arch. int. de pharmacodyn.* **29.** 311. 1924.
 306. Dieselben, *C.-R. Soc. Biol.* **90.** 1288. 1924.
 307. Hirsch, R., *Hofm. Beitr.* **4.** 535. 1904.
 308. Högler, F., *Wien. klin. Wochenschr.* **I.** 215. 1924.
 309. Högler, F. und K. Ueberrack, *Klin. Wochenschr.* **II.** 1246. 1924.
 310. Höst, *Insulin og Diabetes.* **II.** 24. København 1923.
 311. Honeywell, H. E. und O. Riddle, *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* **20.** 248. 1923.
 312. Houssay, B. A. und C. T. Rietti, *C.-R. Soc. Biol.* **91.** 27. 1924.
 313. Hummel, H., *Klin. Wochenschr.* **II.** 1573. 1924.
 314. Hutchinson, H. B., W. Smith und L. B. Winter, *Biochem. Journ.* **17.** 683. 1923.
 314a. Huxley, J. S. und J. F. Fulton, *Nature* **113.** 234. 1924.
 315. Insulin Committee, University of Toronto, *Journ. Am. Med. Ass.* **I.** 1847. 1923.
 316. Isaac, S. und E. Adler, *Klin. Wochenschr.* **I.** 954. 1924; **II.** 1208. 1924; *Verhandl. Deusch. Ges. f. inn. Med. Kissingen.* **S.** 110. München 1924.
 317. v. Issekutz, B., *Bioch. Zeitschr.* **147.** 264. 1924.
 318. Derselbe, *Klin. Wochenschr.* **I.** 280. 1924.
 319. Ivy, A. C. und N. F. Fisher, *Am. Journ. Physiol.* **67.** 445. 1924.
 319a. Iwai, S. und F. E. Löwy, *Klin. Wochenschr.* **II.** 1440. 1924.
 320. Izar, *Pathologica* **15.** 620. 1923.
 321. Jones, W. und M. E. Perkins, *Journ. Biol. Chem.* **55.** 557. 1923.
 322. Jongh, S. E. de, *Biochem. Journ.* **18.** 833. 1924. *Nederl. Tijdschr. v. Geneesk.* **II.** 2115. 1924.
 323. Jongh, S. E. de und E. Laqueur, *Nederl. Tijdschr. v. Geneesk.* **I.** 907. 1924.
 323a. Jongh, S. E. de und L. K. Wolff, *Nederl. Tijdschr. v. Geneesk.* **II.** 2703. 1924.
 324. Joslin, E. P., *Journ. Am. Med. Ass.* **I.** 1581, 1726. 1923.
 325. Joslin, E. P., H. Gray und H. F. Root, *Insulin og Diabetes.* **II.** 68. København. 1923.
 326. Karsner, H. T., H. L. Koeckert und S. A. Wahl, *Journ. Exp. Med.* **34.** 349. 1921.
 327. Kasahara, M. und E. Uetani, *Journ. Biol. Chem.* **59.** 433. 1924.
 327a. Kay, H. D. und R. Robison, *Biochem. Journ.* **18.** 1139. 1924.
 328. Kellaway, C. H. und T. A. Hughes, *Brit. Med. Journ.* **I.** 710. 1923.
 329. Killian, J. A., *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* **21.** 22. 1923.
 330. Kimball, C. P., R. S. Allen und H. A. Piper, *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* **20.** 414. 1923.
 331. Kimball, C. P. und J. R. Murlin, *Journ. Biol. Chem.* **58.** 337. 1923.
 331a. Kleitman, N. und R. Magnus, *Pflügers Arch.* **205.** 148. 1924.
 332. Klemperer, P. und R. Strisower, *Wiener klin. Wochenschr.* **II.** 672. 1923.
 332a. Knop-Niederhoff, B., *Pharmaz. Zeitschr.* **69.** 70. 1924.

333. Koga, T., *Bioch. Zeitschr.* **141**. 410. 1923.
334. Kogan, V. M., *Dtsch. Med. Wochenschr.* I. 634. 1924.
335. Derselbe, *Vratchebnoje Delo* **6**, Nr. 24--26. 1923. Zit. nach *Presse méd. I. Anal.* S. 39. 1924 u. *Zentralbl. für Herz- u. Gefäßkrankh.* **16**. 160.
336. Derselbe, *Zeitschr. f. d. ges. exp. Med.* **41**. 63. 1924.
336a. Kok, J., *Pharmac. Weekblad.* 345. 1924.
337. Koref, O. und R. W. Rigler, *Klin. Wochenschr.* II. 1538. 1924.
338. Koudriavtzeva, A. I., *Vratchebnoje Delo* **7**. Nr. 10. 1924. Zit. nach *Presse méd. I.* Nr. 57. *Anal. S.* 132. 1924.
339. Krastel, A. R., *Bioch. Zeitschr.* **138**. 56. 1923.
340. Kretschmer, O. S., *Journ. Lab. u. Clin. Med.* **9**. 442. 1924. Zit. nach *Journ. Am. Med. Ass.* I. 1730. 1924.
341. Krogh, A., *Dtsch. Med. Wochenschr.* II. 1321. 1923.
342. Derselbe, *Insulin og Diabetes.* II. 7. København 1923.
343. Kuenen, W. A., *Inaugureele Rede.* Leiden. 1924.
344. Kuhn und Baur, *Münch. Med. Wochenschr.* I. 541. 1924.
345. Kumagai, T. und S. Osato. *C.-R. Soc. Biol.* **82**. 425. 1919.
346. Dieselben, *Tohoku Journ. Exp. Med.* **1**. 152. 1920.
347. Labbé, H., *Presse méd. I.* 542. 1924.
348. Labbé, H. und B. Theorodesco, *C.-R. Ac. Sc.* **178**. 886. 1924.
349. Laguesse, E., *Rev. Franç. d'endocrinol.* **1**. 281. 1923.
350. Laqueur, E., *Dtsch. Med. Wochenschr.* I. 496. 1924.
351. Derselbe, *Ibid.* I. 537. 1924.
352. Derselbe, *Ibid.* I. 748. 1924.
353. Derselbe, *Klin. Wochenschr.* I. 440. 1924.
354. Derselbe, *Ibid.* II. 1272. 1924.
355. Derselbe, *Verhandl. Deutsch. Ges. f. inn. Med. Kissingen.* S. 132. München 1924.
356. Laqueur, E. und A. Grevenstuck, *Klin. Wochenschr.* II. 1273. 1924.
357. Laqueur, E. und I. Snapper, *Nederl. Tijdschr. v. Geneesk.* I. 2902. 1923.
358. Laroche, G., *Dauplain und Tacquet, C.-R. Soc. Biol.* **89**. 1221. 1923.
359. Dieselben, *ibid.* **90**. 8. 1924.
360. Laroche, G. und Tacquet, *C.-R. Soc. Biol.* **90**. 1386. 1924.
361. Laufberger, V., *Klin. Wochenschr.* I. 264. 1924.
361a. Derselbe, *Zeitschr. f. d. ges. exp. Med.* **42**. 570. 1924.
362. Lauritzen, M., *Insulin og Diabetes.* II. 12. 30. København 1923.
363. Lawrence, R. D., *Brit. Med. Journ.* I. 516. 1924.
364. Lax, H., *Klin. Wochenschr.* I. 955. 1924; *Verhandl. Deutsch. Ges. f. inn. Med. Kissingen.* S. 127. München 1924.
365. Lax, H. und G. Petényi, *Klin. Wochenschr.* I. 678. 1924; *Verhandl. Deutsch. Ges. f. inn. Med. Kissingen.* S. 127. München 1924.
366. Lenné, *Deutsch. med. Wochenschr.* I. 238. 1924.
367. Lépine, R. und Boulud, *C.-R. Soc. Biol.* **66**. 1096. 1909.
368. Dieselben, *Ibid.* **68**. 260. 1910.
369. Dieselben, *Ibid.* **72**. 1064. 1912.
370. Dieselben, *Ibid.* **73**. 272. 1912.
371. Dieselben, *Ibid.* **74**. 76. 1913.
372. Lépine und Parturier, *C.-R. Soc. Biol.* **90**. 269. 1924.
373. Lesser, E. F., *Die innere Sekretion des Pankreas.* Jena. 1924.
374. Derselbe, *Quart. Journ. Exp. Physiol. Suppl.* Nr. 165. 1923.
375. Levie, H. de, *Nederl. Tijdschr. v. Geneesk.* I. 133. 1924.
376. Lewis, J. T., *C.-R. Soc. Biol.* **89**. 1118. 1923.
377. Leyton, O., *Brit. med. Journ.* II. 1145. 1922.
377a. Derselbe, *Lancet* I. 1082. 1924.
377b. Lipmann, F. und J. Planelles, *Bioch. Zeitschr.* **151**. 98. 1924.

378. Little, J. F., V. E. Levine und C. H. Best, Journ. Biol. Chem. **59**. XXXVII. 1924.
379. Loening, K. und E. Vahlen, Deutsch. med. Wochenschr. I. 217. 1922.
380. Löwe, W., Deutsch. med. Wochenschr. I. 332. 1924.
381. Derselbe, Ibid. I. 711. 1924.
382. Derselbe, Klin. Wochenschr. I. 253. 1924.
383. Lublin, Verhandl. Deutsch. Ges. f. inn. Med. Kissingen. S. 122. München. 1924.
384. Lundberg, E., C.-R. Soc. Biol. **91**. 418. 1924.
385. Lyman, R. S., E. Nicholls und W. S. McCann, Journ. Pharmacol. a. Exp. Ther. **21**. 377. 1923.
386. Dieselben, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **20**. 485. 1923.
387. Macleod, J. J. R., Brit. Med. Journ. I. 45. 1924.
388. Derselbe, Journ. Metab. Res. **2**. 1923; Univ. Toronto Studies, Physiol. Series Nr. 55.
389. Derselbe, Lancet. II. 885. 1923.
390. Derselbe, Ibid. II. 952. 1923.
391. Derselbe, Physiological Reviews. **1**. 208. 1921; Univ. Toronto Studies, Physiol. Series Nr. 40.
392. Derselbe, Physiological Reviews. **4**. 21. 1924.
393. Derselbe, Vortrag XI. Internat. Physiol. Kongress Edinburgh. 1923.
394. Macleod, J. J. R. und F. N. Allan, Transact. Roy. Soc. Canada. Sect. V. 47. 1923.
395. Macleod, J. J. R. und M. D. Orr, Journ. Lab. and Clin. Med. **9**. 591. 1924.
396. Maestrini, D., C. Luchetti, A. Galamini und P. Lugini, Arch. di fisiol. **21**. 96. 1923.
397. Magenta, M. A. und A. Biasotti, C.-R. Soc. Biol. **89**. 1125. 1923.
398. Dieselben, Ibid. **90**. 249. 1924.
399. Magnus-Levy, Deutsch. med. Wochenschr. I. 494. 1924.
400. Mahler, P. und K. Pasterny, Med. Klin. I. 337. 1924.
401. Major, R. H., Journ. Am. Med. Ass. I. 1597. 1923.
- 401a. Mann, F. C., J. L. Bollmann und T. B. Magath, Am. Journ. Physiol. **68**. 115. 1924.
402. Mann, F. C. und T. B. Magath, Am. Journ. Physiol. **65**. 403. 1923.
403. Dieselben, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **20**. 515. 1923.
404. Martland, M. und R. Robison, Biochem. Journ. **18**. 765. 1924.
405. Matthes, Deutsch. Med. Wochenschr. I. 487. 1924.
406. Mattill, H. A., H. A. Piper, C. P. Kimball und J. R. Murlin, Quart. Journ. Exp. Physiol. Suppl. Nr. 182. 1924.
407. Matton, M., C.-R. Soc. Biol. **90**. 361. 1924.
408. Mauriac, P. und E. Aubertin, C.-R. Soc. Biol. **90**. 213. 1924.
409. Dieselben, Ibid. **90**. 1046. 1924.
410. Dieselben, Ibid. **91**. 36. 1924.
411. Dieselben, Ibid. **91**. 38. 1924.
412. Dieselben, Ibid. **91**. 551. 1924.
413. Dieselben, Ibid. **91**. 554. 1924.
414. Mazocco, P. et V. Morera, C.-R. Soc. Biol. **91**. 30. 1924.
415. Medical Research Council, Brit. Med. Journ. I. 695. 1923.
416. Mendel, B., A. Wittgenstein und E. Wolffenstein, Klin. Wochenschr. I. 470. 1924.
417. Mezger, H., Verhandl. Deutsch. Ges. f. inn. Med. Kissingen. S. 131. München. 1924.
418. Mohr, L. und E. Vahlen, Zeitschr. f. physiol. Chem. (Hoppe-Seyler), **90**. 198. 1914.
419. Moloney, P. J. und D. M. Findlay, Journ. Biol. Chem. **57**. 359. 1923.
420. Moore, H. F., Lancet. I. 715. 1923.
421. Müller, E. F., Münch. med. Wochenschr. I. 813. 1924.
422. Müller, E. F. und H. B. Corbitt, Journ. Lab. a. Clin. Med. **9**. 608. 1924.
423. Müller, O. und M. Gänsslen, Münch. med. Wochenschr. I. 167. 1924.
424. Murlin, J. R., Endocrinology. **7**. 519. 1923.
425. Derselbe, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **20**. 70. 1923.
426. Murlin, J. R., H. D. Clough, C. B. F. Gibbs und N. C. Stone, Am. Journ. Physiol. **64**. 348. 1923.

427. Murlin, J. R., H. D. Clough, C. B. F. Gibbs und A. M. Stokes, Journ. Biol. Chem. **56**. 253. 1923.
428. Murlin, J. R., H. D. Clough und A. M. Stokes, Am. Journ. Physiol. **64**. 330, 1923.
429. Murlin, J. R., C. C. Sutter, R. S. Allen, H. A. Piper, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **21**. 338. 1924; Endocrinology **8**. 331. 1924.
430. Nakahayashi, S., J. Abelin, Bioch. Zeitschr. **147**. 544. 1924.
431. Nash, T. P., Journ. Biol. Chem. **58**. 453. 1923.
432. Needham, J., W. Smith und L. B. Winter, Journ. of Physiol. **57**. LXXXII. 1923.
433. Neuberg, C., A. Gottschalk und H. Strauss, Deutsch. med. Wochenschr. II. 1407, 1923.
434. Nitzescu, I. I. und S. Cosma, C.-R. Soc. Biol. **90**. 1077. 1924.
435. Nitzescu, I. I. und J. Manguica, C.-R. Soc. Biol. **90**. 1347. 1924.
436. Nitzescu, I. I. und C. Popescu-Inotesti, C.-R. Soc. Biol. **89**. 1403. 1923.
437. Dieselben, Ibid. **90**. 534. 1924.
438. Dieselben, Ibid. **90**. 536. 1924.
439. Nitzescu, I. I., C. Popescu-Inotesti und J. Cadariu, Ibid. **90**. 538. 1924.
440. Noble, E. C. und J. J. R. Macleod, Am. Journ. Physiol. **64**. 547. 1923.
441. Dieselben, Journ. of Physiol. **58**. 33. 1923.
442. Noyons, A. K., J. Bouckaert und A. Sierens, C.-R. Soc. Biol. **90**. 365. 1924.
443. Oertel, H., Milne und Peters, Lancet. I. 695. 1924; Nature **113**. 126. 1924.
444. Oka, T., Tohoku Journ. Exp. Med. **3**. 206. 1922.
445. Olmsted, J. M. D., Am. Journ. Physiol. **69**. 137. 1924.
446. Olmsted, J. M. D. und H. D. Logan, Am. Journ. Physiol. **66**. 437. 1923.
447. Olmsted, J. M. D. und A. C. Taylor, Am. Journ. Physiol. **69**. 142. 1924.
448. Dieselben, Journ. Biol. Chem. **59**. XXX. 1924.
449. Olmsted, W. H. und S. H. Kahn, Journ. Am. Med. Ass. I. 1903. 1923.
450. Page, I. H., Am. Journ. Physiol. **66**. 1. 1923.
451. Paulesco, N. C., Arch. internat. de Physiol. **17**. 85. 1921.
452. Derselbe, Ibid. **21**. 71. 1923.
453. Derselbe, Ibid. **21**. 215. 1923.
454. Derselbe, C.-R. Soc. Biol. **85**. 555. 558. 559. 1921.
455. Derselbe, Ibid. **90**. 714. 1924.
456. Penau, H. und H. Simonnet, C.-R. Ac. Sc. **178**. 2208. 1924.
457. Dieselben, Presse méd. I. 471. 1924.
458. Perlzweig, W. A., E. Latham und C. S. Keefer, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **21**. 33. 1923.
- 458a. Peskind, S., J. M. Rogoff und G. N. Stewart, Am. Journ. Physiol. **68**. 530. 1924.
459. Petschacher, L., Bioch. Zeitschr. **141**. 109. 1923.
460. McPhedran, A. und F. G. Banting, Journ. Am. Med. Ass. I. 1726. 1923.
461. Pick, E. P., Klin. Wochenschr. I. 662. 1924.
462. Piper, H. A., R. S. Allen und J. R. Murlin, Journ. Biol. Chem. **58**. 321. 1923.
463. Dieselben, Ibid. **59**. XXXII. 1924.
464. Piper, H. A., H. A. Mattill und J. R. Murlin, Proc. Soc. Exp. Biol. u. Med. **20**. 413. 1923.
465. Pollak, L., Klin. Wochenschr. II. 1247. 1924.
466. Derselbe, Wien. Klin. Wochenschr. I. 55. 1924.
467. Pollak, L. und W. Falta, Klin. Wochenschr. II. 2362. 1923.
468. Popper, M., C.-R. Soc. Biol. **91**. 510. 1924.
469. Pucher, G. W., K. F. Cori und B. D. Bowen, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **20**. 521. 1923.
470. Raab, W., Klin. Wochenschr. II. 1678. 1924.
- 470a. Derselbe, Zeitschr. f. d. ges. exper. Medizin. **42**. 723. 1924.
471. Raven, M. O., Lancet II. 1082, 1923.
- 471a. Redisch, W., Klin. Wochenschr. II. 1478. 1924.
472. Richaud, A. und J. Coirre, Bull. Soc. Chim. Biol. **5**. 890, 1923.
473. Riddle, O., Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **20**. 244. 1923.

- 473a. Riddle, O., H. E. Honeywell und W. S. Fisher, *Am. Journ. Physiol.* **68.** 461. 1924.
474. Ringer, M., *Journ. Biol. Chem.* **58.** 483. 1923.
475. Roberts, F., *Brit. Med. Journ.* II. 1193. 1922.
476. Robertson, T. B. und A. B. Anderson, *Med. Journ. of Australia.* **2.** 189. 1923.
Zit. nach Journ. Am. Med. Ass. II. 1562. 1923.
477. Robison, R. und Kay, *Zit. nach Foster u. Woodrow, Bioch. Journ.* **18.** 574. 1924.
478. Rosenberg, M., *Klin. Wochenschr.* II. 1561. 1924.
479. Rosenthal, F., H. Licht und H. Freund, *Arch. Exp. Path. u. Pharm.* **103.** 17. 1924.
480. Dieselben, *Verhandl. Dtsch. Ges. f. inn. Med. Kissingen.* S. 127. München 1924.
481. Dieselben, *Klin. Wochenschr.* I. 760. 1924; II. 1556. 1924.
482. Salén, E., *Acta Med. Scand.* **60.** 74. 1924.
483. Sarmartino, U., *Atti R. Acc. Lincei* **32.** 94. 1923.
484. Sarmartino, U. und D. Liotta, *Arch. di farm. sperim.* **37.** 13. 33. 1924.
485. Dieselben, *Rendiconti R. Acc. Lincei.* V. **32.** I. 627. 1923.
486. Sansum, W. D. und N. R. Blatherwick, *Endocrinology* **7.** 661. 1923.
487. Savino, E., *C.-R. Soc. Biol.* **91.** 29. 1924.
488. Schouten, D. E., *Ned. Tijdschr. v. Geneesk.* I. 2118. 1923.
489. Schrijver, D., *Ned. Tijdschr. v. Geneesk.* I. 2656. 1923.
490. Scott, E. P., *Journ. Am. Med. Ass.* II. 1304. 1923.
490a. Scott, D. A. und C. H. Best, *Am. Journ. Physiol.* **68.** 144. 1924.
491. Seyfarth, *Klin. Wochenschr.* I. 1085. 1924.
492. Shaw-Mackenzie, J. A., *Lancet* I. 1240. 1923.
493. Shonle, H. A. und J. H. Waldo, *Journ. Biol. Chem.* **58.** 731. 1924.
494. Simonnet, L., *Bull. Soc. Chim. Biol.* **6.** 44. 1924.
495. Singer, G., *Verhandl. Dtsch. Ges. f. inn. Med. Kissingen.* S. 117. München 1924.
496. Derselbe, *Wien. Klin. Wochenschr.* I. 155. 621. 1924.
497. Sjollem, B. und L. Seekles, *Mededeel. Rijks-Inst. voor Pharmacotherap. Onderz.*
Nr. 7. 23. Leiden. 1924.
498. Dieselben, *Versl. Kon. Ak. v. Wetensch. Wis. u. Nat. Afd.* **33.** 63. 1924.
499. Slosse, A., *C.-R. Soc. Biol.* **89.** 98. 1923.
500. Sokoloff, B. und Ch. Cartotto, *C.-R. Soc. Biol.* **89.** 628. 1923.
501. Somogyi, M., E. A. Doisy und P. A. Shaffer, *Journ. Biol. Chem.* **59.** XXXIII.
1924; **60.** 31. 1924.
502. Sordelli, A., *C.-R. Soc. Biol.* **90.** 254. 1924.
503. Sordelli, A. und V. Deulofeu, *C.-R. Soc. Biol.* **89.** 743. 1923.
504. Sordelli, A., B. A. Houssay und P. Mazocco, *C.-R. Soc. Biol.* **89.** 744. 1923.
505. Sordelli, A., O. M. Pico und P. Mazocco, *C.-R. Soc. Biol.* **90.** 251. 1924.
505a. Spiro, K., *Karlsbader Ärtzl. Votr.* **5.** 194. 1923.
506. Stasiak, A., *Zeitschr. f. physiol. Chem. (Hoppe-Seyler).* **123.** 104. 1922.
507. Staub, H., *Insulin.* Berlin. 1924.
508. Staub, H., F. Günther und R. Fröhlich, *Klin. Wochenschr.* II. 2337. 1923.
509. Stenström, T., *C.-R. Soc. Biol.* **90.** 518. 1924.
509a. Stepp, W., *Ergebn. d. Physiol.* **20.** 108. 1922.
510. Derselbe, *Zeitschr. f. physiol. Chem. (Hoppe-Seyler).* **97.** 213. 1916.
511. Stern, R., *Klin. Wochenschr.* II. 1465. 1924.
512. Steudel, H. und P. Brigl, *Zeitschr. f. physiol. Chem. (Hoppe-Seyler).* **68.** 40. 1910.
513. Stewart, G. N. und J. M. Rogoff, *Am. Journ. Physiol.* **65.** 319. 1923.
514. Dieselben, *Ibid.* **65.** 331. 1923.
515. Dieselben, *Ibid.* **65.** 342. 1923.
516. Dieselben, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **20.** 339. 1923.
517. Dieselben, *Ibid.* **20.** 341. 1923.
518. Stross und Wiechowski, *Klin. Wochenschr.* I. 813. 1924. *Verhandl. Dtsch. Ges. f. inn. Med. Kissingen.* S. 129. München 1924.
519. Strouse, S. und O. T. Schultz, *Journ. Am. Med. Ass.* I. 1592. 1923.

520. Sundberg, C. G., C.-R. Soc. Biol. **89**. 807. 1923.
521. Sutter, C. C., C. B. F. Gibbs und J. R. Murlin, Am. Journ. Physiol. **63**. 392. 1923.
522. Sutter, C. C. und J. R. Murlin, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **20**. 68. 1923.
523. Tallermann, K., Biochem. Journ. **18**. 583. 1924.
524. Taya, Journ. of Biochemistry, Tokyo, **1**. 479. (1923). Zit. nach Ned. Tijdschr. v. Geneesk. II. 1122. 1923.
525. Telfer, S. V., Brit. Med. Journ. I. 715. 1923.
526. Thalhimer, W., Journ. Am. Med. Ass. II. 383. 1923.
527. Derselbe, Ibid. I. 696. 1924.
528. Thalhimer, W. und M. C. Perry, Journ. Am. Med. Ass. I. 1614. 1923.
528a. Dieselben, Nature **112**. 164. 1923.
529. Thannhauser, S. J. und M. Jenke, Münch. Med. Wochenschr. I. 196. 1924.
530. Thatcher, H. S., Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **21**. 368. 1924.
531. Thiroloix, Presse méd. II. 872. 1923.
532. Thomson, A. P., Brit. Med. Journ. II. 948. 1922.
533. Timme, W., Endocrinology. **7**. 682. 1923.
534. Toenniesen, E., Klin. Wochenschr. I. 212. 1924.
535. Derselbe, Zeitschr. f. physiol. Chem. (Hoppe-Seyler). **133**. 158. 1924.
536. Tolstoi, E., R. O. Loebel, S. Z. Levine und H. B. Richardson, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **21**. 449. 1924.
537. Travell, J. G. und J. A. Behre, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **21**. 478. 1924.
538. Tsubura, S., Bioch. Ztschr. **149**. 40. 1924.
539. Umber, F., Insulin og Diabetes. II. 72. København 1923.
540. Underhill, F. P. und S. Karelitz jr., Journ. Biol. Chem. **58**. 147. 1923.
541. Vahlen, E., Münch. Med. Wochenschr. I. 101. 1924.
542. Derselbe, Zeitschr. f. physiol. Chem. (Hoppe-Seyler). **59**. 194. 1909.
543. Derselbe, Ibid. **90**. 158. 1914.
544. Derselbe, Ibid. **106**. 133. 1919.
545. Verzár, Bioch. Zeitschr. **34**. 41—86. 1911.
546. Vincent, S., Lancet. I. 947. 1924.
547. Vincent, S., E. C. Dodds und F. Dickens, Lancet. II. 115. 1924.
547a. Visscher, M. B., Am. Journ. Physiol. **68**. 135. 1924.
548. Voegtlin, C. und E. R. Dunn, U. S. A. Public Health Reports. 1747. 1923.
549. Voegtlin, C., E. R. Dunn und J. W. Thompson, Journ. Biol. Chem. **59**, XXXVII. 1924.
550. Vollmer, H., Klin. Wochenschr. I. 396. 1923.
551. Derselbe, Ibid. I. 529. 1923.
552. Derselbe, Ibid. I. 593. 1923.
553. Derselbe, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **41**. 654. 1924.
554. Walker, F., Dissertation Columbia University New York. 1922.
555. Wallgren, A., Münch. med. Wochenschr. I. 10. 1924.
556. Wallis, R. L. M., Lancet. II. 1158. 1922.
557. Walters, A. L., Endocrinology. **7**. 685. 1923.
558. Waterman, N., Ned. Tijdschr. v. Geneesk. I. 1543. 1913.
559. Derselbe, Ibid. II. 2579. 1923.
560. Derselbe, Versl. Kon. Ak. v. Wet. Amst. Wis- & Nat. Afd. I. 1255. 1913; II. 166. 1913.
561. Weiss, R. und M. Reiss, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **38**. 496. 1923.
562. Wernicke, R., C.-R. Soc. Biol. **91**. 320. 1924.
563. Wertheimer, M., Klin. Wochenschr. II. 2362. 1923.
563a. White, H. L., Am. Journ. Physiol. **68**. 116. 1924.
564. Widal, F., P. Abrami, A. Weill und Laudat, Presse méd. I. 253. 1924.
565. Dieselben, Ibid. 565. 1924; C.-R. Ac. Sc. **178**. 2144. 1924.
566. Widmark, E. M. P., Biochem. Journ. **17**. 668. 1923.
567. Derselbe, Insulin og Diabetes. II. 30. København. 1923.

568. Wiechmann, E., *Klin. Wochenschr.* I. 955. 1924; *Verhandl. Deutsch. Ges. f. inn. Med. Kissingen.* S. 137. München. 1924.
569. Derselbe, *Münch. med. Wochenschr.* I. 9. 1924.
570. Wiechowski, W., *Klin. Wochenschr.* II. 1382. 1924.
571. Wigglesworth, V. B., C. E. Woodrow, W. Smith und L. B. Winter, *Journ. of Physiol.* 57. 447. 1923.
572. Wilder, R. M. und H. D. Kitchen, *Journ. Am. Med. Ass.* I. 1642, 1923.
573. Winter, L. B., *Journ. of Physiol.* 58. 18. 1923.
574. Winter, L. B. und W. Smith, *Brit. Med. Journ.* I. 12. 1923.
575. Dieselben, *Brit. Med. Journ.* I. 711. 1923.
- 575a. Dieselben, *Ibid.* I. 894. 1923.
576. Dieselben, *Journ. of Physiol.* 57. 100. 1923.
577. Dieselben, *Ibid.* 57. XIII. 1923.
578. Dieselben, *Ibid.* 57. XXXI. 1923.
579. Dieselben, *Ibid.* 57. XL. 1923.
580. Dieselben, *Ibid.* 57. LIII. 1923.
581. Dieselben, *Ibid.* 57. LXX. 1923.
582. Dieselben, *Ibid.* 58. 108. 1923.
583. Dieselben, *Ibid.* 58. 327. 1924.
584. Dieselben, *Nature.* 1923. *Zit. nach Lancet* II. 370. 1923.
- 584a. Dieselben, *Nature* 112. 829. 1923.
585. Winter, L. B., W. Smith und H. F. Holden, *Nature.* 111. 810. 1923.
586. Wittgenstein, A., *Klin. Wochenschr.* I. 955. 1924; *Verhandl. Deutsch. Ges. f. inn. Med. Kissingen.* S. 127. München. 1924.
587. Wittgenstein und B. Mendel, *Klin. Wochenschr.* I. 1119. 1924.
588. Witzemann, E. J. und L. Livshis, *Journ. Biol. Chem.* 57. 425. 1923.
589. Dieselben, *Ibid.* 58. 463. 1923.
590. Wohlgemuth, J., *Biochem. Zeitschr.* 21. 381. 1909.
591. Wohlgemuth, J. und T. Koga, *Klin. Wochenschr.* I. 386. 1923.
592. Zondek, H., Bernhardt, Goldscheider und Jungmann, *Klin. Wochenschr.* I. 649. 1924.
593. Zülzer, G., *Medizin. Klinik.* 1551. 1923.
594. Derselbe, *Verhandl. Deutsch. Ges. f. inn. Med. Kissingen.* S. 135. München. 1924.

Durch den Titel wollen wir andeuten, dass wir in dieser Darstellung die praktisch-therapeutischen Fragen mit ihren Einzelheiten ausser Betracht gelassen haben und die klinischen Ergebnisse nur insoweit berücksichtigt, als sie der Erkenntnis der Wirkung des Insulins nützen. Andererseits haben wir besonderen Nachdruck auf das sowohl theoretisch wie praktisch bedeutsame Problem der Wertbestimmung gelegt. Praktisch bedeutsam, weil es sich beim Insulin um ein ausserordentlich wichtiges und bereits stark verbreitetes Heilmittel handelt, theoretisch bedeutsam, weil man innerhalb dieses Problems gezwungen ist, besonders scharf die Wirkung zu bezeichnen, die man zahlenmässig verfolgen will. Je genauer und in je mehr Hinsichten dies geschieht, desto eher kann man hoffen, das Gemeinsame in diesen Wirkungen zu erkennen und so später zu einer wirklichen Theorie zu gelangen.

Was die Literatur betrifft¹⁾, so wollen wir keine Garantie für die Vollständigkeit übernehmen, ja wir haben dies kaum angestrebt; wir hoffen jedoch,

¹⁾ Die Literatur ist bis Anfang September 1924 berücksichtigt.

trotz der sehr grossen, nun beinahe über alle Kulturländer verbreiteten Mitarbeit keine wesentlichen Beiträge übersehen zu haben. Mit Rücksicht auf die deutschen Länder haben wir die ausserdeutsche Literatur in manchen Fragen mehr zu Wort kommen lassen, und z. B. das Gebiet des Eiweisszuckers, auf dem die hauptsächlich in romanischen Sprachen erschienenen Arbeiten ziemlich wenig bisher beachtet wurden, ausführlich besprochen.

Andererseits haben wir gewisse sehr wichtige und in den Rahmen des Insulins gehörige Probleme wie Kohlenhydratstoffwechsel und Diabetes nur soweit unbedingt nötig gestreift, weil sie gerade in den vorhergehenden Bänden dieses Werkes und der „Ergebnisse der Inneren Medizin“ durch Geelmuyden und Pollak eine ausgezeichnete Darstellung gefunden haben.

Was die Art der Zitierung betrifft, so haben wir uns ohne Namensnennung oft nur mit Angabe der Nummer begnügt, die auf das Literaturverzeichnis im Beginn verweist; andererseits die sonst in der holländischen Literatur übliche, recht praktische Abkürzung benützt, nur einen Namen zu zitieren und c. s. (cum suis) anzuschliessen, an Stelle sämtliche Mitarbeiter an der zitierten Mitteilung anzuführen. Es ist übrigens auffallend, wie oft gerade auf dem hier behandelten Gebiet 2 ja bis 5 Personen sich zu einer Untersuchung zusammen geschlossen haben. Es liegt darin eine Andeutung, dass die Technik oft schwierig, und dass die gleichzeitige Behandlung eines Problems durch viele Hände zu einem gemeinsamen Ziele erforderlich ist.

Endlich haben wir eine Reihe von eigenen Untersuchungen an vielen Stellen mit hinein gearbeitet, vielleicht manchmal auch ausführlicher als die von anderen Autoren behandelt, weil wir dabei auf keine Literatur verweisen konnten.

Denn wir haben bisher nur wenig auf diesem Gebiet veröffentlicht, trotzdem wir uns seit längerer Zeit recht intensiv mit einer ganzen Reihe von Mitarbeitern betätigt haben und ziemlich reiche Erfahrungen durch etwa 6000 Tierversuche besitzen.

I. Einleitung.

Im November 1920 las Banting — damals physiologischer Assistent an der Western University, London, Ontario — einen Artikel über die Beziehungen der Langerhansschen Inseln zum Diabetes. Darin wurde eine Übersicht über die degenerativen Veränderungen des Pankreas nach Unterbindung der Ausführungsgänge gegeben: danach gingen die Acini zugrunde, nicht aber die Langerhansschen Inseln. Damit ergab sich für Banting von selbst die folgende Idee: sucht man einen aktiven Extrakt aus den Inseln, so müsse es vorteilhaft sein, den Extrakt aus einem Pankreas zu bereiten, dem zuvor die Ausführungsgänge unterbunden waren. Hilfhypothese war ihm dabei die Vorstellung: das Trypsinogen oder dessen Abkömmlinge ständen

der internen Sekretion des Pankreas antagonistisch gegenüber; dieser Gegensatz sei auch die Ursache, dass frühere Forscher auf diesem vielbeackerten Felde nicht zum gewünschten Ergebnis gekommen seien.

Banting war inzwischen Assistent bei Macleod am Physiologischen Laboratorium von Toronto geworden, trug diesem seine Hypothese vor; Macleod erkannte ihre Berechtigung, und so begann Banting im Mai 1921, unterstützt von dem Studenten C. H. Best, im Laboratorium von Macleod seine Untersuchungen, die zum Insulin führten.

Ungefähr so schreibt es Banting selbst in seiner ersten Mitteilung, die Februar 1922 erschien.

Wohl niemals hat eine medizinische Entdeckung in so kurzer Zeit diese Fülle von wissenschaftlichen Arbeiten zur Folge gehabt, als die von Banting und Best. Tuberkulin, Salvarsan haben zweifellos noch mehr Aufsehen erregt, aber dies hängt mit der Bedeutung und Verbreitung der Krankheiten zusammen, deren Bekämpfung diese Mittel galten; und so gross die Menge der klinischen und kasuistischen Literatur dann wurde, rein wissenschaftlich war die Ausbeute zunächst ziemlich mässig. Wollen wir jetzt eine Übersicht über die Insulin-Literatur geben, so bedenke man, dass abgesehen von der klinischen, deren Grösse wir nicht mit Sicherheit schätzen können, die rein wissenschaftliche an die 600 Mitteilungen enthält. Nicht dass etwa all diese Literatur wirklich den Namen „wissenschaftlich“ als Werturteil verdiente, nein, leider zum Teil gar nicht; aber sie muss doch unter diesen Begriff eingeordnet werden, soweit die Autoren als Ausgangspunkt einen mehr theoretisch-wissenschaftlichen und nicht einfach einen praktisch-therapeutischen genommen haben.

Ein Gebiet, das kaum 3 Jahre beackert ist und auf dem so viele Pflüge herumgegangen, wirklich gut zu übersehen, ist kaum möglich. Wir haben wenigstens den Hügel noch nicht gefunden, von dem wir mit Sicherheit die Hauptwege von den vielen Holzpfaden und toten Gleisen unterscheiden können. Darum sei auch sogleich im Beginn gesagt, was dem Leser am Ende doch leider deutlich werden muss, das Hauptziel ist bisher nicht erreicht, und darum können wir es auch nicht als Ergebnis in diesen Bänden feststellen:

Worin besteht die Wirkung des Insulins?

das können wir nicht und — wir fürchten, dies klar zu erkennen wird noch eine ganze Zeit dauern. Denn möglicherweise handelt es sich um keine isolierte Beziehung des Insulins zu einer bestimmten Reihe von Substanzen, den Kohlenhydraten, sondern es muss wahrscheinlich der ganze Organismus, jedenfalls sehr wesentliche Teile von höchster Entwicklung mit in die Reaktion eintreten.

Kehren wir nochmals an den Anfangspunkt zurück und zu der fast wörtlichen Wiedergabe der Einleitung Bantings in seiner ersten Mitteilung,

dann fragt natürlich jeder Wissende: Was ist eigentlich neu an dem Gedanken Bantings? Nichts, denn genau den gleichen hatte schon etwa 10 Jahre vorher Scott geäußert, aber — ihn nicht ausgeführt, weil er meinte, es sei nicht lohnend, einen Extrakt allein aus Pankreas zu bereiten, dessen Ausführungsgang unterbunden war [zitiert nach Staub (507)].

Aber gehen wir auch weiter, und sehen wir die ersten Versuche von Banting und Best, und dann noch später ihre verbesserte, gemeinsam mit Collip, Macleod, Noble zur wirklichen Insulindarstellung erweiterte Methode, auch dann müssen wir sagen, eigentlich ist nichts Neues darin, nirgends kommen grundsätzlich neue Anschauungen oder Wege vor. Das Entscheidende liegt nur in einer Kleinigkeit, wenn man will, nur einem quantitativen Unterschied: Banting und Best ist es gelungen, die Sache bis zum Ende durchzuführen, und den andern eben nicht. Solche letzten Schritte gehören aber zu den Angelegenheiten, wo die Quantität in Qualität umschlägt, und in diesem Sinne ist es durchaus berechtigt, die Torontoer Schule zu den Stätten grosser Entdeckungen zu zählen. Persönlich mag einem dabei leid tun, dass anderen Forschern, die so nahe dem Gelingen waren, wie vielleicht Vahlen (418, 542, 543), sicher Zuelzer (593, 594), dies nicht geglückt ist. Wie hoch wir nun aber auch das Durchführen und Vollenden eines Weges schätzen, so wollen wir sicher an dieser Stelle mit allem Nachdruck, übrigens durchaus in Übereinstimmung mit den Torontoer Forschern, betonen: Die wertvollste wissenschaftliche Tat auf diesem ganzen Gebiet war es, den Ausgangspunkt zu finden, und dies war für alle weiteren Bemühungen die Entdeckung des Pankreasdiabetes durch Minkowski in Gemeinschaft mit v. Mering.

Fragen wir, bevor wir in die Einzelheiten eingehen, noch kurz: Welches waren die besonderen Schwierigkeiten, warum die so zahlreichen früheren Untersucher eigentlich das Ziel nicht erreicht haben? In der Hauptsache lagen wohl folgende fünf Gründe vor, wie der eine von uns sie vor kurzem zusammengefasst hat (350):

1. Es fehlte die Methode, die Wirksamkeit des Insulins quantitativ zu verfolgen.
2. Es gelang nicht, oder nicht vollständig genug, das Insulin vor der zerstörenden Wirkung des Trypsins zu schützen.
3. Im Pankreas scheint es mit Stoffen zusammen zu sein, die seinen Einfluss ausgleichen und überdecken (Antiinsulin).
4. Beimengungen zu dem wirksamen Stoff, sei es Eiweiss, Eiweissabkömmlinge oder andere Stoffe, haben einen giftigen Einfluss und müssen optimal beseitigt werden.
5. Die Haltbarkeit von wirksamen Präparaten war sehr beschränkt.

1. Eines der grössten Verdienste von Banting lag darin, die quantitativen Mikro-Blutzuckerbestimmungsmethoden zu benutzen, um mittels dieser

nach Einspritzung von Extrakten die Änderung des Blutzuckergehalts zu verfolgen. Nur auf diese Weise konnten er und seine Mitarbeiter die wirksamen von den unwirksamen Fraktionen scheiden und vor allem dann mit Hilfe von Collip und gemeinsam mit Macleod und Noble ihr bekanntes Verfahren genauer ausarbeiten.

2. Wie ganz im Anfang erwähnt, hat Banting das Scheitern seiner Vorgänger, einen wirksamen Extrakt aus den Langerhansschen Zellen zu finden, auf die (nicht ganz ausgeschlossene) antagonistische Wirkung des Trypsins geschoben. Darum sein Weg, nur Pankreas mit verödeten Acinis zu benutzen, oder — seine andere bisher nicht genannte Methode — Extrakte aus Pankreas mit unentwickelten Acinis, wie in jungen Föten, zu bereiten; oder endlich, wie dies besonders auch Macleod getan, durch Herstellen von Extrakten aus Zellhaufen von Fischen, die nur den Langerhansschen Zellen entsprechen und von den, Verdauungsfermente liefernden, eigentlichen Pankreaszellen ganz getrennt liegen.

Um aber grössere Mengen Insulin zu erzeugen, müsste man doch auf das Pankreas der Schlachttiere zurückgehen, und da war es besonders die Kunst Collips, welcher es gelang, die Wirkung des Trypsins auszuschliessen, bzw. niedriger zu halten, einmal durch Benutzung des Alkohols als Extraktionsmittel, durch Zusatz von Säure und durch Achten auf niedrige Temperatur. Dass keiner der genannten Faktoren unbedingt nötig ist, zeigen frühere aber auch spätere Erfahrungen, nur war zweifellos die Kombination ausserordentlich praktisch. So kann Alkohol durch Wasser ersetzt werden, aber wie erst vor kurzem wieder Best ausführte, sind die Ausbeuten viel schlechter, und auch das mit grossem Aplomb angekündigte derartige Verfahren von Dodds und Dickens scheint schliesslich ein Misslingen geworden zu sein, während ihr Verfahren ohne alles Wasser (direktes Zusammenreiben mit Pikrinsäure) gute Ausbeute liefern soll. So ist es auch trotz genauer Befolgung ihrer Vorschriften für die erstgenannte Methode uns nicht geglückt, etwas zu erreichen, ähnlich berichtet es uns Dale, und wir glauben alle, nicht ganz ohne Erfahrungen auf diesem Gebiete zu sein. Auch die Säure ist nicht unbedingt nötig. Man kann auch bei alkalischen Extraktionen Gutes erzielen, wenn man gleichzeitig durch die niedrige Temperatur die Wirkung des Trypsins in Schranken hält (Dudley), andererseits braucht die Temperatur keineswegs so niedrig zu sein, wenn man durch grosse Alkoholkonzentration oder durch Säure das Trypsin ausschaltet, ja die Temperatur darf hoch sein, dann aber recht hoch, nämlich weit über dem Wirkungsoptimum des Trypsins, womöglich so hoch, dass es dabei ganz zerstört wird. So sind die günstigen Erfahrungen von Murlin mit Extraktionen bei 70° zu verstehen.

3. Während man nun beim Trypsin den Eindruck hat, dass es ziemlich sicher dem Insulin entgegenwirkt, wenn auch noch nicht vollkommen bewiesen ist, dass es das Insulin zerstört, so handelt es sich bei anderen Stoffen wohl

sicher um keine das Insulin vernichtende Substanzen, sondern nur um solche, welche seine Wirkung paralysieren, im besonderen seinen blutzuckererniedrigenden Einfluss vermindern bzw. durch entgegengesetzte Wirkung überdecken. Um welche Art Stoffe es sich dabei handelt, „Antiinsuline“, ist bis jetzt nicht aufgeklärt, jedoch hat kaum ein Arbeiter auf diesem Gebiet sich des Eindrucks erwehren können, dass in den verschiedenen Fraktionen solche Gegenstoffe vorkommen. Wahrscheinlich sind sie von vornherein im Pankreas vorhanden, und halten damit das vorgebildete Insulin im Schach, oder verhindern den Übergang einer Vorstufe in die wirksame Form. Wir können hier nur hypothetisch sprechen, da exakte Unterlagen fehlen. (Später kommen wir auf die Bedeutung des Stehenlassens und der Autolyse noch zurück und können dafür auch Zahlen anführen.)

4. Im Zusammenhang mit dieser Frage der Gegenstoffe steht wohl die des Fehlens allgemein giftiger Substanzen, an denen die Extrakte früherer Untersucher so reich waren.

Schon Minkowski hatte frischen Extrakt aus normalem Hundepankreas einem pankreasdiabetischen Hunde eingespritzt, aber das Tier wurde durch Abszessbildung krank, und obwohl der Harnzucker zurückging, wusste man nicht, ob dies nicht an der Erkrankung des Tieres lag.

Forschbach musste später aufhören, die anscheinend gut wirksamen Extrakte von Zülzer beim Menschen zu benutzen, weil sie zu giftig waren. Es hat zweifellos etwas Tragisches, dass vielleicht nur wegen der vermeintlichen Giftigkeit seiner späteren Extrakte, Zülzer verhindert wurde, der gefeierte Entdecker des Insulins zu werden. Denn, als es ihm gelungen war, die Extrakte weiter zu reinigen, sah er die — wie wir jetzt sagen — gute und kräftige Insulinwirkung an Hunden auftreten, nämlich Krämpfe, hielt dies aber für ein Zeichen zu grosser Giftigkeit und zögerte zunächst, seine Präparate am Menschen zu benutzen, zumal der Krieg ihn hinderte, grössere Versuchsreihen auszuführen. Ob übrigens Zülzer in einem höheren Sinne nicht doch recht hatte, die Krämpfe als nicht unbedingt zum Wesen der Insulinwirkung gehörend, anzusehen, davon noch später. Die jetzt in einem besseren Präparat für eine Menschendosis (von 10—20 Einheiten) vorhandene Substanzmenge (etwa 4—16 mg) ist ohne den Schatten einer Gefahr einer Nebenwirkung, auch wenn sie wochen- und monatelang hintereinander gegeben wird. Treten doch einmal gelegentlich Reaktionen bei einem Patienten auf, so ist es sicher nicht berechtigt, dies sogleich auf Verunreinigungen zurückzuführen, da wir wissen, dass auch mit minimalster Menge ganz reiner Substanz (ein Billionstel Gramm Morphin z. B.) abnorme Hauterscheinungen vorkommen.

5. Endlich sei als letzter von den Gründen, die einer früheren allgemeinen Einführung und Verbreitung eines wirksamen Pankreasextraktes entgegenstanden, die mangelnde Haltbarkeit genannt. Auch in der eigentlichen Insulinära wurde dieser Mangel zunächst immer betont, und auch jetzt finden

sich noch einige, aber wohl nicht sehr erfahrene Ärzte, die einen solchen Mangel behaupten. Dies hängt mit den vorher erwähnten Fragen einer Beimengung von Trypsin, von vorhandenen Gegenstoffen oder gar giftigen Substanzen zusammen. Aber dieser Punkt scheint in den besseren Fabrikationsstätten ganz überwunden, wenigstens sind uns jetzt holländische Präparate bekannt, die als Trockensubstanz höchstens eine Veränderung nach der Richtung des Wirksamerwerdens zeigen, aber auch bereits gebrauchsfertige Lösungen, die in $\frac{3}{4}$ Jahren keinen Unterschied ihrer Wirksamkeit gezeigt haben.

Einen eigentlich historischen Überblick wollen wir nicht geben, zumal dies recht übersichtlich, wenn auch kurz, erst in diesem Jahre von Staub (507) und vor allem von Murlin (424) geschehen. Wir haben die oben erörterten Punkte als Einführung vorangestellt, um anzudeuten, warum die Menschheit erst jetzt, trotzdem die grundlegende Entdeckung des Pankreas-Diabetes durch Minkowski und v. Mering schon 35 Jahre zurückliegt, einen Pankreasextrakt in Händen hat, der eine therapeutische Beeinflussung des menschlichen Diabetes möglich macht und der, was hier am meisten interessiert, als Insulin genau physiologisch und pharmakologisch untersucht werden kann.

Zum Namen Insulin sei bemerkt, dass er schon 1909 von de Meyer¹⁾ für einen Stoff aus den Langerhansschen Inseln gebraucht, dann 1916 von Schäfer in gleichem Sinne benutzt wurde. Allgemeingut ist er aber erst, seit ihn die Torontoer Schule für ihren Pankreasextrakt angenommen hat. Banting und Best sprechen auch in ihren ersten Untersuchungen noch nicht davon, sondern erst in der 3. Mitteilung tritt Insulin einfach als die Bezeichnung für ihr Pankreasextrakt auf.

Doch schon an dieser Stelle sei aber erinnert, dass gerade in der letzten Zeit aufs neue der Streit über die Herkunft des Inselgewebes entbrannt ist; die Stimmen scheinen sich zu mehren, welche die azinären und die insulären Pankreaszellen einfach als zwei verschiedene Funktionsstadien ein- und derselben Zellart ansehen wollen (443, 491, 546).

II. Physiologische Wirkung auf normale Organismen und Gewebe.

A. Auf den Gesamtorganismus.

a) Kaninchen (Vergiftungsbild).

Die erste Beschreibung der typischen Symptome der Insulinvergiftung am normalen Tiere wurde Mai 1922 von Banting c. s. der Kanadischen Royal Society vorgelegt. In dieser grundlegenden Arbeit (33, 35) beschreiben sie, wie bei normalen Kaninchen die Einspritzung einer gewissen Dosis Insulin eine Erniedrigung des Blutzuckergehalts innerhalb der ersten 1—3

¹⁾ Archivio di fisiologia 7, 96, 1909.

Stunden hervorruft, die nach einiger Zeit wieder verschwindet. Während vor dem Versuch bei ihren 150 Tieren der Blutzuckergehalt 0,95 bis 1,33‰ betrug (bestimmt nach der Methode Shaffer-Hartmann), wurde sogar einmal $2\frac{3}{4}$ Stunden nach der Einspritzung ein Gehalt von nur 0,10‰ beobachtet! Während diesem blutzuckersenkenden Vermögen des Insulins natürlich praktisch die Hauptrolle zukommt, tritt noch eine ganze Reihe von charakteristischen Nebenerscheinungen hinzu, welche zwar immer bei verschiedenen Tieren kleine Differenzen zeigen, aber doch im ganzen sich zum folgenden Krankheitsbild vereinigen lassen.

Einige Zeit nach der Insulineinspritzung werden die Tiere unruhig, nagen und ziehen an den Metallteilen ihrer Käfige, dann legen sie sich mit ihrem hinteren Teile auf die Seite, zeigen leichte Dyspnoe: ihre Nasenflügel bewegen sich schneller als sonst, und die Atmung ist (oft periodisch) beschleunigt. So liegen die Tiere eine halbe Stunde, eine Stunde, vielleicht noch länger unter zunehmender Apathie und Zyanose. Ihre Lidspalte erweitert sich, die Pupille gleichfalls, der Blick ist starr, in die Ferne gerichtet (138, 392). Die Temperatur sinkt. Dann kommt ein Moment, wo der Kopf, der bisher, sei es auch mit Mühe, aufrecht gehalten wurde, zu schwanken anfängt, während die Ohren allerlei unkoordinierte Bewegungen zeigen. Die Ausschläge des Kopfes werden immer grösser, Zuckungen der Körpermuskulatur, anfangs leicht, aber schnell zunehmend, treten auf, und plötzlich verfällt das Tier in einen schweren erst tonischen dann klonischen Krampf, der langsam innerhalb 1 bis 2 Minuten erlischt. Dann bleibt das Tier erschöpft, und völlig anästhetisch, meist mit aufgehobenem Kornealreflex (138), liegen. Untersucht man den Blutzucker kurz vor den Krämpfen, so findet man in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle Werte von etwa 0,45‰.

Im Krampfanfall rollen die Tiere in zahlreichen Fällen entweder immer in derselben (122, 138), oder in abwechselnder Richtung (33) hin und her; andere wieder bleiben auf der Seite liegen, bewegen aber schnell die Extremitäten, wie ein Mensch beim Laufen oder Radeln, während Rumpf und Nacken im extremen Opisthotonus gestreckt sind (Paralyse der Hinterbeine soll nach Macleod (33) charakteristisch für unreine Präparate sein).

Nach Ablauf des Krampfanfalles kann das Tier entweder komatös bleiben, oder sich mehr oder weniger erholen, so dass es sich wieder auf die Beine setzt, es macht dann aber auch in seiner zusammengekauerten Haltung, mit gestäubten Haaren einen traurigen, kümmerlichen Eindruck. War die Insulindosis nicht zu gross, dann kann der Krampfanfall vereinzelt bleiben, und das Tier sich langsam, aber vollständig erholen. In der Mehrzahl der Fälle tritt nach 20, 30 Minuten ein neuer Krampf auf, und ein solcher wiederholt sich periodisch, mit abnehmender Heftigkeit, bis die Tiere erschöpft sterben, wenn keine Hilfe gebracht wird. Der Tod erfolgt durch Atemlähmung. — Neben diesem meist vorkommenden Krankheitsbilde sieht man gelegentlich auch Ab-

weichungen. So fällt bisweilen im Stadium, das den Krämpfen vorangeht, eine ausserordentliche Schreckhaftigkeit auf: statt komatös sind die Tiere äusserst erregt, erschrecken von jedem Geräusch und jedem Lichtreiz: sie rennen weg, ohne auf Gegenstände im Wege zu achten, machen fast meterhohe Sprünge. Bisweilen bleibt es hierbei, und die motorische Unruhe scheint ein Äquivalent der Krampfanfälle zu sein; dann aber genügt irgend ein exogener Reiz, z. B. ein Geräusch, um beim erregten Tiere einen heftigen Krampfanfall auszulösen.

Bisweilen gibt es Tiere, welche nach der Injektion frisch und munter bleiben bis irgend eine Ursache, z. B. der Versuch, sich zu bewegen, einen Krampf erzeugt. Andermal wieder sieht man ein Kaninchen sofort nach dem Krampfe sich aufrichten und weglaufen. In einzelnen Fällen stirbt das Tier gleich beim ersten Anfall (33, 504).

Stets besteht ein bestimmter Spielraum (504) zwischen minimaler Krampfdosis und minimaler tödlicher Dosis: oft verhalten diese sich wie 1:10. Beim Hunde ist die Marge grösser als beim Kaninchen. Eine absolut tödliche Dosis besteht überhaupt nicht, da bei rechtzeitiger Glukoseaufnahme (Zuckereinspritzung) der Zustand sich bessert. Die Erscheinungen hat Banting c. s. unter dem Begriff „hypoglykämischer Komplex“ zusammengefasst.

Am meisten spricht für die Abhängigkeit aller Symptome dieses Komplexes besonders von der Hypoglykämie, ausser dem, natürlich nichts beweisenden, Namen die Tatsache, dass sie sämtlich, auch die Krämpfe, nach Zufuhr von Glukose verschwinden.

Diese Tatsache selbst ist unbestritten, und für den Pharmakotherapeuten, der so selten die Freude hat, unmittelbare Heilerfolge einer Massnahme zu sehen, ist es geradezu ein Genuss, eine so schnelle Besserung beobachten zu können. 2—5 Minuten nach subkutaner Einspritzung, nach intravenöser womöglich noch schneller, bleiben die heftigsten Krämpfe, die sich sonst in kurzen Abständen wiederholen, weg, und der schwere apathische Zustand nach solchen Krämpfen geht vorüber. War die Atmung sehr schnell, so wird sie langsamer, regelmässiger, tiefer, die Tiere beginnen oft unmittelbar zu fressen, werden manchmal auch erst schläfrig und erwachen dann ganz normal. Öfter geht nach Macleod (392, 440) die Erholung nicht so schnell, wenn nicht mehr Krämpfe, sondern Koma das vorherrschende Symptom sind. Es kann dann eine halbe bis eine Stunde bis zum Normalwerden des Tieres vergehen, wobei als erstes Zeichen der Besserung gerade die Krämpfe wieder auftreten. Die Deutung von Macleod, dass diese langsame Wiederherstellung mit der trägen Zirkulation zusammenhängt, hat viel für sich.

Behandelt man Kaninchen wiederholt mit grossen Insulindosen, dann entsteht ein Zustand, der durch Zuckerverabreichung nur noch vorübergehend gebessert werden kann: schliesslich stirbt das Tier doch immer. Dasselbe geschieht mit den Passagetieren von Collip (s. u.). Daraus schliesst Gigon (271), dass es sich hier um einen zweiten Stoff im Organismus handelt, der durch

das Insulin mobilisiert und aktiviert wird. Verwandt hiermit scheint eine Beobachtung von Baur: Spritzt man Kaninchen täglich gleichzeitig mit der Fütterung Insulin ein, dann steigt der Blutzuckernüchternwert über den der Kontrolltiere: hört man dann plötzlich mit den Insulininjektionen auf, dann steigt in den 2—3 folgenden Tagen der Blutzuckernüchternwert stark an (bis 3,2 ‰) unter verminderter Fresslust (45). Hier würde man eher zur Erklärung an eine Anhäufung von Kohlenhydrat in irgendeiner Form denken.

Verschiedene Untersuchungen haben sich damit beschäftigt, festzustellen, welche Kohlenhydrate die schnellste und beste therapeutische Wirkung haben. Gewöhnliche d-Glukose und Lävulose sind wohl gleich wirksam, Rohrzucker weniger günstig, Stärke (löslich) hilft nach einiger Zeit, Glykogen scheint nach eigenen Erfahrungen meist zu versagen. Wir kommen auf diese Frage nochmals zurück (s. w. u. IV, A).

Es liegt nach diesem wunderbaren Erfolg der K.H.-Therapie natürlich sehr nahe, aus dem Adjuvans auf das Causans zu schliessen: das Fehlen einer genügenden Menge von Blutzucker rufe die Krämpfe hervor.

Wir kommen im Kapitel VI, Wertbestimmung, nochmals ausführlich darauf zurück und werden erfahren, dass die Beziehung keine so einfache ist; aber auch am Schluss des Ganzen, bei der Theorie der Insulinwirkung, werden wir leider sehen, dass wir auch eine andere „Erklärung“ für das Auftreten der Krämpfe noch nicht geben können. Hier wollen wir uns darauf beschränken, nur ganz kurz einiges Tatsächliche anzuführen, auch wenn das Material dafür erst später gegeben wird. Es liegt uns aber daran, den Leser vor voreiligen Schlüssen auf einfache Zusammenhänge zu bewahren.

1. Die Krämpfe werden im allgemeinen seltener, je reiner die Präparate. Dies scheint für das Insulin aus Säugetierpankreas zu gelten, obwohl auch da nicht unwidersprochen [Delezenne (181)]. Bei Insulin, aus Rochen hergestellt, treten auch bei den reinsten Präparaten heftige Krämpfe auf (392).

2. Krämpfe können bei sehr niedrigem Blutzucker (0,25 ‰) vermisst werden, und können andererseits bei höherem Blutzucker (0,55, ja über 1,00 ‰) auftreten (32, 181, 393, eigene Versuche).

3. Krämpfe treten oft erst auf, nachdem der Blutzucker tief gesunken und dann wieder über die Krampfgrenze (0,45 ‰) gestiegen.

4. Calcium soll die Krämpfe schnell zum Verschwinden bringen (460), während der Blutzucker niedrig bleibt.

5. Bei gut genährten Tieren sind die Krämpfe heftiger als bei hungernden (392), obwohl im allgemeinen beim Hungertier die sonstigen Symptome intensiver sind und länger dauern (504).

6. Gutgenährte Tiere sitzen zwischen den Krampfanfällen scheinbar normal da, Hungertiere bleiben halbkomatös liegen (393).

7. Dezerebrierte Tiere ergeben Blutzuckererniedrigung und Krämpfe nur, wenn auch die Hypophyse mit weggenommen ist [Olmsted und Logan

(446)]. (Nach Cannon beruhe dies nicht auf der Wegnahme der Hypophyse, sondern auf Läsion des Hypothalamus.) Anfänglich hat man, allerdings nur auf Grund von 2 Versuchen, gemeint (446), dass dekapitierte Tiere zwar Blutzuckererniedrigung, aber keine Krämpfe zeigen. Seitdem aber haben Olmsted und Taylor (447) einen Fall veröffentlicht, wo ein solches Rückenmarkstier, mit Insulin eingespritzt, spontan und auf den geringsten taktilen Reiz allerheftigste Krämpfe zeigte, die auf Zuckereinspritzung in kurzer Zeit verschwanden. Auch die Anwesenheit des Rückenmarks genügt also für einen Insulinkrampf (s. a. S. 32).

Kleitman und Magnus (331a) sind zwar zum entgegengesetzten Schluss gekommen, aber man muss sich fragen, ob nicht ein einziges positives Resultat mehr Beweiskraft hat als eine ganze Reihe negativer. Andererseits spricht wieder für ihren Standpunkt ihr Befund, dass bei einem Tiere mit durchschnittenem Brustmark die Krämpfe nur in der vorderen Körperhälfte auftraten. Mit Sicherheit konnten diese letztgenannten Autoren jedenfalls feststellen, dass für das Zustandekommen der Krämpfe das Vorhandensein von Grosshirn, Thalami, vordere Hälfte des Mittelhirnes und Labyrinth nicht nötig sind, denn sie konnten jeden der genannten Teile ausschalten, ohne dass die Krämpfe wegblieben.

Als Ursache der Krämpfe werden genannt:

1. Der niedere Zuckergehalt des Blutes, vielleicht auch der Gewebe, im besonderen, wenn eine bestimmte Grenze (um 0,40^o/oo), die weder nach oben oder unten überschritten wird, längere Zeit festgehalten wird [Macleod (392)].

2. Asphyktische Prozesse im Gehirn, zustande gekommen durch Lähmung von oxydativen Vorgängen durch das Insulin (392). Diese Möglichkeit wird nicht ausgeschaltet durch die Versuche von Kleitman und Magnus (331a), wo kräftige künstliche Atmung verwendet wurde und doch Krämpfe auftraten, denn das Hindernis kann chemischer, nicht-physikalischer Art sein.

3. Spezielle Erregung des Labyrinths (Sordelli c. s. 504).

Diese Möglichkeit ist durch die Versuche von Kleitman und Magnus (331a), in denen auch nach beiderseitiger operativer Entfernung des Labyrinths Insulinkrämpfe auftraten, definitiv ausgeschaltet worden. Die Rollbewegungen treten dann doch auf, als Folge lokomotorischer Krampfbewegungen bei gedrehtem Kopf und Rumpf.

4. Auftreten von bestimmten Stoffwechselprodukten (440), die vorzugsweise Pons und Medulla oblongata reizen. Im besonderen sollen diese Giftstoffe in der Leber entstehen, welche die N-haltigen Stoffwechselprodukte nach Verbrauch der K.H.-Vorräte nicht normal verarbeiten kann [Fischler (232)].

Vielleicht kommt auch vermehrter Eiweissabbau in Frage (259).

5. Erhöhte Reizbarkeit des Rückenmarkes (447).

6. Erhöhte Reizbarkeit der Muskulatur (194).

Wir haben hier diese etwas abrupte Form der Darstellung gewählt, um Tatsächliches und Theoretisches möglichst scharf zu trennen. Wir wollen, wie gesagt, später in Verbindung mit anderen Erfahrungen darauf zurückkommen, und sehen, wieweit ein innerer Zusammenhang zu erkennen ist. Neben dieser oben beschriebenen akuten Wirkung (u. a. Krämpfe und Koma) scheint aber auch noch eine chronische zu bestehen (s. a. S. 140, 179), denn trotz reichlicher Fütterung und grossen Intervallen magern die Kaninchen doch bei wiederholtem Gebrauch ab und sterben endlich ohne anatomisch erkennbare Ursache meist während der Nacht. Man findet sie dann am nächsten Morgen gewöhnlich in Opisthotonus gestreckt, und wenn gelegentlich ein Tier am Tage stirbt, beobachtet man bisweilen Krämpfe, die vielmehr den hypoglykämischen als den gewöhnlichen agonischen gleichen; fehlen doch vor allem die für diese charakteristischen schnappenden Atembewegungen. Dies ist unsere eigene Erfahrung, und auch Banting und Best (33) haben einen derartigen Fall gesehen, wo das Tier, nachdem es Krämpfe gezeigt hatte und sich mit Glukoseeinspritzungen scheinbar erholt hatte, 6 Tage lang übererregbar blieb, an Gewicht verlor und dann spontan aufs neue Krämpfe bekam, die dann sofort wieder durch Glukose verschwanden. Auch wir stellten bei solchen Spätfällen wiederholt fest, dass der Blutzucker tief gesunken war (bis zur Krampfgrenze).

Sammartino und Liotta (484) fanden bei mit Glukose geretteten Krampftieren 6 Tage nach der Einspritzung noch einen Blutzuckergehalt von ungefähr 0,65‰.

Nach Wiechowski ist zwar die akute Blutzuckersenkung durch Insulin schon innerhalb etwa 5 Stunden abgelaufen, am fünften Tage danach trete aber meistens eine erneute vorübergehende Erniedrigung des Blutzuckergehaltes auf (570).

Wir sagten oben, dass neben den akuten Erscheinungen auch noch solche von chronischer Vergiftung nach Insulineinspritzung zu bestehen scheinen. Das „scheinen“ bezog sich auf die Annahme, dass das Insulin als solches Ursache hiervon sei; die Erfahrung als solche, dass fortschreitender tödlicher Verfall auf die Einspritzung folgen kann, ist gesichert und hat sich uns als eine besonders „teure“ sehr eingepägt.

Was aber die Ursache anlangt, so ist durchaus möglich, dass diese chronischen sich langsam entwickelnden Symptome den Beimengungen des Insulins zur Last gelegt werden müssen. Denn Kaninchen, die nur zu Eichungszwecken mit reinsten Präparaten benutzt werden (mündliche Mitteilung Dales) zeigen nichts davon, im Gegenteil, die Tiere nehmen an Gewicht zu und müssen gerade deswegen, weil sie zu schwer werden, von weiteren Versuchen ausgeschaltet werden. — Zum Schluss wollen wir hier noch hinweisen auf die später zu besprechenden eigenartigen Befunde chronischer Wirkung von Collip u. a. hauptsächlich mit pflanzlichen Präparaten.

b) Andere Tiere.

Das Krankheitsbild der Insulinvergiftung, wie wir es bisher beim Kaninchen beschrieben haben, findet man bei den meisten Wirbeltierspezies in etwas geänderter Form wieder.

Beim Hunde (33) bestehen die ersten Zeichen meistens in einer sehr schnellen Atmung, Unruhe und allgemeinen Überempfindlichkeit, dann beobachtet man Muskelzuckungen, und oft erschlaffen die Sphinkteren. Die Tiere bellen erregt, Schaum bedeckt ihr Maul. Dann (bisweilen auch ohne diese prämonitorischen Symptome) treten Krämpfe auf, welche denen des Kaninchens fast völlig gleichen; zwischen den Anfällen liegen die Tiere auf der Seite, bewusstlos und mit heftig zuckender Muskulatur. Atmungs- und Pulsfrequenz nehmen zu; die Inspiration erfolgt kurz, ruckweise, bisweilen muss man wegen inspiratorischen Tetanus künstliche Atmung einleiten. Bewegungsversuche des Tieres lösen oft Krämpfe aus; erholt der Hund sich, so fällt es auf, dass die vorderen Extremitäten völlig unkoordiniert bewegt werden.

Der Blutzuckergehalt, bei dem beim Hunde Krämpfe auftreten, ist wesentlich niedriger als beim Kaninchen, und beträgt im Mittel 0,30‰ (504); der Spielraum zwischen Krampfdosis und letaler Dosis ist grösser als beim Kaninchen (504).

Beim normalen Hunde (Gewicht 11 bis 15 kg) verursachten 7½ Einheiten Insulin eine Blutzuckererniedrigung, welche nach 4—6 Stunden wieder vorübergeht (431). Eigene Versuche ergaben, dass die Hunde pro kg Tier unempfindlicher als Kaninchen sind. Der Hypoglykämie folgt eine Hyperglykämie [ohne Glykosurie (143)].

Bei der Katze (393, 516) sind die Symptome etwa dieselben: Hier sind Speichelfluss, Miauen und Schreien, Sphinkterenerschlaffung die augenfälligsten Erscheinungen. Die Blutzuckerkurve verläuft wie beim Kaninchen. Bei Beobachtungen in unserem Laboratorium (de Jongh und Muskens) fiel besonders die Übererregbarkeit gegen akustische und taktile Reize auf; vereinzelt traten Brechbewegungen unmittelbar vor dem Krampfe auf. Übrigens schienen auch Katzen uns relativ unempfindlicher als Kaninchen.

Rinder sind nur noch wenig untersucht worden: Unseres Wissens liegt bisher nur ein einziger Versuch von Sordelli (504) vor, der wenigstens feststellen konnte, dass das Tier reagierte.

Bei Pferden (504) hat man bisher nur eine Hypoglykämie feststellen können.

Bei Schweinen von etwa 50 kg haben wir mit F. Laquer einen halbkomatösen Zustand nach sehr grossen Dosen, 200 Einheiten, beobachten können.

Mit Schafen haben schon mehrere Forscher gearbeitet, in erster Linie Bodansky (92, 93, 95, 504). Bei Einspritzung von 5—15 Einheiten subkutan

bei Tieren von etwa 100 Pfund war innerhalb 2 Stunden kein deutlicher Effekt zu verzeichnen; intravenöse Injektion derselben Menge verursachte eine Erniedrigung des Blutzuckers von etwa 0,70‰ innerhalb 30 Minuten. Für die grössten Dosen waren die Minima nur wenig niedriger als für die kleinsten, nur dauerte im ersten Falle die Hypoglykämie beträchtlich länger an. Innerhalb 4—5 Stunden nach 15 Einheiten, 2¹/₂ Stunden nach 10 Einheiten oder 1¹/₂ Stunden nach 5 Einheiten, war der Blutzuckergehalt wieder normal und blieb dann weiter unverändert. Die Tiere verhielten sich sonst während des Versuches normal.

Auch mit viel grösseren Dosen, intravenös gegeben, gelang es nicht, Krämpfe zu erzeugen, sogar wenn der Blutzucker unterhalb 0,30‰ abfiel. Je grösser die Dosis, desto länger wird der niedrigste Punkt der Blutzuckerkurve festgehalten: Nach 5 Einheiten pro 100 kg intravenös fängt sofort nach Erreichen des Blutzuckerminimums wieder eine Steigung an; nach 10 Einheiten wird der niedrigste Punkt etwa 1 Stunde lang festgehalten, nach 15 Einheiten etwa 2—3 Stunden. Je länger man die Tiere zuvor hungern lässt, desto länger bleibt der Blutzucker bei einer bestimmten Insulindosis auf seinem niedrigsten Niveau (94).

Ziegen (274, 504) hat man bisher nur spärlich verwandt und dann hauptsächlich seine Aufmerksamkeit der Milch gewidmet (s. später).

Mäuse (81, 283, 393, 566) zeigen bei Zimmertemperatur sogar nach grossen Insulindosen, ¹/₁₀ der letalen Kaninchendosis, nur sehr wenig Abweichungen von der Norm: sie sträuben die Haare, bewegen sich weniger als sonst; bringt man sie aber in einen Brutschrank bei z. B. 28° C, dann erscheinen auch hier nach Lähmung der Beine Krämpfe und Koma. Bei dieser Tierspezies scheinen die individuellen Verschiedenheiten am grössten (504). Ausser dem Opisthotonus des Rumpfes und des Nackens wird hier bei den Krämpfen auch der Schwanz rückwärts gebeugt (504).

Meerschweinchen (504) reagieren, auch nach unseren eigenen Erfahrungen, fast genau so wie Kaninchen.

Ratten sind sehr verschieden empfindlich; sie zeigen das gewöhnliche Krankheitsbild und erholen sich mit Glukose (504). Ihre Widerstandsfähigkeit hängt aufs engste mit dem Ernährungszustande zusammen. Der hypoglykämische Symptomenkomplex besteht hier aus: zunehmender grosser Schwäche, Seitenlage, Verminderung der Atmungsfrequenz, klonischen Muskelzuckungen (258, 579), bei denen der Schwanz sich rückwärts krümmt (504), und Temperatursturz. Bisweilen sterben sie schon beim ersten Krampfanfall: dann und wann findet man bei ihrem Tode Hyperglykämie (504).

Abderhalden und Wertheimer (3) gaben an, dass kohlehydratreich ernährte Tiere besonders empfindlich seien, fettreich oder eiweissreich ernährte (mit absichtlicher Weglassung aller K.H.) unempfindlich.

Wir konnten dies in einer ganzen Reihe von Versuchen insoweit bestätigen,

dass in der Tat sehr reichlich mit K.H. gefütterte Tiere, denen nur wenig Eiweiss und Fett gegeben wurde, viel stärker auf Insulin reagierten, als Tiere die ohne K.H. ernährt wurden. Ob dies aber am K.H.-Reichtum liegt, oder nicht nur an einer allgemein grösseren Empfindlichkeit, scheint uns noch nicht entschieden. Die K.H.-Tiere schienen uns nämlich ausserordentlich gebrechlich und zeigten eine viel grössere Sterblichkeit, unabhängig von jeder Insulingabe. — In anderen Versuchen ist uns eine grössere Resistenz von Tieren, die besonders viel Eiweiss erhalten, aufgefallen. Wenn man nämlich 3 Gruppen Tiere (Ratten) alle gleichmässig mit K.H. füttert, bei der ersten Gruppe dazu Fett und Eiweiss ziemlich gleichmässig, bei der zweiten aber besonders viel Fett und wenig Eiweiss und bei der dritten wenig Fett und besonders viel Eiweiss gibt, so ist die letzte Gruppe, die am meisten Eiweiss erhält am unempfindlichsten. [In 4 verschiedenen Versuchen (durchschnittlich 3 Tiere von jeder Gruppe) reagierten in der letzten Gruppe 80% negativ, in den beiden anderen Gruppen nur 30 bzw. 20% negativ].

Die Versuche bedürfen dringend der Fortsetzung.

Von den Vögeln hat man bisher untersucht: Taube, Ente, Huhn.

Tauben. Bickel c. s. (56) konnten feststellen, dass normale Tauben 3 Einheiten Insulin ohne Nachteil vertragen, 5 Einheiten können aber tödlich sein: dabei sinkt der Blutzucker von etwa 2‰ auf 1‰: Blutfett und Blutaminosäuren ändern sich wenig. Bei grossen Dosen Atmungsbeschleunigung, keine Krämpfe, beim Tode Herzdilatation. Bei der einen Rasse wirkt Insulin kräftiger als bei der anderen; mit grossen Dosen kann man den Blutzucker bis zu ein Sechstel seines Anfangswertes erniedrigen, ohne dass das Tier besonders gefährdet wird (311). Nur nimmt die Gesichtsschärfe ab und treten ataktische Bewegungen auf, Krämpfe sind aber selten. In merkwürdigem Gegensatz zum Heisshunger, den man bei Kaninchen beobachtet, zeigen die Tauben im Anfang gar keine Neigung zu fressen und müssen oft noch nach 3 bis 4 Tagen künstlich gefüttert werden (473). Tod in Hypoglykämie wurde hier gleichfalls beobachtet.

Nach Abderhalden c. s. (3) vertragen die Tiere sogar 50 Einheiten (von 3 Präparaten verschiedener Herkunft) ohne Erscheinungen, nur sank die Temperatur innerhalb der ersten Stunde von 39,7° auf 37,7°, um dann wieder zu steigen: auch Wiederholung der Injektion nach 2 Stunden wurde gut vertragen. Kurz nach der Injektion war bei einigen Tauben der Gang etwas unsicher.

Enten und Hühner sind ebenso unempfindlich gegen Insulin wie Tauben (504).

Schildkröten sind relativ sehr unempfindlich, wenigstens konnte Macleod (392, 441, 504) innerhalb mehrerer Stunden keine Hypoglykämie bei ihnen erzeugen, bei Einspritzungen weder ins Herz noch in die Pfote.

Auch nach Olmsted (445) sind sie vollkommen unbrauchbar.

Mann c. s. (401a) aber haben, arbeitend mit der Spezies *Graptemys geographicus* (ebenso wie mit dem Fisch *Lepisosteus platostomus* und dem amerikanischen Frosch *Rana pipiens*) bei längerer Beobachtungsdauer feststellen können, dass nach intravenöser Injektion von grossen Dosen während der ersten 6—8 Stunden keine Veränderung zu bemerken ist, dann aber nach 24—36 Stunden eine deutliche Hypoglykämie auftritt, die erst 60—96 Stunden nach der Injektion maximal ist: Injektion von Glukose oder Glykogen war nicht imstande, die Symptome aufzuheben (vielleicht haben aber die Autoren nicht lange genug beobachten können).

Mit kleinen Krokodilen (*Caiman sclerops*) von 120—720 g Körpergewicht haben Houssay und Rietti (312) gearbeitet. 10—60 Einheiten Insulin verursachten bei ihnen eine starke Hypoglykämie, aber erst nach 24 Stunden; das Minimum wurde erst nach 3—4 Tagen erreicht, nach 8 bis 10 Tagen trat wieder eine Steigerung auf. 3—4 Tage nach der Einspritzung beobachtete man typische Symptome: Überreizbarkeit, träge, zittrige Bewegungen, dann Wutanfälle, laterale Kopfbewegungen, alternierend nach links und rechts, und zum Schluss einige Krampfanfälle. Diese Erscheinungen zeigen Remissionen und Verschlimmerungen, bis, 7—10 Tagen nach der Injektion, der Tod eintritt.

Frösche (393) zeigen bei Zimmertemperatur sogar mit grossen Insulindosen tagelang nichts: schliesslich kommt es aber auch hier zu mehr oder weniger charakteristischen Erscheinungen: die Tiere werden schlaff und schwach, passiv, die Pigmentierung nimmt ab, und einige bekommen nach 6—7 Tagen Krämpfe vom Strychnin-Typus (27). All diese Symptome kann man vorübergehend durch Glukoseinjektion zum Verschwinden bringen.

Nach Hemmingsen (301) sinkt bei *Rana esculenta* und *Rana temporaria* der Blutzucker sehr stark ab, z. B. von 0,39‰ auf 0,07‰.

Houssay und Rietti (312) arbeiteten mit argentinischen Fröschen (*Leptodactylus ocellatus*) und Kröten (*Bufo marinus*). Mit Lilly- oder argentinischem Insulin zeigten die Tiere in den ersten Stunden nach der Injektion Hyperglykämie; nach 5—8 Stunden aber hatte sich eine Hypoglykämie entwickelt. Nach kleinen Dosen stieg der Blutzucker nach 24—48 Stunden wieder an, nach grossen erst nach einigen Tagen. Zwischen dem ersten und dem vierten Tage nach der Injektion sah man Aufregung, unaufhörlich sich wiederholende Bewegungen, bisweilen tetanische Krämpfe usw. In einem grossen Teil der Fälle folgte der Tod, besonders bei Fröschen. Während der Hypoglykämie war bei beiden Spezies die Haut dunkler, was also gerade umgekehrt ist, wie es Azuma und Hartree (27) bei ihren Fröschen beobachtet haben. Injektion von $\frac{1}{2}$ g Glukose beseitigte die Symptome nicht. Die Hypoglykämie wurde nach etwa 5—10 klinischen Einheiten beobachtet; mit sehr grossen Dosen war sie sehr intensiv. Am auffälligsten war das späte Erscheinen und die lange Dauer der Symptome.

Sehr sorgfältig ist der Einfluss der Temperatur auf die Insulinwirkung an Fröschen von Huxley und Fulton (314a) untersucht worden. Sie brachten Gruppen von je 4 Fröschen (von etwa 10 g Körpergewicht) am Tage vor dem Versuch in verschiedene Temperaturen: von jeder Gruppe erhielt ein Tier 0,45 Kanincheneinheit Insulin, das zweite 1,2, das dritte 3 Einheiten, während das vierte als Kontrolle diente. Resultat:

bei 30°:	Alle Insulintiere tot innerhalb 14 Stunden, Kontrolle lebte.
25°:	Krampf nach 24 bis 27 Stunden
20°:	„ „ 43 „ 49 „
15°:	„ „ 60 „ 70 „
7°:	„ „ 120 „ 144 „

Diesen Versuch haben sie 4mal mit geringen Änderungen wiederholt, immer mit dem gleichen Resultat. Es scheint also, dass die Dosis als solche einen viel geringeren Einfluss auf die Insulinwirkung hat als die Temperatur. Spritzt man den Tieren bei 7° 3 Einheiten ein, dann zeigen sie nicht eher Symptome als bei Injektion von 0,45 Einheiten. Bei 30° hingegen hat die Dosis einigen Einfluss: nach 3 Einheiten sterben die Tiere gewöhnlich nach etwa 10 Stunden, nach 0,45 Einheiten nach etwa 13—14 Stunden. Bei 25° aber ist von diesem Einfluss der Dosierung schon nichts mehr zu sehen: dann überdecken schon individuelle Unterschiede etwaige Verschiedenheiten.

Obwohl aus den Versuchen bei 7° schon hervorgeht, dass Insulin eine langsame Veränderung der Tiere hervorruft, die schliesslich zu Krämpfen führt, können sie zeigen, dass diese Veränderung bei der niedrigen Temperatur auch in den Stunden, wo man äusserlich noch nichts davon merken kann, vor sich geht: sie hielten die Tiere nach der Einspritzung des Insulins verschieden lang bei 7°, brachten sie dann in eine Temperatur von 25°, und stellten fest, dass nun in umso kürzerer Zeit Krämpfe auftreten, je länger sie bereits bei 7° mit dem Insulin gehalten waren.

Nach der Einspritzung von 1,2 Kanincheneinheiten:

Nr.	Stunden bei 7°	Stunden bei 25° bis zum Eintritt von Krämpfen
1	24	18,5 (mageres Männchen)
2	48	13 „ „
3	72	11 „ „
4	96	9 „ „
5	120	11 (dickes Weibchen)
6	Kontrolle	— (mageres Männchen).

Nach den genannten Autoren stimmt die Temperatur-Wirkungskurve merkwürdig überein mit der des Sauerstoffverbrauches. Durch Extrapolieren findet man, dass bei Fröschen bei 37° in 1½—2½ Stunden sich Krämpfe zeigen müssten, was also mit dem Befunde bei Säugetieren auch übereinstimmen würde.

Diese Autoren beschreiben den Symptomkomplex der Insulinwirkung bei Fröschen wie folgt: Nach einem Aufenthalt von 24 Stunden bei 25° wird der Frosch äusserst reizbar: auf den geringsten Reiz macht er mit einer enormen Geschwindigkeit sich wiederholende Sprungbewegungen, welche jedoch hinsichtlich der Fortbewegung meistens ohne Resultat bleiben. Das Tier scheint ganz blind. Etwa eine Stunde später erzeugt ein ganz geringer Reiz einen heftigen Krampf. Zuerst zittern die Hinterbeine während etwa 20 Sekunden heftig, dabei strecken sie sich allmählich ganz, dicht nebeneinander: gleichzeitig werden die Vorderbeine steif gegen den Leib gedrückt, aber viel tiefer als bei der Umklammerung des Männchens. Die Augen sind weit in ihre Höhlen zurückgezogen. Das Tier bleibt so 5—10 Sekunden steif in vollständiger Extension, dann folgt eine Erschlaffung, und das Tier wird für alle Reize unempfindlich. In etwa 10 Minuten kann es sich ganz erholen und augenscheinlich normal aussehen. Will man eine Wiederholung der Krämpfe sehen, dann muss man das Tier wenigstens eine halbe Stunde in Ruhe lassen. $\frac{1}{2}$ ccm 5% Glukoselösung gibt Erholung von den Krämpfen, die aber nur 6—12 Stunden dauert. Auch bei Fröschen, deren Hirn ausgebohrt ist, treten Krämpfe auf, wenn auch weniger heftig. Auch vom Rückenmark aus können diese also entstehen.

Olmsted (445) bestätigte den Befund, dass bei Fröschen (*R. pipiens*) der Insulineffekt eher bei höherer Temperatur auftrat als bei niedriger. Bei Zimmertemperatur kommen Krämpfe 4 oder 5 Tage nach der Injektion. Unmittelbar vor dem Krampfe wird die Hautfarbe heller, die Männchen quaken gewöhnlich, die Extremitäten strecken sich steif wie bei Strychninkrämpfen, die Augen sind von der Membrana nictitans bedeckt, die Pupillen sind weit. Plötzlich macht der Frosch einen gewaltigen Sprung, fällt zurück und rollt bisweilen hin und her. Dieser heftige Krampf dauert nur wenige Sekunden, dann wird das Tier schlaff, Atmung und Muskelaktion hören auf. Oft bleiben die Lungen steif gebläht, so dass das Tier mit hängendem Kopf und Beinen im Wasser schwimmt. In wenigen Minuten richtet es dann den Kopf auf, so dass die Nasenlöcher über die Wasseroberfläche ragen, öffnet die Augen, beugt die Beine und fängt an, sehr schnell zu atmen. Meistens vergeht wenigstens eine Stunde ehe ein neuer Anfall auftritt, wobei das ganze Schauspiel sich wiederholt. Eingespritzte Frösche sterben sämtlich, wenn man sie bei höherer Temperatur aufbewahrt, innerhalb eines Tages nach Erscheinen der Krämpfe: man kann sie aber am Leben behalten, wenn man sie in Wasser von Zimmertemperatur hält. Bringt man Tiere, die keine Krämpfe gezeigt haben, in eine wärmere Umgebung, dann können innerhalb weniger Stunden doch noch Krämpfe auftreten. In der ersten Woche nach einem Krampfanfall zeigen die Tiere oft unvollständige Kompensationsbewegungen, wenn man sie in abnorme Lagen bringt. Auch ist oft eine Körperhälfte etwas atonisch. Olmsted meint [ebenso wie Huxley und Fulton (314a)], dass die Aktivität

des Insulins selbst nicht nennenswert von der Temperatur beeinflusst wird, aber dass seine Wirkungsschnelligkeit abhängt von der Stoffwechselintensität des Tieres. Insulin erniedrigt nach ihm den abnorm hohen Blutzucker nicht, den Frösche, bei hoher Temperatur gehalten, zeigen; bei kalt gehaltenen Tieren ist der Blutzuckergehalt an sich schon so niedrig, dass keine weitere Erniedrigung festzustellen ist.

Wichtig sind auch die Befunde von Gabbe (259). Auch er findet Frösche sehr resistent gegen Insulin, aber mit 3 Einheiten Insulin pro 100 g Frosch oder mehr treten doch am zweiten oder dritten Tage Krämpfe auf, die zentral entstehen, und wahrscheinlich einhergehen mit einer erhöhten Reizbarkeit der Muskulatur. An die Krämpfe schliesst sich ein Lähmungsstadium an, in dem auf elektrische Reizung des Rückenmarkes keine Muskelkontraktionen folgen, die periphere Reizbarkeit aber doch erhalten ist, und das Herz weiter schlägt. Den Blutzucker findet er zur Zeit der Krämpfe normal oder etwas erhöht, während des Lähmungsstadiums aber bis zu 45% des normalen Gehaltes erniedrigt. Die Krämpfe können seines Erachtens beim Frosche also nicht auf Rechnung der Hypoglykämie geschrieben werden.

Im allgemeinen sind also die Amphibien und Reptilien sehr unempfindlich gegen Insulin: zu schwache Dosen sind entweder vollkommen unwirksam, oder sie verursachen eben eine Hyperglykämie (504).

Fische zeigen die folgenden Symptome (445): Spritzt man Tieren von etwa 15 cm Länge von der Spezies *Ameiurus nebulosus* 4 Einheiten Insulin ein, dann ist das erste Symptom, dass nach etwa einem Tage die Tiere tief schwarz werden durch Entfaltung der Melanophoren; diese Farbe behalten sie 5 oder 6 Tage bei. Einige Stunden vor dem Krampfe werden die Tiere matt, können nicht gegen einen schwachen Strom schwimmen, und scheinen unempfindlich gegen Reize, Berührung usw. Dann schiessen sie plötzlich nach vorn, bisweilen sogar über den Rand des Aquariums. Es folgt ein Stadium, in dem die Tiere ihr Gleichgewicht nicht mehr bewahren können, und dies durch plötzliche Rucke wiederherzustellen versuchen. Dies geht über in ein Fortschwimmen in Korkzieherform, meistens nach rechts. Schliesslich schwimmt das Tier bewegungslos an der Oberfläche, oder sinkt: die Kiemen werden nicht mehr bewegt, das Tier ist vollkommen schlaff. Nach mehreren Minuten fangen die Augen an zu rollen, die Kiemen, zu bewegen: das Tier nimmt seinen Gleichgewichtszustand wieder ein, schwimmt, nach Luft schnappend, an der Oberfläche des Wassers, und schießt in Spiralen durch das Wasser, oder bebt krampfartig und bewegt sich ruckweise rückwärts. Sofort nach dem Krampfe ist der Fisch wieder schwach und unempfindlich gegen Reize. Schliesslich verschwindet der Insulineffekt wieder. Bei höherer Temperatur treten die Symptome eher auf als bei niederer: Temperaturänderungen beeinflussen stark den letalen Ablauf. Glukose-Ein-

spritzung gibt nur vorübergehende Erholung. Goldfische (*Carassius auratus*) sind für derartige Versuche unbrauchbar (445).

Houssay und Rietti (312) konnten bei argentinischen Fischen (*Pimelodus clarias*, *Pledostomus commersouii* usw., bei allerdings nur 24stündiger Beobachtungsdauer, keinerlei typische Symptome beobachten, sogar bei Injektion von 50 Einheiten pro kg.

Bei einem bestimmten Insulinpräparate fanden Sordelli c.s. (504) bei einer grossen Anzahl von Individuen die Empfindlichkeit etwa wie folgt:

	mit cem pro Kilo	Tod mit cem pro Kilo
Kaninchen: Hypoglykämie bis zu 0,45‰ . . .	0,230	0,88
Meerschweinchen " " " " "	0,140	0,82
Hund " " " " "	0,036	1,70
Pferd " " " " "	0,023	—
Schaf " " " " "	0,080	—
Ziege " " " " "	< 0,200	—
Maus " " " " "	—	0,50
Ratte, 1. Stamm " " " " "	—	1,50
" 2. " " " " "	—	5,80
Huhn. Halbierung des Anfangsblutzuckers . . .	0,1	—
Ente " " " " "	0,1	—
Taube " " " " "	1	34
Schildkröte " " " " "	10	—

Schliesslich wollen wir als Kuriosität noch erwähnen, dass Hemmingsen (301) mit Wirbellosen gearbeitet hat: erstens mit Krebsen, zweitens mit Raupen und Puppen von *Sphinx ligustri*, *Deilephila euphorbiae*, *Smerinthus ocellatus*, *Bombyx mori* und *Phalera bucephala*.

Bei Raupen und Puppen stieg das gesamte reduzierende Vermögen des Blutes nach Insulininjektion an. Insulin hatte keinen Einfluss auf die Schnelligkeit, mit welcher eingespritzter Zucker aus dem Blute von Raupen und Krebsen verschwindet. Bei diesen Objekten wurden auch keine Krämpfe beobachtet. 2 1/2 Stunden nach der Insulininjektion schien bei Raupen der respiratorische Quotient zu steigen, was als ein Hinweis auf eine Zunahme des Kohlenhydratstoffwechsels gedeutet wird.

e) Mensch.

Die meisten Erfahrungen sind in der Klinik an Diabetikern gewonnen, und insofern müssten sie erst später (s. III, B.) besprochen werden. Jedoch ist der toxische Zustand, den wir bisher hauptsächlich ins Auge gefasst haben, bei Diabetikern wohl nicht anders als bei Gesunden, wenn auch für diese, um ihn entstehen zu lassen, kleinere Dosen nötig sind (s. u.).

Die Erscheinungen einer exzessiven Insulinwirkung sind in der Klinik natürlich nur unbeabsichtigt entstanden. Oft wird angegeben, dass, wenn der

Blutzucker $\pm 0,75\%$ erreicht, der Patient ein Gefühl von Hunger und Ermüdung empfindet; er wird ängstlich und verliert an Sicherheit. Muskelzittern kommt ziemlich selten vor, obgleich die Patienten selbst wohl ein zittriges Gefühl haben. Es kann eine leichte Koordinationsstörung für feinere Bewegungen auftreten. Häufig dagegen sieht man vasomotorische Störungen: Erblässen oder Erröten des Gesichts, Kälte- oder Hitzegefühl, profuser Schweißausbruch. Wir glauben, dass dieses Symptomenbild am ehesten sich vergleichen lässt mit dem, wie man es findet beim „Schlappwerden“ nach Anstrengungen, Hoch-Schnee-touren u. dgl. Ob diese Ähnlichkeit womöglich nicht nur äusserlich sondern auch de facto vorhanden ist, zum Teil auf einer Hypoglykämie beruht, zum mindesten mit einer solchen gepaart geht, wäre lohnend zu untersuchen.

Die genannte Grenze von $0,75\%$ für den Blutzucker, wobei Störungen auftreten sollen, erscheint uns etwas hoch; vielleicht ist sie für den Diabetiker, der an höheren Blutzuckergehalt gewöhnt, richtig; der Gesunde fühlt sich bei $0,75\%$ noch völlig normal. Sinkt der Blutzuckergehalt noch weiter ab, dann können allerlei seelische Störungen, Delirien, und schliesslich Koma, mit Verlust der tiefen Reflexe auftreten. Merkwürdig ist aber (118), dass die vasomotorischen Erscheinungen (Kongestionen, Schweiß) auch auftreten, wenn der Blutzuckergehalt nicht sinkt, oder mit Glukoseinjektionen normal gehalten wird, so dass diese Symptome wahrscheinlich nicht zu den hypoglykämischen im engeren Sinne gehören. Sogar bei einem Blutzuckergehalt von $1,05\%$ hat man klinisch „hypoglykämische“ Erscheinungen auftreten sehen: von Interesse ist, dass man dabei einen Zusammenhang mit Veränderungen des Wasserhaushalts nachweisen konnte (471a). Dass übrigens andererseits sehr niedrige Blutzuckerwerte auch beim Menschen nicht notwendig zu „hypoglykämischen“ Symptomen zu führen brauchen (s. Kapitel Eichung), haben Lax und Petényi (365) gezeigt. Nach Adrenalin-Einspritzung folgt der hyperglykämischen Phase eine hypoglykämische, wobei bei Gesunden der Blutzucker $19\text{--}27\%$ unter die Norm absinkt. Bei Tetaniekranken ist die Hyperglykämie viel geringer, und die nachfolgende Hypoglykämie viel stärker und nachhaltender: der Blutzucker kann bis auf $0,28\%$ absinken. Bei 29 solchen Fällen sahen diese Autoren aber kein einziges Mal „hypoglykämische“ Symptome, obwohl bei einer so grossen Zahl die „individuelle Unempfindlichkeit gegen Hypoglykämie“ wohl auszuschliessen ist. Ebenso gibt auch Raab (470a) an, dass nach intravenösen Insulingaben das Absinken des Blutzuckers auf $0,42$ und $0,37\%$ ohne Beschwerden ertragen wurde.

Ebenso ist fraglich, ob die kleinen Hämorrhagien in Hirn und Lungen, die man (219) in vereinzelt Fällen gefunden hat, wenn überhaupt auf Rechnung der Injektion, dann auf die des Insulins oder nur auf Verunreinigungen gesetzt werden müssen. Bei Diarrhöe scheint eine gewisse Überempfindlichkeit zu bestehen: Joslin c. s. (325) sahen dabei nach 1 Einheit Hypoglykämie!

In einigen Fällen (362) hat man auch beim Menschen hypoglykämische Krämpfe nach Insulin gesehen. — Uns ist zweimal von dem hiesigen innern Kliniker (Snapper) eine völlige Amnesie hinsichtlich aller abnormen Erscheinungen, die bei einem Blutzucker von etwa 0,6‰ aufgetreten waren, berichtet worden.

Beim normalen Menschen sinkt im allgemeinen der Blutzucker ab (96, 131, 328, 385, 386), die alimentäre Hyperglykämie wird abgeflacht (532), 2½ bis 5 Einheiten intravenös eingespritzt verursachten bisweilen schon extreme Hypoglykämie ohne subjektive Erscheinungen (335, 385, 386). [Diese letzteren sind im allgemeinen bei der erstmaligen Injektion stärker als bei den weiteren (385, 386).] Aber auch sogar nach diesen kleinen Gaben können die hypoglykämischen Symptome zu Glukose- oder Adrenalinverabreichung zwingen.

So sahen z. B. Lyman c. s. (385, 386), nach 5 Einheiten, intravenös eingespritzt, bei einem Gesunden die typischen Symptome: Schwäche, Unaufmerksamkeit, umnebeltes Bewusstsein, Blässe, Frösteln und profusen Schweiß, zusammen mit plötzlicher Blutdruckerhöhung und Atmungsbeschleunigung. 28 Minuten nach der Injektion war der Blutzucker 0,27‰.

Nach der intravenösen Injektion von 2½—5 Einheiten wird der niedrigste Punkt der Blutzuckerkurve innerhalb etwa 18—30 Minuten erreicht; in dieser Zeit ist der respiratorische Quotient auch maximal: die Wärmeproduktion wurde immer (um 2,5—17,7%) vermehrt gefunden (96, 385). Beim selben Individuum (385) gaben 3½ Einheiten Insulin intravenös das erstemal eine Blutzuckersenkung bis 0,25‰, das zweitemal, 1 Woche später, bis 0,31‰.

Vor kurzem teilte Raab (470a) mit, dass er 20 Einheiten intravenös bei verschiedenen nichtdiabetischen Patienten eingespritzt hat, ohne subjektiv unangenehme Erscheinungen hervorzurufen.

Überraschend war im allgemeinen, wie schnell (bei intravenöser Injektion) die Abnahme des Blutzuckers stattfand, und auch, wie abrupt die Rückkehr zur Norm war: 40 Minuten nach Einspritzung von 3½ Einheiten war der Blutzucker schon wieder im Anstieg begriffen und erreichte die Norm in etwa 2½ Stunden wieder (385, 386) [nach Bodansky (96) schon in einer Stunde (s. a. Raab 470a)]. Die Meinung von Campbell und Fletcher (126), dass der Körper seinen normalen Blutzuckergehalt zäh festhalte, und man das Insulin stark überdosieren müsse, ehe der Blutzucker sinkt und hypoglykämische Erscheinungen auftreten, scheint wohl etwas in Widerspruch mit den eben erwähnten Tatsachen.

Bei gesunden Personen mit übernormalem Körpergewicht sank der Blutzucker nicht so tief ab und erholte sich langsamer als sonst (96).

Wir selbst haben an acht gesunden Personen die kleinste Dosis (subkutan) festgestellt (Schwellenwert s. u. VI.), bei der eine sichere Abnahme des Blutzuckers in nüchternem Zustande eintrat. Bei etwa 40 Versuchen wurde

nur einmal über geringe subjektive Empfindungen (Gefühl von Müdigkeit) geklagt.

Vergleicht man diese kleinen Dosen (1—3 Einheiten), bei denen gerade objektiv Veränderungen festzustellen sind, mit denen, die noch ohne subjektive Wahrnehmungen ertragen werden (s. o., 20 Einheiten, vielleicht auch mehr), so fällt diese grosse Spanne auf. Es liegt dies nun nicht daran, dass die grössere Dose keinen oder nur einen wenig grösseren Effekt hat; der Vergleich unserer Zahlen mit denen von Raab zeigt vielmehr, dass die Blutzuckerwerte viel tiefer bei dessen Patienten liegen, als bei unseren Versuchspersonen (bei Raab fiel der Blutzucker bis um 0,7 mg pro ccm, bei uns nur um 0,10—0,12 mg).

Dass auch mit kleineren Dosen als die hier erwähnte schwerste subjektive wie objektive Erscheinungen, echte Vergiftungen, hervorzurufen sind, ist behauptet worden. Ein solcher Fall wurde von Bornstein und Holm (103) mitgeteilt. Hier wurden der Versuchsperson von 85 kg Körpergewicht 10 Einheiten Insulin subkutan eingespritzt. 3 Stunden später erhielt er 100 g Glukose per os. 5 Stunden nach der Injektion traten jedoch starke Vergiftungserscheinungen auf: Kopfschmerz, Diarrhøe, Erbrechen, kalter Sch weiss, starke Adynamie: innerhalb weniger Minuten Kollaps, Antlitz blass, zyanotisch, Puls klein, weich; Bewusstsein vollkommen klar, aber der Patient so adynamisch, dass er kein Wort äussern konnte. Mit vielen intravenösen, subkutanen und rektalen Injektionen von Adrenalin, Glukose, Kampfer und Koffein gelang es, 8 Stunden nach der Insulininjektion, den Patienten wieder so weit zu bekommen, dass die Gefahr vorüber schien. Erst am nächsten Morgen war er wieder normal. Fortwährend, auch während des Kollapses wurde der Blutzucker bestimmt: auch in diesem Falle war er niemals niedriger als 1,00⁰/₁₀₀. (Vor dem Versuche war er 1,10⁰/₁₀₀.) Nach den Zuckerinjektionen stieg er bis auf 1,91 an, ohne dass die Symptome verschwanden.

4 und 8 Tage zuvor hatte dieselbe Person dieselbe Dosis erhalten ohne Beschwerden, hatte nur eher seine Glukose per os bekommen. Eine zweite Versuchsperson zeigte übereinstimmende, aber leichtere Erscheinungen. Frühsymptome sind: Kopfschmerz in Hinterhaupt und Schädelbasis, subjektives Herzklopfen, Stechen in der Herzgegend.

Ob es sich bei all diesen abnormen Reaktionen um „Insulin“vergiftungen im strengeren Sinne handelt, d. h. um Vergiftungen mit Präparaten grosser Reinheit, ist uns zweifelhaft. Das Präparat war ein englisches, aus der Zeit, wo zuerst solche in den freien Handel kamen, und es liess gerade die Hypoglykämie vermissen.

Die erste letale Insulinvergiftung wurde in England beobachtet (213). Sie betraf einen Patienten mit schwerem Diabetes, der ohne Insulin wahrscheinlich höchstens nur noch 3 Monate gelebt haben würde.

B. Wirkung auf verschiedene Funktionen und Organe.

a) Intra corpus.

Wie unter gewöhnlichen Umständen das normal im Körper entstehende Insulin auf die einzelnen Organe wirkt, davon wissen wir nichts. Man muss sich klar bewusst sein, wie dies auch namentlich Brugsch (109) betont hat, dass die gebräuchlichen Versuche mit subkutaner oder intravenöser Insulininjektion durch und durch unphysiologisch sind. Denn das Insulin gelangt nicht, wie normalerweise, zuerst in die Vena portae und wirkt so in seiner höchsten Konzentration auf die Leber. Bei den gebräuchlichen Methoden wird nach ihm an erster Stelle die gesamte Muskulatur getroffen und vielleicht zu „oxydativ-synthetischer“ Leistung angeregt, wobei die Muskeln dem Blute grosse Mengen Zucker entziehen. Geschieht dies sonst, so tritt die Leber helfend ein, d. h. sie liefert Zucker. Nun wird aber die Leber vom Insulin in einer ähnlichen Weise wie die Muskeln beeinflusst, so dass ihre Hilfeleistung verringert ist. Die abnormen Verhältnisse, unter die man die Individuen, im besonderen hungernde, und all ihre Organe durch Insulininjektion bringt, muss man sich bei den unten angeführten Versuchen stets gegenwärtig halten.

Herz und Gefässe.

Insulin bewirkt, wenn es in irgend einer Weise dem Körper zugeführt wird, beim Menschen oft eine auffällige Bradykardie: so hat man z. B. nach 45 Einheiten, perlingual appliziert, eine Verlangsamung bis auf 50 Pulse pro Minute beobachtet (262, 416); im allgemeinen ist aber der Effekt gering und liegt nicht immer in der gleichen Richtung, so dass andere Forscher eine Frequenzzunahme von 2—16 Pulsen pro Minute (385, 386) feststellen konnten, die etwa 35 Minuten nach der intravenösen Einspritzung maximal wurde. Viel scheint hier aber von der Dosierung abzuhängen.

Experimentell haben dies Edwards und Page (217) untersucht. Bei Hunden, welche betäubt waren mit dem neuen Narkotikum Isoamyläthylbarbitursäure, das sowohl den Blutzucker als den Zirkulationsapparat beeinflusst lässt, haben sie ganz grosse Dosen Insulin eingespritzt (25—35 Einheiten pro kg). In diesen Versuchen zeigte sich eine Zunahme der Herzfrequenz, wenn das Insulin seine volle Wirkung entfaltet hatte.

Bemerkenswert ist die von Garrelon und Santenoise (262) festgestellte enorme Erhöhung des Réflexe oculo-cardiaque, bestehend in Bradykardie nach Druck auf die geschlossenen Augen, so dass man Herzstillstände, bis zu einer Dauer von 20 Sekunden, beobachten kann. Auch die respiratorische Herzrhythmie erscheint bzw. wird stärker.

Cannon c. s. (127) haben, gelegentlich der Bearbeitung von anderen Fragen (vgl. S. 53) Katzen benutzt, deren Herz vollkommen seiner Nervenverbindungen beraubt war durch Exstirpation beider Ganglia stellata und Durchschneidung beider Vagi. Entweder wurde der Versuch sofort nach

Operation bei den mit Chloralose narkotisierten Tieren angestellt, oder es wurden nichtnarkotisierte Tiere benutzt, die einige Zeit vorher operiert waren. (Die Chloralose [100 mg pro kg, per os in Milch gegeben, eventuell per Schlundsonde] verhindert die Blutzuckererniedrigung nicht, aber hebt die „hypoglykämischen“ Symptome teilweise oder sogar völlig auf.) Es zeigte sich, dass, wenn nach der Insulininjektion (4 Einheiten pro kg intravenös) der sinkende Blutzuckergehalt ein gewisses kritisches Niveau erreicht, die Frequenz des entnervten Herzens anfängt, zu steigen, und zwar je niedriger der Blutzucker wirkt, um so höher, bis zu einem gewissen Maximum. Beim Chloralose-Tier fängt diese Beschleunigung an bei einem Blutzuckergehalt von 1,10 bis 0,70‰, beim nichtnarkotisierten Tiere bei 0,80—0,70‰, und zwar bevor andere Symptome von Sympathikusreizung sich zeigen. Exstirpiert man zuvor aber beide Nebennieren oder exstirpiert eine und entnervt die andere, dann nimmt die Herzfrequenz beim Sinken des Blutzuckers nicht zu. Die Herzbeschleunigung beruht also nicht auf direkter Wirkung des Insulins auf Herz oder Nebenniere, sondern auf vermehrter Adrenalinsekretion via Nervenimpulsen. Ist durch Hypoglykämie der Herzschlag beschleunigt, dann erniedrigt intravenöse Glukoseeinspritzung sie prompt. Nimmt die Frequenz des entnervten Herzens zu (als Zeichen einer Adrenalinsekretion), dann nimmt die Steilheit der Blutzuckererniedrigung ab. Sind beide Nebennieren exstirpiert worden, oder nur die eine, während die andere entnervt ist, dann nimmt bei narkotisierten Tieren die Steilheit der Blutzuckersenkung beim Passieren des kritischen Niveaus gewöhnlich nicht ab, bei nichtnarkotisierten operierten Tieren ist die Steilheitsverminderung gewöhnlich geringer als bei Tieren mit intakten Nebennieren, und Krämpfe treten eher und mit kleineren Insulindosen auf. Ist nicht zu viel Insulin gegeben worden, dann folgt der Frequenzzunahme des entnervten Herzens wieder eine Zunahme des Blutzuckers zusammen mit Abnahme der Herzfrequenz. Zu bemerken ist noch, dass während all dieser Versuche die Körpertemperatur der narkotisierten Tiere innerhalb 1° konstant gehalten wurde.

Thalheimer (527) glaubt nach Verabreichung von Insulin zusammen mit Glukose eine Kräftigung des Herzschlags beobachtet zu haben. Demgegenüber warnen Gigon und Staub (272) vor Insulin bei ernsteren Herzleiden, und wie es scheint, mit Recht, denn experimentell hat man zeigen können (217, 218), durch Registrierung des Intraventrikular-drucks, dass die Anspannungszeit sich verlängert, der während der Systole entwickelte Maximaldruck abnimmt, und dass das Herz weniger widerstandsfähig ist gegen die verschiedenen Manipulationen des Versuchs: Glukose gab mehr oder weniger weitgehende Besserung. Oft tritt ein sehr deutlicher Pulsus alternans auf (217).

Das Elektrokardiogramm zeigt nur unwesentliche Änderungen: nur der T-Gipfel zeigt oft andere Form oder wird negativ (217, 218, 586, 587). Diese Erscheinung ist reversibel: am nächsten Tage ist sie wieder verschwunden (587).

Der normale Blutdruck wird vom unreinen Insulin nur vorübergehend erniedrigt, vom reinen gar nicht beeinflusst (30, 196, 202, 359, 416); meist steigt der systolische Druck etwas — 10 bis 16 mm Hg —, während der diastolische etwas absinkt, so dass die Amplitude grösser wird (262, 385, 386). Nach grossen Dosen, auch reinen, Insulins sieht man aber in den ersten zwei Stunden nach der Injektion doch regelmässig eine mässige Erniedrigung des mittleren Blutdruckes, der entweder eine teilweise Erholung, oder ein weiteres steiles Absinken folgen kann (217).

Beim Anzug hypoglykämischer Erscheinungen sah man klinisch einige Male eine sprunghafte Erhöhung des Blutdruckniveaus, z. B. von 106/65 auf 140/56 (385, 386). Dieselben plötzlichen Erhöhungen haben auch wir selbst manchmal in den Blutdruckkurven von nichtnarkotisierten Kaninchen, denen Insulin intravenös eingespritzt worden war, beobachten können, und zwar oft in Form von Wellen und periodischen Entladungen, noch lange bevor es zu Krämpfen kam. Auch in den Kurven von Sammartino und Liotta (484) kann man eine Andeutung hiervon finden. Bei zu grossen Dosen sinkt, wie gesagt, der Blutdruck in vielen Fällen progressiv ab (218, 262); intravenöse Verabreichung von Glukose ändert daran nichts mehr (484, 485). Doch behält die Pulscurve in den peripheren Gefässen sogar bei schon länger bestehender Hypoglykämie ihre gewöhnliche Form bei (218); von einer primären Änderung des peripheren Widerstandes zeigt sich nichts (217).

Es scheint also, dass Insulin die peripheren Gefässe nicht merklich beeinflusst. Dass demgegenüber Freund (252, 253) Vasokonstriktion fand, findet seine Erklärung wahrscheinlich darin, dass er mit sehr unreinen (selbst hergestellten) Präparaten arbeitete, denn er erhielt dieselben Ergebnisse auch mit einem ätherischen Pankreasextrakt, von dem wir jetzt wissen, dass er keine Spur Insulin enthalten haben kann.

Campbell und Dudley (125) haben die Gefässe in den Bauchmuskeln narkotisierter Mäuse bei direkter lokaler Applikation von Insulin mikroskopisch beobachtet. Abgesehen von Änderungen bei Anwendung von Lösungen mit stark vom normalen abweichenden pH , war meistens gar kein Effekt des Insulins zu verzeichnen: es liess die Gefässweite unbeeinflusst. Bei lange Zeit mit Insulin behandelten pankreaslosen Hunden fiel Fisher (235) eine extreme Arteriosklerose auf. Man wird hier an die thyreoopriven Tiere erinnert.

Die hypoglykämischen Gefässsymptome des Menschen (Erröten, Blässe) haben wir schon früher beschrieben.

An die Möglichkeit, die Hypertonie durch Insulin zu beeinflussen, sei erinnert; wenigstens hat der eine oder andere Kliniker derartiges uns gesagt, und Versuche hierüber sollen in einer hiesigen Klinik, auf unsere Anregung hin, ausgeführt werden.

Dass Beziehungen zwischen Hypertonie und Hyperglykämie bestehen, ist ja sehr oft behauptet. Es sei indessen an die erst kürzlich erschienene

Arbeit aus der Klinik von Wenckebach, von Iwai und Löwy (319a) erinnert. Nach ihren genauen Untersuchungen „sind Nüchternwert und alimentäre Reaktion des Blutzuckers gerade bei den Fällen mit schwerster dauernder Hypertension in der Regel normal und auch bei chronischer Nephritis kommt es zu deutlicher Hyperglykämie und zur diabetischen Form der alimentären Blutzuckerkurve erst wenn Azotämie besteht“.

A t m u n g.

Unter Einfluss des Insulins zeigt auch die Atmung bisweilen Änderungen.

Die Atmungsfrequenz nimmt ab (262) oder zu (385, 386, 446). In sehr sorgfältigen Versuchen konnte Macleod (392) feststellen, dass, je tiefer der Blutzucker absinkt, Atmungsfrequenz, Atmungsvolumen und Sauerstoffverbrauch desto stärker steigen.

Der Réflexe oculo-respiratoire erscheint (262).

Bei Überdosierung sterben die Tiere an Atemlähmung [Olmsted und Logan (446), und eigene Versuche]: das Blut ist dabei sehr dunkel, venös.

Ob man daraus schliessen darf, dass das Insulin auch am Atemzentrum in der Medulla oblongata unmittelbar angreift (446), ist uns nicht sicher.

W ä r m e r e g u l a t i o n.

Ursprünglich haben Banting, Best c. s. angegeben, dass im hypoglykämischen Zustand die Rektaltemperatur etwa normal sein soll (32, 33, 35).

Nachher haben aber sie selbst und auch andere Autoren gefunden, dass beim Kaninchen parallel mit dem Blutzucker auch die Rektaltemperatur absinkt (143, 177, 392, 485); während der ersten 45 Minuten bleibt sie normal, sinkt aber dann allmählich ab bis z. B. $33,2^{\circ}$ C (407). Gibt man dann Glukose oder Adrenalin, dann steigt zuerst CO_2 -Abgabe und Atemvolumen, und erst nachher die Temperatur wieder an (407, 481), oft erst nach vielen Stunden.

Auch während des hypoglykämischen Krampfanfalls steigt die Temperatur vorübergehend wieder an (392).

Bei Katzen, wo Morphin immer schnell, Insulin oft im Anfang Hyperthermie hervorruft, sieht man bei Kombination von diesen beiden Stoffen immer sofort Hypothermie auftreten (514, 517).

Bei Ratten sahen Abderhalden und Wertheimer (3) deutlichen Temperaturabfall, und auch wir beobachteten dies sehr oft (bis auf 32° und tiefer).

Die Wärme-Produktion nimmt beim gesunden Menschen nach $2\frac{1}{2}$ Einheiten Insulin, intravenös eingespritzt, um 2,5–17,7% zu, erreicht ihr Maximum später als der respiratorische Quotient, ist aber innerhalb 2 Stunden nach der Einspritzung schon wieder normal (385, 386). Bei Diabetikern be-

trug die Vermehrung der Wärmeproduktion 2,9—19,6% (385). Demgegenüber behauptet Laufberger, dass bei Insulinwirkung die Wärmeproduktion stark erniedrigt werden soll (361).

Adler (8) hat gezeigt, dass man beim Igel im Winterschlaf die erweckende und temperaturerhöhende Wirkung von Schilddrüsenextrakten mit Pankreasextrakten vollkommen unterdrücken kann.

Auch die übermäßige Wärmeproduktion bei Hunden unter Phlorhizineinfluss lässt sich durch Insulin beschränken (474). Beim isolierten Froschmuskel ist aber mit Insulin kein Einfluss auf die Wärmeproduktion festzustellen (27).

Die Wärmeabgabe ist sehr ausführlich von Noyons und seinen Mitarbeitern (442) studiert worden. Bei 24 Stunden hungernden Kaninchen konnten sie feststellen, dass nach subkutaner Insulininjektion als erstes konstantes Symptom im variablen Krankheitsbild die Temperaturerniedrigung auftritt, noch bevor sich etwas von Prostration zeigt. Die Wärmeabgabe bleibt aber in den ersten Stunden vollkommen normal bis die ersten Krämpfe auftreten. Erst wenn die Körpertemperatur unterhalb 34° sinkt, fängt auch die Wärmeabgabe an zu sinken, etwa parallel mit der ersteren. War die Insulindosis zu gross, dann stirbt das Tier in Hypothermie (24° C). Erholt es sich spontan oder durch Glukose, dann steigen Temperatur- und Wärmeabgabe wieder, im letzteren Falle aber steht die vermehrte Wärmeabgabe ganz ausser Verhältnis mit der Verbrennungswärme der zugeführten Glukose.

Spritzt man einem Tiere, das schon längere Zeit hypothermisch war, Glukose ein, dann steigt wohl der Gaswechsel bis zur Norm, aber die Temperatur bleibt niedrig. Das thermoregulatorische Zentrum scheint durch Insulin defekt zu werden, denn die Körpertemperatur sinkt, wenn die Wärmeabgabe noch normal oder übernormal ist (s. a. u.).

Auch das Verhalten des Insulins zum Fieber ist in letzter Zeit wiederholt untersucht worden. Rosenthal c. s. (479, 480, 481) und auch Citron c. s. (133) haben feststellen können, dass das Insulin sowohl aseptisches Fieber durch sympathikomimetische Stoffe (Adrenalin, β -Tetrahydro-naphtylamin) oder durch Wärmestich, als auch septisches (durch *Bacterium coli* oder *Trypanosoma Brucei*) herabsetzen bzw. vollkommen unterdrücken kann, und zwar nicht durch vermehrte Wärmeabgabe, sondern durch Eingreifen in die Wärmeproduktion. Auch bei Tieren mit durchschnittenem Halsmark, deren zentrale Temperaturregulation aufgehoben ist, kommt die Erniedrigung der Temperatur durch Insulin zustande, die Einwirkung muss also peripher sein; vielleicht ist das Insulin das kräftigste abkühlende Hormon des Körpers. Dass die Wirkung aber, wie die genannten Autoren glauben, sekundär ist, und abhängig ist vom verminderten Zuckergehalt der Gewebe, ist unseres Erachtens noch nicht bewiesen.

Dass Insulin imstande ist, die Temperaturerhöhung durch Tetrahydronaphtylamin vollkommen zu hindern, hat Cramer (171) an Ratten wiederholt bestätigen können. Doch sterben die Tiere ebensogut unter den typischen Tetrahydronaphtylamin- bzw. Adrenalinsymptomen wie sonst, nämlich an Blutungen in Lungen und Gehirn, d. h. das Tetrahydronaphtylamin behält seine Wirkung auf die Nebennieren. Da Insulin aber nur die Folgen dieser Nebennierenwirkung, soweit es die vermehrte Zuckerbildung und Temperaturerhöhung betrifft, beseitigt, nicht aber die sonstigen toxischen Wirkungen, so muss auch der Tetrahydronaphtylamintod bestehen bleiben. Im Gegensatz hierzu soll aber nach Heymans und Matton (305) sogar nur die Hyperglykämie und nicht die Tetrahydronaphtylamin-Hyperthermie durch Insulin aufgehoben werden.

Klinisch hat Arnstein (23) versucht, die gefundenen Tatsachen zu benutzen, und tatsächlich gelang es ihm bei 3 von 5 tuberkulösen Patienten durch kleine Gaben Insulin die subfebrile Temperatur zu erniedrigen; dies hielt viel länger an als die übrigen Insulinwirkungen.

Nervensystem.

Bei der Beschreibung der Insulinkrämpfe haben wir schon die Frage gestreift, welcher Zusammenhang bestehe zwischen diesen Krämpfen und dem Zentralnervensystem.

Weiter haben wir die nervös-psychischen subjektiven und objektiven Symptome bei der Hypoglykämie des Menschen besprochen.

Kleitman und Magnus (331a) haben ihre Untersuchungen über den Einfluss des Insulins auf das Zentralnervensystem und seinen Zusammenhang mit dem Krampfmechanismus auch auf die übrigen Reflexe ausgedehnt. Es zeigte sich, dass bei fortschreitender Hypoglykämie zuerst die Progressivreaktionen, danach die Körperstellreflexe auf den Körper, die Labyrinthstellreflexe, und zuletzt die Körperstellreflexe auf den Kopf und die Drehnystagmen der Augen gelähmt werden, während Drehreaktionen, Haltungsreflexe, Halsstellreflexe und kompensatorische Augenstellungen erhalten bleiben.

Es bleibt uns jetzt noch die Frage, ob auch eine Wirkung auf den Vago-Sympathikus bestehe.

Garrelon und Santenoise (261, 262) sahen nach 1 bis 5 Einheiten intravenös (Tierart nicht erwähnt!):

1. Die schon erwähnte enorme Verstärkung des Réflexe oculo-cardiaque, wodurch Herzstillstände von oft 15—20 Sekunden Dauer auftreten,
2. Auftreten des Réflexe oculo-respiratoire,
3. Verlangsamung des Herzschlags, oft bis auf die Hälfte.
4. Verlangsamung der Atmung,
5. Auftreten oder Vermehrung der Arhythmie cardiaque respiratoire,
6. bisweilen Vermehrung der Herzamplitude,

7. progressiven Abfall des Blutdrucks,

8. Zunahme der Empfindlichkeit gegen Peptonschock — alles Anzeichen von Vagushypertonie. Diese sei nach Insulin unabhängig vom niedrigen Blutzuckergehalt, denn sie erscheint sehr schnell, dauert 3—4 Stunden und wird nicht von Zuckereinjektionen beeinflusst. Diese Insulinwirkung soll nur bei den reinsten Präparaten deutlich sein, weil Spuren Eiweiss einen entgegengesetzten Einfluss haben, und während 1½—2 Stunden die Insulinwirkung verdecken. Sie betrachten deshalb das Insulin als einen der physiologischen Reize des parasympathischen Systems. Auch Collazo c. s. (143) denken hieran, auf Grund der vielen Antagonismen zwischen Insulin und Adrenalin.

Popper (468) hat die Reizbarkeit des Vagus vor und nach Insulinwirkung beim Frosch geprüft, und zwar in Durchströmungsversuchen, bei denen entweder das Herz allein, oder Herz und Leber, oder der ganze Körper mit der insulinhaltigen Ringerlösung durchströmt wurde. Seine Versuche verliefen völlig negativ, das Insulin schien nicht den geringsten Einfluss auf die Höhe der Reizschwelle zu haben. Die Versuche dauerten aber nur 30 bis 45 Minuten und wir wissen, dass beim Kaltblüter Tage vergehen, ehe sich ein Insulineffekt zeigt. Unter diesen Umständen ist also sein negatives Ergebnis völlig wertlos, und die Frage bedarf einer neuen Bearbeitung. Wichtiger sind die Befunde Cannons (127), welche anscheinend völlig im Gegensatz stehen zu denen von Garrelon c. s. Cannon c. s. fassen die Insulinvergiftungssymptome: Blässe, schneller Puls, Pupillenerweiterung, profuser Schweiß, als Symptome einer Sympathikusreizung auf. Experimentell meinen sie festgestellt zu haben, dass beim Absinken des Blutzuckers nach Insulineinspritzung durch Sympathikuswirkung eine vermehrte Abgabe von Adrenalin durch die Nebennieren stattfindet, wodurch Zucker mobilisiert wird.

Auf sensible Nerven hat das Insulin bei lokaler Applikation unseres Wissens keinen Einfluss. Im hypoglykämischen Zustande besteht, wie wir schon sagten, (wahrscheinlich zentral bedingte) vollkommene Anästhesie (138, 393), worauf man sogar schon wegen der Harmlosigkeit die Aufmerksamkeit gelenkt hat (169). Uns ist, wie bereits oben erwähnt, im Gegensatz zu andern Erhaltenbleiben der Kornealreflexe in und nach Krämpfen auch bei Kaninchen und Ratten einigmal aufgefallen.

Leber¹⁾.

Schon in einer ihrer ersten Mitteilungen haben die Torontoer Forscher (32) angegeben, dass beim pankreas-diabetischen Hunde, bei dem meistens das Leberglykogen bis auf ganz geringe Reste verschwunden ist, Insulin eine in vielen Fällen sehr beträchtliche Glykogenanreicherung hervorruft (111, 393).

Später hat man diese Untersuchungen auch auf andere Fälle von abnormem Kohlenhydratstoffwechsel — Avitaminose, Phlorhizindiabetes, mensch-

¹⁾ Siehe auch die Tabelle im letzten Kapitel: Zusammenstellung der K.H.-Veränderungen in der Leber unter Einfluss des Insulins.

lichen Diabetes — ausgedehnt. Als allgemeines Ergebnis dürfen wir aus diesen vielen Untersuchungen folgendes entnehmen: all diese Individuen, welche unter diesen pathologischen Verhältnissen mehr oder weniger vollkommen ihr Leberglykogen verloren haben, können sämtlich unter Insulineinfluss wieder beträchtliche Mengen KH als Glykogen speichern, wenn sie ihnen nur zureichend angeboten werden (32, 35, 56, 111, 148, 167, 299, 300, 390, 393, 436, 441). Darüber sind alle Autoren einig.

Sehr geteilt sind aber die Meinungen über das Verhalten des Leberglykogens nach Insulininjektion bei normalen Individuen. Anfänglich hat man gemeint, dass auf dem Höhepunkt der Insulinwirkung bei ihnen alles Glykogen aus der Leber verschwunden sei. Später ist man aber allmählich von diesem extremen Standpunkt zurückgekommen, und wir glauben, dass es zur Klärung dieser Kontroversen dient, die Befunde so systematisch wie möglich zu ordnen. Wir glauben als ordnendes Moment am besten die Menge Kohlenhydrat wählen zu müssen, die den Tieren im Augenblick der Insulingabe zur Verfügung stand, und werden daher die Versuche in drei Gruppen scheiden: 1. die an normalen, gut genährten Tieren, 2. die an normalen hungernden Tieren, 3. die an normalen Tieren, denen gleichzeitig mit dem Insulin auch Kohlenhydrat (Glukose) einverleibt wurde.

Erstens: Gruppe der normalen, gut genährten Tiere (soweit die Autoren keine speziellen Angaben hinsichtlich des Ernährungszustandes ihrer Tiere mitteilen, haben wir sie dieser Gruppe eingereiht). Hier wurde unter Insulineinfluss eine Abnahme (aber nur selten ein völliges Verschwinden) des Leberglykogens festgestellt von Brugsch (111), Babkin (28), Dudley (204, 205), Nitzescu (436), Staub (272) und Macleod (393) [nach letzterem tritt sie nur in der Mehrzahl der Fälle auf: in einer früheren Mitteilung (164) hatte er sogar ihr Gleichbleiben angegeben]; nur Cammidge (121) scheint eine fragliche Vermehrung beobachtet zu haben.

Zweitens: Versuche an normalen, hungernden Tieren. Auch hier liegen die Befunde immer nach derselben Seite, es tritt stets eine mehr oder weniger starke Erniedrigung des Glykogengehalts im Vergleich mit den Kontrollen auf [Brugsch (111, 112), Cori (160)], welche in ihren stärkeren Graden aber vielleicht z. T. auf Rechnung des gesteigerten Kohlenhydratverbrauchs durch die Krämpfe kommt.

Dann endlich die dritte Gruppe: diese umfasst die Versuche, wo den Tieren, neben dem Insulin, auch Glukose verabreicht wurde, um den Tieren das Material zur etwaigen Glykogenbildung in genügender Menge zur Verfügung zu stellen. Viel hängt hier wahrscheinlich vom Mengenverhältnis und von der Zeit der Verabreichung der beiden Stoffe ab. Macleod findet [meistens (164)] eine Abnahme (387, 393); nach Babkin bleibt der Glykogengehalt unverändert (28), Brugsch (111, 112) findet ihn höher als ohne Glukose, aber nicht höher als bei normalen Tieren ohne Insulin; Cori (159,

162, 163) bestimmt beim selben Tiere von Zeit zu Zeit den Glykogengehalt der Leber, und findet eine Zunahme, auch bei subnormalem Blut- und Leberzuckerhalt. Auch Collazo (144) meint, eine Vermehrung des Glykogens feststellen zu können.

Nach Lesser (373) soll, wenn man die Glykogenbildung nach Glukosezufuhr bei normalen und bei Insulintieren vergleicht, schliesslich nach etwa 4 Stunden derselbe Glykogengehalt erreicht werden: der Unterschied bestehe nur darin, dass während der drei vorangehenden Stunden die Glykogenbildung bei den Insulintieren weiter gefördert sei als bei den Kontrollen ohne Insulin. Das Nichtbeachten dieses Zeitfaktors erklärt also einen grossen Teil der obenstehenden Widersprüche.

Nach diesem allgemeinen Überblick wollen wir die Befunde und Methoden einzelner Autoren noch etwas näher wiedergeben, gerade weil ihre Meinungen weit auseinander laufen. Bei den Versuchen von Collazo und Händel (143), die bei Tauben eine Zunahme des Glykogens gesehen haben, ist uns zweifelhaft, ob diesem Ergebnis, soweit es überhaupt feststeht, grosse Bedeutung zukommt, denn die Insulingaben müssen bei Vögeln sehr gross sein, um zu wirken. Dass Allgemeinwirkungen nicht aufgetreten, stellen Collazo und Händel selbst fest. Sie ziehen nun den Schluss, der eben als übereinstimmendes Ergebnis vieler Untersucher gefundene Glykogenschwund nach grossen Dosen ist nur mittelbare Folge des Insulins, nämlich verursacht durch die Krämpfe; fehlen diese, dann tritt die gewöhnliche Wirkung des Insulins: Förderung der Glykogenbildung, hervor. Diese Behauptung stützen sie durch weitere Versuche an Meerschweinchen (144, 145), bei denen sie ebenfalls eine Vermehrung des Glykogens um 50—70% fanden, wenn man sie vor Auftreten der Krämpfe tötete (7 Einheiten Insulin pro Tier!).

Diese Tiere hatten aber vorher 3 g Glukose per Schlundsonde bekommen was, umgerechnet für einen normalen Menschen, etwa 1½ Pfund Zucker bedeuten würde!

Brugsch (112) bestimmte den Glykogengehalt bei Meerschweinchen und Kaninchen, normal; nach Hungern; nach Hungern + Insulin; nach Hungern + Insulin + Glukose intraperitoneal. Die höchsten Glykogenwerte zeigten normale Tiere und Hungertiere, welche zugleich mit dem Insulin Glukose erhalten hatten; bei den Hungertieren, wo durch Insulin hypoglykämische Symptome aufgetreten waren, war der Glykogengehalt der Leber auffällig niedrig geworden.

Staub (272) fand auf dem Höhepunkt der Insulinwirkung in der Leber noch $\frac{1}{3}$, in den Muskeln noch etwa $\frac{1}{10}$ der normalen Glykogenmengen.

Auch Cori (162, 163) und Mitarbeiter meinen, die Glykogensynthese könne selbst durch Insulin beim normalen Tiere gesteigert sein, wenn genug Glukose zur Verfügung steht. Beim Normaltier ohne Insulin lasse sich

eine Synthese feststellen, nur wenn der „freie Leberzucker“ höher ist als 0,3 bzw. sogar 0,35%; beim Insulintier dagegen bei sehr niedrigem Blut- und „freiem Leberzucker“, niedriger als ihn ein hungerndes Tier zeigt. Nach 6 Stunden ist die Glykogensynthese maximal: dabei sinkt das Verhältnis D:N im Harn. Nachher verschwindet das in der Leber angehäuften Glykogen allmählich wieder, was zu vermehrter Zuckerausscheidung im Harn führt.

Sind aber diese Versuche wirklich an normalen Tieren gemacht? Die Methode ist sehr ingenieus. Kaninchen wird ein Promethidenschicksal zu teil. Nichtnarkotisierte Kaninchen mit abschraubbarem Bauchfenster und — angeblich ohne Erregung des Tieres — von Zeit zu Zeit Entnahme von Leberstückchen! Neuerdings hat noch Cori (160) in sehr sorgfältigen Versuchen an 8 Kaninchen und 50 Mäusen Glykogen- und Gesamtkohlenhydratgehalt der Leber bestimmt. Bei Kaninchen (diesmal hungernd) änderten sich beide Werte in der ersten Stunde nach der Injektion nicht nennenswert, gleichgültig, ob der anfängliche Glykogengehalt und die Blutzuckersenkung gross oder klein waren. In der zweiten bis sechsten Stunde der Insulinwirkung kann der Glykogengehalt der Leber entweder gleichbleiben oder abnehmen: in 3 Versuchen blieb er unverändert, in 3 anderen, wo der anfängliche Gehalt höher war, nahm er ab.

Die Mäuse, die höchstens nur zwei Tage ohne Nahrung leben können, hungerten vor dem Versuch nur 1—3 Stunden. Bei jeder Maus wurde eine Leberglykogenbestimmung nach Pflüger, und eine Blutzuckerbestimmung angestellt; es wurden ebensoviel Kontrolltiere als Insulintiere analysiert: zwar waren bei den Insulintieren die beiden Werte im Mittel niedriger als bei den Kontrollen, aber sie schwankten ausserordentlich.

Für die Feststellung des Insulineinflusses auf den freien Leberzucker wurden 2 Kaninchen und 30 Mäuse verwendet. Bei beiden Tierarten trat eine Erniedrigung auf.

Cori meint, dass bei dem Verschwinden des Leberglykogens durch Insulin eine spezielle Form von Glykogenolyse auftritt, deren Endprodukt nicht Glukose ist. Bei den Formen von Glykogenolyse, wo wohl Glukose als Endprodukt auftritt (z. B. durch Adrenalin) nehmen ja der freie Leberzucker und seine Abgabe an das Blut zu, während Insulin beide verringert. Er glaubt deshalb, dass diese spezielle Form der Glykogenolyse in irgendeiner Weise zusammenhänge mit der Glykogensynthese, welche unter Insulineinfluss stattfindet, wenn im Körper Überschuss an Zucker vorhanden ist, einerlei ob dieser aus exogener oder endogener Quelle herrührt.

Gewissermassen im Gegensatz dazu steht aber der Befund (304), dass jedenfalls bei narkotisierten Tieren (wo von vornherein der Blutzucker erhöht ist), die Leber unter Insulineinfluss dem Blute der Vena portae nicht mehr Zucker entzieht als normal.

Der auffallende Gegensatz der Ergebnisse bei normalen, zu denen bei diabetischen Tieren, wenn man ihnen Insulin + Kohlenhydrat gibt, sei nach

Macleod und Mc Cormick (164) vielleicht so zu erklären, dass beim normalen Tiere die endogene Insulinversorgung immer optimal ist, so dass extra-ingespritztes Insulin keine vermehrte Glykogenbildung zur Folge hat. Beim diabetischen Organismus hingegen, wo endogenes Insulin fehlt, sieht man nach Insulineinspritzung schnell Glykogenbildung. Verff. schliessen, dass auch bei ihrer Untersuchung keine Anzeichen dafür gefunden sind, dass das schnelle Verschwinden des Blutzuckers auf Glykogenbildung beruhe.

Sehr eingehend, aber leider zu ausführlich, um hier in allen Einzelheiten wiedergegeben zu werden, sind die Wirkungen des Insulins auf die Leber und das Leberglykogen und die gegenseitigen Verhältnisse mit anderen endokrinen Organen von Cramer (171) besprochen worden. Er fasst sie in folgender Tabelle zusammen.

	Leber- glykogen	Blut- zucker	Kohlenhydrat- verbrauch	Glykosurie	N-Aus- scheidung	Temperatur
Hyperthyreoidie . . .	--	+	+	-	++	+
Hyperadrenalinismus . (Sympathikusfieber)	--	+	+	-	++	+++
Hyperinsulinismus . .	-	--	+	-	-	--
Hypoinsulinismus . .	--	+++	---	+++	++	normal

Er weist darauf hin, dass die Abwesenheit von Glykogen in der Leber nach Thyreoideafütterung und die Abwesenheit nach Insulin ganz verschiedene Dinge sind. Auch histologisch zeigt sich dies. So untersuchte er Mäuselebern, fixiert nach Schridde (Formol-Müller, danach Osmiumsäure) und gefärbt mit Hämatoxylin-Heidenhain. Eine normale Leberzelle zeigt dabei in ihrem Zytoplasma eine Menge stark gefärbter Körnchen, die Mitochondrien. Nach Thyreoideafütterung bleibt diese Körnelung des Zytoplasmas bestehen, nur erscheinen kleine Fettröpfchen, welche grösser als Mitochondrien sind und von Osmiumsäure geschwärzt werden. Nach Insulin ist das Zytoplasma stark verändert; es zeigt regressive Veränderungen: die Mitochondrien sind verschwunden, das Zytoplasma sieht, statt granuliert, kolloidal aus, wie wenn es verflüssigt wäre.

[Auch Fisher (235) fand bei pankreasdiabetischen Hunden, welche lange Zeit mit Insulin behandelt waren, deutliche Zeichen von Leberdegeneration. Dasselbe stellten Allan c. s. (16) an Lebern von lange Zeit mit Insulin behandelten pankreaslosen Hunden fest. Obwohl Insulin das Fett, das sich sofort nach Pankreasextirpation in der Leber anhäuft, zum Verschwinden bringt, treten doch nach langer Insulinbehandlung wieder Leberveränderungen auf, bestehend in einem sehr hohen Fettgehalt (39,5%). Das Fett liegt in grossen Kügelchen in den Zellen der Peripherie der Lobuli, während die

Zellen im Zentrum der Lobuli Zelldegeneration mit geringerer Fettinfiltration zeigen. Dass man bei lange mit Insulin behandelten Diabetikern dies nicht beobachtet, erklären sie mit der Hypothese, dass der dort noch übrige Pankreasrest beim Fettstoffwechsel eine Rolle spiele.]

Nach Cramer (171) besteht die Glykogenfunktion der Leber nicht nur im Speichern des Glykogens, sondern hauptsächlich in der Bildung von Kohlenhydrat aus Nichtkohlenhydraten. Es bestehen Anzeichen, dass Insulin u. a. auch diese Funktion hemmt.

Die Menge Glykogen in der Leber ist nur die Bilanz zwischen Kohlenhydratbildung (und -Aufnahme) einerseits und Abgabe ans Blut andererseits, und ist kein Mass für die Glykogenfunktion der Leber. Mit anderen Worten: man muss das Glykogen nicht ohne weiteres als einen gespeicherten Überschuss an Kohlenhydraten betrachten. So kehrt man wieder zur alten Vorstellungweise von Claude Bernard zurück, und damit auch zu dessen Ansicht, das Glykogen als ein „internes Sekret“ der Leber zu betrachten; die Glykogenfunktion der Leber sei es, welche den Kohlenhydratstoffwechsel der verschiedenen Organe und Gewebe zu einem Ganzen verbindet. Aus verschiedenen Gründen kehrt Cramer auch insofern wieder zu Claude Bernards Anschauungsweise zurück, dass er den Diabetes als Folge einer erhöhten Zuckerproduktion durch die Leber ansieht. (Erhöhte N-Ausscheidung.) Insulin wirke dabei in zweierlei Weise korrigierend, erstens dadurch, dass es die erhöhte Zuckerproduktion hemmt, zweitens dadurch, dass es die Kohlenhydratverbrennung durch die Zellen verbessert.

Noch wiederholt werden wir der Überlegung begegnen, dass Verschwinden von Glykogen nicht identisch ist mit dem Entstehen von Glukose und noch weniger mit vermehrter Verbrennung von Glukose. Nach Verfütterung z. B. von Thyreoidea per os, wie wir sie oben in den Versuchen von Cramer erwähnt haben, wird die Leber vollkommen glykogenfrei, in Gaswechselfersuchen kann man aber keine Erhöhung des R. Q. finden, nach Adrenalininjektion ebensowenig. In solchen Fällen muss man sich also mit Nakahayashi und Abelin (430) fragen, ob sich nicht die Natur des Kohlenhydrates geändert habe.

Tatsächlich fanden Winter c. s. (584a, 585) in Lebern und Muskeln von Insulinkaninchen, ebenso wie im Blute, grosse Mengen eines nicht-reduzierenden, rechtsdrehenden Kohlenhydrates, das eine positive α -Naphtolreaktion zeigte und durch saure Hydrolyse keine reduzierenden Produkte lieferte. Trockneten sie die Präparate, dann wurde bisweilen die α -Naphtolreaktion allmählich schwächer. Dies beruht wahrscheinlich auf Polymerisation: durch Hydrolyse mit Säure kehrte die genannte Reaktion wieder zurück. Schon damals (Juni 1923) meinten diese Autoren, dass durch Insulin der Gesamt-Kohlenhydratgehalt des Körpers sich vielleicht nicht nennenswert ändere, sondern dass das Glykogen sich in diesen Stoff verwandle, der viel-

leicht identisch wäre mit den „Zwischenkohlenhydraten“ von Laquer, welchen eine so grosse Rolle bei Kohlenhydratstoffwechsel zugeschrieben wird. Diesen geheimsinnigen Kohlenhydraten werden wir im folgenden noch viele Male begegnen.

Im Zusammenhang mit der Bildung bzw. dem Abbau von Glykogen in der Leber unter dem Einflusse des Insulins seien auch interessante Versuche von Isaac und Adler (316) aus neuester Zeit angeführt. Sie gingen von der Tatsache aus, dass Dioxyaceton, $\text{CH}_2\text{OH.CO.CH}_2\text{OH}$, eine Triose, welche nach intraperitonealer Einspritzung bei Ratten und Mäusen noch besser Glykogen bildet als Glukose (weil die Leber es leicht in Glukose usw. umsetzt), beim Menschen keine Hyperglykämie verursacht, sondern schnell in Milchsäure umgesetzt wird und als solche in grossen Mengen in Blut und Harn erscheint. Diese Umsetzung zu Milchsäure wird durch Insulin noch beträchtlich verstärkt. Bei schweren Diabetesfällen bildet sich aus dem per os verabreichten Dioxyaceton Glukose: dadurch steigt der Blutzucker an. Bei gleichzeitiger Insulineinwirkung aber beobachtet man auch hier eine schnelle Umsetzung in Milchsäure. Im allgemeinen wird Dioxyaceton von Diabetikern viel besser ausgenutzt als andere Kohlenhydrate. Diese Versuche zeigen, dass das Dioxyaceton, d. h. ein Stoff, der intermediär in Glukose umgesetzt werden kann, unter Einfluss des Insulins beim Menschen nicht zu Glukose synthetisiert wird, sondern unter Bildung von Milchsäure in die Abbauvorgänge in der Leber bezogen wird: wahrscheinlich wird dabei ein anderer Teil der Triose direkt zu Glykogen aufgebaut.

Muskeln¹⁾.

Die Blutzuckererniedrigung beim Gesunden unter Einfluss des Insulins kommt nach den Untersuchungen von Cori c. s. (161) zum Teil auch dadurch zustande, dass die Muskeln aus dem Blut mehr Zucker aufnehmen als sonst, wenigstens im Anfang der Wirkung; bei Diabetikern, wo der Unterschied zwischen arteriellem und venösem Blutzucker an sich meistens schon grösser ist als normal, wird diese Differenz durch Insulin in den meisten Fällen noch vergrössert, bleibt aber bisweilen auch unbeeinflusst oder nimmt sogar ab. Um Wiederholungen zu vermeiden, verweisen wir hier übrigens auf die bei der Besprechung des Blutzuckers mitgeteilten Versuche.

Bei diabetischen Individuen, wo die Muskeln von vornherein glykogenarm sind, tritt unter Insulin, genau in derselben Weise wie bei der Leber, wahrscheinlich wieder eine Glykogenspeicherung ein (35); deutlicher ist diese, wenn man bei Avitaminose Insulin verabreicht (56).

Bei normalen Versuchstieren hingegen verschwindet durch Insulin wenigstens nach grossen Dosen, das Glykogen mehr oder weniger vollkommer

¹⁾ Siehe auch die Tabelle im letzten Kapitel: Zusammenstellung der K.H.-Veränderungen im Muskel unter Einfluss von Insulin.

aus der Muskulatur (28, 205, 393); sogar wenn man gleichzeitig Glukose verabreicht, tritt keine Glykogenvermehrung ein (28). Das Muskelglykogen fängt erst an zu verschwinden, wenn das Leberglykogen schon grösstenteils weg ist (205). Bei Kaninchen kann der Gehalt so gering sein, dass eine quantitative Bestimmung unmöglich ist (205). Nach Dickson c. s. (194) sei es nicht unmöglich, dass dann ausser dem Nervensystem auch die Muskeln selbst überreizbar sind, so dass sie die normalen tonischen Impulse exzessiv stark beantworten, und daher ihr Glykogen schnell verbrauchen.

Eine Sonderstellung nimmt der Herzmuskel ein: seine Glykogenmenge ist bei Pankreasdiabetes gerade erhöht und nimmt durch Insulin ab (32), bei normalen Tieren schien Insulin gar keinen Einfluss zu haben (28).

Auch den Verbindungen von Kohlenhydrat und Phosphorsäure, d. h. dem Lactacidogen und ähnlichen Stoffen, hat man schon seine Aufmerksamkeit geschenkt, da die Möglichkeit nicht a priori auszuschliessen war, den unter Insulineinfluss verschwundenen Zucker in dieser Form wiederzufinden (294, 458, 508).

Doch bestätigten die Versuche von Collazo c. s. (144) diese Vermutung nicht, wenigstens in den Muskeln von mit Insulin und Glukose eingespritzten Tieren konnten sie eher eine geringe Abnahme des Lactacidogengehaltes feststellen.

Demgegenüber gelangten aber Audova und Wagner (25, 26) zu positiven Ergebnissen. Bei Kaninchen wurde erst der eine Gastroknemius exstirpiert, entblutet und schnell gefroren, dann spritzten sie den Tieren 4 bis 5 Einheiten Insulin ein, und wenn nach einigen Stunden der Blutzucker oder die Krämpfe eine deutliche Wirkung erkennen liessen, wurde der zweite Gastroknemius exstirpiert und in genau derselben Weise verarbeitet. In der Mehrzahl der Versuche fanden sie eine erhebliche Zunahme des Muskelactacidogens, so gross, dass diese sogar die Menge des verschwundenen Blutzuckers übertraf. Es muss aber betont werden, dass die genannten Autoren nur die gebundene Phosphorsäure, nicht aber den Kohlenhydratanteil bestimmt haben, so dass immer noch die Möglichkeit besteht, dass es sich um einen anderen Stoff handle.

Wenn ein Tier an Insulinvergiftung gestorben ist, fällt es auf, dass der Rigor mortis fast unmittelbar eintritt (46, 387, 392, 393). Baur, Kuhn und Wacker (46) fanden die merkwürdige Tatsache, dass in diesem Fall die Muskeln alkalische Extrakte liefern, ebenso wie Hungertiere, während für gewöhnlich bei anderen Todesursachen die Reaktion sauer ist.

Kuhn und Baur (344) fanden in der Hinterbeinmuskulatur von durch Nackenschlag getöteten, zum Teil 20 Stunden hungernden Kaninchen, dass der Milchsäuregehalt 0,16% betrug und postmortal bis zu etwa 0,40% anstieg; im Gegensatz dazu enthielten die Muskeln von durch Insulin getöteten 20 Stunden hungernden Tieren niemals mehr als 0,08% Milchsäure, welche ausserdem nach dem Tode nicht zunahm (um wieviel mehr der Milchsäure-

gehalt von Tieren, die schliesslich an Hunger gestorben, sinken kann s. u.). Sogar wenn man den Insulintod nicht abwartet, sondern das Tier tötet, wenn es erst einige Krämpfe gehabt hat, findet man nur ein Drittel des normalen Milchsäuremaximums. Das Glykogen war verschwunden.

Es zeigte sich, dass die früher von denselben Autoren publizierte post-mortale Zunahme der Titrationsacidität mit der Zunahme des Milchsäuregehalts übereinstimmte.

Insulintiere besitzen 20 bis 25%, normale verhungerte Tiere weniger als 10% von der normalen Milchsäuremenge in ihren Muskeln. Die Insulintiere stehen also in der Mitte zwischen normalen und verhungerten Tieren. Postmortal nimmt die Milchsäuremenge von Hungertieren um etwa 100% zu, während die viel höheren Werte der Insulintiere gleichbleiben oder abnehmen.

Collazo c. s. haben ähnliche Untersuchungen an Meerschweinchenmuskeln angestellt (144, 145). Die 14 Stunden hungernden Tiere erhielten 4 Stunden vor dem Tode 3 g Glukose: ein Teil von ihnen ausserdem 7 Einheiten Insulin. Dann wurden die Tiere getötet und die Muskeln schnell verarbeitet. Bei den Insulintieren waren der Milchsäure- und Lactacidogengehalt kaum verändert, vielleicht etwas niedriger als bei den normalen Kontrollen, die Differenz aber zu gering, um daraus etwas zu schliessen.

Histologisch beobachtet man nach intramuskulärer Insulininjektion deutliche Degeneration, speziell der Muskelfasern: diese liegen gefaltet innerhalb des Sarkolemm und haben ihre Längs- und Querstreifung verloren. In der Umgebung der Einspritzungsstelle häufen sich Leukozyten an. Dieselben Änderungen beobachtet man aber auch nach intramuskulärer Injektion hyper-tonischer Glukose- oder Kochsalzlösungen, so dass es fraglich erscheint, in wieweit sie für Insulin charakteristisch sind (106).

Niere.

Van Creveld und van Dam fanden, dass Insulin die Durchlässigkeit der Niere für Glukose beträchtlich herabsetzt (172, 173).

Bei den Untersuchungen von Mauriac und Aubertin (413), wobei an normalen und pankreasdiabetischen Hunden vor und nach Insulininjektion der Blutzuckergehalt in der Aorta abdominalis einerseits, in der Vena renalis andererseits bestimmt wurde, zeigte sich: erstens, dass beim diabetischen Tiere bei der Passage durch die Niere das Blut genau ebensoviel Zucker verlor wie beim normalen, zweitens, dass durch Insulin dieser Zuckerverlust kleiner wurde als zuvor.

Nebenniere.

Es lag bis vor kurzem nur ein einziger Versuch von Stewart und Rogoff (514) vor, wo bestimmt wurde, wieviel Adrenalin das Blut der Nebennierenvene einer narkotisierten Katze enthielt vor und nach Injektion von Insulin. Der Adrenalin-gehalt blieb unverändert oder nahm etwas ab.

In der letzten Zeit aber sind die Versuche Cannons (127) hinzugekommen, welche als Kriterium für die Adrenalinsekretion bei der lebenden Katze die Frequenz des entnervten Herzens nach Insulinvergiftung betrachten. In anderem Zusammenhang haben wir schon die wichtigsten Ergebnisse wiedergegeben: kurz zusammengefasst, scheint der Mechanismus, der den Körper vor gefährlicher Hypoglykämie schützt, in zwei Stadien zu wirken:

1. eine Sympathikuswirkung und als deren Folge Adrenalinsekretion, welche Zucker aus der Leber mobilisiert,
2. wenn dies nicht genügt, eine Steigerung dieses Prozesses durch die Krämpfe.

Diese Versuche erfuhren eine Bestätigung durch die Ergebnisse, welche Abe (4) erhielt an Kaninchen, welche 24 Stunden gehungert hatten und denen dann reines Insulin, ohne Antiseptikum, eingespritzt wurde. Abes Kriterium für etwaige Nebennierenwirkung war die Pupillenweite des einen Auges, das durch Exstirpation des zugehörigen Ganglion cervicale einige Tage zuvor gegen Adrenalin überempfindlich geworden. Die Tiere erhielten eine kleine Dosis Urethan, und es wurden Vorsichtsmassnahmen getroffen, um die äusseren Umstände so gleichförmig wie möglich zu gestalten. Bei normalen Augen erweitert Insulin die Pupille nur ausnahmsweise, aber sicher nicht, wenn das Auge zuvor atropinisiert war. Bei Augen, deren Halsganglion weggenommen, trat ohne Atropin durch Insulin eine allmählich zunehmende Dilatation der Pupille auf, und auch nach Atropin zeigte diese sich regelmässig. Der Zusammenhang mit der Hypoglykämie erschien besonders deutlich daran, dass das sonst gut wirksame Präparat bei einem refraktären Tiere keine Hypoglykämie bewirkte und dann auch keine Mydriasis des überempfindlich gemachten Auges hervorrief. Durch Glukoseinjektion geht die Insulin-Mydriasis wieder zurück, aber es dauert mehrere Stunden, ehe der normale Zustand wieder erreicht ist.

War dem Kaninchen zuvor das Rückenmark in der Höhe vom I. Brustsegment durchschnitten, dann hatte die Insulinvergiftung keinen Einfluss mehr auf das atropinisierte überempfindliche Auge. Auch Abe schliesst wie Cannon, dass die Mydriasis des überempfindlichen atropinisierten Auges Folge sein muss einer gesteigerten Adrenalinsekretion, welche vom Zentralnervensystem aus unter Einfluss des Insulins bewirkt wird.

Riddle c. s. fanden (bei Tauben), dass eine grosse oder wiederholte kleinere Insulindosen eine messbare Vergrösserung der Nebennieren zur Folge haben (473a). Dabei ist die Rinde verdickt, und das Blutzuckerniveau höher als normal.

Milz.

Mauriac und Aubertin (413) konnten bei Vergleich des Zuckergehaltes des Blutes in Aorta und Vena splenica bei narkotisierten normalen und

pankreasdiabetischen Hunden in vivo bei geöffneter Bauchhöhle nach Insulininjektion keine Zunahme, eher eine Abnahme der dem Blute entzogenen Zuckermenge feststellen. Auch beim

Darm

fanden sie unter denselben Versuchsbedingungen dieselben Tatsachen (Blut aus Aorta und Venae intestinales) und schliessen daraus, dass Insulin offenbar das glykolytische Vermögen der Gewebe in vivo (das sie auch bei normalen und pankreasdiabetischen Individuen gleich gross fanden) unbeeinflusst lässt, jedenfalls die Glykolyse nicht fördert. Bemerkenswert muss man aber, dass sowohl die Narkose als der Operationsschock vielleicht das Resultat beeinflusst haben kann.

Magen.

Bei Insulinhypoglykämie treten beim Hunde [nach Bulatao und Carlson (117)], wenn der Blutzucker einen Gehalt von 0,70—0,80‰ erreicht hat, Zunahme des Magentonus und tetanische Hungerkontraktionen auf. Sinkt der Blutzucker weiter ab, dann zeigt der Magen meist abwechselnd Perioden von Atonie und von Tetanus, wobei die ersteren meist überwiegen. Bevor der hypoglykämische Tetanus auftritt, werden meistens die Hungerkontraktionen häufiger und stärker. Glukose hemmt den hypoglykämischen Tetanus, Lactose nicht.

Es sei auch hier nochmals an die Analogie von hypoglykämischen Zustände mit dem beim „Schlappwerden“ erinnert. Womöglich ist der geradezu wunderbare Einfluss eines Stückchen Zuckers oder Schokolade, dessen kalorischer Wert kaum in Betracht kommt, auf Aufhören der Magenbewegungen zurückzuführen, die sonst das Hungergefühl begleiten (oder hervorrufen). Das Aufhören tritt wohl erst nach der Resorption (und vielleicht Blutzuckererhöhung) ein und nicht durch den mechanischen Reiz; gegen dessen grössere Bedeutung spricht die Kleinheit der genossenen Mengen und ferner, dass doch bis zum Auftreten des Erfolges eine Zeit von einigen Minuten vergeht.

Bei diabetischen Hunden erzeugt Insulin zuerst eine Erniedrigung von Tonus und Kontraktionen, welche dann beim Erreichen der Hypoglykämie wieder einer Erhöhung Platz macht. Intravenöse Glukose-Injektion hemmt bei diabetischen Hunden den Magentonus und die Hungerkontraktionen nicht, falls sie nicht auf Insulinhypoglykämie beruhen.

Auch die Magensaftsekretion wird beeinflusst. Kleine Dosen Insulin hemmen die Sekretion des Pawlowschen kleinen Magens deutlich, oft vollkommen, während etwa einer Stunde. Ebenso hemmt Insulin die Magensaftsekretion nach Injektion von Spinatsekretin, kaum hingegen diejenige nach Ingestion von Fleisch (142).

Pankreas.

Kogan (336) fand nach Insulineinspritzung bei einem Kaninchen: Vermehrung der Langerhansschen Inseln in Zahl und Grösse, Atrophie und stellenweise Degeneration in den azinären Teilen. Strouse und Schultz (519) konnten nichts Derartiges finden. Auch sah in unserem Laboratorium de Jongh das Pankreas eines Kaninchens, das sechsmal mit grossen Insulindosen eingespritzt war, genau durch. Makroskopisch fiel die Kleinheit auf, mikroskopisch liess sich nichts Abnormes feststellen.

Geschlechtsorgane.

Riddle (473) konnte feststellen, dass kleine Insulingaben, welche den Blutzucker niedrig halten, aber sonst den Tieren nicht schaden, die Ovulation bei Tauben verhindern.

Auge.

Das beim diabetischen Koma hypotonisch gewordene Auge bekommt durch Insulin seinen normalen Tonus zurück (223, 282, 380, 382).

Demgegenüber seien Versuche aus unserem Laboratorium von de Jongh und Wolff (323a) hier nur angedeutet, dass im Insulinkoma, besonders aber nach Krämpfen, eine sehr starke Druckabnahme vorliegt; diese augendruckherabsetzende Eigenschaft ist mit dem Serum auf andere Tiere übertragbar. Andere echte Krampfgifte wirken vermutlich ähnlich. Ob eine Sympathikuserregung im Spiele ist, die im Hinblick auf die oben erwähnte Parasympathikusreizung durch Insulin von Interesse ist, wagen wir nicht zu sagen.

Tropft man unverdünntes Insulin ins Auge von Kaninchen oder Hunden ein (143), dann sieht man nichts Abnormes auftreten. Durch Insulin erscheint der Réflexe oculo-cardiaque enorm verstärkt (262); eindeutige Befunde betreffs der Pupillenreaktion (514) stehen noch aus, nur sei hier nochmals hingewiesen auf die soeben geschilderten Versuche Abes, aus denen hervorzugehen scheint, dass die Pupillenweite auf dem Umwege über die Adrenalinsekretion beeinflusst wird. Jedenfalls erscheint es etwas verfrüht, das Insulin bezüglich seiner Wirkung auf Tension und Pupille ohne weiteres als Antagonist des Adrenalins zu bezeichnen, wie es Grafe (282) tut.

b) Extra corpus.

Obwohl den Versuchen mit isolierten Organen vielleicht keine allzugrosse Bedeutung zuzumessen ist, weil die äusseren Umstände sich zu weit von der Norm entfernen (264) und die Organe dem normalen Einflusse ihrer Nachbarn entzogen sind (284), wollen wir doch im folgenden eine Übersicht über die bisher festgestellten Tatsachen geben.

Herz.

Grosse Dosen Insulin heben die Wirkung von Adrenalin am isolierten Säuger- und Froschherzen auf, und verursachen einen Stillstand, ohne dass

das Herz stirbt: nachher fängt es wieder an zu schlagen und zeigt die oben beschriebene Eigenwirkung des Insulins, bestehend in einer Verlängerung der Pausen und einer Vergrößerung der systolischen Amplituden (335).

Das durchströmte Herz nimmt unter Insulin mehr Zucker aus seiner Durchströmungsflüssigkeit auf. Dies konnte schon Clark (134, 135) in seinen grundlegenden Versuchen mit Hundeherzen und Pankreasdurchströmungsflüssigkeit zeigen, noch lange bevor vom Insulin die Rede war, und Hepburn und Latchford (303, 392) konnten dies in ihren vielfach zitierten Versuchen fürs Katzen- und Kaninchenherz bestätigen. Aus der Tatsache, dass der Zucker ohne merkliche Glykogenneubildung verschwindet, vermuten sie, dass er, sei es vollkommen oder unvollkommen, verbrannt sein müsse, eine Anschauung, die, wie wir später sehen werden, und worauf wir schon oben hingewiesen, wahrscheinlich nicht ganz richtig ist.

Beim Froschherzen an der Straub-Kanüle konnten Collazo und Händel (143) mit weit auseinander liegenden Insulindosen niemals eine Änderung der Herzwirkung erzielen.

Auch Citron und Zondek (133) haben mit Froschherzen an der Straubkanüle gearbeitet. Bei Zusatz von Insulin zur Ringerlösung wurde die Kurve erniedrigt, und das Herz blieb in Diastole stehen. Sobald diese Ringerlösung aber wieder durch reine ersetzt wurde, schlug es wieder ungestört weiter. Im Elektrokardiogramm sieht man eine Verlangsamung der Herzaktion und eine Umkehrung der Finalschwankung. Die durch Insulin bewirkte starke Verlangsamung kann mit Calcium wieder aufgehoben werden. Diese Autoren meinen, dass am Herzen Insulinwirkung und Vaguswirkung wohl analog seien.

Pick (461) arbeitete mit schlagenden Herzmuskelfragmenten. Setzte er zu schlagenden oder ruhenden Purkinjeschen Fasern, erhalten aus normalen Tierherzen, Glukose + Insulin zu, dann zeigte sich bei diesen normalen Geweben kein einziger Effekt. Nahm er hingegen Papillarmuskelpräparate von Menschenherzen, welche viele Stunden nach dem Tode untersucht wurden, dann war eine deutliche Wirkung vorhanden. So gibt er folgendes Beispiel: Ein Papillarmuskelpräparat eines Kinderherzens wurde 41 Stunden nach dem Tode in mit Sauerstoff durchströmter „Fleischlösung“ untersucht. Es schlug kräftig, aber unregelmässig in Gruppen. Zusatz von Spuren Glukose hatte Regularisierung zur Folge, so dass 25 Minuten später 64 rhythmische Schläge pro Minute erfolgten. Durch Zusatz von mehr Zucker wurde die Aktion schlechter, so dass eine halbe Stunde später die Frequenz nur noch 28 war, und die Schläge viel kleiner waren. Dann wurde eine Spur Insulin zugesetzt: in 7 Minuten war die Frequenz auf 40 gestiegen, und die Kontraktionen waren deutlich kräftiger, nach 10 Minuten war die Frequenz 60, nach 56 Minuten 80: auf dieser Höhe blieb sie lange Zeit: noch eine Stunde später war sie noch 44. Man sieht also, dass die Verbesserung des ermüdeten und energiearmen Herzmuskels durch Glukose- und Insulinzufuhr ihn auch für die Impulse des

Reizleitungssystems sensibilisiert, oder ihn für die Kontraktionswellen der Purkinjeschen Fasern durchgängig macht. Pick denkt daher, dass es nicht unmöglich wäre, in vielen Fällen von Erschöpfung des Herzens den Zustand durch kombinierte Zufuhr von Insulin + Glukose zu bessern. — Demgegenüber hat Dale früher festgestellt (177), dass das Herz unter Einfluss von Insulin keine grössere Arbeit leistet.

Muskel¹⁾.

Toenniesen (534) gelang es nicht, experimentell zu zeigen, dass Insulin für die Oxydation der Milchsäure von Bedeutung sei, denn es wurde keine Spur Brenztraubensäure in einem mit O₂ durchströmten Gemenge von Rinderpankreas-, Muskel- und Leberbrei gefunden. Wohl aber gelang es im Muskelbrei eine starke Erhöhung der Acetaldehydbildung bei Anwesenheit von Pankreasbrei (in geringerem Grade auch mit Insulin) und Muskelkochsaft nachzuweisen. Der Muskelkochsaft aktiviert sehr stark, stärker als der Muskelbrei selbst, und wird vom letzteren sogar etwas gehemmt. Parathyreoidin ist imstande, die Ausbeute dann noch um ein Vielfaches zu erhöhen.

Collazo c. s. (145) haben Meerschweinchen, welche 14 Stunden gehungert hatten, 3 g Glukose verabreicht, und dann 4 Stunden später getötet. Die Muskulatur wurde herausgenommen, in der Kälte zerkleinert und in etwa gleiche Portionen von 3—4 g verteilt (genau gewogen). Dabei wurde zu jeder Portion 5 ccm 1½%iger NaHCO₃-Lösung zugesetzt. Ein Teil der Portionen wurde sofort mit 5 ccm 5% HCl und 5 ccm 5%iger Sublimatlösung fixiert, zu den übrigen wurde entweder 8 Einheiten Insulin pro Portion, oder nichts zugesetzt, und das Ganze 1—2 Stunden bei 35° gehalten. Dann wurde auch zu diesen Röhrechen 5 ccm 5% HCl + 5 ccm 5%iger Sublimatlösung zugesetzt, aus allen Röhrechen das Hg entfernt und im Filtrat Milchsäure und Phosphorsäure bestimmt. Es zeigte sich, dass die Milchsäurebildung durch Insulin-Zusatz nicht unerheblich beschleunigt war; auch wurde eine, wenn auch weniger starke, vermehrte Abspaltung von anorganischer Phosphorsäure beobachtet. In unserem Laboratorium fand F. Laquer bei fein zerkleinertem, in neutraler Phosphatlösung suspendiertem Muskelbrei nach 4-stündigem Aufenthalt bei 37°, sowohl bei Meerschweinchen- wie bei Froschmuskel gleichfalls eine Vermehrung der Milchsäurebildung bei Insulinzusatz.

Ausserdem fanden auch Brugsch c. s. (112) mit Brei von Muskeln, ebenso wie von Lebern aus insulinvergifteten Tieren bei Luftdurchblasen einen enormen Zuckerverbrauch, viel grösser noch als mit der beobachteten Milchsäurezunahme übereinstimmte. Leider haben sie nur einmal eine Phosphorsäurebestimmung gemacht, welche keine Veränderung anzeigte. Der Glykogengehalt der Muskeln von 2 normalen Tieren schwankte ebenso stark wie der von 4 Insulintieren: hingegen lieferten die Muskeln der Insulintiere

¹⁾ Siehe Anmerkung S. 50.

grosse Mengen Glukose, die der normalen Kontrolltiere dagegen nichts. Daraus schliessen Brugsch c. s., dass es unter Insulineinfluss zu einem Aufbau von Disacchariden bzw. Dextrinen komme (da die Autoren keine weiteren Phosphatbestimmungen gemacht haben, könnten auch noch Lactazidogene in Frage kommen, und ausserdem Eiweisszucker. Ref.). Damit ist ihres Erachtens auch für die Muskulatur die oxydative Synthese unter Einfluss des Insulins erwiesen.

Durchströmt man einen Froschgastroknemius mit insulinhaltiger Ringerlösung (1 klinische Einheit pro 100 ccm Ringer) und lässt ihn eine Erschöpfungskurve schreiben, dann zeigt sich, dass mit Insulin die gelieferte Arbeit geringer ist als ohne dies (211).

Da man natürlich diese Versuche am Froschgastroknemius nicht ohne weiteres mit den obigen Versuchen von Pick an Teilen von Kinderherzen vergleichen kann, lohnt es auch nicht, auf den Gegensatz dieses Befundes (Erhöhung der Leistung durch Insulinzusatz) näher einzugehen.

Versuche von Hepburn und Latchford (392), ein vermehrtes Verschwinden von Zucker aus der Durchströmungsflüssigkeit, ebenso wie beim Herzen, auch an der isolierten Hinterpfote von Katzen oder Kaninchen festzustellen, misslangen durch Ödembildung.

D a r m.

Stewart und Rogoff (514) konnten am isolierten Kaninchendarm feststellen, dass eine sehr hohe Insulindosis, der Ringerflüssigkeit zugesetzt, die Darmbewegungen hemmt; sie selbst aber lassen die Möglichkeit offen, dass es vielleicht Folge der Anwesenheit von Verunreinigungen oder des Antiseptikum sei.

A u g e.

Am isolierten Froschauge beobachteten Collazo und Händel (143) bisweilen eine zweifelhafte Pupillenverengerung durch Insulin: von einem Antagonismus zu Adrenalin zeigte sich aber nichts.

L e b e r¹⁾.

Hinsichtlich des Einflusses von Insulin auf das Verhalten des Leberglykogens post mortem sind alle drei möglichen Fälle behauptet worden. Normalerweise tritt ein ziemlich schneller Abbau des Glykogens ein. Man hat nun sowohl eine Verminderung der Glykogenolyse, eine Steigerung und endlich ein Gleichbleiben angegeben.

Die erste Behauptung: eine Abnahme des Glykogenabbaues stammt aber noch aus der Vor-Insulinzeit und rührt von de Meyer her: er fand nach Zusatz von Pankreasextrakt zur Durchströmungsflüssigkeit eine Glykogenzunahme in der Leber. Da Pankreasextrakte aber nicht mit Insulinlösung

¹⁾ Siehe Anmerkung S. 44.

zu vergleichen sind, so gehört dieser Befund eigentlich nicht hierher. Wir erwähnen ihn aber, weil er eine gewisse Stütze in den unten besprochenen Erfahrungen von von Issekutz (318) und auch von Brugsch (111) findet, die eine Abnahme der Glykogenolyse in den Lebern von Tieren fanden, die am Tage vor ihrem Tode mit Insulin behandelt waren.

Zunahme der Glykogenolyse behaupten Brenckmann und Feuerbach (107). Sie durchströmten isolierte Lebern von Schildkröten (mit 5‰ Glukose-Ringer von 30° C), von Hunden und von einem Kaninchen (mit defibriniertem Blut von 37° C, dem 4‰ Glukose zugesetzt war); setzten sie dann der Flüssigkeit 40 Einheiten Insulin zu, und exstirpierten vor und nach der Durchströmung Stückchen von der Leber, dann konnten sie nachweisen, dass, während bei einer Schildkrötenleber nach Durchströmung ohne Insulin der Glykogengehalt viel höher war als zuvor, bei allen Versuchen mit Insulin regelmässig eine starke Abnahme des Glykogengehalts der Leber stattgehabt hatte.

Demgegenüber fanden Noble und Macleod (441) Gleichbleiben der Glykogenolyse. Sie stellten derartige Versuche an Schildkrötenlebern an, und zwar so, dass rechte und linke Hälfte derselben Leber getrennt durchströmt wurden, was ja hier die besonderen Gefässverhältnisse gestatten. Wurde dann der eine Lappen mit, der andere ohne Zusatz von Insulin durchströmt, dann fanden sie am Ende die Unterschiede im Glykogengehalt nicht grösser als sie auch normal zwischen den beiden Hälften bestehen können. Dieser Gegensatz zu den oben erwähnten Versuchen wird vielleicht dadurch erklärt, dass hier bei zu niedriger Temperatur gearbeitet wurde. Auch konnten die genannten Autoren feststellen, dass das trikresolfreie Insulin die postmortale Glykogenolyse der Leber unter ihren Versuchsbedingungen unbeeinflusst liess, sogar bei weit auseinander liegenden Konzentrationen.

Den gleichen negativen Befund hatten auch Bissinger, Lesser, Zipf (81) und v. Issekutz (317, 318) und zwar an isolierten Froschlebern von normalen Tieren festgestellt. Auch ihnen gelang es, zu zeigen, dass auch hier Insulinzusatz an sich die Zuckerbildung durch das isolierte Organ nicht beeinflusste.

Damit stimmt auch der Befund von Collazo c. s., dass der Glykogenabbau im sterilen Leberbrei eines normalen Tieres *in vitro* während 2—3 Stunden bei 37° durch Zusatz von Insulin nicht nennenswert beeinflusst wird (145).

Ein gewisser Gegensatz zwischen Bissinger (81) c. s. und v. Issekutz (317, 318) besteht aber hinsichtlich des Einflusses des Insulins, wenn es nicht der Durchströmungsflüssigkeit zugesetzt wurde, sondern den Tieren vor ihrem Tode gegeben war. v. Issekutz findet dann nämlich eine deutliche Hemmung der Glykogenolyse: die Lebern von Tieren, die einen Tag zuvor mit grossen Dosen Insulin vorbehandelt waren, bildeten bei der Durchströmung sehr viel weniger Zucker und reagierten auf Adrenalin in sehr viel geringerem Grade

als Lebern nicht behandelte Tiere. (Bissinger c. s. konnten dies nicht bestätigen. Ihrem negativen Befund fehlt aber die Angabe, wie lange vorher ihre Tiere eingespritzt wurden, und dieser Zeitfaktor ist beim Kaltblüter von grösster Bedeutung.)

Doch blieb bei v. Issekutz (317) der Gesamtkohlenhydratgehalt (bestimmt entweder auf einmal, nach Hydrolyse mit 2,2% HCl, oder in zwei Etappen durch vorherige Extraktion der Glukose mit 60%igem Alkohol und Bestimmung nach Bang und nachfolgender Bestimmung des Glykogens im Rückstand) bei normalen und Insulinlebern gleich: der Zuckerverbrauch muss also bei beiden derselbe gewesen sein.

Mit den Versuchen von v. Issekutz stimmen die von Brugsch (111) überein. Er fand, dass die Zuckerabspaltung durch die isolierte Leber, trotz Gegenwart von Insulin ungestört weiter geht. Wurden aber die (z. T. pankreasdiabetischen) Tiere (Frosch, Maus, Meerschweinchen, Kaninchen) während des Lebens vorbehandelt mit Insulin, dann zeigten ihre Lebern nachher *in vitro* eine starke bis vollkommene Hemmung der sonst so reichlichen Zuckerabspaltung, und die übliche Milchsäurebildung unterblieb ganz. Im Einklang damit stehen Versuche von Griesbach und Bornstein (284). Sie konnten bei Durchblutungsversuchen an der überlebenden Hundeleber, in denen dem Blute nach einstündiger Durchströmung 20—30 Einheiten Insulin zugesetzt wurden, keinen Einfluss hiervon auf den Zuckergehalt der Durchströmungsflüssigkeit feststellen, ebensowenig auf ihren Milchsäuregehalt. Doch hat das Insulin wohl an der Leber angegriffen, denn, wenn sie Insulin und Adrenalin nacheinander dem Durchblutungsblute zusetzten, blieb die sonst regelmässig nach Adrenalinzusatz beobachtete Steigerung des Zuckergehalts der Durchströmungsflüssigkeit aus. Daraus schliessen die genannten Autoren, dass die Insulinwirkung auf die Leber darauf beruhe, dass die Glykogenmobilisierung in der Leberzelle aufgehoben bzw. eingeschränkt werde.

Jedenfalls zeigen solche Versuche unzweideutig, dass das Insulin einen Angriffspunkt *intra vitam* u. a. auch in der Leber hat (102).

Brugsch hat mit einer Reihe von Mitarbeitern das Schicksal der Leberkohlenhydrate möglichst weit verfolgt. Er benutzte dazu Leberbrei von verschiedenen Tierarten. Zur Milchsäurebestimmung hat er leider in den ersten Versuchsreihen (112) nur die Titration verwendet in der unbewiesenen Voraussetzung, dass keine anderen Säuren entstehen würden (H_3PO_4 würde wohl bei den gleichzeitigen Phosphatbestimmungen entdeckt werden).

Bei Fröschen, welche (nur 2 Stunden! Ref.) vorher mit Insulin eingespritzt waren, zeigte sich, dass frische Leberemulsion in Ringerlösung bei den Insulintieren bei 1 Stunde Stehen, eine geringere Glukose- und Milchsäureproduktion ergaben als die Kontrollen. Bei Meerschweinchen war die Glukoseproduktion durch Leberemulsion von mit Insulin behandelten Hungertieren nicht gehemmt, eher beschleunigt, wenn sie vor Eintritt eines

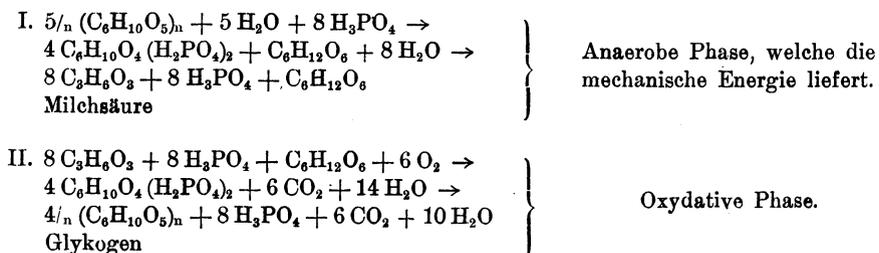
hypoglykämischen Komplexes getötet waren, auch die Milchsäurebildung war nicht nennenswert verändert. War aber erst ein hypoglykämischer Komplex deutlich, so waren Glukose- und Milchsäurebildung auffallend verringert.

Wurde Leberemulsion + Glukose + Ringerlösung unter Durchperlen mit Sauerstoff in den Brutschrank gestellt, dann zeigte sich, wenn die Leber von hungernden Insulintieren herrührte, ein deutliches Glukosedefizit, viel mehr als mit der entstandenen Milchsäure übereinstimmte. Dies zeigt wohl, dass bei vollentwickelter Insulinwirkung ein oxybiotischer Prozess die Hauptrolle spielt. Bei Kontrollversuchen mit Lebern von normalen Tieren mit und ohne Sauerstoffdurchleitung zeigte sich, dass bei dürftiger O₂-Versorgung der diastatische, bei guter O₂-Versorgung hingegen der glykolytische Prozess befördert wurde. Bei diesen Versuchen wurde gleichzeitig die Phosphorsäure bestimmt: daraus schliessen sie, dass bisweilen auch freier Zucker aus Hexosephosphorsäure (welche auch reduziert) entstanden sei. Bei normal genährten Tieren, sowie auch bei 24 Stunden hungernden, tritt bei den Versuchen mit Luftdurchleitung Glykolyse von Zucker zu Milchsäure, zum Teil auch Zuckerbildung aus Hexosephosphorsäure auf. Bei fehlender Luftdurchströmung bildet sich Glukose in Überschuss neben Milchsäure. Anders verlaufen aber die Versuche mit Lebersuspension von mit Insulin eingespritzten Tieren, welche während des hypoglykämischen Komplexes getötet werden: es verschwindet viel mehr Zucker als mit der entstandenen Milchsäure übereinstimmt; gleichzeitig verschwindet Phosphorsäure. Dies ist also ein Hinweis in der Richtung von Bildung einer Hexosephosphorsäure.

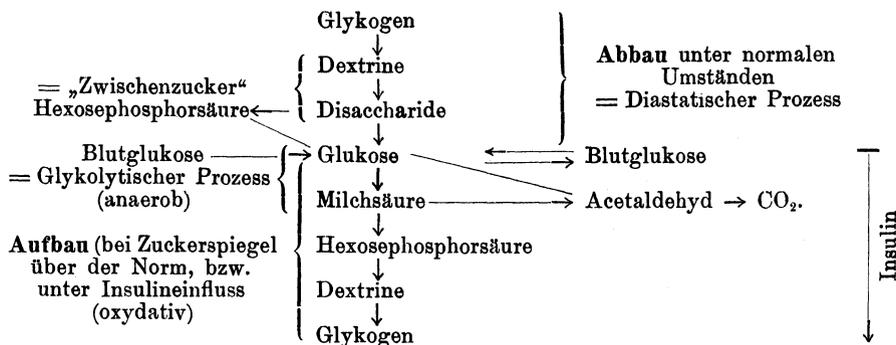
Ebenso wie die Muskeln, produziert auch die Leber viel mehr Glukose als ihrem Glykogengehalt entspricht. Dies würde auch für die Leber die Anhäufung von intermediären Zuckern (Disacchariden und Dextrinen) erweisen.

Damit betrachten sie als bewiesen, dass Insulin Aktivator eines oxydativ-synthetischen Mechanismus in Leber und Muskeln sei, der zum Aufbau der Kohlenhydrate dient.

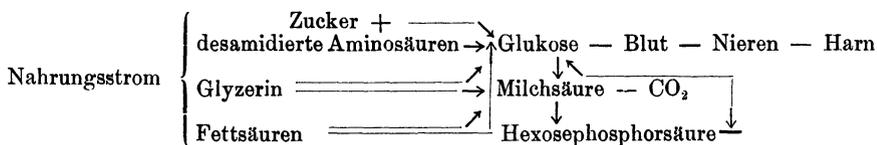
Dabei stützen sie sich auf das Schema von Meyerhof, nach dem der Zuckerverbrauch im Muskel stattfindet nach folgendem Schema (109).



Für den Kohlenhydratstoffwechsel der Leber unter normalen Umständen geben sie folgendes Schema (115):



Das Insulin würde den adäquaten physiologischen Reiz für die Leber darstellen: der Hauptpunkt beim Diabetes sei nach ihnen die fehlende Neigung zu oxydativ-synthetischem Glykogenaufbau durch Fehlen des Insulins. Deshalb gilt nach ihnen für den Diabetes (bei vollständiger Nahrung) folgendes Schema:



Ein hungernder pankreasdiabetischer Hund zeige aber in Muskeln und Leber auch schon eine stark oxydative Neigung, welche jedoch niemals dem Insulin gleichkommt. Insulin bewirke bei Diabetes nicht nur die oxydative Synthese zu Glykogen, aber auch die zu Fett (109) (im Gegensatz zu Adrenalin, das die Zuckerbildung aus Fett begünstige). Dies bestätige auch die Meinung von Geelmuyden, dass die Erniedrigung des Sauerstoffverbrauches durch Insulin auf einem Zurückdrängen des Fettes aus dem Stoffwechsel beruhe, und einer Reversibilität des Umsatzes von Kohlenhydraten zu Fett. Dies erkläre auch das sofortige Aufhören der Acidose durch Insulin: durch die Blockierung des Abbaues von Fett zu Zucker höre auch die Bildung von β -Oxybuttersäure sofort auf.

Später haben Brugsch c. s. (113) ihre Untersuchungen auch noch auf die Phlorhizinvergiftung ausgedehnt. Beim mit Phlorhizin vergifteten (oder) Hungertiere enthalten die Organe Spuren Glykogen bzw. in linksdrehende Zucker spaltbare Zuckerkomplexe. Die Organe des phlorhizinvergifteten Tieres geraten trotz starken Hungerns sehr schwierig in „oxydative Hungerstellung“, sind vielmehr eingestellt auf Zuckerproduktion, welche in diesem Falle aus Fett und Hexosephosphorsäure stattzufinden scheint. Die stärkste Zuckerbildung zeigen bei solchen Tieren Niere, Leber und Herzmuskel, während die Skelettmuskulatur betreffs der Zuckerbildung in den Hintergrund tritt. Diese Tendenz zur Zuckerbildung ist so stark, dass Insulin nicht imstande ist, sie ganz zu unterdrücken, obwohl es doch bei solchen Phlorhizintieren

wohl eine Steigerung von Zucker in den Organen bewirkt. Die Differenzen zwischen pankreasdiabetischen Tieren einerseits und phlorhizinvergifteten Hungertieren andererseits sind folgende: erstens ist es beim Phlorhizintiere an erster Stelle die Niere, beim pankreasdiabetischen Tiere die Leber, welche Zucker bildet; zweitens bildet auch bei intensivem Hungern das Phlorhizintier noch Zucker, während der pankreaslose Hund das dann nicht mehr tut, ihn vielmehr verbrennt. Der pankreaslose Hund hat nicht einfach das Vermögen verloren, Zucker abzubauen, denn dieses Vermögen kommt beim Hungern wieder zum Vorschein: er hat nur das Vermögen zu oxydativer Synthese verloren. Beim Phlorhizintier ist dies nicht verloren gegangen, aber die Zuckerbildung, vor allem durch die Nieren, ist so vorherrschend geworden, dass diese allem anderen gegenüber dominiert, sogar bei intensivem Hungern. Bei Nieren, Leber und Herz von solchen Tieren kann man sehr schön beobachten, dass der Zucker nicht nur aus Glycerin, sondern auch aus dem Fettsäureanteil des Fettes gebildet wird: dabei meinen Brugsch c. s. Anzeichen gefunden zu haben, dass auch diese Zuckerbildung via Hexosediphosphorsäure gehe (113).

Dass die Bildung der β -Oxybuttersäure bei Pankreasdiabetes als ein „Missglücken der versuchten Synthese zum Fettaufbau“ zu betrachten sei (110) ist ein teleologischer Gedankengang, der uns in dieser Materie weniger berechtigt scheint.

Wir haben alle diese Untersuchungen von Brugsch c. s. hier so ausführlich angeführt, weil wir meinten, dass sie zum Verständnis auch von anderen Kapiteln unserer Arbeit einen wichtigen Beitrag liefern können, wenn auch eine experimentelle Bestätigung von anderer Seite uns für viele Fragen noch sehr erwünscht erscheint.

Zu bemerken ist, dass nach Elias und Löw (221) das Phosphation ebenfalls die Glykogenausschüttung aus der Leber befördert.

Soviel über den Einfluss des Insulins auf den Abbau des Glykogens der isolierten Leber.

Anhangsweise wollen wir hier auch noch kurz den Einfluss von Leber auf zugesetzte Stärke besprechen.

Aus Versuchen mit Froschlebersuspension + Amylum zeigte Brugsch (112), dass Insulin die Leberdiastase nicht hemmt, sie eher etwas beschleunigt. Das ist aber nicht neu. Auch Wohlgemuth (590) meinte schon im Blut der Vena pancreatico-duodenalis einen Aktivator der Leberdiastase zu finden. [Hinsichtlich anderer Diastasen s. später Benedict (47) S. 67.]

Die Frage, was nun aus dem aus Glykogen entstandenen oder sonstwie vorhandenen Zucker in der Leber wird, hat ausser Brugsch c. s. noch verschiedene andere Forscher beschäftigt. Neuberg c. s. (433), die mit reinem Insulin arbeiteten, fanden mit ihrem „Abfangverfahren“ eine konstante Erhöhung der Acetaldehydbildung um 100–400% in Leberbrei, wagen es aber

nicht zu entscheiden, woraus dieses mehrgebildete Aldehyd stammt. Zusatz von Fruktose erhöhte die Ausbeute stark.

Gottschalk (280) hat diese Versuche weiter fortgesetzt, und den Einfluss eines Zusatzes von verschiedenen Kohlenhydraten zum System: Leberbrei + Insulin studiert. (Es wurde Optochin basic. als Desinfiziens zugesetzt.) Gegenüber den Kontrollen (Leberbrei + Insulin allein) war die Acetaldehydbildung erhöht:

bei Zusatz von Glykogen	um 170 %
„ „ „ d. l-Glyzerinaldehyd	„ 110 „
„ „ „ Hexosediphosphorsäure	„ 82 „
„ „ „ Hexosemonophosphorsäure	„ 79 „
„ „ „ Dioxyaceton	„ 66 „
„ „ „ Glykolaldehyd	„ 60 „
„ „ „ Fruktose	„ 50 „
„ „ „ Glukose	„ 38 „

Daraus zeigt sich deutlich, dass Insulin die verstärkte Bildung einer unzweifelhaften Oxydationsstufe (Acetaldehyd) auf dem Wege des Zuckerabbaus bewirkt. Mit demselben Verfahren kann man zeigen (279), dass Adrenalin noch in Konzentration 1:1000 die normal auftretende Bildung von Acetaldehyd durch Leber- oder Muskelzellen vollkommen aufhebt; auch stärker verdünnte Lösungen wirken noch hemmend. Adrenalin hemmt also den oxydativen Kohlenhydratabbau. Setzt man zu einer Aufschwemmung von Leberzellen Adrenalin und Insulin zu, dann ist die Aldehydausbeute die Resultante von den beiden entgegengesetzten Wirkungen: bei passender Dosierung heben sich die Wirkungen auf den oxydativen Kohlenhydratabbau vollkommen auf. Auch Thyreoidea- und Hypophysenhinterlappenextrakt beeinflussen den oxydativen Kohlenhydratabbau durch tierische Zellen. Phlorhizin unterdrückt schon in geringer Konzentration die oxydative Acetaldehydbildung vollkommen.

Toenniesen (535) fand, wenn er zu Leberbrei Pankreasbrei zusetzte, das Gegenteil wie Neuberg: eine Hemmung der Acetaldehydbildung. Aber er setzte eben kein Insulin sondern Pankreas zu, und insofern hat dieser Befund hier auch kaum Bedeutung. Auffallend bleibt immerhin der Gegensatz zwischen diesem Befund an der Leber zu seiner Beobachtung, dass Pankreas zu Muskelbrei und zu Muskelkochsalzextrakt zugesetzt, eine starke Beschleunigung der Acetaldehydbildung hervorrief, während eine weitere Oxydation zu Brenztraubensäure ausblieb.

Will man das Ergebnis der verschiedenen Versuche zusammenfassen, so kommt man über ein „non liquet“ nicht hinaus. Wir glauben nicht, dass man im Augenblick mehr sagen kann als: es ist wahrscheinlich, dass Zusatz von Insulin zur durchströmten Leber oder Leberbrei den normalen postmortalen

Abbau des Glykogens nicht beeinflusst. Zu dieser Ansicht stehen die positiven Ergebnisse Gottschalks, der vermehrten Acetaldehydbildung nach Zusatz von Glykogen zu Leberbrei, nicht ohne weiteres im Gegensatz, denn es ist sehr wohl möglich, dass nachträglich zugesetztes Glykogen sich nicht identisch mit dem ursprünglich intrazellulären verhält. Gegenüber dieser negativen Leistung von nachträglich zugesetztem Insulin auf den Abbau des normal vorhandenen Glykogens muss man einen Einfluss des Insulins wohl anerkennen, wenn es dem Tiere *intra vitam* einen Tag vor dem Tode eingespritzt wurde. Hierdurch scheint die Leber irgendwie verändert zu werden, und zwar so, dass die Glykogenolyse geringer als in der Norm ist. Vielleicht kann man das Ergebnis hinsichtlich des Glykogenabbaues so ausdrücken: die in der Leber vorhandene Diastase wird durch Insulin nicht beeinflusst, wohl aber die Diastasebildung der lebenden Leber, und zwar wird diese gehemmt.

So viel von der Glykogenolyse.

Was die Glykolyse betrifft, so scheint diese vermehrt in Lebern, die von Insulintieren stammen. Ob nachträglicher Zusatz von Insulin zur normalen Leber den Abbau des darin vorhandenen Zuckers bzw. des durch die Glykogenolyse entstehenden vermehrt, darüber fehlen Versuche, und hinsichtlich der Zerstörung nachträglich zugesetzten Zuckers besteht noch keine Einigkeit. (Siehe auch Tabelle im letzten Kapitel: Theorie.)

Nitzescu c. s. (437) geben folgende Zahlen an:

Verlust an Zucker in Prozenten bei Zusatz von 1 g Organ zu 4 ccm einer bestimmten Zuckerlösung (Mittel von 5 Versuchen)

	Lunge	Niere	Milz	Herz
Normaler Hund:	89	58	38	33
Pankreasloser Hund:				
Organ allein	21	20	18	12
Organ + Insulin	22	21	18	13

Die Glykolyse im herausgenommenen Organ ist beim pankreaslosen Hunde also nach diesen Autoren vermindert.

Demgegenüber finden Mauriac und Aubertin (412) keinen sicheren Unterschied zwischen Organen normaler und pankreasdiabetischer Hunde. Sie setzten zu 1 g Gewebe 4 ccm Zuckerlösung zu, teilen aber nicht mit, ob steril gearbeitet wurde, und bei welcher Temperatur. Es wurden untersucht: Milz, Niere, Testikel und Omentum. Die glykolytische Aktivität *in vitro* der Gewebe zeigte sich beim pankreaslosen Hunde nicht vermindert, bisweilen sogar erhöht; bei 7 solchen Hunden fehlte aber auch den Testikeln 2 mal, der Niere 1 mal jedes glykolytische Vermögen, während bei 6 normalen Hunden die Niere es 1 mal vermissen liess. Nach Insulininjektion während des Lebens ist das glykolytische Vermögen der Gewebe *in vitro* nicht erhöht; auch Zusatz von Insulin zu den Proberöhrchen mit Gewebe + Zuckerlösung

hatte nicht den geringsten Einfluss. In einer anderen Mitteilung (409) lenken sie nochmals die Aufmerksamkeit darauf, in welcher verschiedener Weise zwei Hunde reagierten, sowohl auf die totale Pankreasexstirpation, als auch auf die nachfolgenden Insulininjektionen, obwohl sie dieselbe Diät erhielten. Auch das glykolytische Vermögen ihrer Gewebe variierte stark; im einen Falle lag es weit über, im anderen weit unter der Norm. Das Tier mit erhöhtem glykolytischem Vermögen seiner Gewebe (Blut, Milz, Niere, Testis) hatte nach Weglassen des Insulins nur eine geringfügige Glykosurie gezeigt: doch war sein Diabetes klinisch viel schwerer als der des Tieres mit starker Glykosurie und sehr niedrigem glykolytischem Vermögen der Gewebe.

Einen Vergleich all dieser modernen Untersuchungen mit den älteren von Cohnheim und Rahel Hirsch haben wir absichtlich unterlassen: wer sich für die darauf bezügliche Literatur und die vielen Kontroversen interessiert, lese sie im Original nach.

In diesem Zusammenhang erwähnen wir noch, dass sich Insulin ohne Einfluss auf die Glukosevergärung durch Hefe (210, 257, 305, 537) oder durch *Bacillus coli* (287) zeigt.

Im Hinblick auf verschiedene noch später zu erwähnende Erfahrungen, wobei man die Wirkung des Insulins durch andere chemische Stoffe hat ersetzen bzw. ergänzen wollen (Kap. XI), seien hier noch einige Versuche angeführt. So hat Walker (554) eine unzweifelhafte Beschleunigung der Hydrolyse von Stärke durch Pankreasamylase, Pankreatin, Speichel oder gereinigte Malzamylase feststellen können bei Zusatz von verschiedenen Aminosäuren: Glykokoll, Alanin, Phenylalanin, Tyrosin, l-Asparaginsäure und Asparagin.

[Demgegenüber konnte Fredericq (250) nichts von einer Beschleunigung der Glykolyse von sterilem defibrinierten Hunde- oder Kaninchenblut durch Zusatz von Glykokoll oder d-Alanin finden.]

Desgrez und Moog (193) stellten eine Wirkungsverstärkung der Pankreasamylase durch die Chloride von Triäthylamin, Trimethylamin und Monomethylamin fest, die freien Basen aber verzögern die Wirkung, ebenso wie Ammoniak.

Auf die Frage, ob die Diastase der Leber etwas mit dem Pankreas zu tun hat, und überhaupt die Diastasen auch in den anderen Geweben abstammen von einem inneren Sekret des Pankreas, ebenso wie etwa vorhandenes Insulin vom Pankreas abgeleitet wird, wollen wir nicht ausführlich eingehen, sondern nur kurz einige Versuche erwähnen, die teils für die Anschauung der Herkunft vom Pankreas, teils gegen diese sprechen. Als Gründe dafür sind die Befunde von Wohlgemuth (590) anzuführen. Er findet nach Unterbindung des Pankreasausführungsganges die Blutdiastase enorm (70—100fach normal) erhöht (ebenfalls nach partieller Pankreasexstirpation, was er auf

Resorption zugrundegehender Drüsenanteile zurückführt. Ähnliches hatte auch Verzár gefunden). Nach Pankreasexstirpation findet er besonders in der ersten Zeit sehr niedrige Diastasewerte im Blut, die allerdings später wieder fast normal werden, durch vikariierendes Eingreifen anderer Organe.

Gegen die Annahme der Herkunft der Blutdiastase vom Pankreas sprechen Ergebnisse Karsners c. s. (326). Sie fanden nach totaler Pankreasexstirpation bei Hunden im Blute eine starke Vermehrung des diastatischen Vermögens für lösliche Stärke, ebenso wie es die von ihnen zitierten Autoren Myers und Killian und de Niord und Schreiner bei klinischem Diabetes gefunden haben.

Gerade die umgekehrte Deutung hinsichtlich des Ursprunges der Diastase im Blute muss man aus Versuchen von Kumagai und Osato (345, 346) entnehmen. Sie stellten fest, dass die Serumamylase bei Hunden durch subkutane Pilokarpinjektion zunimmt, ausser bei pankreaslosen Tieren. Bei Hunden mit Fistel des Ductus thoracicus nahm der Amylasegehalt der Duktuslymphe durch Pilokarpin stark zu, der des Blutes nur wenig; bei pankreaslosen Tieren fehlte die Vermehrung der amylolytischen Wirkung ganz, zeigte sich aber, sobald nur ein kleines Stückchen Pankreas übrig gelassen war.

Zum Schluss erinnern wir hier an die schon zitierten Untersuchungen von Maestrini c. s. (396), welche auch im Harn von Diabetikern eine auffällig hohe amylolytische Wirkung fanden, bei Addisonkranken hingegen eine sehr niedrige. —

Endlich wollen wir hier noch einige Versuche mit Insulin wiedergeben, welche sich schwer in die oben genannten Gruppen einreihen lassen.

Zuerst ist auf die verschiedenen in vitro-Versuche, die wir vorher schon an anderer Stelle behandelt haben, hinzuweisen. Wie gross der Einfluss der Verunreinigungen bei derartigen Versuchen aber ist, hat Sarmartino (483) gezeigt. Als er zuerst mit Zusatz von unreinen Insulinpräparaten arbeitete, fand er Erhöhungen der Ausbeute nach Einwirkung von Diastase auf Arrowroot-Stärke um 30%, von Blut-Katalase auf H_2O_2 um 90%. Als er dann aber ein reines Insulin bekam, war nichts mehr von einem verstärkenden Einfluss weder auf die Diastase noch auf die Katalase zu erkennen.

Doch behauptet neuerdings Benedict (47), wohl einen positiven Effekt mit reinem Insulin-Lilly erhalten zu haben. Es beschleunige deutlich die Digestion von Amylum durch verschiedene Diastasen in vitro. Dies hänge nicht zusammen mit Änderung des p_H oder des Eiweissgehalts durch den Insulinzusatz. (Dieselbe Beschleunigung der Wirkung von Speichel- oder Taka-Diastase auf Amylum solubile beobachteten Eisler und Porthelm (220) bei Zusatz von pflanzlichem Glukokinin.) Dass dies auch vielleicht in vivo geschieht, zeigen Versuche von Koga (333). Als Diastasepräparat benutzte

er Pankreatinlösung, als Kohlenhydrat Amylum. Setzte er dann diesem System noch Blut aus verschiedenen Organgebieten zu, dann sah er, dass Blut aus der Vena pancreatica einen den Amylumabbau viel stärker beschleunigenden Einfluss hatte als Blut der Vena portae, Arteria und Vena femoralis. Dies galt jedenfalls nur für hungernde Hunde: waren die Tiere vor der Blutentnahme reichlich gefüttert, dann aktivierte das Pankreasvenenblut die Amylase nicht stärker als das aus anderen Gefäßen.

Alles und Winegarden (19) versuchten einen Einfluss des Insulins auf die Schnelligkeit der Oxydation von Glukose durch Jod in nahezu neutraler Lösung festzustellen, ohne Erfolg, gleichviel ob sie es den Zuckerlösungen noch vor dem Jodzusatz allein oder zusammen mit wässerigen oder alkoholischen Leberextrakten hinzufügten.

Jetzt, wo wir wissen, dass Insulin unter geeigneten Umständen kochbeständig ist, hat es vielleicht auch noch einigen Wert hier einen Versuch anzuführen, der von Jones und Perkins (321) gemacht wurde, obwohl sein Zusammenhang mit dem übrigen Stoffwechsel noch ganz unklar ist. Mit gekochtem, wässerigem Pankreasextrakt von Schweinen (der also wohl seine gewöhnlichen Verdauungsfermente verloren hat, vielleicht aber sein Insulin noch in aktiver Form enthält) ist Nukleinsäure abzubauen zu Stoffen, welche zwischen der Nukleinsäure einerseits und seinen aufbauenden Mononukleotiden andererseits stehen. Bei diesem Abbau sollen nach Jones und Perkins nur Nukleotidbindungen und keine anderen losgelöst werden: dabei entsteht keine titrierbare Acidität. Hieraus ziehen sie sogar Schlüsse betreffend Art der Bindung und Struktur der Nukleinsäure.

C. Wirkung auf Blut.

a) Farbe, Zähigkeit, Gerinnung und Oberflächenspannung.

Das Blut von insulinvergifteten Tieren ist besonders dunkel, tritt nur schwer aus dem Gefäß aus und gerinnt leicht. Das gilt nicht nur für das venöse sondern auch für das arterielle Blut (392, 393, 446). Das Blut ist äusserst klebrig, aus den peripheren Gefäßen ist kaum eine zur Blutzuckerbestimmung genügende Menge auszupressen, auch gerinnt es sofort, bisweilen sogar, wenn man eine sonst völlig ausreichende Menge Oxalat zusetzt.

Diese vermehrte Viskosität und erhöhte Tendenz zur Gerinnung treten nach Drabkin c. s. nur auf, wenn das Blut (durch starke Einengung) einen hohen Hämoglobin- und niedrigen Zuckergehalt aufweist (199). Inwieweit man aber recht hat, von einer starken Einengung zu reden, siehe weiter unten.

[La Barre (42, 43), der bei in vitro-Versuchen feststellen konnte, dass reines Insulin die Blutgerinnung gar nicht beeinflusst, während unreines dies wahrscheinlich durch seinen Cholingehalt wohl tut, fand bei Einspritzung

in vivo (Kaninchen), dass unreines Insulin das Blut schlechter gerinnbar machte, während reines keinen Einfluss hatte.]

Was das venöse Blut betrifft, so wurde als Erklärung in vielen Fällen der trägere Kreislauf angesehen, womit die vollständige Ausnutzung des Sauerstoffes und damit die dunklere Farbe ohne weiteres zu verstehen ist. Schwieriger ist dies für das arterielle Blut zu begreifen. Als Ursache käme in Betracht: entweder ungenügende Aufnahme von Sauerstoff oder Verringerung der Fähigkeit des Hämoglobins, den O_2 in normaler Weise zu binden.

1. Ungenügende Atmung als Erklärung anzunehmen, ist recht schwierig.

a) Die Atmung nimmt in vielen Fällen eher zu.

b) Auch bei künstlich atmenden, dezerebrierten Katzen wird das arterielle Blut dunkel [Olmsted und Logan (446)], während es bei Kontrollkatzen ohne Insulin hellrot bleibt.

Später haben Olmsted und Taylor (447, 448) diese Versuche weiter fortgesetzt bei dekapitierten und dezerebrierten Katzen und bei Kaninchen. Bei dezerebrierten Katzen zeigte sich, bevor die Insulinkrämpfe auftraten, trotz deutlich vermehrter Lungenventilation eine geringe Erniedrigung der O_2 -Sättigung des arteriellen Blutes (welche während der ersten 3 Stunden nach der Injektion konstant geblieben war), z. B. von 88 auf 80%. Beim Eintreten der Krämpfe war der Oxyhämoglobingehalt bis auf 75% gesunken, und auch die Ventilation war sehr gering. Nach den Krämpfen kehrte das Oxyhämoglobin zu nahezu seinem normalen Werte zurück, während die Ventilation viel grösser war als normal. Ausdrücklich heben diese Autoren aber hervor, dass bei Kaninchen von einer derartigen Änderung der O_2 -Sättigung sich nichts zeigt.

Die Tierspezies scheint also auch hier von Bedeutung zu sein. Hier könnte man vielleicht auch einen Versuch von Macleod (392) anführen, wo bei Hunden, die in reinem Sauerstoff atmen, die hypoglykämischen Symptome nicht auftreten, das Blut wohl auch nicht dunkel wird, obwohl Macleod dies letztere nicht ausdrücklich sagt, dies aber aus dem Zusammenhang geschlossen werden muss. Man könnte aber immerhin die ungenügende Atmung als Erklärung gelten lassen, wenn man sagt, sie ist nur relativ ungenügend im Vergleich zu dem stärkeren O_2 -Gebrauch, den das Insulin in den Geweben verursacht; das venöse Blut kommt so sauerstoffarm in die Lunge zurück, dass es nicht schnell genug arterialisiert werden kann. Wie schon erwähnt, ist tatsächlich der verlangsamte Kreislauf ein Moment für die grosse Sauerstoffausnutzung, dann kommt aber auch hinzu, dass der Sauerstoff vielleicht abnorm benutzt wird zur Bildung von Fett oder anderen noch unbekanntem Stoffen. Für diese Möglichkeit hat man anführen wollen, dass man bisher das Verschwinden des Zuckers aus dem Blut auf andere Weise nicht erklären konnte. Auch Macleod neigt zu dieser Ansicht (siehe auch später bei

Stoff- und Gaswechsel). Es ist merkwürdig, dass Macleod diese Erklärung für das arterielle Blut annimmt (392); in diesem kann doch kein solcher Verbrauch des Sauerstoffs für abnorme Synthesen statthaben.

2. Die oben erwähnte zweite Ursache für die dunklere Farbe könnte das Unvermögen des Insulinblutes sein, den Sauerstoff in gewöhnlicher Weise zu binden; dies kommt aber nicht in Betracht, denn man braucht nur das Blut, wie wir es oft getan haben, mit Luft zu schütteln, dann wird es normal rot.

Auch die Gerinnungssteigerung hängt nicht einfach mit der geringeren O_2 -Zufuhr in der Lunge zusammen, denn die Gerinnungssteigerung trat auch bei künstlich geatmeten Tieren auf. Es ist also nur ein relatives Zuwenig an Sauerstoff möglich. —

Die Oberflächenspannung des Blutes hat Gabbe bei Kaninchen fortlaufend gemessen. Es zeigte sich, dass während des Auftretens der toxischen Insulin-Symptome ein auffälliger Wechsel der Oberflächenspannung auftritt. Als deren mögliche Ursache betrachtet er Änderungen im Peptongehalt des Blutes (259).

b) Blutzellen.

Die Anzahl der roten und weissen Blutkörperchen sowie die Leukozytenformel ändern sich nach Mazocco und Morera (414) nach Insulineinspritzung beim Hunde nicht. Nach Nitzescu und Manguica (435) aber, die mit Kaninchen, mit normalen und pankreasdiabetischen Hunden und einer diabetischen Patientin arbeiteten, scheint in der ersten Stunde nach der Einspritzung eine Leukopenie aufzutreten: viel deutlicher ist jedoch die Leukozytose, welche sich dann konstant zeigt. Sie bestätigen, dass die Leukozytenformel sich nicht oder kaum ändert, und ebensowenig die Zahl der roten Blutkörperchen.

c) Blutzuckergehalt.

1. Freier Zucker.

α) Absinken des freien Blutzuckers durch Insulin, seine Verteilung auf arterielles und venöses Blut.

Die anscheinend weitaus wichtigste Wirkung des Insulins ist sein Vermögen, den Blutzuckergehalt erheblich zu erniedrigen. Diese fundamentale Tatsache, die zwar einigen von den früheren Forschern bei ihrer Arbeit mit mehr oder weniger gereinigten Extrakten nicht entgangen war [z. B. Kleiner, Paulesco (451)], fand erst ihre volle Würdigung und ihre grosse praktische Bedeutung, seitdem wir über bequemere und schnell ausführbare Methoden der Blutzuckerbestimmung verfügen und so das Verhalten des Blutzuckers in kurzen Abständen quantitativ verfolgen können.

Sofort bei ihren ersten Untersuchungen haben Banting und Best (29, 30, 35, 393) systematische Blutzuckerbestimmungen durchgeführt und ihre Kurven zeigen bei ihren pankreasdiabetischen Tieren unzweideutig den

steilen Abfall des Blutzuckers, unmittelbar nach der Einspritzung. Bald darauf entdeckten sie, dass auch beim normalen Kaninchen der Blutzuckergehalt sich mit ihrem Präparate in gleicher Weise erniedrigen liess: diese Beobachtungen wurden bei verschiedenen Tierspezies weiter fortgesetzt und schliesslich auch auf den normalen und speziell den diabetischen Menschen mit Erfolg übertragen (108, 177, 328, 504, 508).

Hier sei aber sogleich bemerkt, dass man statt „Blutzucker“ besser sagen sollte: „reduzierende Substanz“, denn alle Feststellungen, welchen wir im Verlauf unserer Zusammenstellung begegnen werden, sind, wie auch schon Noble und Macleod (440) mit Recht bemerken, mit Reduktionsmethoden erhalten, ohne dass die Forscher sich weiter viel um die chemische Natur des reduzierenden Agens gekümmert haben.

Beschränken wir uns zuerst auf die Folgen der subkutanen Injektion. Bestimmt man nach der Einspritzung den Blutzucker wiederholt in vielen kleinen Zwischenräumen, dann sieht man, dass er fast sofort zu sinken anfängt (341, 392); dies geht während der ersten 30 bis 90 Minuten nahezu geradlinig fort (165), ziemlich unabhängig von Dosis und Ernährungszustand. Meistens ist nach etwa zwei Stunden das Minimum erreicht. Dann bleibt er während einiger Zeit minimal, kürzer bei gut genährten, länger bei hungernden Tieren (165), und steigt dann langsam wieder an, bisweilen sogar eine Zeitlang über die Norm, um sich dann schliesslich auf diese wieder einzustellen. Die Kurve der Blutzuckererniedrigung ist nach Macleod eine logarithmische (392). (Wir kommen später im Kapitel Wertbestimmung darauf zurück.) War die Senkung des Blutzuckergehaltes tief genug und bestand sie genügend lange, dann tritt in sehr vielen Fällen der sog. „hypoglykämische“ Symptomenkomplex auf, den wir schon früher beschrieben haben, und zwar, wenn der Blutzucker in der Gegend von 0,45‰ angelangt ist. Einzelne Male treten die Symptome schon auf, wenn der Blutzucker noch weit darüber liegt, andere Male (z. T. auch wenn sehr grosse Dosen verabreicht wurden), sinkt der Blutzuckergehalt weit unterhalb die genannte Zahl, bevor Krämpfe auftreten, oder diese unterbleiben ganz (165, 392).

Obwohl wir schon mehrere blutzuckersenkende Stoffe kennen, ist die Schnelligkeit des Sturzes nach Insulin doch wohl für diese Substanz charakteristisch (393).

Die genannten Angaben beziehen sich hauptsächlich auf das periphere venöse Blut, weil man meistens mit Kaninchen gearbeitet und diesen das Blut aus den Ohrenvenen entnommen hat. Aber auch in anderen Gefässgebieten hat man schon Bestimmungen ausgeführt. Vor allem ist dabei auch der Gehalt in verschiedenen Gefässgebieten, bzw. in Arterien und Venen, untersucht worden.

So haben z. B. Cori c. s. (161) bei Kaninchen ohne Narkose die Vena hepatica, ganz ohne Verunreinigung mit Portalblut, und gleichzeitig auch die

Arteria und die Vena femoralis punktiert. Dabei zeigte sich, dass unter Insulineinfluss dem Blut aus der Leber weniger Zucker zugeführt und mehr von den Muskeln entnommen wurde als normal.

Weiter haben dieselben Autoren den Unterschied im Zuckergehalt zwischen arteriellem und venösem Blut bei normalen Menschen und Diabetikern studiert; während der Unterschied beim Gesunden im Mittel nur 0,055‰ betrug, war er bei Diabetikern merkwürdigerweise meistens grösser, und zwar lag die Differenz hier um 0,280‰. Bei 6 von den 7 Zuckerkranken wurde durch Insulin die Differenz noch weiter vergrössert, in einem anderen Falle nahm sie aber ab, und nach 3 Stunden waren Zuckergehalt von arteriellem und venösem Blute gleich (161).

Auch Frank, Nothmann und Wagner (246) fanden bei normalen Kaninchen kaum einen Unterschied zwischen arteriellem und venösem Blut. Sie spritzten Insulin in die Art. femoralis ein, und entnahmen dann der V. femoralis in kleinen Intervallen Blut, das verglichen wurde mit aus dem linken Ventrikel durch Punktion erhaltenem. Es zeigte sich jetzt eine deutliche Vergrösserung der genannten Differenz: erst nach etwa einer Stunde waren die beiden Werte wieder etwa gleich (d. h. zur Zeit, wo der Blutzucker noch minimal war? Ref.). Sie geben folgende Zahlen an: während aus 100 ccm Blut, nach Durchströmung der Muskulatur normal etwa 4 mg Zucker verschwunden sind, sahen sie bei ihren Versuchen mit Insulin bis zu 50 mg aus der gleichen Menge verschwinden. Desgleichen konnte Lawrence (363) den Befund von Foster bestätigen, dass beim gesunden Menschen nüchtern der Blutzuckergehalt von arteriellem (Kapillar-) und venösem Blute nahezu gleich ist, nach Ingestion von 100—200 g Glukose aber in den Arterien um 20—50% höher ist als in den Venen. Bei Diabetikern ist zwischen den hohen Nüchterwerten von arteriellem und venösem Blut die Differenz ebenfalls gering, aber hier tritt nach Glukosezufuhr keine oder nur eine viel geringere Vergrösserung auf als beim Gesunden; bisweilen enthält das venöse Blut sogar deutlich mehr Zucker als das arterielle, speziell wenn eine Insulinperiode vorangegangen ist. Insulin dreht die Differenz wieder um und vergrössert sie im allgemeinen derartig, dass die Verhältnisse sich den normalen nähern, obgleich in einzelnen Fällen der Effekt nur sehr gering ist.

Später haben Frank, Nothmann und Wagner (248) ihre Versuche wiederholt an 5 pankreasdiabetischen Hunden. Es zeigte sich, dass nach intraarterieller Insulineinspritzung an der injizierten Seite die Differenz in Blutzuckergehalt zwischen arteriellem und venösem Blute viel grösser wurde als an der nicht-injizierten Kontrollseite, wo sie unverändert blieb. Die Differenzen blieben 4—5 Stunden bestehen, und betrug bis zu 0,42‰. Auch beim pankreasdiabetischen Tiere werden also unter Einfluss des Insulins die Gewebe, speziell die Muskeln, befähigt zu einer erhöhten Zuckeraufnahme aus dem durchströmenden Blute. Bei 20 normalen Tieren war die Differenz

zwischen dem Blutzuckergehalt des arteriellen und dem des venösen Blutes nur 0,04—0,06‰, und zwar war immer der Gehalt des venösen Blutes niedriger; bei 3 von den 5 diabetischen Tieren hingegen war der Gehalt in der V. femoralis immer 0,06—0,12‰ höher als in der Art. femoralis. Spritzten sie dann Insulin ein, dann wurde in den ersten 10—20 Minuten diese Differenz noch grösser, dadurch, dass in der Arterie eher eine Erniedrigung auftrat als in der Vene, aber nach $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunde fing die Erniedrigung des venösen Blutzuckergehaltes an, zu überwiegen, so dass der venöse Blutzuckergehalt bald 0,20—0,50‰ niedriger war als der arterielle. Nebenbei sei bemerkt, dass diese Versuche einen peripheren Wirkungsmechanismus des Insulins erweisen, auch bei pankreasdiabetischen Tieren, oder, wie die Autoren sagen, sie machen es höchstwahrscheinlich, dass beim diabetischen Tier der Zuckerverbrauch in den Muskeln gestört ist.

Die verschiedene Reaktion, je nachdem die Individuen nüchtern sind oder Nahrung erhalten haben, erklärt vielleicht einige scheinbare Widersprüche in der Literatur, soweit die Autoren diesen Faktor nicht genügend berücksichtigt haben.

So sagen z. B. Faber (225) und Wertheimer (563), dass bei Normalen das Kapillar- und arterielle Blut viel mehr Zucker enthält als das venöse, während bei Diabetikern beide Werte nahezu gleich sind, und erst durch Insulin wieder ins selbe Verhältnis wie beim Gesunden kommen. McCormick (392) konnte bei pankreasdiabetischen Hunden gar keinen Einfluss des Insulins auf den Unterschied im Zuckergehalt zwischen arteriellem und venösem Blut feststellen. In einer späteren Mitteilung (304) bestätigt er dies nochmals: es wurden aber nur narkotisierte Tiere verwendet, bei denen, wie allgemein bekannt, der Zuckerstoffwechsel keineswegs als normal angesehen werden darf: deshalb sind die Versuche nicht einwandfrei, um so mehr, als es sich hier überhaupt nur um minimale Unterschiede handelt.

Bei Gesunden scheint der Muskel nur im Anfang der Insulinwirkung etwas mehr Zucker aus dem Blute aufzunehmen als sonst.

Die Ergebnisse der verschiedenen Autoren widersprechen sich und um sie besser zu übersehen, haben wir sie in einer Tabelle vereinigt. Darin bedeutet +, dass die Differenz im Zuckergehalt in arteriellem und venösem Blut gefunden deutlich war, d. h. der Gehalt im arteriellen höher; ++, dass sie sehr deutlich, +++ , dass sie besonders stark war; Ø dass keine Differenz vorhanden, und — dass im venösen Blut mehr Zucker als im arteriellen Blut vorhanden war. Ein ? neben dem Zeichen bedeutet, dass der betreffende Autor sich nur undeutlich geäußert hat (s. folgende Seite).

Zum Teil liegen die Widersprüche hinsichtlich des Bestehens von Differenzen zwischen Zuckergehalt in arteriellem und venösem Blut beim Normalen, wie schon gesagt, vielleicht darin, dass zwischen Nüchterwerten und Werten nach bereits erfolgter Nahrungsaufnahme nicht genug geschieden

Tabelle.

	Mensch					Hund			Kaninchen		
	Cori	Foster	Lawrence	Faber	Wertheimer	Wertheimer	Mc Cormick	Frank und Nothmann	Cori		Frank und Nothmann
									Bein	Leber ¹⁾	
Normal	+	∅	∅	++	++			+	+	++	∅
Normal mit Insulin . .	+++?								++	+	++
Diabetisch	++		∅	∅	∅			{ + - +}			
Diabetisch mit Insulin .	{ ++++ ∅		{ + ++	++			∅	++			
Normal nach Glukose .		++	++								
Diabetisch nach Glukose			{ ∅ -								

ist. Ziemliche Einheitlichkeit scheint darin zu bestehen, dass Insulin die Differenz vergrößert, also den Verbrauch des Zuckers im Gewebe steigen lässt. Ob dies aber einem wirklich unmittelbaren Einfluss des Insulins zuzuschreiben ist, weiss man so lange nicht, als nicht festgestellt ist, dass die Strömungsgeschwindigkeit des Blutes nach Insulin die gleiche bleibt. Wir glauben, dass man mit den toxischen Gaben, die man beim Kaninchen angewandt hat, und den obigen Erfahrungen über den verlangsamten Kreislauf danach wohl mit einer Veränderung der Strömungsgeschwindigkeit rechnen muss.

Auf die Frage, warum sinkt der Blutzucker, werden wir noch wiederholt im Laufe der weiteren Behandlung zurückkommen, ohne sie leider irgendwie befriedigend beantworten zu können.

β) Natur des freien Blutzuckers, γ-Glukose.

Im Anfang des vorigen Abschnittes haben wir schon kurz darauf hingewiesen, dass das, was man gewöhnlich als „freien Blutzucker“ bezeichnet, diesen Namen nicht ohne Einschränkung verdient. Bei derartigen Untersuchungen begnügt man sich meistens damit, das Reduktionsvermögen des enteiweissten Blutes gegenüber einer alkalischen Kupferlösung festzustellen, und rechnet das Ergebnis dann stillschweigend auf Glukose um. Dies mag praktischen Bedürfnissen genügen, streng wissenschaftlich ist es gewiss nicht, denn man müsste sich überzeugen:

1. dass keine anderen reduzierenden Stoffe anwesend sind,
2. dass das anwesende Kohlenhydrat wirklich Glukose im chemischen Sinne ist.

Diese Forderung ist um so mehr berechtigt als man auch unter physiologischen geschweige unter pathologischen Verhältnissen den Blutzucker noch

¹⁾ Zuckerabgabe durch die Leber ans Blut der Vv. hepaticae.

sehr unvollständig kennt. In seinem vor wenigen Jahren publizierten Übersichtsreferat wagte auch Macleod (391) es nicht eine endgültige Meinung auszusprechen.

Sogar über die physikalische Natur des freien Blutzuckers, ob kolloidal oder molekular gelöst, ist lange heftig gekämpft worden: auf Grund vieler Experimente, unter denen wir hier z. B. die Diffusionsversuche von Rona unter anderen nennen wollen, ist man zur Überzeugung gelangt, dass es sich um eine wirkliche molekulare Lösung handle. Noch in letzter Zeit hat diese Lehre eine neue Stütze erhalten durch die mit anderer Technik ausgeführten Versuche von Delaville c. s. (180). Diese Autoren konnten in Ultrafiltrationsversuchen feststellen, dass der freie Blutzucker sich in wirklicher Lösung, und nicht in kolloidaler Form im Blute vorfindet, sowohl bei gesunden Menschen und Tieren als bei Diabetikern.

Dann kommt die Frage, wo im Blute der freie Zucker sich vorfindet, im Plasma, in den Zellen, oder über beide Komponenten gleichmässig oder ungleichmässig verteilt. Auch hier bestehen wieder endlose Kontroversen, die auch jetzt noch nicht aufgehört haben, und zu denen wir denn auch keine Stellung nehmen wollen. Mit Rücksicht auf das hier uns beschäftigende Thema wollen wir nur die Versuche von Wiechmann (569) anführen. Während er bei Gesunden in Körperchen und Plasma immer etwa gleichviel Zucker findet, soll bei Diabetikern das Plasma mehr Glukose enthalten als die Erythrozyten: Insulinverabreichung verursacht aber dann sofort wieder eine gleichmässige Verteilung über die beiden Blutbestandteile. In vitro vermisste er jeden Einfluss des Insulins auf die Verteilung von extra zugesetzter Glukose über Plasma und Erythrozyten, sowohl beim Blut normaler wie diabetischer Individuen. (Ob dies aber etwas mit der Permeabilität der Blutkörperchen zu tun hat, wie Wiechmanns Fragestellung war, ist sehr fraglich.)

Nach Högler und Überraack (309) sinke der Erythrozytenzucker bei Diabetikern absolut schnell, während das Verhältnis von diesem zum Plasmazucker gleichbleibt, sinkt oder ansteigt, anscheinend ohne Zusammenhang mit Intensität oder Dauer der Insulinwirkung.

Zum Schluss die chemische Natur des freien Blutzuckers. Dass bei den gewöhnlichen Blutzuckerbestimmungen nicht alle reduzierende Substanz Glukose ist, weiss man schon längst: die üblichen Methoden der Enteiweissung lassen noch eine ganze Reihe von reduzierenden Substanzen, sei es auch unter physiologischen Verhältnissen in nur geringen Mengen, in Lösung. Sobald aber die Verhältnisse in irgendeiner Weise verschoben werden, hat man ohne besonders darauf gerichtete Untersuchungen gar keine Gewähr dafür, dass nicht jetzt ihre Rolle viel bedeutender wird.

Doch besteht kein Zweifel, dass im Blute wirklich eine beträchtliche Menge Glukose vorkommt. Aber welche? Denn nach neueren Untersuchungen hat man bei der Glukose eine α -, eine β - und nach einigen Untersuchern

sogar eine γ -Form zu unterscheiden, deren hauptsächlichste Differenz in ihrem verschiedenen optischen Drehungsvermögen liegt. Anfänglich hat man sich wenig um diese Frage gekümmert, bis sie auf einmal reges Interesse erweckte durch die Aufsehen erregenden, in einer Reihe von schnell aufeinander folgenden Publikationen niedergelegten Befunde von Winter und Smith. Diesen Autoren gelang es, nach einer umständlichen Verarbeitung, eine konzentrierte Lösung des Blutzuckers, frei von Proteinen, zu erhalten. Daran glaubten sie die merkwürdige Tatsache feststellen zu können, dass bei allen untersuchten Spezies (Mensch, Rind, Schaf, Katze, Kaninchen) bei normalen Individuen das anfängliche optische Drehungsvermögen konstant auffallend geringer ist, als mit dem aus der Reduktion berechneten Glukosegehalt übereinstimmt¹⁾. Lässt man die sterile saure Lösung eine Zeitlang stehen, dann wird der Unterschied allmählich geringer, ist nach 24 Stunden schon bedeutend kleiner geworden, um schliesslich ganz zu verschwinden. Die Eigenschaften stimmen dann mit einer gewöhnlichen, ins Gleichgewicht gekommenen, α - β -Glukosemischung überein (574).

Aus verschiedenen Gründen, auf die wir hier nicht näher eingehen wollen, sind sie zu der Annahme gekommen, diese Diskrepanz sei dadurch zu erklären, dass der normale Blutzucker nicht das gewöhnliche Gleichgewichtsgemisch von α - und β -Glukose sei, sondern die seit einiger Zeit von Irvine u. a. entdeckte, noch unvollständig bekannte γ -Glukose (574, 576).

Diese Versuche sind mit gleichem Ergebnis von Macleods Mitarbeiter Eadie (208, 393) wiederholt worden.

Auch Nakahayashi c. s. (430) konnten diese experimentellen Tatsachen bestätigen: der Polarisationswert des normalen Blutzuckers steigt, wenn man ihn eine Zeitlang stehen lässt, nicht nur bis, sondern sogar über den Reduktionswert. In der Deutung der Befunde aber können sie sich nicht ohne weiteres Winter und Smith anschliessen; auch erkennen sie an, dass die Methode keineswegs einwandfrei ist: Man untersucht Lösungen, welche noch viel Wolframsäure enthalten, und es ist eine altbekannte Tatsache, dass Glukose mit Boraten, Molybdaten, Wolframaten und einer ganzen Menge anderen Stoffen Verbindungen mit sehr stark störender optischer Aktivität gibt. Auch kommt der Zucker nach dem Einengen in ein ziemlich stark saures Milieu, was gleichfalls stören kann.

Denis und Hume (184) schreiben die Änderung des Polarisationswertes der Wirkung von Schimmelpilzen zu (Winter und Smith sagen steril gearbeitet zu haben!): benutzten sie bei der Verarbeitung statt Kaliumoxalat KF oder NaF mit oder ohne Thymolzusatz, dann traten diese Änderungen weder in den Blutextrakten noch in den „Imitationen“ (Glukose + Salze + N-haltige Extraktivstoffe) auf. Dass die Titration höhere Werte ergab als

¹⁾ Derartige Diskrepanzen waren aber auch früheren Forschern schon aufgefallen. Vgl. Stepp in Asher-Spiros *Ergebn. d. Physiol.* **20**. 108. 1922.

die Polarimetrie, bestätigen sie, aber dasselbe beobachteten sie bei gleichförmiger Verarbeitung der „Imitationen“. Die Geschwindigkeit, mit der die Blutzuckerlösungen Permanganatlösungen entfärbten, änderte sich beim Stehen entgegen den Angaben von Winter und Smith gar nicht.

Per os verabreichte grosse Mengen von gewöhnlicher Glukose oder Fruktose können nach Winter und Smith als solche nicht im Blute wiedergefunden werden, weil sie sehr schnell in die γ -Glukoseform umgesetzt werden (576). Nervöse Einflüsse ändern sowohl Menge als chemische Natur des Blutzuckers (576).

Anders wie der Blutzucker des Normalen soll nach Winter und Smith der des Diabetikers sein; er soll zwar auch ein Gemisch von α - β -Glukose sein, aber dies entweder in abnormem Verhältnis (relativ mehr α - bzw. weniger β -) oder zusammen mit noch einem anderen rechtsdrehenden Zucker enthalten.

Thannhauser und Jenke (529) haben die Vorschrift von Winter und Smith genau nachgearbeitet mit Blut von 2 Gesunden, 3 Diabetikern und 3 Nephritikern. Sie sahen, im Gegensatz zu den Befunden von Winter und Smith, sowohl bei Gesunden als bei Diabetikern den Polarisationswert, der von Anfang an schon niedriger war als der Reduktionswert, gleichmässig abnehmen, während der Reduktionswert etwa gleich blieb. Diese Autoren aber weisen darauf hin, dass in Glukoselösungen die optische Drehung sich durch verschiedene Ursachen ändern kann:

1. durch die gewöhnliche Mutarotation, die man sofort nach dem Auflösen beobachtet, und die endet mit dem Erreichen des Gleichgewichts zwischen α - und β -Form;
2. dadurch, dass man das p_H einer sich in Gleichgewicht befindenden α - β -Lösung ändert;
3. durch Kondensation und Polymerisation.

Sie vermuten, dass nun die von Winter und Smith erhobenen Befunde auf Vernachlässigung des p_H beruhen: setzt man dem enteweißten Blutserum Säure zu, dann sieht man den Polarisationswert ansteigen. Auch diese Autoren betrachten die Anwesenheit der γ -Glukose im Blute als keineswegs bewiesen.

Tatsächlich gelang es Visscher (547a), experimentell zu zeigen, dass man durch geringfügige Änderung des p_H während der Verarbeitung beliebig „normale“ oder „pathologische“ Resultate erhalten kann sowohl bei diabetischem als bei normalem Blut. Ausserdem macht er darauf aufmerksam, dass bei der Methodik von Winter und Smith optisch aktive Stoffe wie Aminosäuren, Milchsäure, β -Oxybuttersäure nicht entfernt werden.

Nach White (563a) ändert sich durch Zusatz von Insulin in vitro zu Glukoselösungen mit und ohne Leberbrei, gelöst in $m/10$ Na_2HPO_4 -Lösung, bei Aufenthalt im Brutschrank das Verhältnis zwischen optischem Drehungsvermögen und Reduktionsvermögen nicht gegenüber den Kontrollen.

Zur Klärung der Frage hat man auch der Zuckerausscheidung mit dem Harn seine Aufmerksamkeit gewidmet, vielleicht könnte man hier einen Fingerzeig finden. So spritzten Thannhauser und Jenke (529) zu diesem Zweck bei zwei Gesunden und zwei Diabetikern je einmal 35 g α - β -Glukose und einmal 35 g β -Glukose ein. Es zeigte sich, dass nach der β -Glukose bei allen (mit Ausnahme eines Diabetikers) die Glukoseausscheidung etwas höher war als nach dem α - β -Gemisch. Der mit dem Harn nach Injektion von β -Glukose ausgeschiedene Zucker wurde (nur basierend auf dem Ergebnis der Vergärung! Ref.) als α - β -Gleichgewichtsgemisch identifiziert. β -Glukose verminderte die Acetonurie etwas weniger stark als die α - β -Form. Danach scheint es also, dass Diabetiker die β -Glukose, die nach der Voraussetzung von diesen Autoren wegen ihrer Struktur noch leichter in die γ -Form übergehen sollte als die α - β -Form, gerade schlechter verarbeiten können als α - β -Glukose. Bei diesen Versuchen handelt es sich aber nur um ziemlich geringe Unterschiede.

Im Anschluss an diese Untersuchungen, bei denen die Verwendung von α -Glukose unterblieben war, haben Lipmann und Planelles (377b) in unserem Laboratorium versucht, ob auch bei Kaninchen eine schlechtere Verarbeitung von extra zugeführter β -Glukose, oder mit anderen Worten eine Bevorzugung der α -Glukose zu zeigen war. Dazu wurde der Verlauf der Blutzuckerkurve nach steriler intravenöser Injektion von α -, von β - und von α - β -Glukose (polarimetrisch kontrolliert) verfolgt. Obwohl die Zahl der Versuche vielleicht noch zu gering ist, um endgültige Schlüsse zu ziehen, fiel es doch auf, dass kein Unterschied bestand hinsichtlich des Grades wie der Dauer der Blutzuckersteigerung nach Einspritzung von α - und von β -Glukose; dagegen wurde nach Einspritzung der gewöhnlichen α - β -Gleichgewichtsglukose eine höhere Steigerung und eine Verlängerung von deren Dauer gefunden, also ein Ergebnis, als ob gerade dieses Gemisch am schlechtesten verarbeitet wurde.

Nach Tallerman (523) unterscheidet sich auch der nach Phlorhizinvergiftung ebenso wie der bei Diabetes ausgeschiedene Zucker in nichts vom gewöhnlichen α - β -Gleichgewichtsgemisch.

Zusammenfassend muss man also sagen, dass zwar Winter und Smith richtig beobachtet haben, (wenigstens sind ihre Resultate von mehreren Autoren, die sich genügend eingearbeitet haben (430), bestätigt worden), dass aber ihr Befund wahrscheinlich ein Kunstprodukt war, durch Zusammenwirken mehrerer Faktoren entstanden: Nichtbeachten des p_H , umständliche, stundenlang dauernde Verarbeitung und Geringfügigkeit der polarimetrischen Unterschiede. Doch richtet sich die Kritik nicht so sehr gegen die experimentellen Befunde als gegen die Interpretation, die ihnen von Winter und Smith gegeben wurde (208, 393). Denn auch nach der chemischen Seite ist die γ -Glukose, wenn sie überhaupt besteht, noch ungenügend bekannt.

Übrigens haben Winter und Smith ihre Hypothesen über die Natur des normalen Blutzuckers schon längst (Mai 1923) widerrufen (575a), so dass wir sie hier nicht nochmals hätten behandeln müssen, wenn sie nicht auch in der augenblicklichen Literatur immer wieder, teils durch Behauptungen zu ihrer Stütze, öfter noch durch Widerlegungen eine grosse Rolle spielten. Und — das ist der Hauptgrund für uns — wir konnten auch nur sagen: es ist wahrscheinlich, dass die Ergebnisse von Winter und Smith sich auf Kunstprodukte stützen. Wir müssen mit der Möglichkeit rechnen, dass sie auf realerem Boden stehen. Dafür könnten die merkwürdigen Erfahrungen sprechen, welche Richaud und Coirre (472) mitgeteilt haben. Sie bemerkten, dass einige frisch dem Körper entnommenen Organe imstande sind die optische Drehung von einigen Zuckern (hauptsächlich Glukose und Laktose) und Glukosiden nach links zu verschieben, ohne dass das Reduktionsvermögen sich entsprechend ändert. In dem Sinne wirkt z. B. die mit Alkohol behandelte bei 120° sterilisierte Darmmukosa auf Glukose, Laktose, Amygdalin und β -Methylglukosid, während Kontrollen ohne Mukosa ihre normalen Werte beibehalten. Im Brutschrank bei 38° erreicht diese Verschiebung nach links ihr Maximum nach etwa 8 Tagen, nimmt dann wieder ab und erreicht den Ausgangswert wieder ± 3 Wochen nach Anfang des Versuchs, und zwar, je konzentrierter die Lösung, desto schneller. Das Schleimhautpräparat selbst gibt an die Flüssigkeit keinen linksdrehenden Stoff ab; es verliert seine Wirksamkeit bei trockenem Aufbewahren in wenigen Monaten. Bei Bestimmung des reduzierenden Vermögens der Zuckerlösung mit der Methode von Bertrand zeigte sich zwar eine geringe Abnahme, aber eine viel geringere als der Drehungsverminderung entsprechen würde. Die Autoren glauben nicht, dass γ -Glukosebildung in solchen Fällen in Frage komme; die Tatsache, dass die Mukosa nach Sterilisation bei 120° ebensogut wirkt wie sonst, zeige, dass das wirksame Agens kein Ferment sei. Auch an einer Kondensation des Zuckers zu einem stark linksdrehenden Polymeren glauben sie nicht. Eher denken sie an eine Kombination von Zucker mit Eiweiss: so kann man z. B. Glykokoll an Glukose binden, wobei die Aminogruppe einerseits, die Aldehydgruppe andererseits sich miteinander verbinden; diese Art der Bindung ist also für allerhand andere Aminosäuren und Zuckerarten ebensogut möglich. Einmal haben sie vergeblich versucht, einen derartigen Stoff zu bekommen, doch glauben sie, dass die Lösung in dieser Richtung zu suchen sei. Damit ist der Übergang zum nächsten Kapitel gebildet.

2. Gebundener Zucker.

Dieses Kapitel war ziemlich schwierig zu ordnen, weil es nur so wenige feststehende Tatsachen, und so viele Widersprüche, Voraussetzungen und Hypothesen umfasst. Erstens ist, wie wir schon gesehen haben, unsere Kenntnis des normalen freien Blutzuckers noch lückenhaft. Dann kommt

als zweites Problem hinzu, an welchen Stoffen der freie Zucker sich bindet, und als drittes, wie diese Bindung zustande kommt. Wenn wir hier einigermaßen eine Einteilung durchführen müssen, so hat man

- α) eine Bindung an eiweissartigen Stoffen: Eiweisszucker,
- β) „ „ „ anderen Kohlenhydraten: Polysaccharide,
- γ) „ „ „ Phosphorsäure: Lactacidogene

zu unterscheiden.

Es muss aber gleich bemerkt werden, dass der essentielle Befund nur der ist, dass nach dem übereinstimmenden Urteil zahlreicher Autoren, Blut imstande ist, nach Hydrolyse stärker reduzierend zu wirken, als zuvor. Ob dies tatsächlich auf Glukosezunahme beruht, ist nur selten kontrolliert worden; andererseits haben z. B. die Autoren die über Eiweisszucker schreiben, sich nur selten oder niemals überzeugt, ob der zurückgebliebene Rest nun wirklich Eiweiss oder ein Eiweissderivat, oder nicht ein ganz andersartiger Stoff ist; ebensogut könnten alle Stoffe, die unter der Überschrift „Polysaccharide“ behandelt werden, zum Eiweisszucker gehören usw.

a) Eiweisszucker.

Schon im Vorwort haben wir erwähnt, dass gerade auf diesem Gebiet die Kenntnis der Literatur (hauptsächlich französisch) wenig verbreitet ist. Wir müssen darum auch die Arbeiten, die sich mit dem normalen Verhalten des Eiweisszuckers beschäftigen, ausführlicher besprechen, wollen wir den Einfluss des Insulins hierauf erkennen.

Ausser den ohne besondere Vorbereitung (mit Ausnahme der Enteiweissung) bestimmaren reduzierenden Substanzen im Blute, welche man meistens zu Unrecht einfach als Glukose betrachtet (510), kann man durch besondere Massnahmen, und zwar durch Hydrolyse mit Säure, eine weitere Menge von reduzierenden Substanzen freimachen, wie zuerst Figuiet 1855 (157) und Pavy (64, 391) zeigten.

Welcher Art die Stoffe dieser letzten Kategorie sind, ist noch nicht endgültig entschieden: nach den Untersuchungen einiger französischer Forscher, speziell Bierrys und seiner Schüler, handelt es sich hier um den sogenannten „Eiweisszucker“, der bestehen soll aus Glukose, die sich mit den Eiweissbestandteilen des Blutes verbunden hat. Da diese französischen Untersuchungen im allgemeinen wenig bekannt sind, soll hier etwas näher darauf eingegangen werden.

Die qualitative Aufarbeitung war folgende: Aus dem Blute liessen Bierry und Fandard (61, 65) den Zucker steril wegglykolysieren, trennten dann das Serum ab, hydrolysierten es im Autoklav bei 120° mit H₂SO₄, entfernten diese mit Ba(OH)₂, filtrierten, und schlugen im Filtrat das Eiweiss mittels Mercurinitrat oder -acetat nieder, entfernten das Quecksilber, dunsteten im Vakuum ein und bestimmten dann die optische Drehung und die Reduktion, stellten das Osazon dar, präzipitierten fraktioniert aus alkoholischer Lösung mit Äther und liessen den Zucker alkoholisch vergären.

Aus dem Resultat aller dieser Untersuchungen ziehen sie den Schluss, dass der gefundene Stoff d-Glukose sei, mit einer Beimischung vielleicht von höchstens 10% Glukosamin.

Bemerkenswert ist, dass also das Serumeiweiss durch Hydrolyse Glukose liefert, während man aus dem Eiweiss der verschiedenen Organe, z. B. von Leber oder Pankreas, Pentosen (Xylose, Ribose) erhält (69).

In einer ihrer ersten Mitteilungen (67) geben Bierry und Fandard die folgende quantitative Methode an:

Sofort beim Verlassen der Arterie wird das Blut in destilliertem Wasser aufgefangen, eventuell mit Zusatz von etwas Natriumfluorid oder Natriumcarbonat. Dann setzt man die Säure unter Schütteln zu und erhitzt im Autoklaven auf 120°. Diese Temperatur erwies sich bei vergleichenden Versuchen mit verschiedenen Temperaturen als die geeignetste. Bei Verarbeitung einer bestimmten Blutprobe mit verschiedenen Säuren (H_2SO_4 , HCl, HF) war das Ergebnis das gleiche, nur wirkt die eine Säure (HF) etwas langsamer als die anderen. Die Reduktion wurde bestimmt nach Bertrand-Mohr und auf Glukose umgerechnet.

Der gebundene Zucker wird gefunden durch Abziehen des freien Zuckergehaltes vom totalen Zuckergehalt, oder dadurch, dass man zuerst den freien Zucker in irgend einer Weise zerstört (mit Lauge, Pottasche, durch Glykolyse) und dann nach Hydrolyse den freigebliebenen Zucker bestimmt; denn der Eiweisszucker wird in vitro durch die gewöhnliche Glykolyse oder durch Erwärmen mit verdünnter Kalilauge oder Pottasche nicht zerstört (63, 228).

Die mit beiden Methoden gefundenen Werte stimmen befriedigend überein. Später (1918) ist die Technik noch weiter vervollkommen worden. Die jetzt geltende Vorschrift lautet wie folgt (71):

Wenn man Blut als solches untersuchen will, muss dies zuerst mit 3 Volumina Aqua dest. verdünnt werden, Plasma mit wenigstens $1\frac{1}{2}$ Volumen Aqua dest., weil sonst die Lösung zu konzentriert ist. Dann setzt man pro 100 ccm 2 ccm H_2SO_4 (66° Bé; $D = 1,84$, chemisch rein, frei von salpetriger Säure und Salpetersäure) zu und erhitzt während 40 Minuten im Autoklaven bei 120°.

Nach Abkühlen und Neutralisieren wird das Eiweiss niedergeschlagen mit 40% Merkurinitratlösung (erhalten durch Auflösen von Merkurinitratplättchen in Aq. dest., das genügend HNO_3 enthält; sie darf keine reduzierende Stoffe enthalten, blinder Versuch!), Technik weiter nach Bierry und Portier (Cpt. r. soc. biol. 1902, 1276; *ibid.* 1909, 577). Zuckerbestimmung nach G. Bertrand.

Der Eiweisszucker wird dann bestimmt durch Abziehen des freien Zuckergehaltes vom Totalzuckergehalt.

Wenn man im Plasma den Eiweisszucker bestimmen will, wird das Blut mit NaF ungerinnbar gemacht (je 100 mg NaF auf 50 ccm Blut), dann sofort zentrifugiert und das Plasma abgegossen; in den 6—7 Minuten, die die ganze Verarbeitung dauert, tritt weder Gerinnung noch Glykolyse auf. Dann misst man z. B. 50 ccm Plasma ab, setzt 75 ccm Aq. dest. zu und $2\frac{1}{2}$ ccm H_2SO_4 , hält es 30 Minuten bei 120°, fügt dann 35 ccm der Merkurinitratlösung zum Enteiweissen zu und bestimmt den Zucker nach Bertrand.

Auch kleinere Blutmengen, sogar 10 ccm genügen schon.

Eine Mikromethode ist neuerdings von Condorelli (157) ausführlich mitgeteilt worden.

Auch wenn man weniger stark hydrolysiert, bekommt man reduzierende Substanzen, wie sie z. B. Lépine schon seit 1891 untersucht hat. Die Befunde Lépines kann man am übersichtlichsten wie folgt gruppieren (157):

1. Es besteht im Blut ein „nicht-freier“ Zucker, der in Freiheit gesetzt wird, wenn man das Blut auf dem Wasserbade einige Stunden auf 58° erwärmt (sucre virtuel).

2. Die reduzierenden Stoffe des Blutes vermehren sich noch mehr, wenn man ein hydrolysierendes Ferment (Invertin oder Emulsin) einwirken lässt (schwach gebundener Zucker).

3. Eine dritte Zuckerfraktion kann man in Freiheit setzen durch Hydrolyse mit schwachen Säuren, z. B. Weinsäure.

4. Schliesslich kann man noch eine Fraktion abspalten nur durch Hydrolyse mit starken Säuren (stark gebundener Zucker).

Als „Eiweisszucker“ von Bierry und seinen Mitarbeitern, „gebundener Zucker“ von Condorelli muss nun die Summe dieser vier Fraktionen gelten; denn diese Autoren fraktionieren nicht, sondern greifen den gesamten „nicht-freien“ Zucker sofort durch Hydrolyse mit starker Säure an und setzen ihn so in Freiheit. Deshalb wollen Bierry und Fandard (64, 69) mit Recht ihren „Eiweisszucker“ scharf geschieden wissen vom „sucre virtuel“, der im Laufe der Jahre von Lépine schon als Glykogen, als Glykuronsäureverbindungen, als ein Glukosid und anderes mehr betrachtet wurde; ihrer Ansicht nach kommt keiner von den genannten Stoffen im Blute vor, ebensowenig wie der „sucre virtuel“ (s. w. u.), während Condorelli wieder zugibt, dass sich ausser durch Hydrolyse mit den starken Säuren auch etwas Zucker abspalten lässt mit weniger eingreifenden Mitteln. Uns scheinen die Ansichten der Forscher noch nicht geklärt, denn auch Bierry (63) selbst behauptet an anderer Stelle wieder, dass im Blut mehrere Stoffe vorkommen, die nach Hydrolyse Zucker liefern.

Im normalen enteweissten Blutfiltrat ist nach Bierry mit Säure keine reduzierende Substanz mehr abzuspalten (69). [Stasiak (506) aber findet im enteweissten venösen oder arteriellen Hundebloodfiltrat nach Hydrolyse mit 2% HCl doch eine Erhöhung des Reduktionsvermögens: es soll keine Maltose in Frage kommen, wohl aber vielleicht ein kolloidales Polysaccharid. Technische Unterschiede bei der Verarbeitung spielen hier vermutlich eine Rolle.] Nach Bierry schliesse diese Tatsache die Möglichkeit aus, dass die Erhöhung der Reduktion durch Hydrolyse des Gesamtblutes beruhe auf der Aufspaltung von Glukosiden oder hydrolysierbaren Zuckerarten. Auch kann kein Glykogen in Frage kommen, weil zwar verdünnte, warme Lösungen von Pottasche oder Kalilauge die untersuchte Substanz intakt lassen, die mehr konzentrierten Lösungen, die man bei der Glykogenbestimmung verwendet, sie aber vollständig zerstören. Auch Glukuronsäureverbindungen können aus verschiedenen Gründen ausgeschlossen werden.

So kamen Bierry und Ranc (69) dazu, den Zucker als Teil des Eiweissmoleküls zu betrachten. Sie führen hierfür auch experimentelle Belege an: z. B. aus Blut auf verschiedene, genau beschriebene Weisen unter allen Vorsichtsmassregeln hergestelltes Fibrinogen, Serumglobulin und Serumalbumin lieferten alle nach Hydrolyse Zucker (69).

Andere Versuche wiesen darauf hin, dass sich der Zucker auch an weniger komplexe Moleküle, z. B. an Polypeptide binden kann. Aus diesen Gründen haben Bierry und Ranc (69) 1914 vorgeschlagen, den gebundenen Zucker Eiweisszucker zu nennen. Er soll eine Zwischenstellung zwischen den Proteinen und den Kohlenhydraten einnehmen (71). Condorelli (157) ist davon aber auch jetzt noch nicht überzeugt und gibt dem Namen „gebundener Zucker“ noch immer den Vorzug.

Dass wir selbst den Namen Eiweisszucker hier gebrauchen, findet seinen Grund nur darin, dass die referierten Mitteilungen unter diesem Namen in der Literatur zu finden sind. Auch unserer Ansicht nach wäre vorläufig der Name: „gebundener Zucker“ ohne weiteres zweckmässiger.

Für eine bestimmte Spezies und im besonderen für ein bestimmtes Individuum, ist das Verhältnis freier zu gebundenem Zucker ebenso wie der Gesamtzuckergehalt des Blutes unter konstanten äusseren Umständen nahezu konstant (67, 369). Ebenso ist für jede Tierart der Quotient Eiweissstickstoff-Eiweisszucker charakteristisch (61, 69). Bei einem bestimmten Individuum ist der freie Zuckergehalt des Plasmas viel variabler als der Eiweisszuckergehalt (63).

Bei den verschiedenen Tierarten verlaufen die Körpertemperatur und der Gehalt an freiem Blutzucker etwa parallel, so dass man z. B. die Reihe bekommt: Vögel (42°) — Hund ($39,2^{\circ}$) — Pferd ($37,7^{\circ}$) usw. Der Eiweisszucker verhält sich aber genau umgekehrt: so beträgt z. B. beim Huhn der gebundene Zucker weniger als der freie, beim Hunde sind die Werte etwa gleich, beim Pferde ist der Gehalt an Eiweisszucker höher als der des freien Zuckers, beim Kaltblüter liegt der Eiweisszuckergehalt noch viel höher (65, 67, 228).

Beim normalen Menschen enthält nach Bierry und Rathery (74) das venöse Blutplasma zwischen 600 und 800 mg gebundenen Zucker pro Liter; Condorelli erhielt etwas niedrigere Werte, so dass nach ihm die gebundene Zuckermenge etwa 55% der freien beträgt. Doch kommen für diese Differenz vielleicht methodische Unterschiede in Betracht.

Die Blutkörperchen besitzen weniger freien und weniger Eiweisszucker als das Plasma (61); das venöse Plasma enthält bei den untersuchten Tierarten (Pferd, Huhn, Hund) unter Berücksichtigung des Wassergehalts weniger freien, aber mehr gebundenen Zucker als das arterielle (65, 71, 367); dies beruhe nach Bierry darauf, dass die Muskeln, ausser zur Polymerisation von Glukose zu Glykogen auch zur Kondensation von Glukose mit Polypeptiden

imstande seien: die freien Enden der Peptid-Gruppen sollen den Zucker binden, wobei zugleich seine Aldehyd-Gruppe blockiert werde.

Der durch Hydrolyse aus dem venösen Blut erhaltene Zucker schien weniger fest gebunden als der aus dem arteriellen Blute, denn er wurde schon nach kürzerer Erhitzungszeit erhalten; dies beruhe nach Lépine und Boulud (367) nicht auf der Anwesenheit von CO_2 , denn in den Lebervenen sei die Bindung ebenso fest wie im arteriellen Blute. Diese Autoren benutzen aber eine etwas andere Technik wie Bierry c. s., denn sie koagulieren zuerst das Eiweiss, laugen das Koagulum aus, und erst dann wird es hydrolysiert (mit dem träge wirkenden HF) (368).

Condorelli (157) fand bei 4 Gesunden morgens nüchtern den freien Zuckergehalt des venösen Blutes konstant etwas (sei es auch innerhalb der Fehlergrenze) niedriger als den des Kapillar- (d. h. arteriellen) Blutes: hingegen bleibt der Gehalt an gebundenem Zucker nach Passage durch die Muskulatur nahezu unverändert. Eine zwei Minuten anhaltende Stauung steigerte diese Erscheinung nur unbedeutend: dass Lépine (367) grössere Unterschiede fand, schreibt Condorelli auf Rechnung der Möglichkeit, dass Kapillar- und Arterienblut vielleicht doch nicht identisch seien.

Der Abbau des Eiweisszuckers soll nach Bierry und Rathery (73) in der Leber erfolgen, denn das Plasma der Venae hepaticae enthält viel mehr freien und weniger gebundenen Zucker als das der Vena portae. Auch das Verhältnis Eiweissstickstoff-Eiweisszucker bestätigte diesen Befund (in jedem Plasma wurden Wasser, freier Zucker, Eiweisszucker und Eiweiss bestimmt).

Über den Aufbau wissen wir, dass wenn man z. B. einem Gesunden 20 Gramm Glukose per os verabreicht, der freie Zuckergehalt schnell bis zu seinem Maximum steigt und dann wieder steil abfällt. Demgegenüber beginnt der gebundene Zucker schon 10 Minuten nach der Zuckeringestion zu sinken, erreicht nach 20 Minuten sein Minimum (während der freie Zucker maximal ist), steigt dann wieder, bis nach etwa 90 Minuten die Norm schon überschritten ist. Der gebundene Zucker durchläuft sein Maximum, wenn der freie schon wieder normal ist. Dann sinkt der gebundene langsam wieder bis zur Norm ab, die nach etwa 2 Stunden wieder erreicht wird, nach Condorelli dadurch, dass die Gewebe den Zuckerüberfluss speichern, was seiner Ansicht nach nur bei Gegenwart von Pankreashormon geschehen kann (155, 157).

Lässt man Tiere verhungern, dann sieht man in der agonalen Periode, z. B. beim Hunde vom 12. bis zum 16. Tage (bisweilen nach einer vorübergehenden Erhöhung) einen steilen Abfall von Temperatur und freiem Zucker, demgegenüber aber eine starke Erhöhung des Eiweisszuckers, die beim Tode maximal ist. Dies bedeute eine bruske Mobilisation der Zuckerreserven des Organismus, denn Bierry betrachtet den Eiweisszucker als einen zweiten Reservestoff des Organismus neben dem Glykogen. Bringt man das Glykogen

zum Verschwinden, z. B. dadurch, dass man die Tiere auf Wasserdiät stellt, dann verschwindet es aus Leber und Muskeln in stärkerem oder geringerem Grade, bisweilen bis auf Spuren, der freie Zucker sinkt ab; demgegenüber steigt der Eiweisszucker stark (62, 64).

Unterhalb eines gewissen Schwellenwertes des Blutes an freiem Zucker kann ein Warmblüter seine Homiothermie nicht aufrecht halten (62, 64).

Kühlt man Tiere, z. B. Hunde im kalten Bade stark ab, bis ihre Körpertemperatur etwa 30° beträgt, dann erscheint im Blute eine grosse Menge freien Zuckers, während Eiweisszucker und Proteine etwas abnehmen; erholt sich das Tier wieder, dann kehren die normalen Verhältnisse wieder zurück (70).

Bei einem alten, mageren, hungernden Hunde verursachten wiederholte Aderlässe eine Steigerung des freien arteriellen Blutzuckers von 0,88 bis auf $3,80^{\circ}/_{\infty}$, demgegenüber aber eine Erniedrigung des gebundenen Zuckers von 0,40 bis auf $0,20^{\circ}/_{\infty}$. Das Tier enthielt nur noch Spuren Glykogen und sehr wenig Fett (368).

Spritzt man einem Tiere, am besten einem jungen Hunde, Adrenalin ein, dann steigt nicht nur der freie Blutzucker, sondern auch der gebundene; der freie wohl nur, weil nicht aller neu ins Blut kommende Zucker an Eiweiss gebunden werden kann; der über den Schwellenwert der Niere liegende freie Blutzucker erscheint dann im Harn (63; 67). Die Reaktionen verlaufen aber verschieden schnell: während die freie Zucker-Hyperglykämie innerhalb 3—4 Stunden nach intravenöser bzw. intraperitonealer Injektion schon maximal ist, und so einige Stunden lang bleiben kann, ist oft der Eiweisszucker noch im Anstieg begriffen, wenn 7—8 Stunden nach der Einspritzung der freie Zucker schon wieder anfängt abzusinken. Es scheint, als ob der Körper bestrebt sei, den überflüssig mobilisierten Zucker zum Teil an Eiweiss festzulegen, um auf diese Weise seinen Verlust zu verhüten (63). Nach Winter und Smith (575, 580) soll nach Adrenalineinspritzung ausserdem im Blute ein ähnlich abnormer Zucker auftreten wie beim Diabetiker, wie sich aus dem eigentümlichen Verhalten bei Hydrolyse ergibt, und wie auch die Osazone zeigen sollen.

Beim Menschen können nach Condorelli (156) dreierlei Reaktionen auf Adrenalininjektion auftreten, ohne erkennbaren Zusammenhang mit bestimmten Krankheiten:

1. Starke Vermehrung des freien Zuckers (um $0,60^{\circ}/_{\infty}$), oder absolute Abnahme des gebundenen Zuckers.
2. Geringe Vermehrung des freien Zuckers (um $0,10^{\circ}/_{\infty}$).
3. Verzögerte Reaktion, erst nach 2 Stunden auftretend.

In einer anderen Arbeit (157) teilt er seine Versuche an 8 normalen Personen mit. Sie erhielten 1 mg Adrenalin. Gleichzeitig mit der Erhöhung

des freien Zuckers, die nach etwa einer halben Stunde anfängt, nach etwa 1 Stunde maximal ist und dann langsam absinkt, nimmt der gebundene Zucker relativ (oder auch absolut) ab, d. h. er bleibt unverändert oder nimmt etwas ab, um später wieder anzusteigen. Mit 2 mg Adrenalin ist die Zunahme des freien Zuckers, sowohl als die Abnahme des gebundenen deutlicher.

Eine kleine Dosis Pituitrin gab (in nur einem Versuche) eine flüchtige leichte Erhöhung des freien und eine gleichfalls flüchtige, aber schnelle und tiefe Erniedrigung des gebundenen Zuckers.

Ausser bei diesen experimentellen Eingriffen hat man auch schon das Verhältnis des freien Blutzuckers zum gebundenen festgestellt bei verschiedenen pathologischen Zuständen des Menschen.

Eine Reihe von 45 Diabetikern haben Desgrez, Bierry und Rathery (72, 250) untersucht. Beim Hungern sinken bei diesen Patienten sowohl der freie als der gebundene Zucker stark ab, während im venösen Blut die Proteine, speziell das Serumalbumin, stark zunehmen, im Gegensatz zum Befunde anderer Autoren beim Hungern von Gesunden. Setzt man die Diabetiker auf eine solche Diät, dass sie zuckerfrei werden, dann nehmen meist beide Zuckerarten in geringerem Grade ab, um bei Erhöhung bis zur Toleranzgrenze wieder etwas zu steigen: bisweilen steigt der freie Zucker mehr als der gebundene, aber man sieht auch das Umgekehrte eintreten. Wenn schon im Anfang der Eiweisszucker niedrig ist, verändert sich dieser während des ganzen Experimentes kaum. Bei schwerem Diabetes mit Acidose kann bei Hungern entweder der Gehalt des Serums an freiem und Eiweiss-Zucker zunehmen und Koma eintreten oder beide Zuckerarten nehmen ab und Acidose und Glykosurie sinken ebenfalls.

Condorelli (155) berichtet über 15 Fälle von Diabetes, deren Blut früh morgens nüchtern untersucht wurde. Der freie Zucker schwankte von 1,89 bis 3,32‰, der gebundene von 0,00 bis 0,54‰, betrug also nur von 0 bis 24% des freien Zuckers, während normal der Gehalt etwa 55% des freien Zuckers ist. Vielleicht kommen hier aber methodische Verschiedenheiten in Betracht, denn so niedrige Werte für gebundenen Zucker geben andere Autoren nicht an, obwohl auch Gruat und Rathery (286) sagen, dass bei Diabetikern der Eiweisszuckergehalt meistens niedriger ist als der freie Zuckergehalt; bisweilen ist aber auch das Verhältnis umgekehrt und ihrer Ansicht nach hängen die beiden Werte nicht direkt zusammen: hohen Eiweiss- und niedrigen freien Zuckergehalt sieht man jedoch fast nie.

Neuerdings haben Bierry c. s. (76) auch die Verhältnisse beim experimentellen Diabetes untersucht. Nach partieller Pankreasexstirpation tritt beim Hunde, sogar wenn nur $\frac{1}{6}$ der Drüse übrig gelassen wird, keine nennenswerte Änderung sowohl des freien wie des Eiweisszuckers auf. Exstirpiert man das Pankreas, aber transplantiert einen Teil an anderer Stelle, dann

treten schon Änderungen der Menge der beiden Zuckerarten auf, auch wenn noch keine Glykosurie besteht. Nimmt man aber die Drüse vollständig weg, dann steigen sowohl Eiweisszucker als freier Zucker stark an: wie stark, ist von Individuum zu Individuum verschieden.

Nitzescu c. s. (438) bestätigten dies: bei ihren total pankreaslosen, 24 Stunden hungernden Hunden, denen, diesmal ohne Narkose, arterielles Blut entnommen wurde, fanden sie im Plasma immer eine Vermehrung des Eiweisszuckers, obwohl dieser niemals so hoch anstieg als der freie Zucker. (Hier besteht also ein Gegensatz zum klinischen Diabetes, wo der Eiweisszucker erniedrigt ist.) Nach Insulin-Einspritzung stieg in den ersten Stunden bei 5 Tieren der Eiweisszucker noch etwas weiter an, aber diese Erhöhung erreicht doch nicht so hohe Werte als beim gesunden Tier. Auch fällt das Maximum nicht zusammen mit dem Minimum des freien Zuckers, denn dieser letztere ist beim diabetischen Tiere noch nach 6 Stunden im Absinken begriffen, und bleibt sogar noch nach 8—10 Stunden niedrig. Nach der geringen Steigung im Anfang sinkt auch der Eiweisszucker, sei es auch langsamer als der freie Zucker, bisweilen sogar nach 8—9 Stunden unter die Norm.

Beim menschlichen Diabetiker mit starker Hyperglykämie ist der gebundene Zucker wenig gestiegen oder sogar bis auf Null erniedrigt, keinesfalls ist er im Verhältnis zum freien Blutzucker vorhanden. Man darf also das Fehlen des gebundenen Zuckers beim Diabetiker auf den mehr oder minder grossen Mangel des Pankreashormons zurückführen. Spritzt man aber z. B. 20 Einheiten Insulin ein, dann kommt es, wie Condorelli (155) zeigte, zu einer Steigerung des gebundenen Zuckers von 0 auf 82‰.

Bei chronischer Nephritis scheint der Eiweisszucker eine sehr grosse Bedeutung zu haben: Bierry und Rathery (74, 75) fanden ihn hier oft sogar noch höher als den an sich schon erhöhten freien Blutzucker. Meistens gehen ein hoher Eiweisszucker- und ein hoher Harnstoffgehalt des Blutes zusammen; nach diesen Autoren sei ein hoher Eiweisszuckergehalt prognostisch ungünstiger als ein hoher Harnstoffgehalt mit niedrigem Eiweisszucker. Der Eiweisszuckergehalt kann dreimal so hoch als in der Norm werden. Unterbindet man bei normalen, nicht spontan nephritischen Hunden die beiden Ureteren, dann steigt zwar der Eiweisszuckergehalt parallel mit dem Harnstoffgehalt im arteriellen Plasma, aber nur langsam, und es werden niemals so hohe Werte erreicht wie bei der chronischen Nephritis des Menschen.

Condorelli (156) hat die verschiedenen Gruppen der Nierenentzündung gesondert untersucht, und kam zu den folgenden Ergebnissen:

Bei Urämikern mit starker Azotämie sind sowohl der freie als der gebundene Zucker vermehrt, aber ihr gegenseitiges Verhältnis bleibt normal.

Es besteht kein enger Zusammenhang zwischen der Intensität der Azotämie und der Höhe der Glykämie. Bei hypertonischen Nephritikern mit einer Azotämie, die nicht 1 g Harnstoff pro Liter Blut übersteigt, ist die Glykämie normal.

Bei Nephritiden bestehen keine charakteristische Abweichungen. Bei Kranken mit passiver Nierenstauung ist die Glykämie normal, mit Ausnahme der Patienten mit ernsteren Leberstörungen. Bei hypertonischer Schrumpfniere beobachtet man eine Vermehrung des freien und eine Abnahme des gebundenen Zuckers.

Auch an 10 Karzinomfällen, wo die Diagnose autoptisch gesichert wurde, haben Bierry, Rathery und Levina (80) Bestimmungen ausgeführt. Neben dem freien Blutzucker, der in diesen Fällen schon etwas erhöht war (einmal $0,99^{0/00}$, sonst zwischen 1,19 und $1,64^{0/00}$) fanden sie ausserordentlich hohe Eiweisszuckerwerte (1,14 bis $2,66^{0/00}$, normal 0,60 bis $0,80^{0/00}$); den höchsten Werten begegneten sie bei Kranken mit vielen Metastasen und deutlicher Kachexie.

Bei Tuberkulose, und auch bei gewissen anderen Infektionskrankheiten steigt ausschliesslich der Gehalt des gebundenen Zuckers (156).

Der Einfluss des Insulins auf den Eiweisszucker in vivo beim normalen Tiere ist schon von mehreren Seiten studiert worden; den bei Diabetes haben wir schon besprochen.

Bierry, Rathery und Kourilsky (77) haben bei 24 Stunden hungernden normalen Hunden nach Einspritzung von englischem, amerikanischem und französischem Insulin und Insulinpikrat mehrmals ohne Narkose kleine Proben arteriellen Blutes entnommen, während sie sich durch Kontrollversuche überzeugten, dass solche Blutentnahmen an sich nicht für ihre Befunde verantwortlich waren. Immer sank, wie ihre Protokolle zeigen, bei den Insulintieren der freie Zucker ab, und ebenso regelmässig stieg der Eiweisszucker an. Bei einem pankreaslosen Hunde wurde dasselbe beobachtet, bei vier diabetischen Patienten gleichfalls. Einmal sahen sie beim Menschen ein Steigen des freien Zuckers mit Abfall des Eiweisszuckers.

In gleichem Sinne fielen die Versuche von Nitzescu und Popescu-Inotesti (436) aus. Leider arbeiteten sie mit hungernden normalen Hunden, die mit Chloroform, Äther oder Chloralose narkotisiert waren: der unzweifelhafte Einfluss vieler Narkotika auf den Blutzucker macht die Ergebnisse etwas unsicher. Doch stimmen sie gut mit denen von Bierry c. s. überein: der freie Zucker sinkt regelmässig; der Eiweisszucker bleibt während der ersten zwei Stunden annähernd normal, steigt dann schnell bis zum Maximum ($\pm 49\%$ über die Norm), das etwa $3\frac{1}{2}$ bis 4 Stunden nach der Einspritzung erreicht wird (gleichzeitig mit dem Minimum des freien Blutzuckers), sinkt dann schnell wieder ab bis sogar unter die Norm. Die Zunahme des ge-

bundenen Zuckers gleicht aber nicht vollständig die Abnahme des freien Zuckers aus, so dass doch noch in irgend einer anderen Weise Zucker verschwinden muss.

Dieselbe Tatsache, dass durch Insulin neben der Abnahme des freien Zuckers eine Erhöhung des Gehaltes an hydrolysierbaren Kohlenhydraten im Blut auftritt, hat auch schon Cammidge (121) gefunden, ohne dass er sich aber über deren Charakter weiter äussert.

Condorelli (155) spritzte 24 Stunden hungernden kleinen Kaninchen Insulin-Lilly und -Antolini ein und bestimmte den freien und den gebundenen Zucker vor dem Versuch und während des Krampfanfalles. Bei allen 20 Versuchen war der freie Blutzucker sehr stark erniedrigt, bei 19 von ihnen war der gebundene Zucker stark gestiegen, und in allen Fällen war der gebundene prozentual zum freien Zucker sehr stark erhöht. Die Summe von freiem und gebundenem Zucker betrug bei den Krampftieren immer etwa die Hälfte von der Norm.

Während von all den genannten Autoren die absolute Zunahme des gebundenen Zuckers behauptet wird, haben dies nur Mc Cormick und Macleod (167) bestritten. Wenn sie Hunden gerade zu der Zeit, wo der freie Blutzucker auf seinem Minimum war, Blut entnahmen und dies hydrolysierten, war darin nicht mehr reduzierende Substanz als im normalen Blut. Es ist uns aber fraglich, ob diesem negativen Befunde ein sehr grosser Wert beizulegen ist, weil er nur gelegentlich ohne nähere Protokolle mitgeteilt wird. Bei negativen Befunden bleibt es stets fraglich, ob die Technik der gelegentlichen Beobachter auf der gleichen Höhe wie die der anderen hinsichtlich dieser Frage ausserordentlich geübten Untersucher steht, zumal wenn man sich auch der abweichenden Ergebnisse von Hepburn und Latchford ebenfalls aus Toronto erinnert (s. S. 94), die auch im Gegensatz zu den sonstigen Resultaten stehen.

Dass dieser Einwand wahrscheinlich richtig ist, zeigt die spätere Mitteilung von Scott und Best (490a), gleichfalls aus Toronto. Nach ihnen nimmt das reduzierende Vermögen des Blutes von hungernden Hunden oder Kaninchen durch Hydrolyse mit 1% H_2SO_4 oder Digestion mit Trypsin nur wenig zu: Blut von hungernden Insulintieren hingegen zeigt bei der gleichen Verarbeitung eine deutliche Zunahme des reduzierenden Vermögens um wenigstens 70%.

Sonderbar ist, dass die frühere Mitarbeiterin von Bierry, M^{me} Randoïn-Fandard zusammen mit Simonnet (494) gerade das Gegenteil findet wie Bierry und zwar glaubt, eine langsame Abnahme des Eiweisszuckers unter Einfluss des Insulins beobachtet zu haben.

β) Polysaccharide.

Einige Untersuchungen, über die man zweifelhaft sein kann, ob sie in den Abschnitt über freien oder in den über gebundenen Blutzucker gehören,

verdienen eine besondere Behandlung, weil sich gerade hieran eine gewisse Diskussion angeschlossen hat.

Zunächst haben nämlich Winter und Smith gemeinschaftlich mit Forrest (244, 575, 578) einen auffallenden Befund erhoben (vgl. S. 77). Nach ihren Untersuchungen unterscheidet sich der Zucker aus „diabetischem Blut“ deutlich von dem aus Blut normaler Individuen darin, dass sein optisches Drehungsvermögen im Anfang stärker ist als mit seiner Reduktion, berechnet auf das gewöhnliche α - β -Glukose-Gleichgewichtsgemisch, übereinstimmt (574). Der Polarisationswert sinkt zwar allmählich ab, aber erreicht manchmal sogar nach einigen (4) Tagen noch nicht den Reduktionswert. Dies hätte der Fall sein müssen, wenn es sich um die gewöhnliche Einstellung des Gleichgewichts von α - β -Glukose handelte. Hydrolysiert man den isolierten diabetischen Zucker kurz mit schwacher Säure, dann steigt der Polarimeterwert deutlich an, während der Reduktionswert sich kaum ändert. Bei längerer Hydrolyse mit mehr Säure steigen Polarisations- und Reduktionswerte, bis sie mit denen eines α - β -Glukosegemisches übereinstimmen. Bei Gesunden sieht man nichts Derartiges. Welcher Art der Zucker im Diabetikerblut ist, konnten sie nicht feststellen, denken aber, dass er ein Polysaccharid sei, das leicht in stark rechtsdrehende Komponenten zerfällt. In dem Osazon aus Diabetikerblut kommen auch vom gewöhnlichen Glukosazon abweichende Krystalle vor.

Demgegenüber konnten Thannhauser und Jenke (529) keinen Unterschied zwischen Zucker aus Blut von Normalen und dem von Diabetikern finden.

Bei Diabetikern, welche von Insulininjektionen Nutzen haben, steigt nach Winter und Smith nach kurz dauernder Hydrolyse des Blutzuckers der Polarimeterwert nicht über den Reduktionswert; lässt das Insulin den Patienten im Stich, dann steigt der Polarisationswert, wohl ein Zeichen, dass hier der abnorme Zucker noch anwesend ist. Wenn man einen Patienten durch Diät allein zuckerfrei macht, ändert sich nur die Menge, nicht die abnorme Art des Blutzuckers. Bei 6 Diabetikern, wo der Polarimeterwert sogar weit höher war als der Reduktionswert, fanden Winter und Smith nach 2 bis 3 Tagen Insulinbehandlung, dass in einem Falle das Verhältnis dasselbe geblieben, in den übrigen aber der Polarimeterwert viel näher an den Reduktionswert herangekommen war, und ihr Verhalten sich also den normalen Verhältnissen genähert hatte. Auch Hefeextrakt hatte denselben Effekt (574, 575).

Eine Stütze für die Befunde von Winter und Smith an Diabetikern kann man sehen in der Feststellung, dass dieselbe abnorme Blutzuckerart wie bei Diabetes auch bei Adrenalinhyperglykämie nach den experimentellen Befunden von Macleods Mitarbeiter Eadie (208) vorkommen, und auch hier gleichzeitige Insulinverabreichung das normale Verhalten zurückbringen soll. Dies war eine Bestätigung der gleichen Befunde von Winter und

Smith (575, 578, 580) auch insofern, dass sie ebenfalls aus Blut von Adrenalinaninchen ein ähnliches abnormes Osazon herstellen konnten wie aus Diabetikerblut.

Auch Nakahayashi und Abelin (430) haben dies bestätigen können: sie finden gleichfalls den Polarisationswert höher als den Reduktionswert: beim Stehen nimmt der erstere ab und kann bisweilen sogar unter den Reduktionswert sinken. Einige Tage nach der Adrenalineinspritzung ist der Blutzucker wieder normal.

Doch wird man auch hier noch feststellen müssen, ob nicht die Reaktion der verarbeiteten Flüssigkeit zum Teil an den Befunden Schuld ist. Wir erinnern nur an die bei Besprechung der „ γ -Glukose“ angeführten Versuche von Thannhauser und Jenke, und vor allem von Visscher.

In Anschluss an ihre Befunde am Blute des Diabetikers haben Winter und Smith auch nach einer Erklärung gesucht. Nach ihnen fehle dem Diabetiker ein Enzym (es sei ganz abwesend oder nur in inaktiver Form vorhanden), das beim normalen Menschen die α - β -Form in die γ -Modifikation umsetze (574, 576).

In Versuchen in vitro sind sie der Herkunft dieses Enzyms nachgegangen. Auszüge von Darmschleimhaut waren ganz unwirksam, Leberextrakt wirkte nur bei Anwesenheit von Pankreasextrakt oder gutem Insulin, im Brutschrank bei 37°: die Rotation einer Glukoselösung wurde erniedrigt, die einer Fruktoselösung erhöht [nicht bestätigt von Macleod (393)]. Phosphatzusatz wirkte stark beschleunigend, Kochen schien den Leberextrakt zu zerstören, während die Wirksamkeit des Insulins in dieser Hinsicht anscheinend unverändert geblieben war. Nachdem die maximale Diskongruenz zwischen optischer Drehung und Reduktionsvermögen erreicht ist, nähern sich beide Werte wieder einander. Es schien aber, dass in vitro nicht so hohe γ -Glukosewerte erreicht werden konnten wie im lebenden Körper (574).

Das reduzierende Vermögen war vom Anfang bis zum Ende des Versuchs gleich gross: dies unterscheidet diese Versuche von denen von Levene und Meyer (Journ. Biol. Chem. 9, 97, 1911), wo eben das Kupferreduktionsvermögen bei Mischung von Glukose mit Muskel und Pankreasextrakten verhältnismässig am stärksten erniedrigt wurde (577).

Slosse (499) hat versucht, diese Angaben von Winter und Smith nachzuprüfen. Er arbeitete mit einer sterilen im Gleichgewicht befindlichen Lösung von Glukose-Kahlbaum, und setzte dieser dann in verschiedenen Proben eine bestimmte Menge Insulin zu (von einem Präparate, das optisch inaktiv war und nicht reduzierte), liess es 24 Stunden im Brutschrank bei 37° und analysierte dann optisch und chemisch. Bei Vergleich mit der Kontrolle zeigte sich, dass Insulin immer die Rechtsdrehung der Lösung

herabsetzte (z. B. von einer, übereinstimmend mit 0,6476%iger α - β -Glukose, bis zu 0,5771%), während die Reduktion unverändert blieb; Fruktose und Pentose waren abwesend. Iscovesco und Bouge (494) sahen dieselbe Erscheinung sogar, wenn sie Insulin einer gewöhnlichen Glukoselösung zusetzten; sie beobachteten dann eine Erniedrigung des Polarisationswertes um 30%, während die Reduktion ungeändert blieb: Simonnet konnte dies aber nicht bestätigen. (348, 494).

Ausser diesen besonderen Blutbestandteilen bei Diabetes bzw. Adrenalinvergiftung, hat man noch andere kohlenhydratartige Stoffe entdeckt, die vielleicht schon in der Norm, sicher aber bei der Insulinvergiftung normaler Tiere vorkommen sollen.

So meinte Stasiak (506) bei normalen Tieren feststellen zu können, dass im enteweissten venösen oder arteriellen Hundebloodfiltrat nach Hydrolyse mit 2% HCl eine Erhöhung des Reduktionsvermögens eintritt, die er auf Rechnung der Aufspaltung eines kolloidalen Polysaccharids stellen zu dürfen glaubt. Bierry hatte das Vorkommen eines solchen hydrolysierbaren, reduzierende Produkte liefernden Stoffes im enteweissten Blutfiltrat schon früher verneint (69). Doch scheint dies nicht ganz richtig zu sein, denn bei einigen Blutzuckerbestimmungsmethoden, die bei der Verarbeitung Gelegenheit zu hydrolytischen Vorgängen geben, findet man oft höhere Werte als bei anderen.

Wenn z. B. Insulin-Kaninchen dem Krampfanfall sehr nahe sind oder das Krampf stadium schon erreicht haben, beträgt der Blutzucker, berechnet als Glukose, mit den Methoden von Bang oder von Folin und Wu etwa 0,50%, nach der Methode von Shaffer-Hartmann (440) oder von Wood-Ost ist er aber = 0. Aber auch dann enthält das enteweisste Blutfiltrat, wie der α -Naphtolversuch zeigt, noch eine grosse Menge Kohlenhydrat: dieses ist rechtsdrehend. Durch saure Hydrolyse gelang es Winter und Smith (581, 585) nicht, daraus Kupfer reduzierende Substanzen herzustellen, obwohl einige Enzyme, wie es scheint, hierzu wohl befähigt sind.

Dies hat Berkeley (49) auf den Gedanken gebracht, ob es sich nicht um einen Stoff nukleotidartiger Natur handeln könnte. Diese geben eine positive α -Naphtolreaktion durch ihren Pentosengehalt, während bei der Hydrolyse die Pentosen schnell in Furfurol übergehen und so unbemerkt entweichen könnten. Die weiteren Spekulationen, welche er daran knüpft, wollen wir hier nicht mitteilen, weil Winter und Smith (584a) auf diese Anregung hin die Sache experimentell geprüft haben, und zum Schluss gekommen sind, dass es nicht wahrscheinlich ist, dass der Stoff ein Pentosederivat ist. Andererseits glauben sie aus bestimmten Eigentümlichkeiten der Farbreaktionen schliessen zu dürfen, dass es sich um ein echtes Kohlenhydrat handelt.

Die beschriebenen Stoffe, mögen sie nun Eiweisszucker, gebundenen Zucker oder Polysaccharide heissen, sind wahrscheinlich Laufberger (361)

zwischen den Fingern entschlüpft. Er verteilt den Kohlenstoff im Blute in Eiweisskohlenstoff, Blutzuckerkohlenstoff und Restkohlenstoff. Entstände nun durch Insulin irgend ein anderer Stoff aus der Glukose, dann dürfte seiner Ansicht nach, wenn kein kolloidaler Körper gebildet wird, der Restkohlenstoff sich nicht ändern, was bei Kaninchen sich tatsächlich experimentell zeigen liess. Durch die unbewiesene Annahme seiner Voraussetzung: es bilde sich kein kolloidaler Körper, kann er nun den Schluss ziehen, dass es sich bei dem Verschwinden des freien Blutzuckers nicht um die Bildung eines noch unbekanntes Stoffes handelt. Richtiger wäre es gewesen, der von ihm erwähnten Annahme nachzugehen; sehr wahrscheinlich würde er dann bei der Hydrolyse der kolloidalen Niederschläge wohl etwas gefunden haben.

γ) Lactazidogene.

Perlzweig, Latham und Keefer (458) haben auf dem Höhepunkt der Insulinwirkung im Blute Reduktion und Phosphatgehalt bestimmt vor und nach der Hydrolyse mit Säure und keine Anhaltspunkte für die Anwesenheit einer Kohlenhydrat-Phosphatverbindung gefunden. Wigglesworth c. s. (571) kamen zum selben Schluss auf Grund ihrer Bestimmungen des organischen Phosphatgehalts.

Für weitere Befunde, welche mit dieser Frage in Zusammenhang zu bringen wären, verweisen wir auf das unten bei Besprechung des Blutphosphats gesagte.

δ) Gebundener Zucker und überlebende Organe.

Befunden über Zunahme des gebundenen Blut-Zuckers in vivo nach Insulingaben bei Mensch und Tier, stehen ähnliche an der Durchströmungsflüssigkeit beim überlebenden Organ zur Seite, die wir, etwas abweichend von unserer sonstigen, mehr topographischen Einteilung, schon hier besprechen, um den Zusammenhang der Tatsachen über den gebundenen Zucker nicht zu zerreißen.

Schon Clark (134) beobachtete in seinen klassischen Versuchen über den Einfluss von Pankreasperfusaten auf das überlebende Säugetierherz, dass zwar der freie Zucker aus der Durchströmungsflüssigkeit verschwindet, aber z. T. nur sich in eine nicht reduzierende Form, wohl durch Bindung, verändert. Sie geht entweder durch Hydrolyse der Pankreas-Herz-Durchströmungsflüssigkeit am Rückflusskühler (2 Stunden mit 1%iger HCl kochen, dann genau neutralisieren und auf das frühere Volumen zurückbringen) oder durch einfaches Stehenlassen (mit Chloroform oder Toluol während 24 Stunden bei 37° C) wieder in einen einfachen reduzierenden Zucker über.

In seiner zweiten Mitteilung hebt Clark (135) noch einige weitere Befunde hervor. Bei steriler Durchströmung des Pankreas mit glukose-

haltiger Lockelösung wird bei unveränderter Reduktion die optische Rotation geringer.

Diese Veränderung findet auch statt, wenn man zu einem zuckerfreien Pankreasperfusat Dextrose zufügt und das Gemenge in den Brutschrank stellt. Diese Perfusate geben Osazone mit niedrigerem Schmelzpunkt als Glukosazon, aber wenn die Perfusate mit verdünnter Säure hydrolysiert werden, steigen ihre optische Rotation und die Schmelzpunkte ihrer Osazone.

Diese Veränderungen finden nicht statt mit Lävulose, und ebensowenig begegnete er ihnen in seinen Versuchen mit Pankreasextrakt + Dextrose; wenn Herz, Milz oder Nieren mit Dextroselösungen allein durchströmt werden, erhöht Hydrolyse weder ihre optische Rotation, noch ihr Reduktionsvermögen. Daraus schliesst Clark, dass, obwohl das Herz in vivo sowohl Dextrose als Lävulose verbrauchen kann, die genannten Versuchsergebnisse darauf hindeuten scheinen, dass das (die) Pankreasenzym(e) spezifisch auf Dextrose einwirke(n) und essentiell seien für dessen Vorbereitung zum normalen Verbrauch.

Lässt man aber das Pankreasperfusat dann noch durch ein überlebendes Säugetierherz strömen, so ändert sich die Reduktion auch: sie nimmt ebenfalls ab. Hydrolysiert man ein solches Pankreas-Herz-Perfusat, dann steigen sowohl sein Reduktionsvermögen wie die optische Rotation und der Schmelzpunkt des Osazons wieder an. Führt man die glukosehaltige Lockeflüssigkeit nur durch das Herz, ohne vorherige Pankreasdurchströmung, dann treten diese Veränderungen nicht auf, ebensowenig, wie wenn man statt Pankreas Milz oder Niere verwendet; Lävulose wird bei Durchströmung durch Pankreas und Herz nicht geändert.

Clark betrachtet die beschriebenen Erscheinungen als Zeichen einer verschieden weit vorgeschrittenen Glukose-Kondensation.

Inwieweit die zwei Herzdurchströmungsversuche mit insulinhaltiger Flüssigkeit, die Hepburn und Latchford (303) erwähnen, und bei denen sie nach Hydrolyse der Perfusionsflüssigkeit keine Vermehrung des Reduktionsvermögens fanden, als negative Befunde Wert haben, muss dahingestellt bleiben; in ihrer Mitteilung fehlen nämlich alle genaueren Angaben, und gerade hier kommt es auf die Technik an (s. S. 89).

e) Gebundener Zucker und Glykolyse (Blut in vitro).

Nochmals müssen wir von unserem sonstigen Einteilungsschema abweichen, um die den gebundenen Zucker betreffenden Tatsachen beieinander zu halten.

Mancher orthodox-physiologisch denkende Leser wird sich wundern, wenn er das Kapitel: „Glykolyse des Blutes in vitro“ an dieser Stelle findet. Doch glauben wir, dass dies hierher gehört, und zwar aus folgenden Gründen. Schon früher hatten Levene und Meyer gezeigt, dass, wenn man Muskel-

saft und Glukose zusammenbringt und wässrigen Pankreasextrakt zusetzt, der Zucker nicht „glykolyisiert“ wird, wie Cohnheim dachte, sondern in eine Verbindung tritt, woraus er durch Hydrolyse mit Säure wieder befreit werden kann (61).

In neuester Zeit hat Condorelli (155) in derselben Richtung gearbeitet. Nach seinen Untersuchungen enthält normales Blut gebundenen Zucker in einer Menge, die etwa 55% des freien Zuckergehaltes beträgt. Lässt man aber das Blut einige Stunden bei Zimmertemperatur stehen, dann sieht man regelmässig den gebundenen Zucker auf Kosten des freien ansteigen; so gibt er unter anderem folgendes Beispiel:

Blut direkt nach der Entnahme	Dasselbe Blut nach 6 Stunden steriler Glykolyse bei 15°
Gesamtzucker	1,34 ‰
Freier Zucker	0,89 ‰
Gebundener Zucker	0,45 ‰
= Prozent	51 ‰

Schliesslich überwiegt die wirkliche Glykolyse, und der Zucker verschwindet; arbeitet man im Brutschrank, dann geschieht dies so schnell, dass man überhaupt nicht sagen kann, ob gebundener Zucker gebildet wurde oder nicht.

Bei Diabetikern war die Glykolyse minimal.

In Menschenblut, 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt, ist der freie Zucker grösstenteils verschwunden, der gebundene gleichgeblieben oder etwas vermindert. Im Plasma ist die Glykolyse viel stärker wenn man es mit den Blutzellen in Berührung lässt, als ohne diese. Die Glykolyse findet im Blut auch im Eisschrank statt. Bisweilen nimmt bei der Glykolyse der gebundene Zucker sehr stark zu, was also ein direkter Beweis ist für die Bildung desselben aus dem freien Zucker. Auch eine gleich behandelte 2%ige Lösung von Witte-Pepton zeigte nach 20 Minuten Hydrolyse bei 1 Atm. Überdruck einige Zunahme des Reduktionsvermögens (157).

Diese Arbeiten wiederholen also die früheren, schon erwähnten Angaben von Bierry c. s., dass der gebundene Zucker überhaupt nicht glykolytisch — oder wie wir hinzufügen wollen — doch jedenfalls in geringerem Grade als er neu gebildet wird. Andererseits bildet sie eine Bestätigung von den Angaben von Denis und Giles (183), dass bei schwer Zuckerkranken die Glykolyse im Blute viel schwächer sei als bei Gesunden, bei Komapatienten fast ganz fehle. [Diese letzteren Autoren suchen die Erklärung darin, dass beim gesunden Menschen nur die γ -Glukose von der Glykolyse betroffen werde, während beim Diabetiker diese fehle und die dort vorhandene α - β -Glukose nicht vom glykolytischen Fermente angegriffen werde. Es ist mög-

lich, dass sie Recht haben, doch steht im Moment die ganze Frage über die Natur des normalen Blutzuckers (s. o. S. 74 u. ff.) noch so sehr im Anfang wirklicher Erkenntnis, dass es wohl verfrüht erscheint, so weitgehende Hypothesen auszusprechen.]

Nach Erwärmung auf 56° findet im Blute in vitro keine aseptische glykolytische Zuckerspaltung mehr statt (64).

Lépine und Boulud (370) meinen, das Bierrys Anschauung, dass der gebundene Zucker in vitro aseptisch gar nicht glykolytisch wird (64, 68, 71), nur zum Teil richtig ist, und das Ergebnis grösstenteils von der Festigkeit der Bindung abhängt: ein Teil des gebundenen Zuckers habe sich schon innerhalb einer Viertelstunde nach Verlassen der Gefässe abgespalten, ein anderer Teil aber (und diesen meinen Bierry c. s. wahrscheinlich mit dem Namen Eiweisszucker) bleibt fest verbunden. Was in vitro frei wird, fällt auch der Glykolyse anheim, z. B. sehr stark nach Unterbindung des Ductus Wirsungianus oder nach intravenöser Injektion von Pankreasextrakten (Blut 1 Stunde im Brutschrank).

Betrachten wir diese beiden scheinbar entgegengesetzten Meinungen aber in Zusammenhang mit den Befunden von Condorelli, dann sehen wir, dass der Unterschied nicht so gross ist, wie es anfänglich schien.

Bierry, Rathery und Kourilsky (78, 79) haben untersucht, wie bei der aseptischen Glykolyse freier Zucker und Eiweisszucker sich verhalten bei verschiedenen pathologischen Zuständen (normalen und diabetischen Hunden, Diabetikern, Nephritikern).

Das Blut wurde den nicht-narkotisierten Tieren steril entnommen, defibriert, und 1/2 Stunde bis 3 Tage im Blutschrank gelassen (jeder Versuch bakteriologisch kontrolliert). Dann wurde es zentrifugiert und im Serum nach Enteiweissen mit Merkurinitrat der Zucker bestimmt, eventuell nach Hydrolyse. Zur Zuckerbestimmung ist für diesen Zweck die Methode von G. Bertrand die geeignetste. Immer wurde sicherheitshalber mit ziemlich grossen Mengen gearbeitet.

Die Versuchsergebnisse liefen ziemlich weit auseinander, je nach dem Individuum, das das Blut lieferte. Bisweilen war der freie Zucker nach 24 Stunden schon verschwunden, bisweilen nach 48 Stunden noch nicht. Die Glykolyse beginnt langsam, nimmt dann schnell zu und endet wieder allmählich.

Der Eiweisszucker nimmt oft in den ersten Stunden etwas zu (vgl. die gleichen Befunde Condorellis), und bleibt bisweilen lange Zeit hoch, während der freie Zucker schon stark abnimmt. Später fängt auch der gebundene Zucker an abzusinken.

In einer Reihe von 11 Versuchen, wo dem Blute etwas trockenes, pulverförmiges, wirksames Insulin zugesetzt wurde, war in den meisten Fällen eine geringe Aktivierung der Glykolyse gegenüber den Kontrollen festzustellen.

Iscovesco und Bouge (494) fanden, dass in vitro die Glykolyse des Blutzuckers selbst von Insulin stärker befördert wird, als diejenige von extra-zugesetzter gewöhnlicher Glukose.

Simonnet (494) fand aber im Blut allein die Glykolyse immer stärker als in Blut + Insulin, aber die Unterschiede waren geringfügig. Dem widersprechen aber wieder die schon etwas älteren Versuche von Wallis (556), der, wenn er Blut, dem eine bestimmte Menge Glukose zugesetzt war, zusammen mit seinen insulinartigen Pankreasextrakten in den Brutschrank stellte, den Zucker viel schneller verschwinden sah, als ohne Extrakt (Asepsis?!).

Ob diese Aktivations regelmässig eintritt, oder einen nennenswerten Grad erreicht, erscheint fraglich. Macleod und seine Mitarbeiter und auch andere Autoren (167, 303, 393, 535) verneinen dies auf Grund ihrer Versuche in vitro ganz, und betrachten es deshalb als ausgeschlossen, dass eine intravaskuläre Glykolyse für die Blutzuckerwirkung bei Insulintieren verantwortlich sei, da ausserdem das Blut von verschiedenen langer Zeit vorher mit Insulin eingespritzten Tieren sich bezüglich der Glykolyse in nichts von dem normaler Individuen unterscheidet.

Auch Nitzescu c. s. (437) erhielten nur negative Befunde. Arbeitend mit Hunden vor und nach totaler aseptischer Pankreasextirpation, fanden sie das glykolytische Vermögen des Blutes nach dem Eingriff stark vermindert. Weder Zusatz von Insulin in Substanz zu den Röhren, noch Insulininjektion, 4 Stunden vor der Blutentnahme, bei den Tieren, änderte daran irgend etwas, die Glykolyse war und blieb niedrig. Daraus folgern sie, dass also der Wirkungsmechanismus des Insulins noch komplizierter ist als man schon dachte.

Nach Mauriac und Aubertin (412) ist das glykolytische Vermögen des Blutes beim diabetischen Hunde eher höher als normal: doch stimmen ihre weiteren Befunde vollkommen mit denen der vorigen Autoren überein, insofern, als auch sie sowohl vorherige Insulineinspritzung wie Zusatz von Insulin in Substanz vollkommen unwirksam fanden.

In absichtlich unternommenen Versuchen konnten Eadie, Macleod und Noble (208, 210) nichts als negative Ergebnisse erhalten: Insulinzusatz zu defibriniertem Blut von Kaninchen und Hunden ändert die Schnelligkeit der Glykolyse in vitro nicht. Diese ist auch dieselbe in normalem Blut und in Blut, das den Tieren nach Insulininjektion entnommen wurde, entweder kurze oder lange Zeit nachher, wenn die hypoglykämischen Symptome schon deutlich sind. Zusatz von Insulin zu Gemengen von Blut oder physiologische Kochsalzlösung und Buchnerpresssaft von Muskeln ändert die Schnelligkeit der Glykolyse ebensowenig. Auch hier ist es ohne Bedeutung, ob die Flüssigkeiten von normalen Tieren oder von solchen stammten, denen zuvor Insulin eingespritzt worden war. Auch die Glykolyse in einer Leukozytensuspension bzw. Eiter [nach Lépine und Boulud (370)] spielen bei der Glykolyse des

Blutes die Leukozyten eine grosse Rolle] wird von Insulin nicht beschleunigt; Zusatz von Phosphat hilft nichts.

Während Bierry c. s. bei Diabetikerblut keine regelmässigen Befunde feststellen konnten, hat bei Thalheimer und Perry (528) dieselbe Untersuchung zu scheinbar mehr eindeutigen Ergebnissen geführt. Sie liessen kontrolliert steriles, defibriniertes Blut, eventuell nach Zusatz von Zucker, 24 Stunden bei 37° im Brutschrank stehen, und bestimmten dann, um wieviel der (freie) Zuckergehalt vermindert war. (Hier kann ein Fehler entstanden sein dadurch, dass gebundener Zucker während des Versuchs in freien umgesetzt wurde und deshalb viel mehr Zucker zerstört wurde als die Autoren meinen.) Das Ergebnis war, dass bei Gesunden die Glykolyse viel stärker war als bei Diabetikern, bei der letzteren Kategorie aber stark zunahm, wenn dem Patienten zuvor Insulin eingespritzt worden war.

Schliesslich hat man auch untersucht, inwieweit Insulin selbst, ohne weiteres einer Glukoselösung zugesetzt, imstande ist, diese zu glykolysieren. Schon Macleod (393) hatte mit seinen Mitarbeitern feststellen können, dass es in dieser Hinsicht vollkommen unwirksam war. Doch behauptete Knop-Niederhoff (332a) dann, wohl eine solche Wirkung beobachtet zu haben; darauf wurde dann sogar eine Eichungsmethode für das Insulin aufgebaut, welche die Anzahl Einheiten direkt chemisch bestimmbar machen sollte. Bei der Vorschrift fehlt aber jede Angabe über Sterilität: da die Glukoselösung mehr als 2 Stunden bei 38° gehalten werden soll, können Bakterien und Hefezellen dann schon beträchtliche Verluste verursacht haben. Aber **auch** ohne, wie es scheint, auf Sterilität zu achten, hat schon Kok (336a) gezeigt, dass mit dieser Methode keine Spur einer glykolytischen Insulinwirkung zu finden war.

Die völlig negativen Ergebnisse hinsichtlich eines Einflusses von reinem Insulin auf reine Glukose *in vitro* bei Beachtung von Sterilität müssen ganz besonders betont werden, weil immer wieder von Zeit zu Zeit irreführende Berichte kommen, man könnte die Stärke eines Insulinpräparates an der Menge verschwundener Glukose messen. Unseres Erachtens kann man aus der Propagierung solcher Versuche nur die Höhe der Unkenntnis der Verfechter solcher Methoden, bzw. aus dem Grade eines positiven Ergebnisses die Grösse der Unsauberkeit beim Arbeiten erschliessen.

d) Übrige Blutbestandteile.

Merkwürdigerweise hat man bisher den Abbauprodukten der Glukose im Blut nur wenig Aufmerksamkeit gewidmet.

Nur Briggs und Mitarbeiter (108) haben bei Hunden nach Insulingaben den Milchsäuregehalt untersucht und gefunden, dass mit der Abnahme des (freien) Blutzuckers eine Zunahme der Milchsäure auftritt, woraus sie den

Schluss ziehen, dass Insulin das Gleichgewicht Glukosé \rightleftharpoons Milchsäure nach rechts verschiebt. Isaac und Adler (316) fanden eine geringe Zunahme beim Menschen. Dies haben Tolstoi c. s. (536) weiter verfolgt an vier Diabetikern. Der Milchsäuregehalt des Blutes nahm einige Male zu, aber keineswegs konstant. Ausserdem zeigte sich nichts von einem quantitativen Verhältnis zwischen Blutzuckerabnahme und Milchsäureproduktion: man kann mit Insulin einen steilen Abfall des Blutzuckers erzeugen ohne Vermehrung der Milchsäure. Diese letztere scheint allein einigermaßen konstant aufzutreten, wenn „hypoglykämische“ Symptome sich zeigen.

Das Blutfett erfährt bei normalen Individuen durch Insulin nur unwesentliche Änderungen (56, 143) oder nimmt etwas ab (242). War es, wie z. B. bei Diabetes oder Avitaminose, erhöht, so nimmt es nach Insulingaben deutlich ab (35, 56, 143, 179, 242). Die Abnahme erfolgt aber langsamer als bei den Acetonkörpern (131).

Eine Neubildung von Fett aus Eiweiss und Kohlenhydraten, wie sie Geelmuyden (264) unter Einfluss des Insulins annimmt, ist bisher experimentell nicht erwiesen.

Die Lipoide des Blutes hat man bisher nur selten quantitativ verfolgt. Major (401) sah bei Diabetikern mit Lipämie den Cholesteringehalt des Blutes (bestimmt nach Myers-Wardell) steil absinken, ebenso Nitzescu c. s. (439) bei diabetischen Hunden; auf den normalen Cholesteringehalt hat es keinen Einfluss.

Hartmann (294 a) hingegen sah klinisch einen geringen Einfluss auf den Lipoidgehalt des Blutes: nur sah er ziemlich regelmässig die Phosphatide zuerst absinken und dann wieder schnell ansteigen.

Auf die grosse Literatur über die hochgradige Vermehrung der Acetonkörper im Diabetikerblut wollen wir hier nicht genauer eingehen, da sie hauptsächlich klinisches Interesse hat. Das wichtige ist, dass die Acetonkörper ausserordentlich schnell nach Insulingaben verschwinden (oft in $\frac{1}{2}$ —3 Tagen). Wohl vor allem gerade auf dieser Fähigkeit des Insulins beruht seine praktisch wichtigste Eigenschaft, bisher rettungslos dem Tode verfallene Komatöse zu heilen (179, 329). Der Zusammenhang zwischen Abnahme der Acetonkörper mit dem Rückgang des Zuckers ist auch wiederholt untersucht worden. Klinisch ist meist nur dem Gehalt im Harn nachgegangen worden und dabei festgestellt, dass sehr häufig die Abnahme der Acetonkörper bzw. deren Verschwinden noch vor der Verminderung bzw. dem völligen Schwinden des Zuckers eintritt. Indessen auch das umgekehrte Verhalten wurde beobachtet: dass die abnorme Ausscheidung der Ketokörper lange bestehen bleibt. So sah auch Lauritzen (362), wenn er kleine Insulingaben mehrere Tage hintereinander gab, die Acetonämie erst abnehmen, nachdem die Hyperglykämie und Glykosurie sich stark verringert hatten.

Interessant ist, dass noch vor der Flut der eigentlichen klinischen Insulinliteratur, ja noch bevor von Insulin als solchem die Rede war, Paul Leschke (446) schon 1921 bei seinen pankreas-diabetischen Tieren das deutliche Absinken von Acetonämie und Acetonurie wahrnahm, wenn er einen Pankreas-extrakt einspritzte.

Auch bei einer durch Hungern acidotisch gemachten normalen Versuchsperson bewirkte Insulin eine Abnahme der Acidosis (417).

Ob das Insulin selbst in toxischen Dosen die Entstehung von Acetonkörpern veranlasst, scheint noch nicht entschieden, wenigstens hat Delezenne (181, 182), der mit seinen Mitarbeitern seine Aufmerksamkeit hierauf gerichtet, im Blut von Insulinkrampf-tieren keine Ketokörper gefunden, während Collip (147) unmittelbar nach dem Krampfanfall im Harn Ketokörperreaktion feststellte.

Der Hämoglobingehalt des Blutes ist nach den Untersuchungen von Banting und Best (29, 38) vor und nach der Insulineinspritzung unverändert, ebenso wie Mazocco und Morera (414) es gefunden haben, und auch wir selbst haben dies in einigen wenigen Versuchen bestätigen können.

Andere Autoren aber kamen zu entgegengesetzten Ergebnissen. Drabkin c. s. (199) spritzten Hunden sehr grosse Dosen Insulin (20 Einheiten pro Kilo!) ein, und bestimmten dann das Hämoglobin als Mass für die Blutkonzentration, und den Blutzucker. Im venösen Blute nimmt beim Sinken des Blutzuckers die Konzentration des Blutes um 15,1—44,8% zu. Es scheint zuerst eine Blutzuckererniedrigung, und dann kurze Zeit nachher eine Bluteinengung stattzufinden. Der mittlere Blutdruck nimmt während der ersten Stunden etwas ab und kehrt dann wieder zur Norm zurück: seine Kurve und die des Hämoglobingehaltes verlaufen auffallend gleichförmig, sei es auch in entgegengesetztem Sinne. Die Bluteinengung tritt nach diesen Autoren bei Insulin-Hypoglykämie konstant auf: gleichzeitig beobachteten sie eine entsprechende Zunahme der Diurese.

Nach Olmsted und Taylor (447) steigen Hämoglobinkonzentration und Sauerstoffkapazität des Blutes steil 2—3 Stunden nach der Insulininjektion bei dezerebrierten und dekapitierten Katzen, während bei Kaninchen im Gegenteil meistens eine geringe Abnahme eintritt. (Für Zusammenhang zwischen O₂-Sättigung und Gaswechsel vgl. S. 118.) Die Tierspezies scheint also einen gewissen Einfluss zu haben. Ausserdem kann die Tatsache, dass diese Autoren und auch Collazo und Händel (143) (bei nur einem Hunde) eine Wasserverarmung des Blutes fanden, doch wohl richtig sein, wenn wir den Einfluss des Insulins auf den Wasserhaushalt der Gewebe (S. 127) in Betracht ziehen. Wahrscheinlich ist der Wassergehalt des Blutes auch verschieden je nach dem Grade der Insulinvergiftung und dem Zeitpunkte, in dem das Blut entnommen.

Bei mit Insulin behandelten Diabetikern haben jedoch Widal c. s. (565) in 15 von den 19 Fällen refraktometrisch gerade eine Blutverdünnung feststellen können, welche brüsk beginnt und sogar tagelang nach Aufhören der Insulintherapie noch fortbestehen kann. Die Variationen dieser Hydrämie gehen weder denen der Glykämie, noch der Harnacidose, noch der Kohlenhydratbilanz parallel.

Die Aminosäuren im Blute bleiben bei normalen Tieren (Tauben) durch Insulin ziemlich unverändert, bei Avitaminose aber bewirkt es eine deutliche Erniedrigung (56) des erhöhten Aminosäuregehaltes, so dass dieser sogar vorübergehend bis zur Norm fallen kann. Bei Diabetes ist das Verhalten hinsichtlich der Aminosäuren unseres Wissens noch nicht untersucht worden.

Den Harnstoffgehalt des Blutes hat Paulesco (401) schon 1921 mit seinen Pankreasextrakten sehr stark erniedrigen können, sowohl bei pankreasdiabetischen Hunden als auch bei normalen Tieren; nach Mazocco und Morera (414) bleibt er aber unverändert, ebenso wie der Kreatiningehalt und der Nicht-Eiweiss-N; der Gesamt-N des Blutes sinkt immer ab, der des Plasmas viel weniger.

Über Änderung des Blutes durch Insulin hinsichtlich seiner Ionenzusammensetzung ist schon wiederholt gearbeitet worden, aber es sind noch kaum irgendwie sichere Ergebnisse erhalten. Denn die Angaben beziehen sich oft nur auf einen Patienten oder ein normales Tier, und wenn irgendwo, dann muss hier bei der schwierigen Methode gelten: einmal ist keinmal.

Bei normalen Tieren verursacht Insulin im Anfang der Wirkung eine Abnahme des Kaliums, im Stadium der erhöhten Reizbarkeit beginnt es aber schon wieder zu steigen (108).

Dies letztere steht im Gegensatz zu Befunden von Harrop und Benedict (294), dass auch während des Krampfanfalles der Kaliumgehalt erniedrigt sei. Gerade dies ist ihnen ein wichtiger Unterschied von den übrigens so stark ähnlichen Strychninkrämpfen. Nach Mazocco c. s. (414) ändert sich der K-Gehalt gar nicht.

Bei einem acidotischen Diabetiker Staub's (508), wo die K- und Na-Werte bis zur Hälfte der Norm gesunken waren und, wie meistens im Gegensatz zum normalen Verhältnis, mehr K als Na anwesend war, wurde durch Insulin sowohl die Menge als das Verhältnis wieder zur Norm zurückgeführt.

Das Natrium im Blute bleibt während der Insulinwirkung nach Briggs c. s. (108) auffällig konstant beim normalen Tiere (für die Verhältnisse bei Diabetes s. o. [Kalium]).

Auch der Calciumgehalt ändert sich unter Insulineinfluss nur wenig (108, 414); nach den Befunden von Staub c. s. (508), die sich aller-

dings nur auf einen normalen Hund und einen komatösen Patienten beschränken, tritt beim normalen Individuum eine geringe Abnahme, beim komatösen Diabetiker eine Zunahme ein.

Der Magnesiumgehalt wird durch Insulin kaum beeinflusst (108, 414); nach Staub c. s. (508) sieht man beim diabetischen Blute, das an sich auffällig arm an Mg ist, den Gehalt durch Insulin wieder zunehmen (nur 1 Patient); auch bei seinem normalen Hunde stieg die Menge Mg an.

Harrop und Benedict (294) beobachteten eine Erniedrigung des Gehaltes an anorganischem Phosphor, welcher ihrer Ansicht nach (s. o. Kalium) in auffälligem Gegensatz steht zur Erhöhung bei Strychninvergiftung.

Dieselbe Tatsache haben Perlzweig c. s. (458) bei Mensch und Tier feststellen können, ebenso Staub (508) und Tolstoi c. s. (536). Wigglesworth c. s. (571, 583) haben den Verlauf des anorganischen Phosphorgehaltes genau verfolgt; innerhalb einer Stunde nach Einspritzung von etwas mehr als einer Krampfdosis sieht man den Phosphatgehalt schnell um etwa 30% absinken, danach bleibt er bis zum Auftreten der Krämpfe nahezu konstant, und erreicht nach Zuckereinjektion erst sehr langsam seine frühere Höhe, so dass die Norm oft erst am nächsten Tag wieder erreicht wird.

Blatherwick c. s. (82, 83) sah bei normalen Menschen gleichfalls den anorganischen Phosphatgehalt des Blutes absinken; dasselbe beobachtete man 1 Stunde nach Ingestion von Glukose. Gibt man vor der Glukose 40 (??) Kaninchen-Einheiten Insulin, dann ist während der Hypoglykämie das Plasma-phosphat meist sehr tief gesunken: bisweilen nimmt es zuerst zu und dann ab. Auf Grund dieses Verhaltens der Blut- (und Harn-)bestandteile meinen die Autoren, dass diese Versuche die Ansicht stützen, dass eine Kombination von Hexose mit Phosphorsäure Zwischenprodukt beim Kohlenhydratstoffwechsel sei.

Nach Savino (487), der 30 klinische Einheiten bei einem 24 Stunden hungernden Schafe einspritzte, und danach den Blutzucker in 3¹/₂ Stunden von 0,59‰ auf 0,14‰ (bestimmt nach Folin und Wu) absinken sah, sank auch der anorganische Phosphorgehalt des Blutes (bestimmt nach Bell-Doisy) von 8,9 mg pro 100 bis auf 5 mg pro 100: am nächsten Tage war er wieder 8,9 mg pro 100. Glukose-Injektionen, welche wohl die Hypoglykämie verhinderten, hemmten das Absinken des P-Gehaltes gar nicht: dies blieb ebenso gross wie zuvor. Glukose-Injektion allein änderte während der ersten 4 Stunden den P-Gehalt nicht, danach trat eine geringe Senkung auf.

Die anfängliche Erniedrigung haben Briggs c. s. (108) auch gefunden; sie behaupten aber, dass bereits, wenn das Stadium der Überreizung beginnt, der Gehalt schon wieder bis über die Norm gestiegen sei.

Mazocco und Morera (414) fanden gleichfalls, dass nach der Erniedrigung der Gehalt wieder bis oder sogar über die Norm ansteigen

kann, auch wenn der Blutzuckergehalt noch niedrig ist. Brugsch c. s. (112) sind die einzigen, welche gar keine Änderung feststellen konnten.

Die Menge der organischen Phosphate bleibt unter Insulin nach Perlzweig c. s. und Wigglesworth c. s. nahezu unverändert, was gegen die eventuelle Bildung lactacidogenähnlicher Stoffe im Blute spricht (458, 571).

Das Gegenteil geben Kay und Robison (327a) an, nämlich eine Vermehrung organischer Phosphorsäureester im Blute. In diesem Zusammenhange wäre vielleicht auch die von Martland und Robison (404) gefundene Tatsache zu erwähnen: wenn man Blut durch Zusatz von destilliertem Wasser hämolyisiert, so kann der Gehalt an anorganischem Phosphat in den ersten 5 Minuten um 10%, in 2 Stunden um 50% zunehmen (bei Zimmertemperatur). In unverdünntem Blut treten dieselben Erscheinungen auf, aber langsamer. Hier wäre vielleicht eine Brücke zu schlagen zwischen den Lactacidogenen einerseits und dem „gebundenen“ bzw. „Eiweisszucker“ andererseits.

Auch der Chloridgehalt des Blutes ändert sich nur wenig (108). Col-lazo c. s. (143) fanden bei einem Hunde eine Steigerung.

Von grösstem Interesse, auch klinisch, sind die Änderungen, welche das Insulin im Basen-Säure-Gleichgewicht des lebenden Körpers und des Blutes hervorruft.

Im allgemeinen geht diese Verschiebung nach der alkalischen Seite hin, wie sich sowohl bei elektrometrischen wie bei titrimetrischen Methoden zeigt, obwohl bei Vergiftung von normalen Tieren sie auch in acidotischer Richtung gehen kann. So fand z. B. bei Bestimmung des Kohlensäure-Bindungsvermögens, Collip (147) bei normalen Kaninchen unter Insulin, sei es auch nicht konstant, eine allmähliche Abnahme, so dass im Krampfstadium Werte von nur 28 erreicht wurden. Gibt man dann Zucker, und erholt sich das Tier, dann erreicht auch das CO₂-Bindungsvermögen in 1 oder 2 Tagen wieder seine frühere Höhe. In manchen Fällen trat aber nur eine geringe oder gar keine Erniedrigung des CO₂-Bindungsvermögens auf.

Mazocco und Morera (414) fanden in 4 Versuchen, etwa 1 1/2 Stunden nach intravenöser Insulineinspritzung, wenn der Blutzucker seinen tiefsten Punkt erreicht hatte, eine deutliche Abnahme der Alkalireserve: 3 Stunden nach der Injektion, als der Blutzucker wieder normal war, war auch die Alkalireserve wieder gestiegen.

Nach Lax kann man durch Änderung der Technik des Versuches, durch Injektion von Insulin nach Willkür entweder Hyperglykämie mit Schock, oder Hypoglykämie ohne Schock erzeugen. Während des Insulinschocks entsteht meistens eine starke Acidose, welche auf eine derartige Störung der Zelloxydation zurückzuführen sei, wie bei der Taubenberiberi (364). Uns erinnert diese Insulin-Hyperglykämie mit Schock an die Wirkung stark anti-insulinhaltiger Präparate.

Brugsch c. s. (111, 112) haben das p_H des Serums bei normalen Tieren unter Insulineinwirkung elektrometrisch bestimmt: es sinkt ab, z. B. von 8,43 auf 7,00, oder von 8,16 auf 7,86 usw. Dieses Absinken sieht man auch, wenn noch keine Krämpfe aufgetreten sind, aber doch erst dann, wenn dieses Stadium sehr nahe ist. Auch die Alkalireserve zeigte sich bei Titration verringert. Wirklich sauer wird das Blut erst bei den prämortalen Krampfständen.

Einspritzung von Alkali nützt aber den Insulintieren nichts (440).

Nach den Untersuchungen von Page (450) scheinen diese Eigenarten hauptsächlich auf die Art der Ernährung zurückzuführen zu sein: gibt man eine basische Diät (Kohl, Karotten, Heu), dann ist von vornherein das CO_2 -Reserve-Bindungsvermögen viel höher als bei saurer Diät (Hafer und Brot); bei der basischen Nahrung werden die Tiere nach etwa 2 Wochen krank, mit Diarrhöe und Gewichtsverlust, und sind überempfindlich gegen Insulin. Die Diät, welche saure Asche bildet, bringt also die Tiere in einen Zustand mässiger Acidose und macht sie resistent gegen Insulin, die alkalische Diät verursacht eine Alkalose.

Andererseits haben Wohlgemuth und Koga (591) die Möglichkeit geäußert, dass die Pankreashormone primär nur durch das Hin- und Herschieben des p_H wirkten.

Beim schweren Diabetes ist die Acidose gekennzeichnet durch eine Erniedrigung sowohl der Alkalireserve als des p_H im Plasma; unter Insulinbehandlung kehren beide gleichmässig wieder zur Norm zurück, wobei zwischen beiden ein enger Zusammenhang zu bestehen scheint (176). Dieselben Autoren, Cullen und Jonas, beschreiben zwei Fälle von Koma, von denen der eine bei 38° ein p_H von 6,98, der andere von 7,02 hatte; beide erholten sich; dies seien nach ihrer Meinung die ersten bekannt gewordenen Fälle, wo Patienten mit einem so niedrigen p_H sich erholt haben (176).

Auch Davies (179) und Mitarbeiter fanden eine Rückkehr der Bicarbonatreserve bis zur Norm bei präkomatösen Patienten.

Killian (329) sah bei 14 Diabetikern das CO_2 -Bindungsvermögen des Blutes durch Insulin stark ansteigen und parallel damit auch das p_H des Blutes (8—19 Stunden nach der Injektion war aber der frühere abnorme Zustand schon wieder zurückgekehrt). Während der Einwirkung des Insulins konnte Major (401) denn auch mit der Methode nach van Slyke einen steilen Anstieg der CO_2 -Spannung im Blute beobachten.

Zum Schluss wollen wir noch erwähnen, dass nach Kretschmer (340) Insulin den Komplementtiter des Blutes von Meerschweinchen, bei denen hypoglykämische Symptome aufgetreten waren, nicht merklich gegenüber der Norm geändert hatte.

Zerebrospinalflüssigkeit.

Nach Kasahara und Uetani (327) enthält normaler menschlicher Liquor 0,60—0,70‰ Glukose; bei Diabetes ist der Gehalt viel höher. Bei normalen hungernden Kaninchen fanden sie (bei Bestimmung nach Bang) einen Gehalt von 0,50—0,60‰; 30 Minuten nach subkutaner Injektion von 1 Einheit pro 2 Kilo war der Gehalt noch derselbe; nach 1 Stunde zeigten 2 von den 6 Tieren eine geringe Erniedrigung, 2—3 Stunden nach der Einspritzung war der Zuckergehalt bis zu 0,01—0,19‰ abgesunken. Danach stieg er wieder an und erreichte 7 Stunden nach der Injektion wieder die Norm.

D. Harn.

Obwohl die Änderungen des Harns durch Insulin nur indirekter Natur sind, Folgen von Beeinflussungen anderer Organe bzw. Funktionen, und sie dadurch z. T. auch noch an anderen Stellen zur Sprache kommen, ist vielleicht eine kurze Zusammenfassung dieser Veränderungen des Harns nicht ohne Wert.

Die Richtlinie bei allen früheren Untersuchungen betreffs der inneren Sekretion des Pankreas ist immer gewesen, inwieweit ein bestimmtes Präparat imstande war, die Glykosurie (aus technischen Gründen meist bei pankreaslosen Hunden) herabzusetzen, und tatsächlich ist es damals schon wiederholt gelungen, den gewünschten Erfolg zu erzielen. Auch Banting und Best sind bei ihren ersten Untersuchungen demselben Wege gefolgt; an anderer Stelle haben wir auseinandergesetzt, warum ihnen gelungen, was vor ihnen so vielen anderen Forschern misslang. Und als es schliesslich geglückt war, ein klinisch brauchbares Präparat herzustellen, sind diese Tierexperimente in der menschlichen Medizin tausendfach bestätigt worden: Insulin ist imstande, in der grossen Mehrzahl der Fälle die pathologische Zuckerausscheidung im Harn zu verringern oder zu beenden.

Die Exkretion des normalen Harnzuckers hingegen wird von Insulininjektionen nicht nennenswert beeinflusst (83): ihre Menge scheint ganz unabhängig von der Blutzuckerkonzentration, wenn diese unterhalb des Nierenschwellenwertes liegt.

(Merkwürdig ist der Befund von Maestrini (396) und Mitarbeitern, dass bei Diabetikern das amylolytische Vermögen des Harns ausserordentlich hoch ist, bei Morbus Addisonii hingegen sehr niedrig. Es würde sich vielleicht lohnen, eine derartige Untersuchung auch einmal bei Insulinbehandlung anzustellen.) (Vgl. Amylase des Blutes, S. 66 u. f.)

Neben der Abnahme des Zuckergehalts tritt auch eine Verringerung bzw. ein Aufhören der Ausscheidung von anderen pathologischen Produkten auf: beim pankreaslosen Tiere, wo sie nur sporadisch, beim schwerdiabetischen Menschen, wo sie fast konstant vorkommen, verschwinden die Ketonstoffe

aus dem Harn (35, 329, 393, 451) gewöhnlich alle zugleich, gelegentlich aber getrennt, wie z. B. im Falle von Desgrèz c. s. (190) wo Aceton und Acetessigsäure verschwanden, aber die β -Oxybuttersäure blieb. Bisweilen sieht man auch (s. o. bei Blut) die Acetonurie sehr schnell und stark absinken, während die Glykosurie nur langsam oder gar nicht abnimmt, andermal sieht man bei Aufhören mit der Insulintherapie die Glykosurie schnell steigen, während die Ketonurie noch lange Zeit niedrig bleibt [Widal (564)].

Merkwürdig ist die Angabe von Collip (147), dass beim normalen Kaninchen, wenn unter Einfluss des Insulins der Blutzucker auf etwa 0,65—0,45 % gesunken ist, die Reaktion von Rothera auf Ketonstoffe positiv wird, und unmittelbar nach dem Krampfe sogar immer deutlich ist, ebenso wie die Reaktion mit Eisenchlorid (nach Abfiltrieren des zuerst entstandenen grünen Niederschlags). Nach dem Krampf enthält der Harn 50 bis 100 mg Ketonstoffe pro 100 ccm (bestimmt nach van Slyke). Erholt sich das Tier mit Zucker, dann schwinden auch mit der Zeit die Ketone wieder.

Auch Macleod und Allan (394) sahen bei Messung der titrierbaren Acidität im Harn bei normalen, hauptsächlich mit Kohlenhydraten genährten Hunden eine Andeutung, dass einige sauren Stoffe freikommen nach Einspritzung von Insulin.

Die Stickstoffausscheidung mit dem Harn nimmt unter Einfluss des Insulins bei normalen Tauben beträchtlich zu (143), ebenso bei normalen Hunden (431), wo sie etwa 4 Stunden nach der Insulineinspritzung maximal ist. Dieser Zunahme folgt aber bei weiterer Insulinverabreichung eine Abnahme unter die Norm (83). Gleichfalls nimmt die N-Ausscheidung unter Einfluss des Insulins ab bei pankreasdiabetischen Tieren (129) und mit Phlorhizin vergifteten Hunden (431, 474), ebenso bei Diabetikern (466).

Zum grössten Teil beruht dies wahrscheinlich auf der starken Abnahme des Harnstoffes, die auch schon Paulesco (451) sowohl nach subkutaner als nach intravenöser Injektion von seinen Extrakten beobachtet hat.

Auch die Ammoniakausscheidung nimmt ab, der NH_3 -Koeffizient $\left(= \frac{\text{NH}_3 \times 100}{\text{Gesamt-N}} \right)$ wird erniedrigt (553). Nach Labbé (347) kann der Stickstoffverlust beim normalen Tiere unter Insulineinfluss so gross werden, dass das Tier stirbt; dies zeige, dass die Insulinwirkung sich nicht auf den Kohlenhydratstoffwechsel beschränkt.

Die Phosphatausscheidung mit dem Harn nimmt bei normalen Menschen und Tieren mit $3\frac{1}{2}$ Einheiten Insulin deutlich ab (294, 414, 458); nach 3—12 Stunden folgt aber eine kompensierende Steigerung, so dass die gesamte Tagesmenge ausgeschiedenes Phosphat nahezu normal ist (294).

Blatherwick c. s. (82, 83) sind zu etwas abweichenden Ergebnissen gekommen, welche die vorigen Angaben ergänzen. Gibt man normalen Individuen Insulin, und dann nachher Glukose, dann sinkt während der

Hypoglykämie die P-Ausscheidung stark ab. Spritzt man aber ruhenden normalen, auf Basaldiät lebenden, sich im Gleichgewicht befindenden Versuchspersonen jedesmal vor den Mahlzeiten Insulin ein, dann steigt die gesamte anorganische P-Ausscheidung während der ersten zwei oder drei Tagen, um erst nachher unter die Norm zu sinken. Doch treten grosse individuelle Unterschiede auf. Muskelaktion verursacht eine verstärkte Phosphatexkretion im Harn.

Beim Diabetiker verursacht Insulin oft keine Phosphatretention (458).

Die Calciumausscheidung verhält sich wie die der Phosphate (294).

Es besteht kein konstantes Verhältnis zwischen Phosphatretention und Reaktion des Harns (gemessen als totale titrierbare Acidität) (458); doch wird nach Insulin der Harn (272) bei Diabetikern leicht alkalisch, auch in Fällen wo durch Bicarbonatverabreichung allein keine Alkalisierung erreicht werden konnte.

Allan konnte bei normalen Hunden keine Änderung der Alkalität des Harns durch Insulineinspritzung feststellen (194).

Das spezifische Gewicht des Harns eines normalen Hundes sank kurz nach der Insulineinspritzung etwas ab (143), ebenso wie der Kochsalzgehalt (143), während die ausgeschiedene Menge Wasser wenig oder nicht anstieg (143); im zweiten Stadium, einige Tage später, wurde umgekehrt mehr NaCl und weniger Wasser ausgeschieden (143). Drabkin c. s. (199) beobachteten bei narkotisierten normalen Hunden eine deutliche Zunahme der Diurese.

Bei Diabetikern sinkt die ausgeschiedene Menge Wasser stark ab (272, 466); hört man mit der Insulintherapie auf, dann sieht man oft eine Polyurie auftreten (272). Die Wasserretention tritt oft schon bei kleinen Dosen auf, welche die Glukosurie unbeeinflusst lassen (466).

Anhang: Milch.

Bei zwei Ziegen fanden Giusti und Rietti (274), dass nach intravenöser Injektion von Insulin die Menge der Milch konstant am nächsten Tag abnimmt, ebenso wie die Menge des Milchzuckers, sei es auch in geringerem Grade, sogar wenn der Blutzucker nur 0,26‰ betrug. Die Menge des Fettes nimmt nach der Injektion stark zu, schwankt übrigens auch spontan stark.

E. Gaswechsel und Energiewechsel¹⁾.

a) Intra corpus.

Durch Pankreasauszüge liess das Befinden (experimentell) diabetischer Tiere sich bessern. Es lag nahe, als Ursache dieser Besserung die vollständigere bzw. normalere Ausnutzung von Kohlenhydraten zu setzen. Und so suchten auch schon die ersten Untersucher Murlin und Cramer 1916, Banting

¹⁾ Siehe auch die zusammenfassende Tabelle im letzten Kapitel.

1921 durch Beobachtung des Gaswechsels Anhaltspunkte für diese Beeinflussung des KH.-Stoffwechsels zu finden.

Tatsächlich liessen sich auch Änderungen des Gaswechsels nach Insulin feststellen. Allerdings ist es hierbei, wie so häufig bei solchen Fragen gegangen: nach den ersten Versuchen glaubt man, die Sache werde schnell ihre Aufklärung finden — je zahlreichere und je genauere Untersuchungen folgen, desto weniger sichere Schlüsse sind zu ziehen.

Hier besprechen wir, etwas abweichend vom Programm, bei dem zunächst nur die Wirkung des Insulins auf den normalen Organismus behandelt werden sollte, auch den Einfluss auf das diabetische Individuum, ja wir stellen diese sogar voran. Es ist dies für das Verständnis der Einwirkung besser und auch historisch gerechtfertigt. Denn schon in einer ihrer ersten Veröffentlichungen (35) teilen Banting und Best c. s. Beobachtungen an pankreaslosen Hunden und an einem diabetischen Menschen mit, wo der respiratorische Quotient, der sich vorher auf dem niedrigen diabetischen Niveau befand, unter Einfluss des Insulins deutlich anstieg, z. B. beim Menschen von 0,74 auf 0,90 innerhalb zwei Stunden. Campbell (35) bestätigte dies an zwei anderen Diabetikern, und nachher sind übereinstimmende Befunde in der klinischen und experimentell-medizinischen Literatur sehr häufig mitgeteilt worden (32, 140, 141, 167, 267, 268, 295, 342, 359, 385, 426, 427, 428, 474).

Bei den Versuchstieren wurde ausserdem untersucht, wie der R.Q. sich verhielt bei Zuckerverabreichung mit und ohne Insulin, hier konnte er noch viel weiter in die Höhe getrieben werden, so dass sogar Werte über 1 beobachtet wurden (35).

Der Effekt dauert aber nicht länger als die übrigen Insulinwirkungen (35), und läuft ausserdem bei den verschiedenen Fällen weit auseinander (358, 359).

Nach Chabanier c. s. (131) könne die Menge der ausgeatmeten Kohlensäure bei Diabetikern durch Insulin fast aufs Doppelte steigen.

Auch die Menge des eingeatmeten Sauerstoffes nimmt nach den Befunden einiger Autoren zu [McCormick c. s. (167); Dickson & Pember (393)]; nach Versuchen von Feyertag (231) an vier Diabetikern ändert sich der Sauerstoffverbrauch aber nicht, ob man Insulin verabreicht oder nicht, und ebensowenig konnten E. und L. Hédon (299, 300) an einem pankreaslosen Hunde, bei dem der Gaswechsel, wie gewöhnlich, etwa 30% zu hoch war, an den Tagen, wo es gelang, das Tier mit Insulin aglykosurisch zu machen, eine nennenswerte Abnahme feststellen; auch Perlzweig c. s. (458) erhielten auseinanderlaufende Resultate. Bernhardt (592) untersuchte bei Diabetikern (nüchtern) den Einfluss des Insulins (intravenös gegeben): Der Sauerstoffbedarf blieb gleich oder nahm ab, der R.Q. stieg und war nach einer halben Stunde maximal. Wurde den 5 Einheiten Insulin 150 mg CaCl₂ in Lösung

zugesetzt, dann wurde der O_2 -Verbrauch während etwa einer Stunde um etwa 10% erhöht; der R.Q. stieg weniger. Auch dieser Autor betont die grossen individuellen Unterschiede.

Auch nach Davies c. s. (179) gehe die Herabsetzung des Blutzuckers nicht immer zusammen mit einer so grossen Erhöhung des R.Q., wie man erwarten sollte, wenn aller Zucker verbrannt würde. Nach ihrer Ansicht wird vielleicht wirklich die entsprechende Kohlensäure mehr gebildet, aber dann durch den vermehrten Alkaligehalt des Blutes festgehalten.

Nach Tolstoi c. s. (536) sei auch die Zunahme des R.Q. grösser als mit der Milchsäureproduktion, dem anaeroben Zuckerabbau also, übereinstimme.

Lublin (383) meint, die wechselnden Befunde in der Literatur bei Gaswechselversuchen an Diabetikern auf verschiedene Ursachen zurückführen zu können. Spritzt man einem Diabetiker ohne weiteres Insulin ein, dann kann der R.Q. bleiben, wie er ist; das wird der Fall sein, wenn die Kohlenhydratvorräte des Organismus zu klein sind, um bei ihrer Verbrennung eine nennenswerte Erhöhung des R.Q. zu geben. Gibt man hingegen eine halbe Stunde nach dem Insulin Glukose, dann kann der R.Q. proportional der Insulinwirkung, bis fast 1.— steigen. Aus dem Verhalten des Gaswechsels während der Hypoglykämie darf man seines Erachtens keine Schlüsse ziehen, weil er aus eigener Erfahrung weiss, dass dann gewöhnlich Unruhe und Änderung der Atmungsfrequenz auftreten, während gerade für Respirationsversuche eine völlig ungehinderte Atmung *conditio sine qua non* ist.

Hawley und Murlin (295) haben ausserdem darauf hingewiesen, dass für derartige Versuche die Reinheit der Präparate von grosser Bedeutung ist, weil an der bisweilen beobachteten Erniedrigung des Gesamtstoffwechsels die blutzuckererhöhenden Verunreinigungen schuldig seien. Sie meinten aus ihren Versuchen an normalen Kaninchen schliessen zu dürfen, dass je reiner das Insulin, desto höher der R.Q. ansteigt, ohne dass der Gesamtstoffwechsel sinkt. Eine bestimmte Verunreinigung, welche den Blutzucker erhöht (Glukagon) drücke den R.Q. herab. Der Schwellenwert für die Wirkung auf den R.Q. sei nicht derselbe wie der für die Wirkung auf den Blutzucker (vgl. S. 195).

Beim gesunden Menschen haben Boothby und Rowntree (100) Versuche über Basalstoffwechsel angestellt. Bei ruhenden Individuen „in the postabsorptive condition“ schien Insulin keine direkte Wirkung auf die Wärmeproduktion zu haben. Bei hungernden Personen tritt allerdings eine Vermehrung des Basalstoffwechsels ein, wenn der Blutzucker bis zu einem gewissen kritischen Niveau gesunken ist, und gleichzeitig hypoglykämische Symptome auftreten. Boothby und Rowntree betrachten diese Reaktion aber als sekundär am Mechanismus, der weiterer Blutzuckererniedrigung entgegenwirkt. Kellaway und Hughes (328) beobachteten (in nur 2 Versuchen

an einer Versuchsperson) eine Steigerung des R.Q., verursacht durch eine nur geringe Zunahme des Sauerstoffverbrauches gegenüber einer grossen Vermehrung der abgegebenen CO_2 -Menge.

Auch Lyman c. s. (385, 386) haben bei 6 Gesunden nach intravenöser Einspritzung von $2\frac{1}{2}$ —5 Einheiten Insulin gesehen, dass der R.Q. schon innerhalb 30 Minuten sein Maximum erreicht: die Wärmeproduktion stieg um 2,5—17,7% an. (Bei Diabetikern wurden die gleichen Resultate, aber etwas verspätet erreicht mit 10 Einheiten intravenös.) Die Wärmeproduktion erreichte ihr Maximum später als der R.Q., wurde aber auch innerhalb 2 Stunden wieder normal. Einmal wurde bei einem Gesunden in den ersten Minuten nach der Einspritzung eine Herabsetzung des R.Q. beobachtet.

Bornstein c. s. (102) bestimmten mit Zuntz-Gepperts Respirationsapparat an normalen und diabetischen Menschen und an einem pankreasdiabetischen Hunde den Gaswechsel, wobei sie auf gleichbleibende Grösse der Lungenventilation geachtet haben. Auch sie erhielten sehr wechselnde Ergebnisse. In einer Reihe von Versuchen zeigte sich nach Insulin-Verabreichung tatsächlich eine erhebliche Erhöhung des R.Q.: diese war aber nicht ohne weiteres auf Rechnung einer vermehrten Kohlenhydratverbrennung zu setzen, weil gleichzeitig Vermehrung der Lungenventilation und Erniedrigung der alveolaren CO_2 -Tension stattfanden, so dass der erhöhte R.Q. ungezwungen aus erhöhtem Abblasen von CO_2 zu erklären war. In einer anderen Reihe von Versuchen hingegen blieb bei gleichmässiger Atemmechanik und sinkendem Blutzucker trotz Insulin der R.Q. unverändert. Dies betrachten sie als einen Beweis, dass die typische Blutzuckererniedrigung durch Insulin nicht notwendig zusammenhängt mit einer vermehrten Kohlenhydratverbrennung. Aus weiteren Versuchen liess sich zeigen, dass auch per os zugeführte Glukose nicht schneller und nicht in grösserer Menge mit Insulin verbrennt als ohne dieses, weshalb sie meinen, dass Insulin zwar mitarbeitet an der Regulierung der Blutzuckerbildung, nicht aber an der Zuckerverbrennung.

Laroche c. s. (360) haben Messungen an einer Anzahl nichtdiabetischer Individuen angestellt. Eine normale Versuchsperson reagierte auf die Insulinverabreichung mit einer Steigerung des R.Q. bis auf 0,99, und einer starken Vermehrung des Gaswechsels, am stärksten des CO_2 . Patienten mit Leberzirrhose (1) und Morbus Basedowii (2) reagierten in derselben Weise; hingegen war bei 2 Patientinnen mit Adipositas und thyreo-ovarieller Insuffizienz der Erfolg sehr gering: die ausgeschiedene Menge CO_2 änderte sich kaum oder nahm sogar etwas ab.

Beim gesunden Hunde meinten McCormick (167) und Mitarbeiter auch meistens eine deutliche Zunahme des R.Q. zu finden, nach Dale (177) aber trete dies nur im Anfang der Wirkung auf, durch erhöhte CO_2 -Abgabe, bei unveränderter O_2 -Aufnahme. Wenn dann der Blutzucker anfängt abzusinken, werden auch O_2 -Verbrauch und CO_2 -Abgabe schnell erniedrigt,

gleichzeitig mit der Körpertemperatur [worauf wir an anderer Stelle (S. 41) schon hingewiesen haben]. Innerhalb von 2 Stunden beim Kaninchen, ja innerhalb einer halben Stunde bei der Maus beträgt der Gaswechsel dann nur noch die Hälfte der Norm oder gar noch weniger, das Tier liegt ja auch zwischen den Krämpfen kalt und kollabiert danieder, was nicht gerade einer Erhöhung des Kohlenhydratstoffwechsels entspricht.

Dale stützt seine Anschauungen z. T. auf Versuche von seinen Mitarbeitern, Dudley (204) u. a.

In zwei unabhängig voneinander ausgeführten Versuchsreihen konnten diese Autoren feststellen, dass bei Mäusen unter Einfluss des Insulins die CO_2 -Abgabe immer herabgesetzt wurde; gleichzeitige Glukoseverabreichung hatte hierauf nur einen ungenügend hemmenden Einfluss. Die Körpertemperatur sank, und die niedrigen CO_2 -Zahlen blieben bestehen, trotz der Krämpfe der Tiere. Glukose-Einspritzungen brachten wohl die Krämpfe zum Verschwinden, aber sie erhöhten die CO_2 -Abgabe nicht bis zur Norm.

An einem kleinen Kaninchen wurden genau dieselben Beobachtungen gemacht.

Mit sehr grossen Dosen Insulin trat bei Mäusen immer eine Abnahme der verbrauchten O_2 -Menge auf. Subkutane Einspritzung von 100 mg Glukose verursachte im allgemeinen eine Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs, aber sie fehlte auch in einem Falle, wo eine beinahe tote Maus dadurch wieder ins Leben zurückgeführt wurde, vollkommen. Diese Versuche waren bei Zimmertemperatur angestellt. Wurden sie bei $30,5^\circ \text{C}$ wiederholt, dann dauerte es etwas länger, ehe die Abnahme des O_2 -Verbrauchs eintrat, sie entwickelte sich aber dann noch schneller als bei Zimmertemperatur. Krämpfe vermehrten den O_2 -Verbrauch nicht.

Bei Meerschweinchen war das Ergebnis dasselbe, auch wenn sie Krämpfe bekamen.

Dale hat (wie Lesser (373) mitteilt) Versuche an dekapitierten, eviszerierten Katzen angestellt (Präparat also, welche im wesentlichen nur aus Herz, Gefässen, Lungen und Skelettmuskulatur bestehen, da Baueingeweide und endokrine Drüsen entfernt sind). Durch kontinuierliche intravenöse Zuckierzufuhr wird der Blutzucker konstant gehalten. Nach Insulininjektion sinkt der Blutzucker sehr stark, wenn die Zuckierzufuhr ungeändert bleibt. Das Verschwinden des Zuckers nach Insulin wird ausserordentlich beschleunigt, wenn gleichzeitig die Zuckierzufuhr erhöht wird. Der Gaswechsel änderte sich nach Insulingabe nicht wesentlich, da der respiratorische Quotient dieses Präparats schon vor der Insulingabe gleich der Einheit ist. Wird aber der Blutzucker vor der Insulingabe etwas über den Normalwert gesteigert, so findet sich nach Insulin eine leichte Steigerung der Oxydationsgeschwindigkeit. Lässt man bei dauernder Zuckierzufuhr den Blutzucker durch Insulininjektion stark sinken (bis $0,04\%$), so tritt keine wesentliche Änderung des Gaswechsels ein. Die Sauerstoffaufnahme eines solchen, der Hauptsache nach aus ruhenden Muskeln bestehenden Präparates reicht nur aus, um einen kleinen Teil des aus dem Blute verschwundenen Zuckers zu Kohlensäure und Wasser zu verbrennen. Wie es mit dem Muskelglykogen steht, wird leider nicht mitgeteilt.

Gabbe (258) arbeitete mit verschiedenen Gruppen von Ratten, verschieden nach der Art ihrer Ernährung. (Hungernd; genährt mit in Glukose getränktem Brot; eingespritzt mit Glukose; genährt mit Margarine.)

Den hypoglykämischen Symptomen ging in seinen Versuchen immer eine Erhöhung des R.Q. voran, am deutlichsten bei gut genährten Tieren. Der O₂-Verbrauch nahm bei mittleren oder grösseren Dosen während der ersten Stunde ab und stieg dann allmählich wieder bis zur Norm an; nur in einem Versuch blieb er ganz unverändert. Da die CO₂-Abgabe nur in geringerem Grade als der O₂-Verbrauch abnahm, stieg der R.Q. an. (Verf. meint, dass dies doch auf eine vermehrte Kohlenhydratverbrennung hinweise, zusammen mit einer Verringerung der Fettverbrennung; eine Umbildung von Kohlenhydrat in Fett achtete er weniger wahrscheinlich.) Nach der Periode von Steigerung des R.Q. folgt, 3–5 Stunden nach der Einspritzung, ein ziemlich steiler Abfall bis auf etwa 0,70, der immer begleitet wird von einer Erhöhung des O₂-Verbrauches, welche meist so gross ist, dass trotz der Zunahme der CO₂-Produktion der R.Q. noch abnimmt. In diesem Stadium erhöht Glukose-Einspritzung den R.Q. nicht. Wurde Glukose im Beginn des hypoglykämischen Anfalles eingespritzt, dann sank, nach der schnellen Erholung des Tieres, der R.Q. steil von seinem hohen Werte ab bis fast auf 0,60. (Hierbei wurden diejenigen Fälle ausser acht gelassen, wo der R.Q. durch mangelhafte Atmung mit erschwerter CO₂-Ausscheidung während des hypoglykämischen Zustandes gesunken war.) Den weiteren theoretischen Betrachtungen dieses Autors wollen wir an dieser Stelle nicht weiter folgen.

In einer weiteren Versuchsreihe (260) hat Gabbe dann feststellen können, dass Fleischnahrung bei jungen Ratten die Einschränkung des O₂-Verbrauchs nach Insulin verhindert: ebenso wirken Glykokoll, Alanin, Kreatinin, Guanidin bei subkutaner Injektion. Sie alle erhöhen den Sauerstoffverbrauch und hemmen die physiologische Steigerung des R.Q. nach Kohlenhydratfütterung. Die Wirkung des Insulins auf den R.Q. wird von Glykokoll und Alanin nur wenig, von Kreatin kaum beeinflusst. Guanidinkarbonat schwächt die Wirkung des Insulins auf den Gaswechsel stark ab, kann sie bei geeigneter Dosierung sogar vollkommen aufheben, so dass auch hypoglykämische Symptome unterbleiben. Guanidinchlorid wirkt ebenso, wenn gleichzeitig Alkali gegeben wird.

Ergebnisse an drei Tieren (361a), von denen jedes einzelne etwas anders behandelt ist, sind kaum zu verwerten.

Die Versuche von Weiss und Reiss (561) sind unbrauchbar wegen des unzweifelhaften starken Einflusses der von ihnen verwendeten Urethan-narkose, den sie selbst auch erkannten; die gefundene Erhöhung des Gaswechsels, des R.Q. und der Kalorienproduktion ist nur mit grosser Vorsicht zu bewerten.

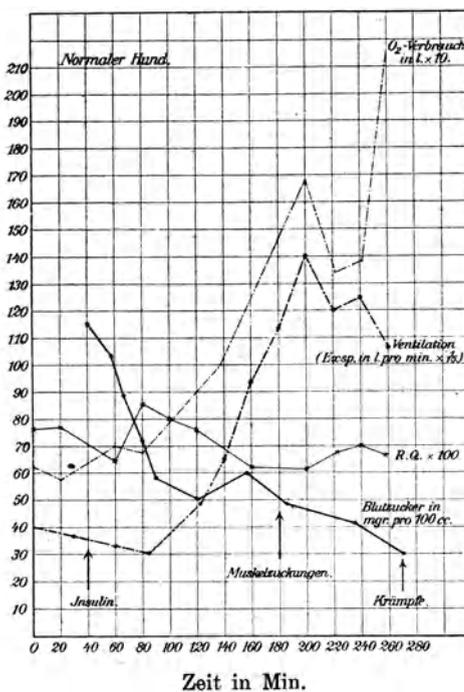
Derselbe Einwand gilt für die Versuche von Arnovlyévitch und Schmid (21, 22), wobei die Kaninchen mit Chloralose betäubt waren. 4 Tiere von etwa 2 kg erhielten je 4 Einheiten Insulin. Bald stieg die Verbrennung um 16–20% und blieb so hoch während der ersten 2 Stunden nach der Injektion. Chloralose (125 mg pro Kilo) ändere zwar den Blutzuckergehalt nicht, doch erniedrigt Insulin den Blutzucker bei Chloralose-Tieren weniger schnell als bei normalen, wenigstens wenn man die Temperatur normal hält:

lässt man ein Chloralose-Tier abkühlen, dann sinkt sein Blutzucker ebenso schnell wie beim nichtnarkotisierten Tiere.

Nach Bornstein (101) sind aber alle die Untersuchungen, welche eine Erhöhung des R.Q. zu zeigen schienen (woraus man [z. B. auch Grafe (281)] dann verfrüht geschlossen hat, dass mehr Zucker unter Einfluss des Insulins verbrenne), unbrauchbar: denn man habe dabei niemals auf den Einfluss der verstärkten Lungenventilation geachtet. Betrachtet man allein die Versuche, bei welcher die Lungenventilation absichtlich auf gleicher Höhe gehalten wurde, dann gibt Insulin keine, oder nur eine ganz geringe, innerhalb der Fehlergrenzen der Methodik liegende, Erhöhung des R.Q. Ebenso wenig gelang es Bornstein (unter denselben Vorsichtsmassnahmen) beim pankreasdiabetischen Hunde, der ja Zufuhr von Glukose nicht mit Erhöhung des R.Q. beantworten kann, dieses Vermögen durch Insulin wiederherzustellen. Dies spreche nach ihm entscheidend dafür, dass Insulin nicht die Zuckerverbrennung erhöhe, sondern die Zuckerausschwemmung aus der Leber hemme.

Es erscheint fraglich, ob der genannten Forderung Bornsteins völlig Genüge getan ist in den Versuchen, welche von Macleod nochmals unternommen sind, um diese Kontroverse aufzuklären, obwohl sie mit äusserster Sorgfalt ausgeführt wurden. Das Ergebnis ist in nebenstehender Figur [aus Macleod (392)] niedergelegt.

Die Abbildung zeigt also folgendes: Wenn die initiale Blutzuckererniedrigung auf ihren tiefsten Punkt gelangt war, hatte der R.Q. merkbar zugenommen, die anderen Werte aber nicht. Je mehr der Blutzuckergehalt absank, desto mehr fingen Atemfrequenz, Atemvolumen und Sauerstoffverbrauch an, zu steigen; dies ging weiter bis Krämpfe auftraten, der R.Q. kehrte aber auf seinem normalen Niveau zurück. Die Vermehrung des Sauerstoffverbrauches trat auf, wenn das Tier, als Beginn des hypoglykämischen Krampfanfalles, anfang, unruhig zu werden. Unterdrückte man die hypoglykämischen Symptome durch sofortige Glukoseeinspritzung, dann trat nur noch die Erhöhung des R.Q. auf, während die anderen Werte ziemlich unverändert blieben.



Die Rektaltemperatur sank nach der Insulininjektion regelmässig ab, mit zeitweiser Erhöhung während der Krämpfe.

Bei Kaninchen nahm bei $\frac{1}{3}$ der Versuche etwa 1 Stunde nach der Einspritzung der Sauerstoffverbrauch deutlich zu, bei den übrigen $\frac{2}{3}$ blieb er unverändert oder sank etwas ab. Der R.Q. stieg meistens, vor allem bei hungernden Tieren. Nach Macleods Meinung sind diese Resultate schwierig zu deuten, weil man nicht weiss, was auf Rechnung der vermehrten Muskelarbeit, was auf die des Stoffwechsels selbst kommt.

Daher hat Krogh (341, 392) Versuche an curaresierten Kaninchen unternommen. Bei diesen künstlich atmenden Tieren ist die Lungenventilation offenbar konstant gewesen, so dass diese Versuche jedenfalls den Forderungen Bornsteins genügen. Krogh kam zu den folgenden Ergebnissen:

Der Gaswechsel bleibt noch etwa während einer halben Stunde nach der Insulineinspritzung qualitativ und quantitativ unverändert: dann tritt nur eine qualitative Änderung ein, bestehend in einer Steigerung des R.Q., während der Sauerstoffverbrauch unverändert bleibt oder etwas absinkt.

Dickson c. s. (194) haben die Torontoer Gaswechseluntersuchungen an normalen Kaninchen und Hunden neuerdings noch ausführlicher mitgeteilt. Wenn durch Insulin der Blutzucker bis zu 0,50 oder 0,60‰ abgesunken war, zeigte sich eine Reizung des Atemzentrums und eine Zunahme des Muskeltonus. Hyperpnoe und vermehrter Energiewechsel fingen verschieden lange Zeit nach der Injektion an, gewöhnlich wenn der Blutzucker schon seinem Minimum nahe war, etwa gleichzeitig mit Überreizbarkeit und Rastlosigkeit. Den asphyktischen gleichende Krämpfe kamen bisweilen vor, und das arterielle Blut hatte oft eine venöse Farbe. Zugleich aber war der O₂-Verbrauch vermehrt, so dass die Autoren jetzt vermuten, dass infolge der Hypoglykämie abnorme Stoffwechselprodukte entstehen, welche zu ihrer Oxydation viel O₂ brauchen, den sie auch durch Reizung des Respirationszentrums erhalten. Die Temperaturenniedrigung war bei ihren Hunden meistens sehr gering: niemals kam die Temperatur unter 37°. Während des vermehrten Sauerstoffverbrauchs steigt die Körpertemperatur nicht (nur bisweilen bei Krämpfen). Erhielten die Hunde Insulin und danach Glukose, dann änderten O₂-Verbrauch und Atemvolumen sich kaum, während sie zunahmen, wenn keine Glukose gegeben wurde: ein Hinweis, dass diese Änderungen abhängig sind vom Zuckerspiegel in Blut und Geweben.

Wichtig, auch für die Aufklärung der Kontroversen, ist, dass diese Autoren angeben, dass die Resultate bei Hunden andere waren als bei Kaninchen.

Hunde: 1. Deutliche Zunahme des Atemvolumens, die anfängt, ehe die initiale Blutzuckererniedrigung ihren tiefsten Punkt erreicht hat, und oft von Überreizbarkeit begleitet wird.

2. Eine entsprechende Zunahme des Sauerstoffverbrauchs und deshalb des Energiewechsels.

3. Eine deutliche Zunahme des R.Q., deren Anfang verschieden spät nach der Insulinverabreichung lag.

4. Beschleunigung von Puls und Atmung, die erst einsetzen, nachdem Atemvolumen und O₂-Aufnahme schon begonnen hatten, anzusteigen.

Kaninchen: 1. Keine Zunahme des Atemvolumens.

2. Zweifelhafte Vermehrung des O₂-Verbrauchs, wenigstens vor den Krämpfen.

3. Steigen des R.Q. in 3 von den 4 Fällen, schon anfangend 15–45 Minuten nach der Injektion, gleichzeitig also mit der anfänglichen Blutzuckererniedrigung. Nachher Erniedrigung des R.Q., so dass er kurz vor Auftreten der Krämpfe wieder nahezu normal war. In speziell darauf gerichteten Versuchen zeigte sich, dass sowohl das totale CO₂-Bindungsvermögen des Blutes wie die total im Blut anwesende Menge CO₂ durch Insulin nicht nennenswert vermindert werden, obwohl gewöhnlich kurz nach der Injektion wohl eine geringe Abnahme stattfindet, d. h. in der Zeit, in welcher der R.Q. etwas zunimmt; vielleicht beruht dies auf der Bildung von sauren Stoffen, die CO₂ austreiben.

Tsubura (538) hat Gasanalysen angestellt an Hunden, welche gleichzeitig mit der Insulineinspritzung Zucker (Dextrose oder Lävulose) per os erhalten hatten. Lävulose wurde schneller verbrannt als Dextrose. In der ersten Phase der Insulinwirkung, vor dem Auftreten des hypoglykämischen Komplexes, fand er keine prinzipielle Änderung des respiratorischen Gaswechsels, jedenfalls nicht, wenn er, wie gesagt, gleichzeitig mit dem Insulin Kohlenhydrate verabreichte. Die Erhöhung des R.Q. fängt an mit Mehrverbrauch von Sauerstoff, und ist deshalb nach ihm mit Sicherheit auf Verbrennung von Kohlenhydraten zurückzuführen. Erst wenn Hypoglykämie aufgetreten ist, tritt Abnahme des O₂-Verbrauchs auf, was nach diesem Autor zwar auf Übergang von Kohlenhydraten in Fett beruhen könnte, aber viel ungezwungener aus Mangel an Brennmaterial, nämlich aus dem Fehlen für die Verbrennung geeigneter Kohlenhydrate im Blut erklärt werden könne. Da eine Acidose den hypoglykämischen Komplex begleitet, sei die Steigerung der CO₂-Abgabe und damit auch die Steigerung des R.Q. durch die Acidose zu erklären, ohne dass man die Hypothese der Fettbildung aus Kohlenhydrat heranzuholen braucht. Jedenfalls stimmt das Resultat der Respirationsanalysen im ersten Stadium vollkommen mit der Anschauungsweise von Brugsch c. s., dass während dessen die „oxydative Synthese“ stattfindet mit intermediärer Fixierung der synthetisierten Kohlenhydrate.

Mattson (407) hat den Einfluss des Ernährungszustandes (von Kaninchen) auf den Gaswechseleffekt des Insulins untersucht. Er arbeitete 1. mit hungernden Tieren, 2. mit normalen Kaninchen und 3. mit solchen, die fast ausschliesslich mit Zucker ernährt waren, und bestimmte Gaswechsel und Rektaltemperatur.

Bei den hungernden Tieren blieb während der ersten halben Stunde nach der Injektion die CO₂-Ausscheidung unverändert, und nahm dann allmählich um z. B. 25% ab, um während des Krampfanfalles für eine kurze Weile bis über die Norm zu steigen; nachher sinkt sie wieder ab. Dauert die Hypoglykämie länger, so kann die Abnahme der CO₂-Abgabe sogar 53% betragen. Die Kurve des Atmungsvolumens geht parallel mit der CO₂-Ab-

gabe. Die Temperatur bleibt während der ersten 45 Minuten normal, sinkt dann ab bis zu $33,2^{\circ}$ C. Auch bei den normalen und den mit Zucker genährten Tieren wurde mit steigenden Insulindosen niemals eine, selbst nur vorübergehende, Vermehrung der CO_2 -Abgabe beobachtet. Bei Tieren mit grossen Reserven verursachen sogar Dosen von 18 Einheiten keine einzige Änderung, weder im Sinne von Erhöhung noch Erniedrigung, von Gaswechsel und Temperatur; bei kleiner Kohlenhydratreserve sind die Symptome schwächer und variabler als bei hungernden Tieren. Wenn die Hypoglykämie nicht zu tief ist, hat intravenöse Glukoseeinspritzung meist eine Erhöhung von CO_2 -Abgabe und Atemvolumen bis zur Norm oder sogar darüber zur Folge; die Temperatur steigt erst später und langsamer. Gaswechsel und Atemvolumen hängen also mit der Glykämie zusammen, oder richtiger gehen dieser parallel; ob sie hiervon abhängig sind, ist aus diesen Befunden nicht zu sagen (vgl. Bornstein). Niemals bewirkte Insulin beim Kaninchen in dem den Krämpfen vorangehenden Stadium eine erhöhte CO_2 -Ausscheidung, es bewirkt also keine Erhöhung des Stoffwechsels (beim nichtdiabetischen Tiere).

In Zusammenarbeit mit C. Heymans (305, 306) hat dieser Autor neuerdings noch weitere Beobachtungen sehr ausführlich mitgeteilt. Beim normalen Kaninchen erzeugt Insulininjektion gar keine Vermehrung der CO_2 -Abgabe im der Hypoglykämie vorangehenden Stadium. Im Krampfstadium kann die CO_2 -Ausscheidung bis über die Norm steigen, obwohl sie innerhalb der Grenzen der Schwankungen bleibt, wie sie normal beim nicht eingespritzten sich bewegenden Kaninchen vorkommen. Gibt man Kaninchen eine langsame, 2—3 Stunden dauernde, intravenöse Infusion von 100 bis 150 ccm hypertonischer (10—15%iger) Glukoselösung, dann erhält man eine, bisweilen sehr hohe, Hyperglykämie, die stundenlang dauert und von Anurie begleitet ist, so dass aller eingespritzter Zucker dem Körper erhalten bleibt. Dabei nimmt die CO_2 -Ausscheidung vorübergehend um 5—20% zu. Grosse Dosen Insulin, bei einem solchen Tiere eingespritzt, verursachen in keinem einzigen Augenblick Steigen weder der CO_2 -Abgabe noch der Temperatur, obwohl die Hyperglykämie in Hypoglykämie übergeht. So geben sie folgendes Beispiel: Ein Kaninchen von 1980 g hatte durch intravenöse Infusion 10 g Glukose erhalten; danach 60 Einheiten Insulin. Es zeigte keine Spur von einer Vermehrung der CO_2 -Abgabe, abgesehen von den gewöhnlichen Schwankungen. Der Blutzucker sank dabei ab von $5^{\circ}/_{\infty}$ bis auf $0,87^{\circ}/_{\infty}$ innerhalb $2^{\text{h}} 17'$. Noch $1^{\text{h}} 5'$ später traten Krämpfe auf. Wäre all der eingespritzte Zucker (10 g) verbrannt, dann hätte dies 7500 ccm CO_2 geliefert, welche das Tier in wenigen Stunden hätte eliminieren müssen, d. h. mehr als das Doppelte der normalen CO_2 -Ausscheidung. Davon zeigten aber die Versuche keine Spur. Die Wirkung des Insulins kann also nicht in einer Vermehrung der Verbrennung bestehen: es muss ein ganz anderer Mechanismus sein.

Verabreicht man einem solchen hyperglykämischen Kaninchen Stoffe wie Urethan oder Somnifen, dann nehmen die CO_2 -Abgabe, das Atmungsvolumen und die Temperatur langsam progressiv ab. Insulineinspritzung verringert diese Symptome subnormaler Verbrennung gar nicht.

Bei hungernden Kaninchen bewirkt eine geeignete Insulindosis eine sehr lange andauernde Hypoglykämie, welche u. a. gekennzeichnet ist durch: Abnahme der CO_2 -Abgabe um 20—50%, Abnahme des Atmungsvolumens, progressives Absinken der Temperatur. Glukoseeinspritzung während der Hypoglykämie kann Gaswechsel und Atemvolumen wieder ansteigen lassen. Auch die Temperatur steigt, aber später und langsamer. Bisweilen, wenn die Hypoglykämie sehr niedrig war und lange gedauert hatte, hatte das Kaninchen sein Reaktionsvermögen grösstenteils verloren und Stoffwechselstörungen bekommen, die trotz Injektion grosser Glukosemengen bestehen blieben. Injektion von Adrenalin beim hypoglykämischen Kaninchen gibt: eine Steigerung der CO_2 -Abgabe bis zu 30% über die Norm, sogar bevor der Blutzuckergehalt bis zur Norm zurückgekehrt ist; und weiter eine energische Reizung der Lungenventilation.

Mit etwa derselben Technik haben Bouckaert und Stricker (105) die Frage vom energetischen Standpunkt erörtert. Sie verwendeten gleichfalls die fortlaufende Infusion, diesmal von Glukose und Insulin zusammen. 4 g Glukose + 3 Einheiten Insulin pro Kilo pro Stunde erzeugt eine leichte Hypoglykämie, 4 g Glukose + 2½ Einheit Insulin pro Kilo pro Stunde eine leichte Hyperglykämie. Bei einem Versuchstiere gab gleichzeitige Infusion von 3 Einheiten Insulin und 4 g Glukose nach 2 Stunden Hypoglykämie: wäre dieser Zucker verbrannt, dann hätte eine Extra-Wärmeabgabe von 63,04 Kalorien auftreten müssen, d. h. die Wärmeabgabe pro Minute hätte steigen müssen von 0,093 Kalorien bis auf 0,593 Kalorien, also um mehr als 500%. In Wirklichkeit betrug die Vermehrung kaum 10,7%. Daraus ergibt sich, dass Insulin die Verbrennung nicht beschleunigt, sondern dass das verschwundene Kohlenhydrat wahrscheinlich im Körper in ein nicht-reduzierendes Spaltungsprodukt oder Polymer umgesetzt worden ist.

Dusser de Barenne c. s. (41) arbeiteten mit 24—48 Stunden hungernden, dezerebrierten, spontan atmenden Katzen, die frühestens 1 Stunde nach der Operation benutzt wurden. Nachdem eine Normalkurve geschrieben war, wurde Insulin eingespritzt: Neben dem Gaswechsel wurde auch der Blutzuckergehalt bestimmt. In 5 von den 6 Versuchen trat nach der Insulineinspritzung eine deutliche Vergrösserung des R.Q. auf, ohne dass dabei Hyperventilation in Frage kam: in 2 Versuchen stieg der R.Q. sogar bis über 1 an, bei einem Tiere war er sogar schon vor dem Insulin grösser als 1, und blieb dies auch nachher. Die Steigerung des R.Q. beginnt meist etwa 20 Minuten nach der Insulineinspritzung, setzt häufiger allmählich als plötzlich ein. Insofern der R.Q. unterhalb 1 liegt, kann die Steigerung

noch auf vermehrter Verbrennung beruhen, darüber aber nicht mehr dann muss eine Bildung von Stoffen mit kleinerem O_2 -Gehalt auftreten, z. B. Fett. Die genannten Autoren weisen dafür hin auf die bekannte Tatsache, dass Tiere, welche hauptsächlich mit Kohlenhydraten fettgemästet werden, ein R.Q. > 1 haben.

Olmsted und Taylor (448) haben ebenfalls an dezerebrierter Katzen den Gaswechsel verfolgt, gleichzeitig mit halbstündlichen Bestimmungen der Sättigung des Hämoglobins mit O_2 . Die O_2 -Sättigung blieb während der ersten 3 Stunden nach der Injektion konstant; eine Stunde vor dem Auftreten der Krämpfe sank sie von 88 auf 80%. Gleichzeitig nahmen die Lungenventilation und das Volumen ausgeatmeter CO_2 ein wenig zu, während das verbrauchte Volumen O_2 etwas abnahm, so dass der R.O. abrupt bis etwas über 1 anstieg. Beim Eintreten der Krämpfe war die O_2 -Sättigung bis auf 75% gesunken: Ventilation, ausgeatmete CO_2 und O_2 -Verbrauch sanken alle sehr tief ab, und der R.Q. wurde 0,91. Nach den Krämpfen kehrte die O_2 -Sättigung nahezu zu ihrem normalen Werte zurück; Ventilation, CO_2 -Ausscheidung und O_2 -Verbrauch waren alle viel grösser als normal, während der R.Q. absank bis auf 0,85.

Obwohl keine eigentliche Gaswechselversuche, gehören auch die Experimente von Campbell und Dudley (125) an diese Stelle. Diese Autoren spritzten bei nicht-narkotisierten Kaninchen Luft (bei grossen Tieren bis zu 1 l) unter die Haut und belassen diese dort bis CO_2 und O_2 -Gehalt mit dem der Gewebe ins Gleichgewicht gekommen waren. Für CO_2 wird das Gleichgewicht in etwa einer Stunde erreicht, für O_2 in etwa 36 Stunden: ist es einmal erreicht, dann wird es, eventuell monatelang, auf einem individuell verschiedenen Niveau festgehalten. Durch eine verschliessbare Nadel, die an Ort und Stelle liegen blieb, wurden der Gasblase von Zeit zu Zeit Proben von 10 ccm Gas zur Analyse entnommen. Gleichzeitig wurde der Blutzucker bestimmt. Subkutane Insulineinspritzung, entweder mehr oder weniger als eine Krampfdosis, verursachte immer eine Zunahme der CO_2 -Spannung, welche in etwa 2 Stunden maximal war und dann einige Stunden später wieder zur Norm zurückkehrte. Während im Gleichgewicht die Spannung der Kohlensäure meist etwa 40—50 mm Hg betrug, war die Zunahme meist etwa 5 mm Hg. Die Kurve der CO_2 -Spannung zeigte keinen auffälligen Zusammenhang mit der Blutzuckerkurve. Die Kurve der O_2 -Spannung hingegen folgte der Blutzuckerkurve ziemlich genau, d. h. die O_2 -Spannung sank ab, wenn der Blutzucker absank und umgekehrt. Die O_2 -Spannung, im Gleichgewicht etwa 20—30 mm Hg, sank meist um etwa 10 mm Hg ab. Krämpfe verursachten eine steile, aber vorübergehende Erhöhung der CO_2 -Spannung, hingegen ein weniger steiles Absinken der O_2 -Spannung, ja diese kann sogar steigen, ebenso wie der Blutzucker. Es scheint also ein Zusammenhang zwischen O_2 -Spannung in den Geweben einerseits und Blutzuckerniveau

andererseits zu bestehen; uns (Ref.) wunderte aber, dass anscheinend die Änderungen der Gasspannung während der Insulinwirkung so schnell sich zeigen, während zur Erreichung des Gleichgewichts, wenn frische Luft subkutan eingespritzt worden ist, wie die Autoren selbst angeben, so viele Stunden nötig sind.

Derartige Versuche mit Lufteinblasen in die Bauchhöhle lieferten keine eindeutige Resultate. Subkutane Insulineinspritzung bei einer Katze, welcher Luft subkutan eingeblasen war und welche dann, mit Intaktlassen der Hypophyse, dezerebriert wurde, ergab gleichfalls eine deutliche Erhöhung der CO_2 -Spannung und deutliche Abnahme von O_2 -Spannung und Blutzucker, während der Blutdruck unverändert blieb. Vasokonstriktoren (Pituitrin, Adrenalin) hatten etwa denselben Effekt auf die CO_2 - und O_2 -Spannung wie Insulin, trotz ihrer entgegengesetzten Wirkung auf Blutzucker u. dgl. Doch konnten sie zeigen, dass beim Insulin jedenfalls Änderungen der Gefäßweite als Ursache für die beschriebenen Erscheinungen auszuschliessen waren.

Es sei an dieser Stelle auch nochmals an die schon (S. 42) erwähnten Versuche von Noyons c. s. über Temperatur und Stoffwechsel erinnert, sowie an die übrigen dort referierten Beobachtungen derselben Art. —

Wo die Tatsachen noch so wenig feststehen, und wahrscheinlich von so vielen Nebenfaktoren beherrscht werden, wollen wir über deren Auslegung kurz sein, obwohl fast jeder, der über diesen Gegenstand gearbeitet hat, daran seine Spekulationen und Hypothesen geknüpft hat.

McCormick, Macleod c. s. (167) meinen die Tatsache, dass der R.Q. bis über 1 ansteigen und auf diesem Niveau sehr lange bleiben kann, erweise, dass hiervon nicht einfaches Abblasen der Kohlensäure durch Hyperpnoe die Ursache sein kann; sie denken z. B. an eine Reduktion von Kohlenhydraten zu Fett in ähnlicher Weise wie dies bei überwinternden Tieren im Herbst bekannt ist.

Dusser de Barenne c. s. (s. S. 117) glauben auch jetzt noch an eine Bildung von Stoffen mit kleinerem O_2 -Gehalt als Kohlenhydrate, z. B. Fett. Weder hierfür noch für eine Umwandlung in Glykogen konnten aber Dale und Dudley (177, 204) histologische oder chemische Belege anführen.

Darum ist auch Macleod in seiner oben erwähnten späteren Mitteilung (392) von dieser seiner ursprünglichen Anschauung auf Grund eigener Versuche zurückgekommen, denn die Erhöhung des R.Q. war dabei gewöhnlich ziemlich undeutlich. Soweit eine Steigerung wirklich vorkomme, so könne sie sekundär sein, und dann kämen folgende Möglichkeiten in Betracht:

1. Bildung von sauren Stoffen, welche die Kohlensäure aus dem Blute austreiben.
2. Primäre Reizung des Respirationszentrums mit Abblasen des CO_2 als Folge.
3. Festlegen des Sauerstoffes in irgend einer Form.

Von diesen drei Möglichkeiten betrachtet er die 3. als die wahrscheinlichste. Überblickt man alle bisher bekannten Tatsachen, dann muss man zu der Erkenntnis kommen, dass es höchstwahrscheinlich sich hier nicht um nur eine von diesen Möglichkeiten handelt, sondern dass sie alle tatsächlich einen Anteil am Zustandekommen der beschriebenen Erscheinungen haben. Die 1. Möglichkeit nehmen Briggs (108) und Mitarbeiter an. Beim Insulintier sei im Blut die Konzentration der Milchsäure erhöht; sie treibe CO_2 aus, und das könne schon für eine merkbare Erhöhung des R.Q. genügen. Für Dale liegt die Sache noch einfacher. Der normale Organismus werde durch Zuführung von Insulin zur KH-Verbrennung abnormal befähigt und stelle den Gegensatz zum Diabetiker dar. Während dieser vom Gesunden, der alle verschiedenen Stoffe verwendet, darin abweicht, dass er gerade KH nicht benutzen kann, muss das Insulintier jetzt nur oder fast nur KH als Energiequelle benutzen. So erkläre sich der anfänglich steile Anstieg des R.Q., dessen tatsächliches Vorkommen vielfach behauptet ist, und der nicht von einer Erhöhung des Gesamtstoffwechsels vergesellschaftet zu sein braucht. Wird die Kohlenhydratzufuhr weniger reichlich, dann sinkt der allgemeine Stoffwechsel schnell ab (s. o. II. D. Harn), bis der Blutzucker ein gewisses Niveau erreicht hat: was dann noch von Eiweiss- und Fettverbrennung übrig war, sollte den Rest der nötigen Energie liefern. Doch achtet Dale es sehr wohl möglich, dass seine Hypothese sich experimentell als unrichtig erweisen wird. Aber selbst, wenn die Erhöhung des R.Q. als Tatsache nicht bestritten wird und durch vermehrte bzw. ausschliessliche Verbrennung von KH zu erklären ist, so ist diese Erhöhung nach Macleod nicht gross genug, vor allem besteht sie nicht lange genug, um das Verschwinden der KH aus dem Körper zu erklären.

Dickson c. s. (194) formuliert noch neuerdings die Möglichkeiten wie folgt:

1. Grössere relative Zunahme der KH-Verbrennung.
2. Reduktion von KH zu fettartigen Stoffen.
3. Elimination von CO_2 durch Hyperpnoe, durch Bildung von sauren Stoffen oder andere Ursachen.

Weil die Erhöhung des R.Q. auftritt vor der Hyperpnoe, glauben sie die letztgenannte Ursache ausschliessen zu können. Eine vermehrte Glukoseverbrennung käme ihrer Ansicht nach nur in Betracht unmittelbar nach der Insulininjektion, wenn der Blutzucker schnell absinkt. Das spurlose Verschwinden der Kohlenhydrate betrachten sie als einen Fingerzeig, dass der aus dem Blut verschwundene Zucker, ebenso wie das den Geweben entzogene Glykogen, umgesetzt werden in ein intermediäres Kohlenhydrat, dass nicht reduziert, also bei der Zuckerbestimmung nicht mitgerechnet wird, und sich auch bei der Glykogenbestimmung (sei es, dass es durch starke Alkalien zerstört wird, sei es, dass es sich nicht durch Alkohol

fällen lässt) des Nachweises entzieht. Insulin würde also die Bildung solch intermediärer Kohlenhydrate befördern. Damit schliesst sich die Macleodsche Schule der soeben zitierten Meinung von Tsubura (s. S. 115), und damit von Brugsch an, und auch die soeben erwähnten Versuche von Heymans und Matton liessen eine solche Deutung zu. Es ist somit auch hier das Problem zurückgebracht zur Frage: welcher Natur ist das unbekanntes Stoffwechselprodukt, für dessen Anwesenheit auch viele mit ganz anderer Fragestellung unternommene Versuche sprechen.

Im letzten Kapitel wollen wir noch eine etwas übersichtlichere Zusammenfassung der vielen Gaswechselversuche in Form einer Tabelle geben, da es sonst kaum möglich ist, die verschiedenen Ergebnisse zu übersehen.

Bei Diabetikern und pankreasdiabetischen oder phlorhizindiabetischen Tieren hat man auch untersucht, wie das Verhältnis des mit dem Harn ausgeschiedenen Zuckers zum Harnstickstoff (der bekannte Quotient D/N) sich unter Einfluss des Insulins ändert. Hier sind wohl alle Ergebnisse gleichsinnig: der D/N nimmt ab (29, 57, 140, 141, 426, 431, 505), d. h. der ausgeschiedene Stickstoff nimmt zwar ab, aber weniger schnell als der ausgeschiedene Zucker (505). Ja, die Stickstoffabnahme ist nicht regelmässig, denn E. und L. Hédon (299, 300) z. B. konnten an einem pankreasdiabetischen Hunde, trotz Aufhören der Glykosurie und Hyperglykämie und erheblicher Glykogenspeicherung in der Leber, keine Abnahme der N-Ausscheidung erzielen; sie blieb etwa doppelt so gross wie normal, und die Tiere verloren regelmässig an Gewicht. Dies betrachteten sie als einen Fingerzeig, dass die Zunahme des Basalstoffwechsels nach totaler Pankreasexstirpation abhängt von einem vermehrten Abbau von Körpereiwiss und Fetten, gewissermassen unabhängig von der Störung des Kohlenhydratstoffwechsels.

In einer späteren Mitteilung haben dieselben Autoren aber mitgeteilt (298), dass dies nur zutrefte bei ausschliesslicher Fleischnahrung: wenn man dem Fleisch Kohlenhydrate und Milch zusetzt, bleibe der Eiweissumsatz normal. Noch weiter nach der anderen Seite liegen die Befunde von Allan (387), dass der Eiweissstoffwechsel durch Insulin sogar abnehme, sowohl bei normalen als bei diabetischen Tieren. Früher hatte er angegeben (394), dass bei normalen Hunden bei hauptsächlichlicher Fütterung mit Kohlenhydraten der Eiweissstoffwechsel durch Insulin nicht abnehme, wie sich bei Bestimmung von Stickstoff, Harnstoff, Ammoniak, Kreatin und Kreatinin in den Exkreten gezeigt haben soll.

Im übrigen muss hier auch auf die klinische Literatur verwiesen werden.

β) Extra corpus.

Auch *in vitro* hat man versucht einen Einfluss auf den Gaswechsel von Geweben festzustellen, und zwar in der Weise, dass man das Entfärbe-

vermögen der Gewebe auf Methylenblau (Methode von Thunberg) verglichen hat.

Ahlgren (13) untersuchte mit dieser Methode Gewebe von normalen und diabetischen Tieren mit und ohne Insulinzusatz und kam zu den folgenden Schlüssen: Wenn Glukose und Insulin in passenden Mengen anwesend sind, wird die Glukose gespalten in Stoffe, die als Substrat für die oxydierenden Enzyme dienen können, wie die beschleunigte Entfärbung zeigt. Fruktose und Galaktose werden von den Geweben ohne Hilfe des Insulins schon gespalten. Insulin beschleunigt nicht die Oxydation von β -Oxybuttersäure, von Milchsäure, Glycerinphosphorsäure und Bernsteinsäure. Nach Ansicht des Verfassers liefern diese Versuche „einen durchschlagenden Beweis für die Richtigkeit der Auffassung, nach welcher bei Diabetes die Hyperglykämie verursacht werde durch das Unvermögen der Gewebe, Glukose zu spalten“. Es muss hier aber betont werden, dass diese Resultate erhalten wurden mit einem recht unreinen Präparate (1 Krampfdosis = 25 mg!), so dass der Wert der ganzen Versuchsreihe nicht ausser Zweifel steht. Gearbeitet wurde mit Muskel, Leber, Herzmuskel und Nierenrinde, Thyreoidea und Hirnrinde von Hund, Katze, Kaninchen und Meerschweinchen. Sonderbarerweise gaben Muskel und Leber negative Ergebnisse bei Insulinzusatz, Nierenrinde, Herzmuskel, Thyreoidea, graue Hirnrinde hingegen gaben positive Resultate (gemessen in der Anzahl Minuten, bis zum Entfärben des Farbstoffes). Angesichts dieser eigenartigen Resultate wird man eine gewisse Skepsis begreifen können.

Später aber hat Ahlgren seine Versuche mit reinem Insulin (0,3 mg = 1 Kopenhagen-Einheit, etwa 0,075 mg für 1 klinische) wiederholt (9) und damit wurden seine früheren Ergebnisse vollkommen bestätigt. Er arbeitete mit 28 pankreasdiabetischen Fröschen. Bei 27 von ihnen führte Zusatz von Glukose zum Muskelbrei allein nicht zu einer erhöhten Gewebsatmung, Zusatz von Insulin allein gewöhnlich zu einer mässigen Erhöhung, Zusatz von Glukose + Insulin aber zu einer stärkeren Erhöhung (bis zum dreifachen) Bei einem Frosch gab Glukose an sich schon eine leichte Erhöhung; Zusatz von Lävulose oder Galaktose gab mehrmals Erhöhung; auf die Dissimilator dieser Zuckerarten konnte kein Einfluss des Insulins festgestellt werden Zusatz von Mannose gibt eine geringe Erhöhung, Mannose + Insulin ein stärkerere. Auch mit einigen anderen internen Sekreten ist der erhöhend Einfluss deutlich; als Grenzkonzentrationen betrachtet er vorläufig:

Insulin	$1,2 \times 10^{-10}$
Adrenalin	10^{-11}
Thyroxin	$0,5 \times 10^{-11}$
Pituitrin	10^{-11}
„Fühner 947 F 62“	10^{-14}

Insulin + Adrenalin heben in bestimmten Konzentrationen die jedem einzelnen zukommende erhöhende Wirkung auf die Gewebsatmung vollkommen auf, bei anderen Konzentrationen tritt unvollkommene Hemmung auf, bzw. Überwiegen der Adrenalin- oder der Insulinwirkung. Sie sind also gleichzeitig Synergisten und Antagonisten. Auch Pituitrin und Adrenalin sind solche Antagonisten; Insulin und Pituitrin hingegen verstärken ihre Wirkung. Insulin und Atropin hemmen einander. Dies sind dieselben Verhältnisse, wie man sie in bezug auf ihren Einfluss auf den Blutzuckergehalt kennt. Mit keinem der untersuchten Stoffen hat Ahlgren bisher einen erhöhenden Einfluss auf das Vermögen der Gewebe zur Oxydation von organischen Säuren (Bernstein-, Milch-, β -Oxybutter-, Glycerinphosphorsäure und andere Zwischenprodukte des Stoffwechsels) zeigen können.

In einer dritten Mitteilung (10) widerruft er seine anfängliche Angabe, dass Insulin die Atmung normaler (Winter-) Froschmuskeln nicht verstärke: er hat bemerkt, dass er damals die Insulinkonzentration viel zu hoch genommen. Dies wird auch wohl die Erklärung so vieler Kontroversen in der Literatur sein. Die Verdünnungen 10^{-5} und 10^{-6} des Präparates wirkten hemmend; 10^{-11} hatte den stärksten fördernden Einfluss, benachbarte Konzentrationen einen etwas geringeren. Der Schwellenwert lag bei diesen Verhältnissen bei etwa 10^{-15} . (Die abweichenden Ergebnisse von Lesser und von Parnas beruhen nach Ahlgren darauf, dass diese Forscher die Muskeln zu lange aufbewahren, bevor sie sie verarbeiten: wartet man damit $1\frac{1}{2}$ oder 2 Stunden, dann ist das Resultat gerade umgekehrt bei Insulinzusatz; Adrenalin behält auch dann noch seine fördernde Wirkung.) Die Erhöhung der Gewebsatmung soll nach ihm stattfinden dadurch, dass Insulin durch den Glukoseabbau den Vorrat leicht verbrennbaren Materials, z. B. Milchsäure, erhöht; dieselbe Erhöhung beobachtet man, wenn man eine geeignete Menge Na-Laktat zusetzt.

Die Hemmung der Adrenalinwirkung durch Insulin ist nach Ahlgren (11) keine primäre, sondern eine sekundäre, da sie nur auftritt, wenn das Substrat der Insulinwirkung, Glukose, anwesend ist. Bei einem Frosche, bei dem die Leber extirpiert worden war, betrug nach 24 Stunden der Blutzucker (nach Bang) = 0, so dass auch die Muskeln wohl als glukosefrei zu betrachten waren. Bei diesen Muskeln gab Insulin allein keine Atmungsbeschleunigung, wohl wenn ausserdem noch Glukose zugesetzt wurde. Adrenalin hingegen beschleunigte die Atmung, unabhängig von der Anwesenheit von Glukose. Insulin + Adrenalin wirkte etwa ebenso schnell wie Adrenalin allein. Bei Anwesenheit von Glukose aber heben sich beide Hormone in ihrer Wirkung vollkommen auf. Auch Nitzescu und Cosma (434) haben mit der Thunbergschen Methode gearbeitet. Sie benutzten Rindermuskeln und setzten dem System als oxydablen Stoff Brenztraubensäure und β -Oxybuttersäure zu (in Form ihres K-Salzes).

In jedem Röhrchen 0,3 g Muskel + 0,2 ccm $\frac{M}{10}$ K_2HPO_4 + 0,2 ccm Methylenblau 1:5000.

Dann zu einem Teil der Röhrchen 0,2 ccm $\frac{N}{10}$ Brenztraubensäure oder β -Oxybuttersäure (neutralisiert mit KOH) und 0,2 ccm Insulin 1:2000. Auffüllen mit Wasser ad 1 oder 2 ccm. Temperatur: 38°. Vakuum: 20 mm Hg. In einer anderen Versuchsreihe Methylenblau 1:1000 und Insulin 1:1000.

Es zeigte sich, dass Zusatz von Insulin allein schon das entfärbende Vermögen des Muskels verstärkte; β -Oxybuttersäure aktiviert die Entfärbung bisweilen etwas, Brenztraubensäure gleichfalls.

Zusatz von Insulin vermehrt die Aktivität des Muskels gegenüber beiden Säuren immer stark, speziell gegenüber der Brenztraubensäure. Insulin beschleunigt also die Oxydation dieser beiden Stoffwechsel-Zwischenprodukte durch den Muskel. Mit wässrigen Pankreasextrakten hatte Rosling (C. R. Soc. Biol. 88, 112, 1923) dies für die β -Oxybuttersäure auch schon gefunden.

Mit einer ähnlichen Methode (von Lipschitz: Bestimmung der Menge m-Dinitrobenzol, welche von den Geweben zu Nitrophenylhydroxylamin reduziert wird) konnten Heymans und Matton (305) aber keine Förderung der Zellatmung feststellen. Dieselbe Methode benutzten auch de Cloedt und van Canneyt (136). Sie arbeiteten mit Muskeln von Fröschen, Muskeln, Lebern, Nieren von Meerschweinchen, Muskeln, Lebern, Nieren, Hirn von Kaninchen. Das Ergebnis nach Insulinzusatz war vollkommen negativ, während sich wohl eine deutlich verstärkte Gewebsatmung zeigte bei Zusatz von z. B. Natriumsuccinat, Natriumtartrat oder Adrenalin.

Mehr Zutrauen verdienen die direkten Bestimmungen des Gaswechsels von Buechner und Graefe (116), welche mit Gewebestückchen nach der Barcroft'schen Methode ausgeführt wurden und zum Ergebnis führten, dass 0,002 bis 0,02 Einheit Insulin pro Gewebestückchen von 2 bis 4 mg Trockengewicht als Regel bei allen untersuchten Organen (Leber, Milz, Herz, Darm, Lunge), bei allen untersuchten Spezies (Maus, Frosch, Mensch) sowohl den Gesamtgaswechsel (bis zu 500%) als den R.Q. erhöhte. Letzterer erreichte manchmal die Einheit, überschritt diese sogar bisweilen im Anfang des Versuchs. Die Erhöhung des R.Q. ist mehr konstant als die Erhöhung des Gesamtstoffwechsels. Die verschiedenen Organe (auch die Leber) zeigten keine quantitativen Unterschiede. In Glukose-Ringer waren die Ausschläge meistens grösser als in gewöhnlicher Ringerlösung. In allen Versuchen wurde das p_H genau gleich gehalten. Beim Muskel traten störende Nebenerscheinungen auf. Niemals wurden mit Sicherheit Anhaltspunkte für Fettbildung aus Zucker gefunden.

Heymans und Matton hingegen konnten bei direkter Messung der von den Geweben in vitro produzierten Kohlensäure keinen stimulierenden Einfluss des Insulins auf die Zellatmung feststellen (305), ebenso de Cloedt und van Canneyt (136).

F. Gewebe.

Oben hatten wir einen Einfluss des Insulins auf die einzelnen Organe systematisch besprochen, mehr unter dem Gesichtspunkt veränderter Funktionen (s. II, B u. C). Hier wollen wir das bekannt gewordene über die chemischen Veränderungen der Gewebe im allgemeinen unter dem Einfluss des Insulins zusammenfassen. Es ist dies ein Teil, der mehr Erwünschtes als Erreichtes enthält, denn man weiss bisher nur einiges wenige, das sich auch fast ausschliesslich auf den KH-Gehalt der Gewebe bezieht. Zu erinnern ist auch an die eben vorangegangene Besprechung des Stoffwechsels von Geweben ausserhalb des Körpers.

Wir hätten mit einem gewissen Zwang die meisten der hier erwähnten Arbeiten auch wohl an anderer Stelle unterbringen können, aber gerade wegen der Bedeutung der hier behandelten Fragen haben wir ihnen einen besonderen Abschnitt eingeräumt.

a) Intra corpus.

Aus dem früher Behandelten ergibt sich, dass der Begriff „Gewebezucker“ und seine quantitativen Bestimmungen keine ganz klar zu übersehende Angelegenheiten sind. Es würde zu weit führen, die Methode jedesmal ausführlich zu kritisieren, auch nicht immer möglich sein, weil die Angaben darüber nicht sehr ausführlich sind.

Der Zucker selbst verschwindet, nach den Versuchen von Bissinger, Lesser und Zipf (81) ausser aus dem Blute, aus allen Geweben des Organismus, dem Insulin in genügender Menge einverleibt wurde. Cori c. s. (163) bestätigten dies für den freien Leberzucker.

Auch Müller und Gänsslen (423) sahen sowohl bei Diabetikern, wo von vornherein der Gewebezuckergehalt noch höher ist als der Blutzucker, wie auch bei Nichtdiabetikern, wo das umgekehrte Verhältnis besteht, regelmässig den Gewebezucker prozentual stärker absinken als den Blutzucker; andererseits aber beobachtet man nach Aufhören der Insulinwirkung ein stärkeres Steigen des Gewebezuckers. Auf dem Höhepunkt der Insulineinwirkung kann beim Diabetiker vorübergehend der Gewebezuckergehalt sogar niedriger sein als der Gehalt des Blutes, d. h. vorübergehend tritt das normale Verhalten wieder ein.

Fränkel und Benatt (245) haben Hautquaddeln erzeugt: im Quaddelinhalt sank der Gewebezucker nahezu parallel mit dem Blutzucker nach Insulineinspritzung. Bei Ödemen aber trat eine Erhöhung des Ödemzuckers auf trotz Sinkens des Blut- und Quaddelzuckers.

Weniger einfach liegen die Verhältnisse beim wichtigsten Kohlenhydrat des tierischen Körpers, dem Glykogen. Hier hat bisher eine grosse Verwirrung bestanden, weil man nicht genügend zwischen Erfahrungen am pathologischen und solchen am normalen Organismus unterschieden hat,

und weil man ferner unberechtigterweise, was für ein Organ oder eine Tierart gefunden war, auf die anderen Organe und die übrigen Tierarten übertragen hat. Die ersten Angaben betrafen den Glykogengehalt von Lebern pankreasdiabetischer Tiere, später kamen dazu auch solche über den Gehalt bei phlorhizin-diabetischen und avitaminösen Tieren und menschlichen Diabetikern.

Wir haben diese Versuche schon an anderer Stelle (S. 44 u. f.) ausführlich besprochen. Wie wir gesehen haben, ist bei normalen Tieren im allgemeinen das Ergebnis dieses: das Glykogen verschwindet, von seinen Spaltprodukten ist aber nur ein Teil wiederzufinden, während ein anderer Teil spurlos verschwunden bleibt.

Wie schon besprochen, hat man mehrmals gedacht an die Bildung von laktacidogenartigen Stoffen (S. 51, 52, 58, 61 u. f., 80, 93, 102, 103) oder von Polysacchariden (S. 58, 61 u. f., 80, 82, 83, 89 u. f., 92).

Auch in anderer Hinsicht hat man gesucht, dem verschwundenen Zucker auf die Spur zu kommen. Needham c. s. (432) z. B. dachten an die Möglichkeit, dass die Glukose in irgend eine andere Modifikation, z. B. in eine Zyklose, umgesetzt war. Dazu wurde bei möglichst gleichartigen Ratten Insulin eingespritzt, und die Tiere wurden getötet, sobald Krämpfe auftraten. Die Körper der Tiere wurden zusammen im ganzen auf Inosit verarbeitet, ebenso wie die normalen Kontrolltiere. Es zeigte sich tatsächlich bei den Krampftieren eine Erhöhung des Inositgehaltes um etwa 50%; doch war die absolute Menge, worum es sich hier handelte (die genannten 50% = 4,2 mg pro Ratte) viel kleiner, als der gesamten verschwundenen Glukosemenge entsprach. Deshalb denken die Autoren, dass seine Bildung entweder auf einer Nebenreaktion beruhe, oder erst bei oder nach den Krämpfen stattfindet.

Aus den Besonderheiten des Gaswechsels (Ansteigen des R.Q. in einigen Fällen über 1), hat man bisweilen schliessen wollen (167, 177, 264), dass beim Insulintiere Kohlenhydrate in Fette umgewandelt werden.

Bei histologischer und biochemischer Nachprüfung dieser Hypothese hat man aber dafür keine deutlichen Belege anführen können (177, 258, 341, 361, 392), vielmehr fand man eine Abnahme (32, 35, 393), wenigstens in der Leber von diabetischen Tieren, während bei normalen Individuen sowohl Menge als Jodzahl des Leberfettes unter Einfluss des Insulins unverändert bleibt (205).

Aus eigener Erfahrung können wir mitteilen, dass bei den Tieren, welche wiederholt eingespritzt worden sind, öfter eine extreme Abmagerung auftritt, so dass z. B. das retroperitoneale Fett meistens vollkommen verschwunden ist, obwohl die Tiere zwischen den Einspritzungen reichlich gefüttert werden. Es ist dies aber keine regelmässige Erscheinung, und wir weisen auf die später zu erwähnende Erfahrung Dales hin, der seine Tiere, die immer wieder zu Eichungen — allerdings nur mit reinen Präparaten — benutzt wurden, schwerer werden sah.

Im allgemeinen können wir also wohl sagen, dass bisher für das Verschwinden des freien Zuckers aus den Geweben beim nichtdiabetischen Tiere noch keine befriedigende, durch experimentelle Tatsachen gestützte Auslegung gegeben ist, solange die wichtigen Befunde von Audova und Wagner (s. S. 51) noch keine Bestätigung gefunden haben. Bei der grossen Mehrzahl der Forscher besteht Einigkeit hinsichtlich der Vorstellung, dass die Kohlenhydrate nicht vollkommen verbrennen, wie dies Laufberger (361) meint, sondern dass sie in irgend eine andere Form umgesetzt werden, wodurch sie sich dem üblichen Nachweis mittels Reduktionsmethoden entziehen; vielleicht ist es ein noch unbekanntes Zwischenprodukt zwischen Glukose einerseits und CO_2 und H_2O andererseits (390), vielleicht auch wird der Zucker in ähnlicher Weise wie an Bluteiweiss, auch an die Eiweissstoffe der Gewebe in erhöhtem Masse gebunden. Vorläufig bestehen aber noch methodische Schwierigkeiten solches festzustellen (155). —

Im Anfang der Insulinforschung haben Banting und Best c. s. (33) beschrieben, dass, nach Insulineinspritzung am Rücken, unter der Bauchhaut des Tieres sich eine eigentümliche Substanz von sülziger Beschaffenheit anhäufe, von der sie einige Eigenschaften aufzählen. Auch wir selbst beobachteten im Anfang diese Erscheinung wiederholt mit unseren eigenen Präparaten. Je vollkommener aber die Reinigung wurde, desto seltener sahen wir hiervon etwas, so dass wir dies jetzt seit langer Zeit gar nicht mehr beobachtet haben, obwohl noch immer bei der Sektion der Kadaver darauf geachtet wird. Wahrscheinlich hat es sich also um die Wirkung von Verunreinigungen gehandelt.

Bowie und Robinson haben solche Gewebe histologisch nach verschiedenen Methoden untersucht, aber nichts Degeneratives finden können (106).

In die gleiche Kategorie von Erscheinungen gehört auch die Gasbildung unter der Haut, die viele, und auch wir, in der ersten Zeit bisweilen nach subkutaner Einspritzung zu saurer Präparate gesehen haben.

Anders steht es mit der Bildung von wirklichen Ödemen an den peripheren Körperteilen, wie sie klinisch schon wiederholt zur Beobachtung gekommen sind (225, 272, 284, 291, 539, 592).

Dabei kann als gefährliche Komplikation auch Lungenödem auftreten (225). Das Gewicht der Patienten weist aus, dass es sich um eine wirkliche Flüssigkeitsretention handelt (225, 284); dabei wird der Harn leicht alkalisch (272).

In absichtlich angestellten Versuchen zeigte sich, dass es sich bei diesen Ödemen handelt um eine Wasser-Salzretention in den Geweben, ohne Änderung der Blutzusammensetzung. Nach Aufhören der Insulintherapie verschwinden sie wieder (272, 592) unter Eintreten einer starken Polyurie. Dieser Einfluss auf den Wasserhaushalt scheint wohl tatsächlich an das Insulin selbst gebunden zu sein.

Widal c. s. (565) sahen auch fast konstant nach Insulin eine Hydrämie und öfter parallel hiermit auch Ödeme auftreten; diese beginnen bisweilen erst am elften Tage nach Aufhören der Insulinmedikation wieder zurückzugehen. Indessen bestehe kein konstantes Verhältnis zwischen Hydrämie und Ödemen, denn bisweilen nimmt die Hydrämie stark zu und doch bleibt das Körpergewicht konstant.

Im vorigen Abschnitt (S. 51 und 104) haben wir schon mitgeteilt, erstens, wie auffallend schnell beim Insulintier die Totenstarre eintritt, zweitens, wie der ganze Körperhaushalt nach der alkalischen Seite hin verschoben wird. Baur c. s. (46) haben bei der Insulintotenstarre feststellen können, dass gekochte Muskelauszüge nach der alkalischen Seite reagieren im Gegensatz zur sauren Reaktion bei der gewöhnlichen Leichenstarre (was sie auf Rechnung einer unter Einfluss des Insulins erhöhten Oxybiose stellen).

b) Extra corpus.

Gey und Thalheimer (266) haben den Einfluss von Insulin auf Kulturen von Hühnerfibroblasten studiert. Der Nährboden enthielt 0,1 bis 2,5% Glukose: der einen Serie wurde 1—2% Insulin zugesetzt. Zuckerbestimmung im Nährboden nach Folin und Wu, Messung des p_H . Nach 2 bis 4 Tagen zeigten die Insulinkulturen konstant niedrigere Zuckerwerte und etwas niedrigere p_H -Werte als die Kontrollen. Bis auf wenige Ausnahmen zeigten die Insulinkulturen ein stärkeres und schwereres Wachstum als die Kontrollen. Die Insulinkulturen zeigten mikroskopisch konstant deutliche Bildung von Vakuolen in ihren Zellen, welche bei den Kontrollen fehlten. Die Vakuolenbildung schien unabhängig vom p_H des Mediums, denn sie zeigte sich auch beim optimalen p_H . Die Anwesenheit von Insulin beschleunigt also offenbar die Wachstumsgeschwindigkeit und erhöht die Stoffwechselaktivität bei Gewebekulturen in vitro. Auch bei der grösseren metabolen Aktivität der malignen Tumoren, speziell ihrem vermehrten Zuckerverbrauch, vermuten sie einen derartigen Mechanismus.

Man hat sogar die Einwirkung des pflanzlichen Glukokinins auf isolierte Pflanzenteile untersucht: obwohl nicht ganz eindeutig, fielen die Ergebnisse doch meistens im Sinne eines verminderten Zucker- und Amylumgehalts und einer erhöhten Acetaldehyd- und Alkoholbildung aus. Tierisches Insulin wirkte genau in derselben Weise auf Zellen von *Phaseolus vulgaris* (220).

Insulin hat keinen Einfluss auf die Keimung von Lupinensamen (305); oben erwähnten wir schon, dass es die Hefegärung nicht beeinflusst (vgl. S. 66).

III. Physiologische Wirkung auf abnormale Organismen und Organe.

A. Tiere.

a) Nach Organexstirpation.

Pankreas. In einem früheren Abschnitt haben wir zum Teil schon besprochen, wie bei den bahnbrechenden Untersuchungen über das Pankreas-hormon immer das einzige Kriterium gewesen ist, das Vermögen des betreffenden Stoffes, pankreasdiabetische Hunde klinisch zu bessern, ihre Glykosurie und Hyperglykämie, eventuell ihre Ketonurie und Acetonämie zu erniedrigen bzw. zum Verschwinden zu bringen. Dabei stützten sich alle Untersucher auf die grundlegenden Versuche Minkowskis und v. Mehrings, nach denen durch Exstirpation der Bauchspeicheldrüse bei Versuchstieren, wenigstens beim Hunde, ein dem menschlichen Diabetes fast vollkommen analoger Zustand entsteht. [Hinsichtlich des Rechtes zu dieser Analogisierung besteht ziemlich allgemeine Übereinstimmung; nur ganz vereinzelte Forscher zweifeln sogar jetzt noch daran, z. B. Cammidge (120), Thomson (532).]

Nebenbei sei bemerkt, dass auch Katzen (427, 428) und sogar Frösche (374) durch Pankreasexstirpation diabetisch gemacht werden können.

Im übrigen ist hier selbstverständlich nicht der Ort, um die ganze Frage des Pankreasdiabetes zu behandeln. Nur auf einiges aus diesem grossen Gebiet wollen wir zurückgreifen.

Tatsächlich ist es schon lange vor Banting und Best einer ganzen Reihe von Forschern gelungen, durch Pankreasextrakte den Zustand der pankreas-diabetischen Hunde wieder näher zur Norm zu bringen, und auch in der jüngeren Zeit wurden solche Versuche noch oft gemacht.

An erster Stelle müssen wir Gley (275) nennen, der schon Februar 1905 bei der französischen Société de Biologie ein gesiegeltes Dokument deponiert hat, das erst 1922 veröffentlicht wurde und das Resultat enthielt von Versuchen, die sich mit denen von Banting und Best fast vollkommen deckten. Weiter kamen dann in den letzten 5 Jahren noch Achard c. s., Murlin c. s., Paulesco (6, 267, 268, 296, 299, 300, 326, 339, 426, 427, 428, 452, 453, 455, 531, 563) und noch viele andere.

Wie wir schon a. a. O. (S. 107 u. f.) besprochen haben, hat man dabei neben Glukosurie und Hyperglykämie, auch hauptsächlich auf die Änderungen des respiratorischen Quotienten und des Gaswechsels geachtet, ebenso wie auf die Symptome der Acidose; ob die bei pankreasdiabetischen Hunden sehr starke Ausscheidung von Aminosäuren (484) durch Insulin beeinflusst wird, hat man unseres Wissens bisher noch nicht verfolgt.

Beim vollkommen pankreaslosen Hunde besteht ein Zustand, der, wenn keine therapeutischen Massnahmen erfolgen, nur wenige Tage mit

dem Leben vereinbar ist, und sonderbarerweise war es bis vor kurzem auch mit Insulin nicht gelungen, solche Tiere länger als 4 Monate am Leben zu erhalten (389).

In der letzten Zeit sind aber einige Mitteilungen erschienen über Fälle, wo dies doch gelungen; die Diät der Tiere spielt hier die durchschlaggebende Rolle. Gibt man ihnen nur Fleisch, dann ist nach E. und L. Hédon Insulin nicht imstande, das Fortschreiten des Krankheitsprozesses vollkommen zu hemmen (297, 298), aber sobald man dem Fleisch etwas Kohlenhydrate (und Milch) zusetzt, entsteht bei fortgesetzter Insulineinspritzung ein Zustand, der sich in nichts vom normalen unterscheidet. Auch bei Bestimmung des Basalstoffwechsels sieht man diesen Einfluss der Diät (298). Vor der Pankreasextirpation hatte das Tier einen normalen Basalstoffwechsel; sobald der letzte Pankreasrest entfernt war, stieg er sofort an wie immer. Auf Insulininjektion, welche die Glykosurie zum Verschwinden brachte, sank der Basalstoffwechsel zuerst nicht ab, ebensowenig wie bei den früheren Versuchen. Aber sobald das Tier bei seiner Nahrung auch Kohlenhydrate bekam, sanken die Werte für den Basalstoffwechsel und wurden normal. Hat man die gemischte Diät lange genug gegeben, so dass die Tiere genügende Kohlenhydratreserven gebildet haben, dann kann man sogar einige Tage lang ausschliesslich Fleisch geben, ohne dass der Stoffwechsel zunimmt. Die Werte der N.-Ausscheidung variieren im selben Sinne. Lässt man das Insulin weg, dann wird sofort der Diabetes sehr intensiv, in einigen Stunden verliert das Tier seine Kohlenhydratreserven, der Basalstoffwechsel steigt an, der respiratorische Quotient sinkt, genau wie nach vollständiger Pankreasextirpation.

Penau und Simonnet (456) konnten dies vollkommen bestätigen. 20—50 g Rohrzucker genügt schon, um ein durch Fleischnahrung heruntergekommenes Tier sich erholen zu lassen. Bei ausschliesslicher Fleischnahrung genügt $\frac{1}{2}$ Einheit Insulin pro Kilo Tier, bei gemischter Diät braucht man 1 Einheit. Während bei einem normalen Hunde der Blutzuckergehalt zwei Stunden nach der Insulineinspritzung am niedrigsten ist, ist dies beim pankreaslosen Tiere erst nach sechs Stunden der Fall.

Fisher (235) gelang es, zwei Hunde bis zu 8 Monaten nach kompletter Pankreasextirpation mit Insulin in ziemlich gutem Zustande zu halten, anscheinend ohne dass auf die Nahrung besonders geachtet wurde; ein Gewichtsabfall konnte jedoch nicht verhindert werden, und trotz fehlender Glykosurie zeigten die Tiere doch Polyphagie und etwas Polyurie. Andere Tiere sterben trotz Verschwinden von Hyperglykämie und Glykosurie. Obwohl es sich auch hier offenbar um den von Hédon beschriebenen Zustand handelt, glaubt dieser Autor, das verschiedene Verhalten hänge vom Regenerationsvermögen des Stumpfes des Ductus pancreaticus ab: bildet dieser neues Pankreasgewebe, wie es bei seinen beiden Hunden tatsächlich der Fall war, dann

überleben die Tiere. Seine Hypothese, dass Insulin wahrscheinlich nicht das ganze Pankreashormonkomplex sei, weil es bei vollständiger Abwesenheit von Pankreas die Tiere nicht in normalem Zustande halten kann, scheint in Hinsicht auf die Ergebnisse Hédon's unberechtigt.

Wohl ist die Operationssterblichkeit durch frühzeitige Insulinverabreichung stark zu erniedrigen, da man damit die Resistenz gegen Wundinfektion in der Hand hat und eine glatte Heilung herbeiführen kann: unterbricht man die Injektionen, dann tritt sofort Eiterung ein, um bei erneuter Insulinzufuhr wieder direkt aufzuhören (408).

Spritzt man solchen vollkommen pankreaslosen Tieren Glukose ein, dann dauert die so provozierte Hyperglykämie ausserordentlich lange: während beim normalen Tiere die Hyperglykämie schnell von einer plötzlichen etwa 80 Minuten dauernden Hypoglykämie gefolgt wird, ehe die Norm wieder erreicht wird, unterbleibt dieses Absinken bei pankreasdiabetischen Tieren ganz, und sie behalten ihre alimentäre Hyperglykämie stundenlang bei (40), sogar wenn erst unmittelbar vorher die Pankreasexstirpation stattgefunden hatte.

Auf Adrenalin vermögen die vollkommen pankreasdiabetischen Tiere gar nicht mehr mit einer Hyperglykämie zu reagieren (6); aus den Organen solcher Tiere konnte Ashby (24) keine insulinartig wirkenden Stoffe mehr absondern, im Gegensatz zu denen normaler Tiere (s. w. u. IX).

Wird das Pankreas unvollkommen exstirpiert, dann hängt die Schwere des Folgezustandes von der Grösse des zurückgebliebenen Stückes ab. Aber es braucht oft nur ein kleiner Teil zurückgeblieben zu sein, um das Tier unter nur geringen pathologischen Erscheinungen (sog. Sandmeyerschen Diabetes) lange am Leben zu erhalten. So lief in unserem Laboratorium ein Hund vergnügt, wenn auch sehr mager herum, dem vor 1 Jahr das Pankreas bis auf ein etwa bohnergrosses Stück exstirpiert wurde, sein Diabetes war ausserordentlich gering, zeitweise überhaupt nicht festzustellen. Im Anfang war er stärker, und der Hund erhielt gelegentlich Insulin subkutan.

Solche Tiere reagieren auf Glukose oder Adrenalin mit einer gleichen Hyperglykämie wie normale (6).

Ahnliche Zustände wie nach Pankreasexstirpation erreicht man auch durch Ableitung der Lymphe des Ductus thoracicus nach aussen durch eine Fistel. Darauf hat zuerst Biedl (57, 58) hingewiesen. Zwar tritt der Diabetes nicht in allen Fällen ein, weil auch noch Nebenwege bestehen, aber dieser Versuch beweist doch, dass wenigstens der Hauptanteil des internen Pankreassekrets via Duktus-Lymphe ins Blut kommt. Hierfür lassen sich nach Biedl auch noch andere experimentelle Beweise anführen.

Auch Kumagai und Osato (345, 346) haben mit Hunden mit Duktusfisteln gearbeitet und den Einfluss von Pilocarpininjektionen untersucht:

leider haben sie nicht das antidiabetische, sondern nur das amylolytische Vermögen der Lymphe dabei bestimmt.

Nebennieren. Nimmt man bei Hunden unter den günstigsten Bedingungen gleichzeitig Pankreas und Nebennieren weg, dann tritt keine Glukosurie auf; statt der Hyperglykämie, die immer prompt nach alleiniger Pankreasexstirpation erscheint, sieht man nach Wegnahme von Pankreas + Nebennieren eine Hypoglykämie auftreten. Dieses letztere Resultat ist keine Folge des Operationsschocks, denn, wenn man dieselbe Operation ausführt, aber nur ein kleines Stück Nebenniere zurücklässt, sieht man doch die gewöhnliche Hyperglykämie auftreten, und diese bleibt auch in der Agone bestehen. Beim vollkommen pankreaslosen, diabetischen Tiere hingegen hat nachträgliche Nebennierenexstirpation keinen Einfluss auf die Hyperglykämie und Glykosurie, bzw. sie verringert diese erst nach langer Zeit [Hédou (296)].

Stewart und Rogoff (516) meinen aber, dass im obenangeführten Falle doch wohl der Operationsschock schuld sei, denn nach ihrer Erfahrung zeigen, auch wenn die Nebennieren intakt sind, die total pankreatektomierten Hunde kurz vor dem Tode eine Hypoglykämie. Weiter glaubten sie feststellen zu können (allerdings nur an einem einzigen Hunde), dass nach Pankreas- und Nebennierenexstirpation der Insulin-Effekt derselbe war als nach Pankreasexstirpation allein.

In einer weiteren Versuchsreihe (513) haben sie bei Hunden die rechte Nebenniere weggenommen, und die linke ihrer Nervenverbindungen beraubt, ausserdem wurde noch das Mark ausgebohrt und ein Teil der Rinde zerstört. Auf diese Weise sollte die Epinephrinproduktion aufgehoben sein. Nachdem die Tiere sich erholt hatten, wurde eine totale Pankreasexstirpation ausgeführt. Der Diabetes erschien doch, und zwar genau mit den gleichen Erscheinungen wie bei Hunden mit intakten Nebennieren: Hyperglykämie und Glykosurie entwickelten sich ebenso schnell, erreichten eine gleiche Höhe und wurden in derselben Weise von Insulin beeinflusst. Sogar nach Wegnahme des restierenden Rindenteils blieb der Diabetes in unveränderter Heftigkeit fortbestehen, solange die Tiere in gutem Zustande blieben. Ihrer Ansicht nach fehlt daher ein experimenteller Grund für die Theorien, welche den Nebennieren, und speziell dem Adrenalin, eine besondere Beziehung zum Pankreas zuschreiben, insofern es dessen Funktion betrifft, Kohlenhydratstoffwechsel und Blutzuckergehalt zu regulieren und bei der Genese des Diabetes mitzuwirken.

Schon mehrere Autoren haben sich mit der Frage beschäftigt, wie nebennierenlose Tiere auf Insulin reagieren.

Lewis (376) fand, dass Ratten, welche 12 Tage zuvor operiert waren und einen Tag gehungert hatten, auf Insulin mit vollkommen den gleichen Symptomen antworteten wie normale Tiere; die tödliche Dosis betrug aber nur ein Zehntel von der für normale Tiere: der Leberglykogengehalt schwankte bei den sechs nebennierenlosen Versuchstieren beim Tode zwischen 0,11%

und 8,8‰! — Bei der ausserordentlich grossen individuellen Verschiedenheit der Empfindlichkeit, gerade von Ratten gegenüber Insulin scheint uns Vorsicht geboten, zuviel Wert auf die Differenzen der letalen Dosen zu legen. Wir sahen jedenfalls, dass auch von genau gleichgehaltenen Tieren einige z. B. mit 21 Einheiten nicht starben, andere mit 3 E. schon in einen elenden Zustand kamen. — In derselben Richtung liegen die Erfahrungen Sordellis c. s. (504). Sie beobachteten, dass ein bestimmter Rattenstamm sehr empfindlich war gegen bilaterale Nebennierenexstirpation, sehr resistent aber gegen Insulin; ein anderer Stamm hingegen verhielt sich gerade umgekehrt.

Sundberg (520) arbeitete mit Kaninchen, denen entweder die Nebennieren ganz exstirpiert waren, oder bei denen das Nebennierenmark entfernt wurde, während die Rinde ins Omentum transplantiert und unter die Bauchhaut befestigt wurde. Die Tiere wurden erst verwendet, als sie sich von der Operation erholt hatten. Immer waren die operierten Tiere deutlich empfindlicher als die normalen Kontrollen: dass dies nicht Folge des Operationschocks war, zeigte ein Kontrollversuch, wo beim Tiere fast die gleiche Operation ausgeführt wurde, aber ohne die Nebenniere von ihren Gefäss- und Nervenverbindungen zu lösen. Dieses Tier war gegen Insulin nur schwach empfindlich. Es scheint sich hier also hauptsächlich um das Nebennierenmark zu handeln. Ob aber die Zahl der schwierigen Versuche die ersten individuellen Schwankungen ausgeglichen, ist uns mehr als zweifelhaft.

Auch Stewart und Rogoff (515, 516) haben sich mit Kaninchen, welche eine beiderseitige Nebennierenexstirpation viele Wochen überstanden hatten, beschäftigt. Sie konnten keinen Unterschied in der Empfindlichkeit gegen Insulin im Vergleich zu Kontrolltieren feststellen: ihre Blutzuckerkurve verlief vollkommen gleich; wenn Krämpfe auftraten, hatte Glukose-Einspritzung genau denselben Effekt. Merkwürdigerweise stieg die Temperatur etwas an. Das benutzte Insulinpräparat war aber sehr unrein.

Ein Tier Bours (45), dessen eine Nebenniere exstirpiert war, starb 6 Tage nach Aufhören der Insulininjektionen mit einem Blutzuckergehalt von 2,60‰.

Nach Stewart und Rogoff (514, 517) ist Insulin bei nebennierenlosen Katzen ebensogut wie bei normalen Tieren imstande, die Morphinhyperglykämie zu verhüten. Auch ändert Insulin weder nach intravenöser noch nach subkutaner Einspritzung etwas an der Adrenalinausscheidung [biologisch im Nebennierenvenenblut bestimmt (514, 516)].

Schilddrüse. Die Glykosurie bei vollkommen pankreaslosen Hunden wird durch vollständiges Abbinden der Schilddrüsenarterien ganz zum Verschwinden gebracht, ausser wenn Tetanie oder Infektion auftreten. Ausserdem ist die Mortalität solcher Tiere noch höher. Partielles Abbinden hingegen schien die Glykosurie zu verstärken. Diabetische Hunde sind empfindlicher für Tetanie nach partieller Parathyreoid- und kompletter Thyreoidektomie

als gesunde Tiere. Wegnahme der Schilddrüse scheint bei diabetischen Hunden die Glykosurie zum Verschwinden zu bringen, wenn keine Tetanie ausbricht. Erscheint diese doch, so unterdrücken intravenöse Einspritzungen von Calciumlactat vorübergehend sowohl die Anfälle als die Glykosurie (255).

Bodansky (93) sah beim normalen Schafe nach einer bestimmten Dosis Insulin, intravenös eingespritzt, immer den Blutzucker regelmässig absinken, innerhalb etwa 35 Minuten sein Minimum durchlaufen, dann unmittelbar wieder ansteigen und innerhalb $1\frac{1}{2}$ —2 Stunden wieder normal werden. Bei thyreoid-ektomierten Tieren aber hält die Blutzuckersenkung länger an, erst nach etwa 55 Minuten wird das Minimum, das noch tiefer liegt, erreicht, und die Erholung dauert auffallend länger. Nach Ansicht dieses Autors weist dies vielleicht darauf hin, dass die Thyreoidea für die normale Erholung von Insulinhypoglykämie nötig sei (Zahl der Versuche!).

Später aber hat derselbe Autor mitteilen müssen (94), dass mit der Dauer des vorangehenden Hungerns auch die Zeit zunimmt, während der das niedrigste Blutzuckerniveau festgehalten wird. In seinen früheren Versuchen hatten die Tiere 18 Stunden gehungert. Jetzt liess er sie länger hungern: dann zeigten auch normale Tiere den gleichen platten Boden der Blutzuckerkurve nach Verabreichung der Standarddosis (5 Einheiten). Bis zum letzten Moment gut genährte thyreoidlose Tiere hingegen hatten eine Kurve, welche nicht unterschieden werden konnte von der normaler Tiere, die nach 18stündigem Hunger dieselbe Dosis erhalten hatten.

In 47 Versuchen hat Ducheneau (201) die grössere Empfindlichkeit thyreoidektomierter Kaninchen gegen Insulin feststellen können. Die Thyreoid-ektomie lag 2—5 Wochen vor der subkutanen Insulineinspritzung. Zucker wurde nach 1, 2, 3, 4, 6 und 8 Stunden im Ohrenvenenblut nach Folin und Wu bestimmt. Der Blutzucker sank tiefer als bei normalen Tieren, die Mortalität war grösser, weil die Tiere einen bestimmten Blutzuckergehalt schlechter vertragen als normale. Bei zwei im Krampfanfall gestorbenen schilddrüsenlosen Tieren enthielten die Lebern 1,61 bzw. 1,69% Glykogen. Verabreichung von Thyreoidea per os besserte das Widerstandsvermögen der operierten Tiere nicht.

Leber. Die Wirkung des Insulins bei Tieren, welchen die Leber partiell oder total extirpiert war, haben Mann und Magath (402, 403) studiert. Frühere Untersuchungen hatten ihnen gelehrt, dass nach totaler Leberextirpation der Blutzucker immer absinkt, und dabei stets charakteristische Symptome auftreten, denen bei Insulinvergiftung ausserordentlich ähnlich; auch sie verschwinden durch Glukose-Verabreichung, und vorübergehend werden die Tiere wieder normal. Injektion von grossen Dosen Insulin verursachte bei normalen Hunden deutliche Hypoglykämie: die Abnahme des Blutzuckergehalts fand aber viel schneller statt als nach Extirpation der Leber: auch nach partieller oder totaler Leberextirpation verursachte Insulin

dieselbe steile Erniedrigung wie bei den gesunden Tieren. Glukose führte auch zur Erholung, nur braucht man bei normalen Tieren die Einspritzung nicht zu wiederholen, wohl aber nach partieller oder totaler Leberexstirpation. Im ganzen wurden 4 Versuche mit totaler und 3 mit partieller Exstirpation getan, die Ergebnisse fielen aber dermassen gleichsinnig aus, dass mehr Versuche überflüssig schienen. Die Symptome nach Leberexstirpation und nach Insulinvergiftung sind nahezu dieselben, nur überwiegt im ersteren Falle mehr die Prostration, im letzteren mehr die Aufregung. Die Blutzuckerkurve ist im ersteren Falle gleichmässiger als im letzteren. Bei einem bestimmten niedrigen Blutzuckergehalt durch Insulin kann ein Hund normal scheinen, wurde er aber durch Leberexstirpation verursacht, dann besteht immer eine schwere Prostration. Die Versuche zeigen also, dass die Anwesenheit der Leber nicht unbedingt notwendig ist für das Zustandekommen der Insulinhypoglykämie, wohl aber für eine bleibende Wiederherstellung des Blutzuckerniveaus. Damit soll aber nicht gesagt sein, dass die Leber nicht auch einen gewissen Anteil am Zustandekommen der Insulinhypoglykämie hat; dass sie jedenfalls vom Insulin beeinflusst wird, zeigt die Notwendigkeit ihrer Anwesenheit für die Erholung.

Unvollkommener hat man den gleichen Zustand erreicht durch Anlegen einer Eckschen Fistel. Über einen einzigen Versuch am Hunde berichten Sordelli c. s. (504). Auch hier verursachte Insulin die gewöhnliche Hypoglykämie mit auffällig langsamer Rückkehr zur Norm.

Die Versuche von Olmsted und Logan (446) mit dezerebrierten und dekapitierten Tieren, mit und ohne Exstirpation von Hypophyse (und Nebenniere), haben wir gelegentlich der Besprechung der Insulinkrämpfe schon erwähnt.

Koref und Rigler (337) konnten feststellen, dass bei Ratten Entfernung des Grosshirns bis auf die Stammganglien keinerlei Einfluss hat auf die durch Insulin bewirkte Blutzuckererniedrigung.

b) Insulinwirkung gegen Piqûre, Asphyxie usw.

Ausser bei pankreasdiabetischen Tieren hat man auch die Insulinwirkung untersucht bei anderen Eingriffen, welche eine Erhöhung des Blutzuckers herbeiführen.

So an erster Stelle bei der Piqûre nach Claude Bernard. Hier hat die Torontoer Schule schon im Anfang der Insulinstudien die antagonistische Wirkung feststellen können (32, 34, 35, 390, 393, 484), so dass der Stich vollkommen erfolglos bleibt, wenn lange genug vorher Insulin eingespritzt wurde, und zwar bei Tieren, die durch eine reichliche Hafer- und sogar Rohrzuckerfütterung über genügende Glykogenreserven verfügten.

Auch bei mechanischer Erstickung ist Insulin, wenn genügend lange

Zeit vorher injiziert, imstande, der Erhöhung des Blutzuckerspiegels vorzubeugen (32, 34, 35, 393).

Bei elektrischer Sympathikusreizung hemmt Insulin die Blutzuckererhöhung gleichfalls (390).

B. Wirkung auf den kranken Menschen.

Die Wirkung des Insulins auf die verschiedenen Symptome des menschlichen Diabetes haben wir schon an verschiedenen Stellen erörtert, insoweit es sich um die Erscheinungen einer floriden, unkomplizierten Zuckerkrankheit handelt. Auch den verblüffenden Effekt in vielen Fällen von diabetischem Koma haben wir schon besprochen. Dann gibt es aber noch eine ganze Reihe von Komplikationen des Diabetes, welche durch Insulin in Schranken gehalten werden können. So z. B. die diabetische Gangrän; auch gegen andere Infektionen erhöht es das Widerstandsvermögen (519), und ermöglicht so, früher ganz unausführbare operative Eingriffe an Diabetikern vorzunehmen.

Wie wir schon (S. 55) angeführt haben, bekommt das beim diabetischen Koma hypotonisch gewordene Auge durch Insulin seinen normalen Tonus zurück innerhalb 1—2 Tagen, während ja nach den oben zitierten Untersuchungen von de Jongh und Wolff in unserem Laboratorium Insulin an normalen Tieren eine sehr erhebliche Augendruckerniedrigung gibt, wenn es Krämpfe erzeugt. Auch der Fundus lipaemicus verschwindet auffallend schnell. Refraktions- und Akkommodationsstörungen werden kuptiert und rezidivieren weniger. Frische diabetische Katarakte gehen schneller als man bisher gekannt, zurück: erst bei längerem Bestehen treten irreparable Änderungen auf, für welche aber die Operationschancen viel besser sind als früher. Bei Retinitis diabetica war bisher der Erfolg nur gering (282, 511).

Nur über eine Frage scheint man bis jetzt nicht einig werden zu können: ob bei mit Tuberkulose kompliziertem Diabetes Insulinbehandlung gewünscht ist oder nicht. Einige Autoren sind dagegen (88), andere glauben doch Nutzen gesehen zu haben (39, 132); jedenfalls ist leider der Erfolg nicht so eklatant wie sonst.

Es bleibt uns jetzt noch übrig nachzugehen, bei welchen anderen Krankheitszuständen Insulinbehandlung schon versucht worden ist, und welcher Einfluss dann festzustellen war.

An erster Stelle stehen die Krankheiten, wo eine Acidose aus nichtdiabetischer Ursache aufgetreten ist, bzw. wo man deren Auftreten fürchtet.

Dazu gehört zuerst die traumatische und prä- und postoperative nichtdiabetische Acidose. Hier hat man sowohl therapeutisch (207, 239, 273, 526) als prophylaktisch (527), z. B. beim „Operationsfertigmachen“ von älteren Prostatikern, schon schöne Erfolge zu verzeichnen gehabt, jedenfalls

unter der Vorsichtsmassnahme, dass man gleichzeitig mit dem Insulin Glukose injizierte.

Auch beim toxämischen Erbrechen der Schwangeren hören mit Insulin die pathologischen Erscheinungen fast sofort auf (526), wenn man kurz zuvor sicherheitshalber auch noch Glukose verabreicht hat.

Die Schwangerschaftsglykosurie aber ist gegen Insulin refraktär (478).

Weiter hat Thalhimer (527) noch vorgeschlagen, auch bei gewissen acidotischen Fällen von Eklampsie und beim zyklischen Erbrechen mit Acidose der Kinder Insulin einmal zu versuchen. Tatsächlich konnte Freudenberg (251) beim Brechdurchfall einen günstigen Einfluss feststellen.

Dann ist weiter eine Reihe von Krankheiten zu erwähnen, wo der Blutzucker eine Neigung hat, anzusteigen, ohne dass eine auffallende Acidose eintritt.

Bei Akromegalie-Glykosurie sinken sowohl Hyperglykämie als Glykosurie in derselben Weise ab wie beim gewöhnlichen Diabetes mellitus (91).

Bei Morbus Basedowii beobachteten Lépine und Parturier (372) eine erhebliche klinische Besserung: nach einer 10 Tage dauernden Insulin-kur waren die subjektiven Symptome schon grösstenteils verschwunden, nach weiteren 8 Tagen ohne Insulin waren sowohl Struma als Exophthalmus weg, die Augenlider konnten wieder geschlossen werden, die Augen bewegten sich vollkommen koordiniert mit den Augenlidern, die Konvergenz war wieder fast normal. Die Patellarreflexe kehrten zurück, der Puls sank bis 64, die Augen waren unempfindlich gegen helles Licht. Der Nüchtern-Blutzuckerwert war niedrig geworden, die Glykosurie verschwunden. Bestimmungen des Basalstoffwechsels bestätigten die klinische Besserung.

Ebenso konnte Goffin (276) bei vier Fällen (von Basedow), die keiner anderen Therapie zugänglich waren, mit Insulin eine erhebliche Besserung erzielen.

Im Gegensatz zu obigen Beobachtungen steht eine von Pollak (466), wo ein hyperthyreotischer Diabetiker gegen Insulin fast vollkommen refraktär war, aber viel besser reagierte, nachdem seine Struma mit Röntgenstrahlen behandelt war. Falta (226) beobachtete die gleiche Resistenz gegen Insulin bei thyreotoxischen Zuständen.

Hypertoniker scheinen ebenfalls mehr oder weniger refraktär gegen Insulin zu sein (226); doch muss man hier vielleicht unterscheiden zwischen essentieller Hypertonie (wo Insulin ausserdem den Blutdruck herabsetzt) und der bei chronischer Nephritis [wo der Blutdruck unverändert bleibt (332)]. Ob Insulin auch therapeutisch bei Hypertonie in Betracht kommen kann, haben wir oben schon erwähnt, (s. a. II B. S. 40). In diesem Zusammenhang eines therapeutischen Gesichtspunktes für Kreislaufkrankheiten sei auch noch der Vorschlag von Kogan (335) genannt. Er empfiehlt auf Grund seiner Tierversuche, bei nicht organisch bedingten Tachykardien einen Versuch

mit Insulin zu wagen, da er regelmässig eine Verlangsamung und Verbesserung der Herzschläge beobachtete.

Wie die Relation zwischen Insulin und Krebs ist, ist bisher noch nicht festgestellt, obwohl es eine altbekannte Tatsache ist, dass hierbei Anomalien des Kohlenhydratstoffwechsels bestehen, und Krebs- und Pankreasgewebe merkwürdige Korrelationen zeigen (60, 80, 265, 492, 500, 559).

Haendel und Tadenuma (290) haben gefunden, dass Insulin das Wachstum von Rattensarkom beschleunigt, und in ihrer diesbezüglichen Mitteilung auch auf andere Korrelationen zwischen Kohlenhydratstoffwechsel und Tumorwachstum hingewiesen.

Zum Schluss wollen wir nur kurz hinweisen auf einige pathologische Zustände, wo gleichfalls Anomalien des Blutzuckergehalts bekannt sind, bei denen man sich über etwaige Insulinwirkungen vorläufig nur orientiert hat. So z. B. die Avitaminose, wobei Bickel und Collazo (56) an Tauben experimentierten; sie fanden, dass hier das Insulin zwar symptomatisch wirkt und den erhöhten Blutzucker herabsetzt, aber keine vollständige Besserung herbeiführt. Dies bestätigte Koudriavtzeva (338) an Kaninchen, mit poliertem Reis genährt: der Amylasegehalt des Serums wird zwar wieder normal, und der total ausgeschiedene Stickstoff nimmt stark ab, aber der Gehalt der Muskeln an Kreatin und der Kreatin-Koeffizient bleiben hoch; die Kreatinurie verschwindet nicht. Kogan (336) sah bei Meerschweinchen-Skorbut gleichfalls den erhöhten Blutzucker absinken.

Dann hat man noch versucht, die Insulinwirkung in Zusammenhang zu bringen mit den Psychosen (bei Manisch-Depressiven konnten Cowie c. s. (170) die alimentäre Hyperglykämiekurve mit Insulin zur normalen Form zurückbringen) (vgl. 489), den akuten Infektionskrankheiten, wo nach Grigaut c. s. (285) eine Hyperglykämie bestehen soll, die mit Eintreten der Krise brüsk aufhöre usw.

Von Interesse war auch die Ähnlichkeit zwischen den typischen Insulinkrämpfen bei Tieren und den pathologischen Krampfständen beim Menschen.

Tatsächlich haben einige Untersucher (533, 550) im unmittelbar dem Epilepsie-Anfalle vorangehenden Stadium einen ausserordentlich niedrigen Blutzuckergehalt und andere übereinstimmenden Tatsachen feststellen können und nach Analogie mit der Therapie für die Insulinkrämpfe, auch mit Glukose, zusammen mit Alkohol oder Kaffein als Sympathikusreize, wirklich gute therapeutische Erfolge gesehen. Andere Forscher aber leugnen, dass ein derartiges Verhalten des Blutzuckers die Regel sei.

Ob auch für andere Formen von Kollaps oder Krampf Analogien bestehen (567), hat man unseres Wissens noch nicht untersucht; für die Tetanie bestehen für eine Korrelation nur indirekte Anzeigen (255, 375, 534, 550, 582). Doch hat neuerdings Freudenberg (251) darauf hingewiesen, dass man durch Insulin latente Tetanie manifest machen kann.

IV. Beeinflussung der Insulinwirkung durch andere Stoffe.

A. Kohlenhydrate (Gegenmittel gegen die toxische Insulinwirkung).

a) Glukose.

Wie wir schon wiederholt erwähnt haben, hat man bald nach der Entdeckung des hypoglykämischen Symptomkomplexes nach Insulineinspritzung bei normalen Tieren gefunden, dass durch Verabreichung von Glukose der Anfall sofort zum Verschwinden gebracht werden konnte, entweder durch Einnahme per os, oder, wenn Eile geboten war, durch subkutane oder intravenöse Injektion.

Diese Methode ist bis jetzt noch immer sowohl bei pharmakologischen Versuchen als bei klinischen Fällen die beste geblieben und es ist oft verblüffend, in wie kurzer Zeit die vollkommen komatösen Tiere mit einer einzigen Glukose-Injektion sich ganz und gar erholen (33, 35, 126, 393).

Intravenöse und subkutane Glukoseeinspritzungen haben genau denselben Effekt (440), ebenso intraperitoneale (504).

Bisweilen genügt die erste Injektion nicht (wenn zu viel Insulin oder zu wenig Zucker eingespritzt wurde), und es tritt ein erneuter hypoglykämischer Anfall ein, so dass man zum zweiten, eventuell zum dritten Male Zucker einspritzen muss, ehe endgültige Heilung erfolgt.

Die Mengen Glukose, welche die Insulintiere zu ihrer Erholung bedürfen, etwa 2 g pro Kilo, sind unverhältnismässig grösser als mit dem aus dem Blute verschwundenen Zucker übereinstimmt (272).

Macleod (392, 440) machte die interessante Beobachtung, dass, wenn man die Glukoseinjektion nicht sofort nach den ersten Krämpfen macht, sondern erst dann, wenn sich die Konvulsionen mehrmals wiederholt haben, und die Tiere in den Intervallen vollkommen komatös daniederliegen, nicht, wie bei der ersten eben beschriebenen Kategorie, innerhalb weniger Minuten, sondern erst nach $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde eine Erholung eintritt, und zwar gehen dieser dann erneute gehäufte Krämpfe und eine Verbesserung der Atmung als Vorboten voran.

Die Tatsache, dass im letzteren Falle Krämpfe erneut auftreten, wenn einige Zeit Glukose bereits wieder im Körper kreist, weist vielleicht darauf hin, dass die krampfbestreitende Glukosewirkung keine primäre ist.

Wartet man zu lange mit der Glukosegabe, so sind die Tiere gar nicht mehr zu retten (504).

Sammartino und Liotta (484, 485) haben auch an die Möglichkeit gedacht, dass der günstige Erfolg des Zuckers auf seiner vasokonstriktorischen Wirkung beruhe. Ihre Versuche ergaben aber hierfür keine Anhaltspunkte, das Absinken von Blutdruck (und Körpertemperatur) wird durch Glukoseinjektion nicht verhindert.

Hier können wir aber auf das früher Gesagte (S. 40) hinweisen, dass nämlich reine Insulinpräparate kaum einen Einfluss auf den Blutdruck erkennen lassen.

Glukose soll eine schnellere Erholung vom hypoglykämischen Krampfanfall geben, wenn dieser durch Insulin + Parathyroidextrakt erzeugt wurde, als durch Insulin allein (582).

Zu bemerken ist, dass gegenüber dieser günstigen Wirkung der Glukose bei der akuten Insulinvergiftung, bei den spät, mehrere Tage nach der Injektion von Insulin oder insulinähnlichen Stoffen auftretenden hypoglykämischen Krampfständen diese Zuckerart fast völlig im Stich lässt. Zwar können die Krampfanfälle auch dann noch kupiert werden, aber der Tod lässt sich nicht mehr abwenden (33); eigene Erfahrungen liegen auch in dieser Richtung.

In unserem Laboratorium wurde von uns mit De Jongh festgestellt, dass, wenn man Kaninchen während und nach der Einspritzung einer grossen Insulindosis viel und wiederholt Glukose verabreicht, der Insulineffekt erst nach 8, 9 Stunden auftritt. Vielleicht wäre dies eine Methode, um auch bei Diabetikern eine protrahierte Wirkung zu erreichen (355).

Gleichzeitige Injektion von Insulin und Glukose, entweder subkutan oder intravenös, haben auch Koref und Rigler vorgenommen (337). Wie diese Autoren aber, aus im Ganzen 6 Versuchen, von denen noch 3 oder 4 an demselben Tiere, mit Zwischenpausen von nur 2 Tagen, Schlussfolgerungen ziehen können hinsichtlich der Menge des endogenen Insulins, die nach Einspritzung von Insulin freikommt, ist uns nicht ganz klar.

Statt Glukose kann man per os auch andere Zuckerarten geben, welche bei der Digestion durch Hydrolyse Glukose liefern: ihr Effekt ist dem der Glukose gleich (440).

[Nach den Untersuchungen von Oka (444) an Hunden mit Eckscher Fistel sind sowohl die Leber als die anderen Organe an der Verarbeitung von per os verabreichter Glukose beteiligt.]

Auch kann man, wie wir schon gesehen haben (S. 53, 60 u. f.), die eigenen Kohlenhydratvorräte des Körpers als Glukose mobilisieren durch Einspritzung von Adrenalin (440).

Um näher in das Wesen der Insulinvergiftung eindringen zu können, hat man versucht, ob mit anderen Zuckerarten auch ein gleicher Erfolg zu erreichen war. Doch steht noch immer die Glukose praktisch weit voran für subkutane Einspritzung: für perorale Zufuhr liegen die Verhältnisse etwas anders.

Im allgemeinen gilt für die Brauchbarkeit als Bekämpfungsmittel der Insulinhypoglykämie per os die Reihenfolge: Glukose, Maltose, Galaktose, Lactose, Saccharose, Lävulose, Glyzerin, Amylum (126). Obwohl nach Einspritzungen von diesen, soweit sie selbst reduzierend wirken, das Reduktionsvermögen des Blutes natürlich zunimmt, darf man jetzt noch weniger als sonst

daraus schliessen, dass dann „der“ Blutzucker angestiegen ist, und man wird sich vielmehr durch die übrigen klinischen Erscheinungen leiten lassen müssen.

b) Andere Hexosen.

Lävulose hat nach der Meinung von Campbell und Fletcher einen weit geringeren Wert zur Bekämpfung der hypoglykämischen Symptome als Glukose (126) [bei peroraler (?) Verabreichung]. Nach den Versuchen von Oka (444) an Hunden mit Eckscher Fistel soll bei der Verarbeitung von Lävulose (nach stomachaler Zufuhr) die Leber eine sehr wichtige Rolle spielen, während die anderen Organe nur von untergeordneter Bedeutung seien.

Nach Noble und Macleod (393, 440) ist zwar der momentane Erfolg nach 2 g pro Kilo, subkutan in Lösung eingespritzt, fast ebensogut wie der von Glukose, und die Symptome verschwinden rasch, aber sie kehren schnell zurück: eine zweite Lävulose-Einspritzung hat dann keine Besserung mehr zur Folge. Doch kann z. B. das überlebende Herz innerhalb gewisser Grenzen sowohl Lävulose als Dextrose verarbeiten (135). Desgrez c. s. (191) lenken die Aufmerksamkeit darauf hin, dass Diabetiker Lävulose leicht assimilieren, und dass man dann die Insulineinspritzungen mit grösseren Zwischenräumen geben kann. Auch nach Wilder und Kitchen (572) wird bei Diabetikern unter Insulineinfluss Fruktose, per os verabreicht, am besten verbrannt, besser als Glukose, wie sich aus dem respiratorischen Quotienten, der Glykosurie und der Hyperglykämie zeigte.

Nach Clark (135) fehlt bei Durchströmung des Pankreas eines Hundes mit lävulosehaltiger Lockelösung die Erniedrigung der optischen Drehung bei gleichbleibendem Reduktionsvermögen, die bei Gebrauch von dextroshaltiger Lösung nachweisbar ist.

Galaktose (2 g pro Kilo subkutan) steht in seiner Wirksamkeit hinter Glukose zurück (126) bei peroraler (?) Verabreichung, sie wirkt kräftig nach subkutaner Injektion; Rezidive der Anfälle kommen aber vor, auch wenn der Blutzuckergehalt hoch ist (440). Dies hatten auch schon Mann und Magath beim hypoglykämischen Symptomkomplexe nach Leberextirpation gefunden (440).

Bei Diabetikern, die gleichzeitig Insulin und verschiedene Zuckerarten bekamen, fanden Wilder und Kitchen (572), dass Galaktose besser und schneller verarbeitet wurde als Glukose, wie Blut- und Harnzucker und R.Q. zeigten.

Auf den Verbrauch von per os verabreichter Galaktose hat, nach Okas (444) Versuchen an Hunden mit Eckscher Fistel, die Leber keinen merkbaren Einfluss.

Mannose (2 g pro Kilo subkutan) hat therapeutisch fast dieselbe günstige Wirkung wie Glukose (393, 440). Bei Diabetikern unter Insulinwirkung wird Mannose, per os gegeben, etwa ebenso gut verwertet wie Glukose und Glykogen, schlechter aber als Lävulose und Galaktose (572).

c) Disaccharide.

Diese haben zur Bekämpfung der Insulinsymptome kaum Wert.

Maltose (2 g pro Kilo subkutan) nützt nichts, obwohl der Blutzucker ansteigt (440). Nach Campbell und Fletcher (126) dagegen folgt sie (nach Verabreichung per os?) in Brauchbarkeit unmittelbar hinter Glukose.

Lactose (2 g pro Kilo subkutan) ist ebenso wertlos: hierbei steigt der Blutzucker auch weniger stark an als mit Maltose (440). Per os (?) gegeben steht Milchzucker in Brauchbarkeit zwischen der besseren Galaktose und der schlechteren Saccharose (126). Oka (444) meint aus seinen Versuchen an Hunden mit Eckscher Fistel schliessen zu dürfen, dass die Leber auf die Verarbeitung von per os eingeführter Lactose keinen Einfluss hat.

Saccharose (Sucrose) ist vollkommen wertlos bei Einspritzung von 2 g pro Kilo subkutan und lässt auch sogar den Blutzucker unbeeinflusst, was nach Noble und Macleod darauf beruhe, dass im Blut wohl eine Spur Maltase, aber keine Lactase und keine Saccharase anwesend sei (440). Nach Campbell und Fletcher (126) hat dieser Zucker (wahrscheinlich bei Verabreichung per os) wohl einigen Wert, obwohl er hinter Glukose zurücksteht.

Für die Verarbeitung der per os aufgenommenen Saccharose spielt, nach Okas (444) Versuchen an Hunden mit Eckscher Fistel, die Leber eine sehr wichtige Rolle.

d) Pentosen.

Arabinose (2 g pro Kilo subkutan), lässt zwar den Blutzucker ansteigen, ist aber den hypoglykämischen Erscheinungen gegenüber ganz unwirksam (440).

Xylose (2 g pro Kilo subkutan) ist gleichfalls vollkommen unbrauchbar und lässt sogar auch den Blutzuckergehalt gänzlich unbeeinflusst (440).

Rhamnose, eine Methylpentose, ist (per os?) vollständig unwirksam (126).

e) Polysaccharide.

Raffinose ist (per os?) vollkommen unbrauchbar (126).

Stärke, per os (?) gegeben, hat nur sehr beschränkten Wert als Bekämpfungsmittel des hypoglykämischen Anfalles (126). Dabei kann sie ein Tier mit durch Ecksche Fistel aus der Zirkulation ausgeschalteter Leber nach Oka (444) doch vollkommen verwerten. Unsere Erfahrungen am Kaninchen zeigten, dass Stärke (Amylum solubile), subkutan eingespritzt, jede günstige Wirkung vermissen liess, intravenös dagegen wiederholt etwa innerhalb $\frac{1}{4}$ Stunde ebensogut half wie Glukose.

Glykogen (wahrscheinlich subkutan eingespritzt) in Dosen von 2 g pro Kilo zeigte sich in zwei Versuchen von Noble und Macleod (440) vollkommen wirkungslos, sowohl in bezug auf die Krankheitserscheinungen als auf den Blutzuckergehalt. Die Autoren schreiben dies auf Rechnung der kolloidalen Natur, welche die Resorption zu stark verlangsamten soll. Dasselbe konnten

vir bestätigen, weiterhin aber auch feststellen, dass es, intravenös gegeben, im Gegensatz zu den eben erwähnten Erfahrungen mit Stärke überraschenderweise auch versagt. Vielleicht liegt das daran, dass das Glykogen, zum mindesten das was wir benutzten, nicht so dispers ist als die „lösliche“ Stärke. Per os in Diabetikern unter Insulinwirkung verabreicht, wird es nach Wilder und Kitchen (572) etwa gleich gut wie Glukose und Mannose verbrannt, aber schlechter als Lävulose und Galaktose.

Glukose ist bei subkutaner Injektion also der Zucker, der bei weitem am meisten die Symptome aufhebt; die anderen Zuckerarten sind viel weniger brauchbar. Der Effekt bestimmter Seitenketten zeigt keine Regelmässigkeiten; das ganze Glukosemolekül scheint nötig zu sein (392). Von den seinerzeit angekündigten Untersuchungen von Macleod, Irvine und Herring hinsichtlich der Brauchbarkeit verschiedener Methylglukoside und natürlicher Glukoside (392) ist uns bisher noch keine ausführliche Mitteilung bekannt geworden¹⁾.

Anderer Stoffe, die man auch noch als Gegenmittel gegen die Insulinhyperglykämie hat benutzen wollen, erwähnen wir besser weiter unten (S. 150).

B. Organextrakte.

Zahlreich sind die Forscher, welche sich mit den Beziehungen zwischen Insulin einerseits und den anderen Hormonen des Körpers andererseits beschäftigt haben.

Es war schon bekannt, dass einige von diesen, und zwar speziell das Adrenalin, eine blutzuckersteigernde Wirkung besitzen. Diese gegenseitigen Synergismen und Antagonismen weiter aufzuklären, war das Ziel von allen, die sich mit intern-sekretorischen Fragen beschäftigten.

An anderer Stelle (S. 129) haben wir schon besprochen, welche Tatsachen das Studium von Tieren, denen verschiedene der Drüsen mit innerer Sekretion extirpiert worden waren, ans Licht gebracht hat. Diese werden ergänzt von den jetzt zu besprechenden Versuchen, wo einem normalen oder kranken Individuum neben Insulin irgend eine Drüse oder Drüsenextrakt verabreicht wurde.

An erster Stelle wollen wir hier das Adrenalin besprechen, weil hierüber die meisten Untersuchungen vorliegen.

Wie bekannt, erhöht Adrenalin den Blutzuckergehalt vorübergehend sehr stark: Insulin ist imstande, ihn dann wieder zu erniedrigen: welche von beiden Wirkungen überwiegt, hängt von den Dosierungen ab (32, 34, 35, 111, 119, 263, 326, 390, 393, 484) und auch von den Intervallen zwischen beiden Einspritzungen, weil die Insulinwirkung meistens länger anhält (111, 397, 470).

¹⁾ Inzwischen erschienen. Biochem. Journ. 18, 1023, 1924.

Wie Gori c. s. (162) haben beweisen können an ihren Tieren mit abschraubbarem Bauchfenster, denen von Zeit zu Zeit Leberstückchen entnommen wurden, setzt Adrenalin sofort die Glykogenolyse an, und setzt die maximale Menge Zucker in der Leber in Freiheit innerhalb etwa 30 bis 60 Minuten; dieser Zucker wird aber nur langsam in den Blutstrom gebracht: den höchsten Blutzuckergehalt findet man, wenn der freie Leberzucker schon wieder abnimmt.

Ausserdem sollte nach einigen Untersuchern (361) Adrenalin imstande sein, die Fettvorräte bei Bedarf an Zucker in diesen zu verwandeln.

Insulin wirkt auch der Glykogenolyse der Kaninchenleber in vivo durch Adrenalin entgegen, wie die von Macleod c. s. (168a, 387, 390) mitgeteilten Zahlen von 4 Parallelversuchen ergeben: Während der Glykogengehalt 8 Stunden nach der Adrenalineinspritzung, bei 9 Kaninchen 7 mal zwischen 1,10 und 3,10% schwankte und nur 2 mal Werte von 6,60 bzw. 8,56‰ aufwies, lagen diese Zahlen bei 6 (Insulin- + Adrenalin-)tieren, welche keine Krämpfe gehabt hatten, zwischen 3,34 und 12,24%, während bei 5 Tieren derselben Kategorie, welche wohl einen Krampfanfall gehabt hatten, die Zahlen zwischen 1,60 und 6,40% lagen.

Die Tiere vertragen enorme Mengen Insulin (bis zu 113 Einheiten) ohne Krämpfe bei gleichzeitiger Verabreichung von höchstens 5 $\frac{1}{2}$ ccm Adrenalin 1:1000 (168a).

Doch stammt der neugebildete Zucker bei der Adrenalinhyperglykämie nicht ausschliesslich aus der Leber her, denn Oka (444) sah auch bei Hunden mit Eckscher Fistel nach Adrenalin immer eine starke Hyperglykämie und Glykosurie auftreten. Das Adrenalin hat also offenbar, ebenso wie das Insulin, auch periphere Angriffspunkte.

Kombiniert man die Adrenalininjektion mit Glukosegaben, dann steigt nach den Einspritzungen der Blutzuckergehalt höher an, als mit der Summe der Wirkungen der beiden Komponenten übereinstimmt: ferner dauert diese Erhöhung ausserordentlich lange, wie wenn der Organismus unter Einfluss des Adrenalins ähnlich wie beim Diabetes nicht mehr imstande sei, den Zucker zu verbrennen: Gaswechselfersuche bringen hierfür auch den deutlichen Beweis (5, 6).

Das durch Adrenalin verursachte Unvermögen des Körpers, Glukose zu verbrennen, wird durch Verabreichung von Pankreasextrakten bzw. Insulin wiederhergestellt (6, 88). Bei Igel im Winterschlaf, denen man zwecks Erweckung und Temperaturerhöhung Adrenalin eingespritzt hat, übt Pankreasextrakt eine entgegengesetzte Wirkung aus (8).

Sehr sorgfältig sind die Insulin- und Adrenalinwirkungen an 6 normalen und 8 diabetischen Menschen von Lyman c. s. (385, 386) untersucht worden. Das Adrenalin wurde subkutan, das Insulin intravenös eingespritzt. Adrenalin gab, wie gewöhnlich, eine Erhöhung des respiratorischen Quotienten, der

Wärmeproduktion und des Blutzuckers und die gewöhnlichen subjektiven und Kreislauf-Änderungen sowohl bei Gesunden als bei Diabetikern. Der R.Q. von Diabetikern stieg nicht so hoch an wie bei Gesunden. Es konnte keine Parallele gefunden werden zwischen Verhalten des Blutzuckers nach Adrenalin und Schwere des Krankheitsfalles, nur reagierten die Patienten desto träger, je kränker sie waren; auch stieg der Blutzucker nicht so schnell und so hoch wie bei normalen: bei einem Diabetiker sank er sogar jedesmal nach Adrenalin ab.

Alveolare CO_2 -Spannung, effektive Alveolarlüftung und toter Raum eines normalen Individuums nach Adrenalin wurden berechnet; danach schien es zweifelhaft, ob der höhere R.Q. nach Adrenalin tatsächlich eine relative Vermehrung der Kohlenhydratoxydation anzeigt.

In allen Versuchen mit Insulin stieg der R.Q. und die Wärmeproduktion, und sank der Blutzucker stark; bisweilen nahm auch der R.Q. in der ersten halben Stunde nach der Insulininjektion etwas ab. Die Änderungen von Pulsfrequenz und Blutdruck waren gering und auseinanderlaufend.

Individuen, die nur wenig von Adrenalin beeinflusst wurden, zeigten Neigung, auf Insulin stark zu reagieren. Nacheinander gegebene Einspritzungen von Insulin und Adrenalin zeigten im Endeffekt auf Respiration, Gaswechsel, Blutzucker und Kreislauf annähernd die Summe der beiden Komponenten.

Raab (470) weist darauf hin, dass ein Verschwinden des Leberglykogens beim gesunden Menschen während der Insulinwirkung nicht wahrscheinlich ist, weil gegen Ende der Insulinwirkung durch Adrenalin ebenso grosse, wenn nicht noch grössere Zuckermengen aus der Leber ausgeschüttet werden können als vor der Insulineinspritzung.

Perlzweig c. s. (458) beobachteten bei gesunden Menschen und Tieren nach Ingestion von 50—100 g Glukose und intravenöser Einspritzung von $3\frac{1}{2}$ Einheiten Insulin, ebenso wie nach $\frac{1}{2}$ ccm Adrenalin 1:1000 subkutan, ein deutliches Absinken des anorganischen Phosphatgehaltes im Blute. Während aber bei Insulin auch das Harnphosphat abnahm, stieg es nach Adrenalin oft beträchtlich an.

Alle diese Angaben, ebenso wie die von Collazo und Händel (143), dass Adrenalin stark die Acidose befördere, beruhen doch wahrscheinlich auf unvollständigen Untersuchungen. Denn bei genauerer Beobachtung zeigte Vollmer (552), dass man bei der Adrenalinwirkung zwei Phasen zu unterscheiden hat: eine erste, welche ausser durch Hyperglykämie gekennzeichnet ist durch Acidose, Kaliumvermehrung und Phosphatabnahme im Blute, vermehrter Säureausscheidung im Harn und Verlangsamung des Gesamtstoffwechsels, und eine zweite, in der, neben Hypoglykämie, gerade eine Alkalose, eine Calciumverarmung und eine Erhöhung des Kalium- und Phosphatgehaltes des Blutes auftritt, unter Abnahme der Säureausscheidung mit dem Harn und

Beschleunigung des Stoffwechsels. Vollmer weist darauf hin (was hier nur untergeordnetes Interesse hat), wie stark die Symptomenreihe der ersten Phase der bei florider Rachitis, die der zweiten Phase der bei manifester Tetanie gleichen.

Auch die chemischen Eigenschaften des Blutzuckers werden von Adrenalin beträchtlich geändert (575, 580), der Anfangspolarimeterwert ist meistens schon höher als der Reduktionswert und nimmt durch kurzdauernde Hydrolyse noch zu: auch hierin besteht eine Parallele zum Diabetes. Die Krystallform des Osazons ist auch nicht identisch mit der des Glukosazons.

Man hat von der Eigenschaft des Adrenalins, der Insulinhypoglykämie entgegen zu wirken, Gebrauch gemacht, um den hypoglykämischen Symptomenkomplex zum Verschwinden zu bringen, wenn dieser bedrohlich wurde. Dies gelingt schnell, aber nur dann, wenn dem Körper genügend Kohlenhydrate zur Verfügung stehen, entweder aus seinen eigenen Reserven, oder, wenn zugleich mit dem Insulin z. B. Glukose verabreicht wird. Ist dies nicht der Fall, dann nützt es gar nichts, oder hat nur einen flüchtigen Erfolg (126, 214, 362, 385, 389, 440).

Andererseits hat man klinisch auch Fälle beobachtet, wo nach Insulin, trotzdem der Blutzuckergehalt nur eine geringe Erniedrigung gezeigt hatte und schon wieder zur Norm zurückgekehrt war, ernste Kollapserscheinungen auftraten. Infusion von Glukose hatte keinen Erfolg, erst Adrenalin gab völlige Erholung (284).

Merkwürdig ist, dass Krastel (339) mit seinen in sehr abweichender Weise hergestellten Pankreaspräparaten gleichfalls die Adrenalinglykosurie bei Kaninchen beträchtlich verringern konnte.

Den kardiovaskulären Antagonismus von Insulin und Adrenalin haben Csépai und Weiss (175) untersucht. Bei hungernden Versuchspersonen war auf dem Höhepunkt der Insulinwirkung die blutdruckerhöhende Wirkung von bestimmten Dosen Adrenalin viel (33—57%) geringer als ohne vorherige Insulinbehandlung. Wurden hingegen den Patienten während des Versuchs Kohlenhydrate verabreicht, dann trat bei einigen Fällen ein Sinken, in anderen aber ein Steigen der Adrenalinempfindlichkeit auf. Es zeigte sich, dass dieser wechselnde Erfolg dem Blutzuckergehalt parallel ging: sank der Blutzucker, dann sank auch die Adrenalinempfindlichkeit; stieg er (bei Kohlenhydratverabreichung), dann stieg auch die Adrenalinempfindlichkeit an. Dieser Zusammenhang zwischen Insulin- und Adrenalinwirkung ist also nur sekundär, via Blutzucker.

In vitro. Adrenalin wirkt nach Bissinger, Lesser und Zipf (81) bei einer vor und während der Adrenalinwirkung mit viel Insulin durchströmter normalen Froschleber genau ebenso stark wie bei einer normalen Leber, d. h. es wird ebensoviel Zucker an die Durchströmungsfüssigkeit abgegeben. Auch beim Zuckerstoffwechsel besteht deshalb nach diesen Autoren kein Antagonismus im engeren Sinne zwischen den beiden Hormonen.

Doch besteht die Möglichkeit, dass hier das Arbeiten mit Lebern von Kaltblütern, welche, wie wir schon früher (S. 29 u. f.) sahen, nur äusserst langsam auf Insulin reagieren, die Autoren irre geführt hat. Denn Griesbach und Holm (284) haben den gleichen Versuch mit Hundelebern gemacht und sahen, dass, wenn man hintereinander Insulin und dann Adrenalin dem Durchströmungsblute zusetzt, die sonst durch Adrenalin regelmässig auftretende Erhöhung des Zuckergehaltes ausbleibt, was nach diesen Autoren darauf hinweist, dass Insulin die Glykogenmobilisierung in der Leberzelle aufhebe bzw. beschränke.

Mit Insulin ist keine Aufhebung der Adrenalinmydriasis am isolierten Froschauge zu erreichen: in dieser Hinsicht besteht also kein Antagonismus (44, 143).

Am isolierten Frosch- und Kaninchenherzen heben grosse Dosen Insulin die Wirkung des Adrenalins auf und bringen es zum Stillstand, ohne es zu töten, denn nachher fängt es wieder an zu schlagen, und der eigentliche Insulineffekt auf die Herzaktion kommt zum Vorschein (335).

An zweiter Stelle ist die gegenseitige Beeinflussung von Insulin und Hypophysenextrakten zu besprechen.

Hypophysenauszüge erhöhen an sich meistens schon den Blutzuckergehalt: setzt man ihnen bei der Einspritzung noch Glukose zu, dann steigt er sogar noch höher an als der Summe der beiden Komponenten entspricht (4). Auch die Hypophyse verringert das Vermögen des Körpers, Zucker zu verbrennen, sei es auch nicht so weitgehend als Adrenalin. Pankreasextrakte hemmen die Hypophyse-Hyperglykämie (5, 88). Doch setzen die Hypophysenpräparate auch an sich schon bisweilen den Blutzuckergehalt herab (119).

Hinterlappenextrakt (119, 397) gleichzeitig mit Insulin subkutan eingespritzt, verringert nach Burn die Blutzuckererniedrigung oder verhindert sie ganz, obwohl der Hypophysenextrakt an sich in gleicher Dosis nicht eine so grosse Blutzuckersteigerung gibt, dass man die genannte Hemmung bloss als eine algebraische Summation auffassen könnte. Dieser Extrakt hebt auch die hypoglykämischen Krämpfe innerhalb 10 Minuten auf, und lässt den Blutzucker wieder schnell ansteigen. Daher hat man ihn auch klinisch empfohlen (214). Die Wirkung hält lange an (397).

In vollkommen gleicher Weise hergestellte Vorderlappenextrakte zeigen keine Spur von der genannten Wirkung (119).

Für die Brauchbarkeit des Hinterlappenextraktes als Mittel, um den Insulineffekt aufzuheben, scheint aber auch die Herstellungsart, sowie die Art der Verabreichung und die Dosis durchschlagend zu sein, denn Sammartino und Liotta konnten keinen Einfluss auf die Krämpfe feststellen (484, 485), bei Verwendung von Pituitrin. Nach Winter und Smith (583) gibt Pituitrin wohl Erholung von den Krämpfen, aber bisweilen ist doch sein Einfluss nur ganz gering. Blutzucker und Blutphosphat verhielten sich dann sehr variabel.

Die Beobachtung, dass bei enthirnten, mit Insulin eingespritzten Katzen

die Hypophyse den Blutzucker hoch hielt (vgl. S. 25), führte Olmsted und Logan (446) dazu, zu untersuchen, ob bei Tieren, denen ausser dem Gehirn auch die Hypophyse genommen war, und die eine normale Blutzuckererniedrigung nach Insulin aufwiesen, Pituitrin imstande war, nach Einspritzung von Insulin, den Blutzucker hoch zu halten. Dies misslang bei subkutaner Einspritzung des Pituitrins vollkommen, obwohl das Präparat in anderer Hinsicht gut wirksam war; bei intravenöser Injektion aber hielt es den Blutzucker hoch, und zeigte sich auch imstande, bei drohendem Insulinkrampf von solchen operierten Tieren den Blutzucker eine Zeitlang zu erhöhen und so die Krämpfe zu verhüten, obwohl die Insulinwirkung länger anhielt.

Merkwürdig ist, dass Hinterlappenextrakt auch die Adrenalin-Hyperglykämie und -Glykosurie hemmt (119).

Burn und Dale (177) betrachten Insulin und Hypophyse-Hinterlappen-Extrakt als vollkommene Antagonisten. Auch in die Wirkung auf Wasser- und Salzausscheidung mit dem Harn bestehe ein derartiger Gegensatz (143).

Dass die wirksamen Bestandteile in solchen Extrakten keine Artefakte sind, sondern tatsächlich auch im lebenden Körper sich vorfinden, wird mehr oder weniger wahrscheinlich gemacht durch die klinische Beobachtung, dass bisweilen bei Krankheiten der Hypophyse eine erhöhte Zuckertoleranz besteht, so dass man abnorm viel davon geben kann, ohne dass Glykosurie oder Hyperglykämie auftreten (177). Dies sieht man speziell bei *Dystrophia adiposogenitalis*, während bei Akromegalie eben schon unter normalen Umständen Glykosurie nichts Ungewöhnliches ist (263).

Die Thyreoidea scheint im lebenden Körper nicht in direkter Relation zu Insulin zu stehen, obwohl klinisch wohl Anomalien des Zuckerstoffwechsels bei Erkrankungen der Schilddrüse auftreten [erhöhte Glukosetoleranz bei Myxödem, erniedrigte bei Morbus Basedowii, Protrusio bulbi bei Diabetikern (263)].

Mit frischen Schilddrüsenextrakten konnten Magenta und Biasotti (397) bei hungernden Hunden keine Spur von einer antagonistischen Wirkung gegen Insulin finden. Auch Burn (119) sah davon bei seinen Versuchstieren nichts, ebensowenig wie Winter und Smith (583). Nach diesen Autoren beseitigt es auch die Krämpfe nicht, ebensowenig wie Thyroxin: eher beeinträchtigt es die Erholung.

Die temperaturerhöhende und erweckende Wirkung von Schilddrüsenpräparaten bei Igel in Winterschlaf wird nach Adler (8) durch Extrakte vom Pankreas anderer winterschlafender Tiere verringert oder vollkommen aufgehoben.

Mit Thyroxin hat auch Bodansky (92, 95) gearbeitet. Er fand, dass bei Schafen gleichzeitige intravenöse Einspritzung von verschiedenen Mengen Thyroxin, zusammen mit 5 Einheiten Insulin, nicht die Schnelligkeit mit der der Blutzucker absinkt, beeinflusst, aber die Erholung verlangsamt, und zwar desto mehr, je grösser die Thyroxindosis. Wurde das Thyroxin vor

dem Insulin injiziert, dann waren die Ergebnisse dieselben; wurde es aber erst gegeben, als das Blutzuckermilieu schon durchlaufen war, dann trat eine deutliche Hyperglykämie (von 0,95 ‰ gegen 0,70 ‰ normal) auf. (Verf. vergisst aber, dass z. B. bei Kaninchen sehr oft nach der negativen Phase schon spontan eine positive folgt, und hat diese nicht experimentell ausgeschlossen.)

Die Glandulae parathyreoideae hingegen scheinen wohl ein wichtiges Produkt zu liefern.

Winter und Smith (582) sahen nach vorheriger intravenöser oder subkutaner Einspritzung von Nebenschilddrüsenextrakt bei Kaninchen schon Krämpfe auftreten, wenn sie ihnen dann noch nur $\frac{1}{3}$ oder $\frac{1}{4}$ der gewöhnlichen Krampfdosis Insulin injizierten.

Parathyreoid allein hatte keinen merkbaren Einfluss auf den Blutzucker-gehalt.

Spritzt man Kaninchen im Insulinkrampfstadium Parathyreoidextrakt ein, dann werden sie schnell steif und sterben innerhalb weniger Minuten.

Bei intravenöser Injektion von Insulin und Parathyreoidextrakt traten sehr schnell Krämpfe auf, schneller als nach subkutaner Einspritzung. Glukose gab völlige Erholung, und zwar schneller, als wenn Insulin allein gegeben war. Auf das Verhältnis Polarimeterwert-Reduktionswert hatte Parathyreoid keinen merkbaren Einfluss.

Bei fünf Diabetikern hat Forrest (243) den Versuch wiederholt. Sie erhielten Parathyreoid per os und Insulin subkutan. Immer wurden bei denselben Patienten Vergleichsversuche ohne Parathyreoid ausgeführt. Es zeigte sich, dass mit Parathyreoid der Blutzucker viel tiefer und viel nachhaltiger absank als nach Insulin allein, obwohl Parathyreoid an sich den Blutzucker nicht zu beeinflussen schien.

Weiter hat dann noch Toenniesen (534) in vitro experimentiert, wobei er zeigen konnte, dass Muskelbrei in Kombination mit Pankreasbrei eine stärkere Acetaldehydbildung zeigte als beiden Komponenten entsprach, während bei Pankreasbrei + Muskelkochsaft die Bildung noch stärker war. Wurde dann aber dem Pankreasbrei + Muskelkochsaft noch Parathyreoidin zugesetzt, dann wurde die Aldehydbildung noch viel mehr erhöht.

Thymusextrakte wirken bei Igeln im Winterschlaf in derselben Weise wie Schilddrüsenextrakte oder Adrenalin, d. h. die Tiere erwachen und ihre Temperatur steigt. Pankreasextrakte hemmen die Wirkung des Thymus-extraktes aber noch stärker als die der beiden anderen Agenzien (8).

Die Hypoglykämie-erzeugende Wirkung von reinem Insulin aber wird von Thymusextrakten gar nicht beeinflusst, ebensowenig wie von Extrakten von Milz oder Gehirn¹⁾.

¹⁾ Uns selbst fiel mit Nehring der verstärkende Einfluss von Lungenextrakten auf.

C. Andere Stoffe.

Zum Schluss wollen wir noch kurz erwähnen, welchen Einfluss Verabreichung der im Körper schon normal anwesenden Salze bei Insulintieren hat. Viele von diesen Versuchen sind von Magenta und Biasotti (398) ausgeführt worden an 24 Stunden hungernden Hunden (für jeden Versuch 4—6 Tiere, Blut aus Vena jugularis, Blutzuckerbestimmung nach Folin und Wu).

KCl, 1 Stunde nach dem Insulin intravenös eingespritzt bei Hunden in Dosen von 1 mg pro Kilo, übt in bezug auf die Blutzuckererniedrigung eine starke antagonistische Wirkung aus (398), welche mit der von Hypophysenextrakt verglichen werden kann.

CaCl₂ wirkt nach Magenta c. s. auf den Blutzucker in Dosen von 1 mg pro Kilo Hund etwas schwächer antagonistisch als KCl (398). Auch Sjollem a und Seekles (498) fanden, dass 120 mg CaCl₂ pro Kilo Kaninchen schon imstande waren die blutzuckersenkende Wirkung von 3 Einheiten Insulin, 600 mg CaCl₂ pro Kilo die von 4½ Einheiten vollständig oder fast vollständig aufzuheben: das CaCl₂ allein übt fast gar keinen Einfluss auf den Blutzuckergehalt aus.

Auch Calciumlactat in äquivalenter Menge hatte den gleichen Erfolg. Nach McPhedran und Banting (460) aber hebt es zwar die hypoglykämischen Krämpfe bei Kaninchen auf, lässt jedoch den Blutzucker unberührt (Dosis nicht mitgeteilt.) Vielleicht hängen diese z. T. strittigen Befunde von Unterschieden der Dosierung ab.

Nach Zondek (592) scheint gleichzeitige Verabreichung von Insulin + Calcium den Sauerstoffbedarf des Diabetikers zu erhöhen, Insulin allein nicht.

Na₂HPO₄ (600 mg pro Kilo Hund) macht die Hypoglykämie intensiver und länger dauernd (398).

Nach Brugsch c. s. (112) schien sekundäres Phosphat eine kurzdauernde Erholung von den Krämpfen zu geben.

Injektion von alkalischen Salzen nützt den Insulintieren nichts (35, 440).

Ausser gegen die schon beschriebenen Agenzien hat Insulin auch einen erniedrigenden Effekt auf die Hyperglykämie, welche sich mit verschiedenen chemischen Stoffen hervorrufen lässt.

So z. B. wenn Tiere mit Äther oder anderen Narkoticis, z. B. Urethan (561), betäubt sind (30, 34, 35, 390, 393, 561), ebenso auch bei Kohlenmonoxyd-Vergiftung (32, 34, 35).

Viel hängt aber von der Tiefe der Narkose ab, denn die Torontoer Forscher (304) erkennen selbst, dass Insulin praktisch ohne jeden Effekt ist auf den Blutzucker von pankreaslosen Tieren in tiefer Äthernarkose. Das bestätigen Mauriac und Aubertin (410) für normale Hunde, während sie angeben, dass dasselbe Insulinpräparat bei mit Äther narkotisierten Kaninchen normal

wirkte. Dasselbe galt, wenn [statt Äther Chloroform verwendet wurde; bei Chloralose-Narkose waren die Resultate sehr wechselnd: bei normalen Hunden wirkte Insulin bisweilen normal, bisweilen gar nicht, bei diabetischen Hunden fast gar nicht, bei Kaninchen bisweilen normal, bisweilen schwach. Die Narkotika wirken also bei Kaninchen weniger störend als bei Hunden.

Bei Hunden (nicht bei Kaninchen) lässt sich auch die Blutzuckererhöhung durch Coffein mit Insulin völlig unterdrücken. Merkwürdigerweise entwickeln sich dann auch die übrigen Coffeinsymptome: die extreme Aufregung, die allerheftigste Hyperpnoe und Salivation nicht; statt dessen sieht man, wenn beide Stoffe zusammen eingespritzt wurden, eine Prostration, keine verschnellte Atmung, keinen Speichelfluss. Das venöse Blut ist bei den Coffeintieren hellrot, dünnflüssig, bei Coffein + Insulin hingegen ist es schwarzrot, klebrig (348). In der entgegengesetzten Richtung hat man diesen Antagonismus auch verwendet in der Weise, dass man durch Insulin hypoglykämisch gewordenen Patienten Kaffee oder Tee verabreicht hat, allerdings mit nur vorübergehendem Erfolg (39).

Die Phlorhizin-Hyperglykämie wird gleichfalls durch Insulin behoben (390), ebenso wie die durch Pikrotoxin (334). Bei der Phlorhizinvergiftung von Kaninchen hat Cori (158) dies bestätigen können: auch sah er die Glykosurie abnehmen bis zu $\frac{1}{6}$ ihres vorherigen Wertes. Demgegenüber vermindert Insulin die N-Exkretion von Tieren in vollständiger Phlorhizinvergiftung nur unwesentlich, beeinflusst also die Bildung von Zucker aus Eiweiss kaum. Colwell (154) hingegen, der mit Hunden arbeitete, sah nach einer Insulininjektion beim phlorhizinvergifteten Tiere die N-Ausscheidung während 8 Stunden deutlich absinken, in zwei anderen Fällen aber nur wenig. Pro Einheit Insulin wurde die ausgeschiedene Zuckermenge verringert um 140, 200 und 80 mg. Der letztgenannte Autor meint, dass die Erscheinungen vielleicht zu erklären seien durch eine erschwerte Ausscheidung infolge toxischer Einwirkung des Insulins auf die Nieren (vgl. v. Creveld S. 52), zusammen vielleicht mit einer geringen Zunahme der Glukose-Oxydation durch das Insulin.

Nach Magenta und Biasotti wirken gegen die Insulinhypoglykämie antagonistisch: Pituitrin, Adrenalin und Morphin; eine flüchtigere Wirkung besitzen Chinin, Coffein, Atropin, Strychnin, Pikrotoxin, während Cocain, Nikotin, Eserin, Pilocarpin und frischer Schilddrüsenextrakt in den verwandten Dosen keinen Einfluss auf den erniedrigten Blutzucker erkennen liessen. Die Autoren meinen, dass im allgemeinen die das Nervensystem reizenden Stoffe eine dem des Insulins entgegengesetzte Wirkung besitzen (397).

Den Antagonismus gegen Morphin haben Stewart und Rogoff (514, 517) näher studiert. Insulin unterdrückt die Morphinhyperglykämie vollkommen, während die anderen Morphinsymptome ungeändert beobachtet

werden können, sowohl bei Kaninchen als bei Katzen; nur waren die Änderungen der Körpertemperatur geringer als mit Morphin allein. Bei nebenierenlosen Katzen war das Versuchsergebnis genau so wie bei normalen Tieren. Bei Katzen gibt Morphin immer schnell Hyperthermie, Insulin im Anfang oft auch, aber kombiniert geben sie immer schnell Hypothermie.

Bei der Insulinbereitung wird man bisweilen gehindert von Spuren Äther (419) oder Ammonsulfat (331), welche, wenn sie einem guten Insulinpräparat beigemischt sind, dessen Wirkung durch ihre eigenen blutzuckererhöhenden Eigenschaften vollständig verdecken können.

Endlich seien noch einige Stoffe erwähnt, die man ähnlich wie die Kohlenhydrate als Gegenmittel gegen die Insulinhypoglykämie hat verwenden wollen.

Mit *razemischem* Natriumlactat, das in der Muskelphysiologie so eine wichtige Rolle spielt, haben bisher nur Noble und Macleod (440) einige wenige vorläufige Versuche angestellt, welche nicht zu eindeutigen Ergebnissen geführt haben.

Äthylalkohol war in einem einzigen Versuch wirkungslos (440).

Auch Glycerin war bei subkutaner Einspritzung bei Kaninchen ohne Erfolg (440).

Per os kann man es aber mit ziemlich gutem Resultat beim Menschen verwenden (39, 126). [Nebenbei sei bemerkt, dass Glycerin sehr stark die Phosphatexkretion mit dem Harn herabsetzt (458)].

V. Bedeutung der Art der Verabreichung des Insulins.

Die physiologischen Ergebnisse, die wir bisher besprochen haben, wurden erhalten bei Tieren und Menschen, denen das Insulin in den meisten Fällen subkutan, in anderen auch intravenös eingespritzt worden war. Qualitative Unterschiede im Endeffekt verursacht dies nicht, aber quantitative sind bei geeigneter Dosierung und genauer Beobachtung doch wohl festzustellen.

Bei intravenöser Injektion werden die verschiedenen Phasen der Insulinwirkung meistens etwas schneller durchlaufen als bei subkutaner (38, 92, 95, 165, 392, 427, 453, 504): die Blutzuckererniedrigung fängt im ersteren Fall fast sofort nach der Einspritzung an, verläuft dann nahezu ebenso steil (165, 167) wie die später einsetzende nach subkutaner Injektion, durchläuft schnell ihr Minimum, das ebenso niedrig liegt wie bei subkutaner Injektion, aber viel kürzer festgehalten wird und steigt dann wieder an. An dieser Stelle müssen wir eine Behauptung zurücknehmen, welche wir in einer früheren Mitteilung (283) publiziert haben. Damals meinten wir auf Grund von fünf Versuchen, wo den Tieren 3 Einheiten Insulin oder mehr intravenös eingespritzt wurden und Krämpfe ausblieben, während diese sich bei den Kontrolltieren wohl zeigten, schliessen zu dürfen, dass offenbar nach intravenöser Injektion keine Krämpfe auftreten, obwohl der Blutzucker in normaler Weise erniedrigt wurde; in

späteren Versuchen haben wir aber solche doch einige Male beobachtet; andererseits hat sich nachher herausgestellt, dass bei relativ reinen Präparaten auch bei subkutaner Einspritzung in einer grossen Prozentzahl der Fälle bei sehr niedrigem Blutzuckergehalt Krämpfe vollständig fehlen, so dass man sich nicht zu wundern braucht, dass dies auch zufällig in einer, immerhin ziemlich kleinen Versuchsreihe bei den intravenös eingespritzten Tieren geschah.

Es bestehen also keine wichtigen Unterschiede zwischen dem Erfolg von subkutaner und dem von intravenöser Injektion, und es hat denn auch eine ganze Reihe von Autoren die letztgenannte Methode bei ihren Versuchen angewandt (37, 57, 92, 93, 95, 141, 209, 234, 236, 238, 267, 289, 407, 451, 452, 484, 516, 532, 561, 592).

Gley (275) war wohl der erste, der bei intravenöser Einverleibung von Pankreasextrakten die Erscheinungen des experimentellen Pankreasdiabetes abnehmen sah, und zwar sowohl bei Einspritzung in die Vena portae als in periphere Venen. Auch Paulesco (451) sah nach Einspritzung von Pankreasextrakt in die Wurzeln der Portalvene seine pankreasdiabetischen Hunde hypoglykämisch und aglykosurisch werden.

Klinisch hat man die intravenöse Verabreichung, zusammen mit Glukoseeinspritzung, empfohlen bei Komafällen, wo aufs schnellste Hilfe geschafft werden soll (335).

Die intramuskuläre Einspritzung kommt in ihrem Effekt mit dem nach subkutaner Injektion überein: die Wirkung ist mehr protrahiert als nach intravenöser Verabreichung (267, 504).

Intrascrotal eingespritzt, sollte nach Fisher Insulin den grösstmöglichen nützlichen Effekt haben (234, 236).

Müller und Corbitt (421, 422) haben bei Kaninchen vergleichende Versuche mit intrakutaner und subkutaner Injektion angestellt und zwar mit denselben Tieren nach einer genügend langen Pause. Bei beiden Gruppen trat die Blutzuckersenkung gleich schnell ein, aber der Erfolg war bei intrakutaner Injektion viel grösser und viel nachhaltender als bei subkutaner, doch schien die Toxizität geringer. Die Quaddel nach intrakutaner Einspritzung ist schon innerhalb einer halben Stunde verschwunden, während die Wirkung viele Stunden länger anhält als nach subkutaner Injektion. Eine verzögerte Resorption allein kann dies also nicht erklären. Ausserdem wird der niedrigste Punkt der Kurve bei beiden Methoden schon nach etwa 2 Stunden erreicht: die intrakutan eingespritzten Tiere bleiben aber viel länger auf diesem niedrigen Niveau. Ob daraus aber folgt, dass die Haut das Vermögen besitzt, die Wirkung des Insulins zu steigern, wie diese Autoren meinen, erscheint uns noch etwas zweifelhaft.

Statt der für Arzt und Patient beiden auf die Dauer äusserst unangenehmen

Einspritzungen hat man auch nach Wegen gesucht, welche gestatten würden, in einfacherer und doch ungefährlicher Weise das Insulin zur Wirkung zu bringen. Es kamen natürlich in erster Linie die verschiedenen Schleimhäute in Betracht.

Auch perkutan hat man eine Insulinwirkung erzielen wollen. Man hat dazu das Insulin zu einer Salbe verarbeitet und so in die Haut eingerieben. Campbell (389) hatte ermutigende Resultate beim Menschen, ebenso Wallgren (555), der bei Kindern 3 bis 15 Einheiten, mit Lanolin gemischt, während einiger Minuten auf die vorher mit Äther gereinigte Brusthaut einreiben liess, und in allen Fällen einen, wenn auch individuell stark wechselnden Erfolg beobachtete. Die Wirkung schien auffällig lange anzuhalten. Das bemerkte auch Telfer (525), der Rohinsulin während 5 Minuten in die rasierte Bauchhaut von Kaninchen einrieb und in 3 von 4 Fällen eine Blutzuckererniedrigung bis 0,51 oder niedriger, in einem Falle Krämpfe erzeugen konnte. Auch wir erhielten deutliche Blutzuckersenkung. Man hat für die perkutane Methode eine grössere Anzahl Einheiten des Insulins nötig, dies braucht aber wahrscheinlich nicht so sorgfältig gereinigt zu sein wie für subkutane oder intravenöse Einspritzung. In letzter Zeit ist es uns gelungen, durch Kombination mit einer Salbenmischung deutliche Insulinwirkung auch beim erwachsenen Menschen zu erzielen. Die Dosen, die etwa das 3—5fache der Menge betragen, die bei subkutaner Einspritzung den Schwellenwert überschreiten liessen, ergaben bei einigen Personen dasselbe Ergebnis nach Einreiben am Unterarm. Ob dasselbe mit weniger reinem Insulin gelingt bzw. mit grossen Dosen, nötig für den Diabetiker, darüber sind noch Versuche im Gange.

Die am meisten vor der Hand liegende Verabreichung per os hat man im Anfang unterlassen, ausgehend von der aprioristischen Auffassung, dass das Insulin als, wie man damals meinte, eiweissartiger Körper wohl von den verdauenden Fermenten des Magendarmtrakts zerstört werde, obwohl in dieser Beziehung damals noch keine genaueren Versuche in vitro vorlagen.

Perlingual, d. h. in die Zunge eingerieben, ist nach Mendel c. s. mit grossen Dosen Insulin z. B. 45 Einheiten für einen gesunden Menschen wohl eine unverkennbare Wirkung zu erreichen (416), auch bei Diabetikern und bei Versuchstieren. Am besten sind die Resultate, wenn man reines, gut lösliches Insulinhydrochlorid, nach der Dudley-Methode hergestellt, in Substanz auf die feuchte Zunge bringt. Die Dosen müssen 2 bis 3mal so gross sein wie bei subkutaner Einspritzung, um den gleichen Erfolg zu erzielen. Doch ist die Wirkung ziemlich ungleichmässig (86, 87). Auch wenn man Insulinpulver zwischen Unterlippe und Zahnfleisch oder unter die Zunge streut, tritt eine, wenn auch ziemlich schwache, Wirkung auf (310).

Per os bzw. per Magensonde, ohne besondere Massnahmen gegeben, übt im allgemeinen Insulin kaum eine Wirkung aus oder ist vollkommen erfolglos (118, 236, 267, 275, 289, 325, 453, 486, 522).

Fisher (236, 238) sah bei einem normalen Hunde nach 700 Einheiten, per Magensonde gegeben, den Blutzucker ansteigen!

Doch scheint eine Verabreichung von Pankreas oder rohen Pankreas-extrakten bei gewissen Diabetikern günstig wirken zu können, sei es nur in grossen Dosen (174, 177, 272, 389, 424).

Gibbs und Murlin (268, 425, 521) sahen bei pankreaslosen Hunden, denen sie Rinderpankreasextrakt, zusammen mit Glukose, in einer Lösung, welche mit NaOH $\frac{1}{20}$ n alkalisch gemacht war, gaben, in allen 4 Versuchen eine unverkennbare Wirkung, bestehend in einem Anstieg des respiratorischen Quotienten, z. B. von 0,721 bis auf 0,959. In späteren Untersuchungen erreichten sie den gleichen Erfolg auch mit neutralen Extrakten (406, 427) und auch Banting und Best hatten in einer ihrer ersten Mitteilungen (30) einen solchen Erfolg (Erniedrigung des Blutzuckers eines diabetischen Hundes von 4,10 bis 2,80%) schon mitgeteilt. Bei diesen Versuchstieren fehlt natürlich auch das externe Pankreassekret.

Klinisch hat man versucht, Insulin in Salol- oder anderen Kapseln zu geben, leider ohne Resultat, vielleicht weil hier das externe Pankreassekret noch anwesend ist (270, 486, 522).

Doch sind neuerdings von Murlin c. s. (429) einige Male, wenn auch nicht konstant, positive Ergebnisse erhalten worden. Setzt man dem Insulin eine schwache organische Säure oder ein saures Salz zu, und umhüllt das Ganze mit einer Kapsel, welche der Magenverdauung mindestens 3 Stunden widersteht, dann können Blutzucker und Harnzucker beträchtlich erniedrigt werden: misslingt es, dann beruht dies wahrscheinlich auf Retention und schliesslich Verdauung im Magen.

Auch hat man konzentriertes Insulin durch Holzkohletabletten aufsaugen lassen und das Ganze mit Salol umgeben: einmal hatte dies Erfolg (521).

Wallis (556) führte seine Extrakte ausschliesslich in Gelatine-kapseln zu und sah dann auch bei seinen Diabetikern Erfolge, die denen bei subkutaner Insulineinspritzung sehr nahe kamen. Auch er erhielt bei jungen Patienten die besten Resultate. Raven (471) hat dies später bestätigt.

Auch in alkoholischer Lösung hat man Insulin gegeben, weil Alkohol schnell resorbiert wird und die Verdauungsfermente mehr oder weniger lähmt.

Bei Kaninchen sahen Winter und Smith (573) gutes, Thatcher (530) hingegen nur zweifelhaftes Resultat; Salén (482) erhielt beim Menschen nur fragliche Wirkung. Wir selbst sahen bei einem Hunde, dem wir Insulin mit Alkohol mittelst Magenschlauch gaben, gar keinen Erfolg. Salén versuchte auch die Magensaftsekretion zu hemmen durch vorherige Atropinverabreichung: in seinem einzigen Versuche sank der Blutzucker nach dem

Insulin dann ab von 1,96 bis auf 1,41⁰/₁₀₀. Dies dann, wie Verf. tut, zu betrachten als einen Beweis, dass jetzt das Insulin wohl resorbiert ist, ist doch ganz unzulässig, denn erstens kommen Schwankungen von dieser Grösse auch spontan vor, zweitens weiss man nicht, was das Atropin getan hat, und drittens gilt es nur einen einzigen Versuch. Dass das Resultat schon bei ein und demselben Individuum sehr stark wechselt, zeigte Harrison (293).

Einwandfrei sind dagegen Saléns klinische Versuche mit Verabreichung von Insulin, in Olivenöl gelöst per os. Hier sank mit 4 Tabletten Insulin-Leo der Blutzuckergehalt z. B. von 1,39 bis auf 0,74⁰/₁₀₀ (482); doch reagierten die Leute individuell sehr verschieden: am besten war der Erfolg bei jungen Patienten und mässig schwerem Diabetes.

Andere Autoren (486, 573) aber hatten mit verschiedenen Lösungsmitteln nur negative Erfolge zu verzeichnen, z. B. mit physiologischer Kochsalzlösung oder mit n/20 NaOH.

Ausser durch den Gebrauch der genannten Kapseln und Lösungsmittel hat man, um den Magensaft zu umgehen, auch das Insulin direkt in den Darm gebracht, entweder mit Hilfe einer Duodenalsonde oder durch eine Darmfistel.

Mit der Duodenalsonde gegeben, war der Erfolg nur zweifelhaft (118, 289), wenn auch vereinzelte günstige Berichte vorliegen (521, 522). Nach Murlin (429) muss man das Insulin zu diesem Zweck auflösen in 0,1 oder 0,2% Salzsäure, und setzt dann am besten noch 5 bis 8% Alkohol zu.

Demgegenüber scheint Einspritzung durch eine Darmfistel ins Darm-lumen im allgemeinen bessere Resultate geliefert zu haben. Fisher (234, 236, 238) sah bei Hunden, denen zuvor eine Thiry-Fistel im Ileum angelegt war, und bei welchen dann 5—10 Tage später das Pankreas weggenommen wurde, nach Verabreichung von Insulin in die Fistel den Blutzucker ziemlich schnell, aber nur während sehr kurzer Zeit absinken. Eine sehr oft wiederholte Applikation ist nötig, um den Blutzucker dauernd bis auf die Norm zu erniedrigen. Wir selbst haben in unserem Laboratorium (de Jongh, Planelles) bei Hunden mit Thiry-Vella-Fistel im Jejunum gesehen, dass mit Insulin, in der gewöhnlichen salzsauren Lösung gegeben, auch bei grossen Dosen kein deutlicher Effekt auftrat. Geschah die Eingabe mit schwer schmelzbarem Fett in Gelatine-kapseln, so erhielt man eine deutliche Herabsetzung des Blutzuckers, etwa der entsprechend, die man bei subkutaner Einspritzung mit $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{5}$ so grosser Menge erhielt.

Die oft kritiklos zitierten Versuche von Hachen und Mills (289) mögen hier nur angeführt werden als abschreckendes Beispiel: diese Autoren arbeiten mit gut genährten, narkotisierten Tieren, denen sie den Bauch öffneten: dann wurde in eine Darmschlinge ein sehr stark zurückgelaufenes Präparat (20 Einheiten gaben erst Krämpfe bei subkutaner Einspritzung bei gut genährten Kaninchen) eingespritzt, die Wunde geschlossen

und die Narkose beendet. Beim Kontrollversuch war der Blutzucker, der zuvor 1,59‰ betrug, 45' nach der Operation noch 3,23‰, nach 1 Std. 15' noch 2,47. Beim Tiere, wo 40 (!) Einheiten eingespritzt waren in den Darm, war nach 1 Std. 20' der Blutzucker 0,92‰. Mit 60 Einheiten (!) war 30' nach der Operation der Blutzucker 1,51‰, nach 1 Std. und 2 Std. 1,82‰; mit 50 Einheiten (!) nach 8' 2,56‰, nach 21' 2,47‰, nach 38' 2,04‰, nach 1 Std. 28' 2,47‰, nach 2 Std. 53' 2,44‰. „This experiment shows that insulin almost immediately curbs the hyperglycemia following ether administration“ (!).

Ein Hund hatte unter Einfluss von Narkose und Adrenalin einen Blutzuckergehalt von 5,20‰; 14' nachdem 50 Einheiten Insulin in den Dünndarm eingespritzt waren betrug er noch 2,93‰, 29' später 4,22‰. „The effects of enterally administered insulin appeared so promptly that one was led to inquire whether this method was even more rapid in its resultant action than subcutaneous or even intravenous administration“ (!).

Weitere Kommentare sind überflüssig.

Auch rektale Applikation hat man versucht, ohne Erfolg (29, 38, 118, 453). Nach Stenström (509) sind es die Darmfermente selbst, und nicht die Darmbakterien, welche das Insulin unwirksam machen bei dieser Verabreichungsart. Doch haben neuerdings Peskind c. s. (258a) positive Resultate erhalten; nach ihrer Erfahrung wird bei Kaninchen Insulin, gelöst in Blut, in Serum, in Hühnereiweiss oder in Wasser, schnell aus dem Enddarm resorbiert und zeigt dann seine charakteristische Wirkung (Blutzucker oft unter 0,45‰ nur selten Krämpfe), welche schnell auftritt, aber anscheinend auch schnell wieder vorübergeht, während meistens auch etwas grössere Dosen nötig sind als bei subkutaner Einspritzung. Dagegen war Insulin, gelöst in physiologischer Kochsalzlösung, bei rektaler Applikation vollkommen wirkungslos. Bei normalen und diabetischen Hunden waren mit all diesen Lösungsmitteln die Ergebnisse negativ. Dass es sich bei den positiven Ergebnissen bei Kaninchen um die antitryptische Wirkung des beigemischten Blutserums handelte, meinten sie experimentell ausschliessen zu können.

Dann hat man noch das Insulin bei Tieren (pankreaslosen Hunden) per vaginam gegeben, und damit einen deutlichen, lange anhaltenden Effekt erreichen können, der durch Verteilung der Dosis in kleineren Portionen noch verbessert werden konnte (234, 236). Auf unsere Anregung sind solche Versuche in einer der hiesigen Universitätskliniken an einer Patientin ohne jeden Erfolg gemacht worden.

Bei intratrachealer Injektion beobachteten wir bei Kaninchen eine ausgezeichnete Wirkung, die der bei subkutaner Einspritzung fast gleichkam (356). Gemeinsam mit Heubner und de Jongh haben wir darum

Versuche mit Inhalation an Gesunden und Diabetikern gemacht, und auch positive Ergebnisse erhalten. Nur sind im Augenblick die hierfür nötigen Mengen wohl durch Unvollkommenheit der Technik sehr gross.

Nur theoretisches Interesse hat die intraperitoneale Injektion. Sie gibt bei Versuchstieren zwar gute und schnelle Resultate (141, 267, 427, 428), zeigt aber öfters nachteilige Folgen (267) und ist ausserdem, wenn nicht genau neutralisiert wird, äusserst schmerzhaft (427).

VI. Bestimmung der Wirkungsstärke.

(Einheiten, Eichung [Standardisierung], Schwellenwert, Konzentrationswirkungskurve.)

Dieses Kapitel war nicht ganz leicht zu schreiben, weil es ein recht buntes Material zu sammeln galt: auf viele — recht interessante — theoretische Fragen, sind bisher nur wenige, exakte, Antworten gegeben, und eine Menge praktisch bedeutsamer Bedürfnisse haben bis jetzt nur vorläufige Auskünfte erfahren. — Wirkliche Ordnung ist noch kaum möglich. Dies wird erst der Fall sein, wenn die Praktiker nicht eher wirklich befriedigt sind, als bis ihren Anforderungen auch streng wissenschaftlich genügt ist. Wir wollen uns darum in der folgenden Darstellung auch etwas an die historische Reihenfolge halten und mit den praktischen Eichungsfragen beginnen, obwohl diese, wie gesagt, nur das Ende theoretisch begründeter Ergebnisse über das Verhältnis von Dosis zur Wirkung sein sollten.

A. Definition der Einheiten.

Bald nach der Entdeckung des Insulins, als man seine kräftige Wirksamkeit bei normalen und diabetischen Tieren kennen gelernt hatte, und sich die Aussicht auch auf Anwendung beim Menschen eröffnete, bemühte man sich, eine Wertbestimmungsmethode auszuarbeiten, um Präparate von wenigstens etwas gleichmässiger Stärke herstellen zu können. Bei der damals noch sehr mangelhaften Reinigung der Präparate und dem Fehlen charakteristischer chemischer Reaktionen war eine solche auf rein physischem oder chemischem Wege vollständig unmöglich, so dass man sich der biologischen Technik zuwenden musste. Hier musste man ein einigermassen konstantes Symptom auffinden, und als solches fiel die Aufmerksamkeit bald auf die Krämpfe; zusammen mit dem dabei meistens bestehenden niedrigen Blutzuckergehalt schienen sie tatsächlich ziemlich gleichmässig von einer bestimmten Dosis an aufzutreten. Als Versuchstier zeigte sich das Kaninchen am besten brauchbar. Die so festgestellte Proportionalität bewährte sich auch im Effekt an pankreasdiabetischen Hunden und Diabetikern.

Anfänglich (Mai 1922) wurde von Banting c. s. (35, 37, 393) als

I. Kanincheneinheit vorgeschlagen: diejenige Menge Insulin, welche bei subkutaner oder intravenöser Einspritzung bei Kaninchen den Blutzucker-gehalt innerhalb 1—3 Stunden um 50% erniedrigt.

Nachher haben sowohl Banting als andere Autoren gemeint, die Definition nach verschiedenen Richtungen hin vervollständigen zu müssen, was leider in der Literatur ausserordentlich verwirrend gewirkt hat. So begegnet man folgenden Definitionen:

Eine Einheit ist:

II. Die Menge Insulin, welche bei normalen Kaninchen innerhalb 2—4 Stunden den Blutzucker-gehalt bis zu 0,45‰ erniedrigt. [Banting und Best c. s. 1923 (33), sog. alte Toronto-Einheit].

III. Die Menge Insulin, welche bei einem seit 18 Stunden hungernden Kaninchen (von 2 kg den Blutzucker-gehalt in 2 Stunden um 0,70‰ erniedrigt, d. h. eine Abnahme von 0,7 mg per 1 ccm Blut hervorbringt. [Murlin c. s. 1923 (137, 138, 139)].

Diese letztgenannten Autoren legen also besonderes Gewicht auf die absolute Blutzuckererniedrigung, die erzeugt wird (138).

Da alle diese Einheiten für die klinische Praxis zu gross waren und zu Unterteilungen zwangen, ging man dazu über, eine kleinere Einheit zu wählen, und zwar:

IV. Die Menge Insulin, welche nötig ist, um bei einem Kaninchen von 1 kg innerhalb 4 Stunden nach der subkutanen Einspritzung Krämpfe zu erzeugen [Sansum c. s. 1923 (486)] (alte Lilly-Einheit).

V. Ein Drittel derjenigen Menge Insulin, welche imstande ist, bei mit Hafer und Heu gefütterten Kaninchen von 2 kg nach 24 stündigem Hungern den Blutzucker-gehalt innerhalb 5 Stunden nach der subkutanen Injektion bis zur Krampfgrenze (0,45‰) zu erniedrigen [Macleod 1924 (392, 557)] (neue Toronto- und Lilly-Einheit¹⁾).

Im Herbst 1923 fiel auf, dass die Einheit der kanadischen und englischen Präparate unbemerkt etwa 40% höher geworden war als die der Lilly-Präparate, welche letztere damals einen grossen Anteil des Bedarfes deckten; im Hinblick auf ihre massalen Eichungsmethoden hatte man Grund anzunehmen, dass ihre Einheiten konstant geblieben waren. Darum haben Anfang 1924 die Lilly-Fabrik und auch die holländische Fabrik Organon brück ihre Präparate auf dieselbe Höhe wie die englisch-kanadischen Präparate gebracht und angegeben 1 (neue) Einheit = 1 frühere + 40%. Die offizielle Einheit der amerikanischen, englischen und holländischen Präparate ist gleich stark und man muss als 1 Einheit (Unit) definieren (353):

VI. $\frac{7}{15}$ derjenigen Menge Insulin, welche imstande ist, bei wenigstens 75% von mit Hafer und Heu gefütterten Kaninchen

¹⁾ Diese Einheit liegt unseren wissenschaftlichen Versuchen zu Grunde.

von 2 kg, welche 24 Stunden gehungert haben, den Blutzucker-gehalt innerhalb 4[—5] Stunden nach der subkutanen Injektion bis zur Krampfgrenze (0,45‰) zu erniedrigen¹⁾.

Obwohl mit diesen 6 verschiedenen Definitionen, von welchen jede mit einer anderen Insulinmenge übereinstimmt, schon reichlich Gelegenheit zu Verwirrung geschaffen war, haben einige Autoren sich nicht gescheut, aus uns nicht erkennbaren Gründen, noch andere Begriffsbestimmungen zu geben. So sollte z. B. eine Einheit sein:

VII. Ein Fünftel der alten Toronto-Einheit [Stewart und Rogoff 1923 (515)], [Fraser 1923 (249)].

VIII. Ein Viertel der Krampfdosis [Davies c. s. 1923 (179)] = 1 „Amerikanische“ Einheit.

IX. Diejenige Menge Insulin, welche bei Kaninchen von 2—2¹/₂ kg, die 24 Stunden gehungert haben, den Blutzucker bis zur Hälfte, d. h. bis zu etwa 0,45‰ erniedrigt [Löwe 1924 (380)].

X. Ein Drittel der Dosis, die Krämpfe macht [Depisch, Högler und Ueberrack (185)].

XI. Endlich die sog. „Kopenhagener Einheit“ [Ahlgren (10)]. Hiermit wird das in den skandinavischen Ländern anscheinend verbreitete „Insulin Leo“ standardisiert.

Darunter ist ⁴/₃ der alten Toronto-Einheit (s. II), d. s. vier neue Toronto-Einheiten (s. V) verstanden.

Krogh und Hagedorn, von denen eine Mitteilung über das Insulin-Leo zum Prospekt dieser Fabrik beiliegt, nennen dies „ungefähr 4 klinische Einheiten“.

Wir könnten noch einige Definitionen mehr angeben, unterlassen dies aber, weil sie so unklar gefasst sind, dass sie keine „Definition“ sind, so z. B. die Chabanier-Einheit (99), und die Einheit von Fønger und Wilson (229), wobei sogar Koma ein Kriterium ist; ferner, wenn derselbe Autor in kurz nacheinander erschienenen Arbeiten einmal als „Einheit“ bezeichnet „diejenige Menge Insulin, die bei einem 2,25 kg-Kaninchen, das 24 Stunden gehungert hat, den Blutzucker nach 4 Stunden auf 0,045‰ herabsetzt“, andermal „diejenige Menge Insulin, die ein 2 kg-Kaninchen in den Zustand der Hypoglykämie mit einem Zuckerspiegel von 0,045‰ im Verlaufe von 2 Stunden bringt“ (109, 112).

Bei allen den genannten Definitionen ist selbstverständliche Voraussetzung, dass man stets die kleinste Menge meint, die die zur Definition benutzte Wirkung noch hervorbringt, und dass jede grössere Menge selbstverständlich mindestens das gleiche tut (s. später „doppelte Krampfgrenze“).

¹⁾ Es ist bemerkenswert, dass Macleod in seiner zusammenfassenden Übersicht über Insulin (Januar 1924 veröffentlicht) noch an der früheren Einheit (s. Nr. V) festhält.

So einfach die pharmakologische Eichung der Präparate auch scheinen möge, um einigermaßen brauchbare Resultate zu bekommen, muss man auf eine Menge von Faktoren achten, und zwar gibt die jetzt gebräuchliche Definition V bzw. VI deren wohl einige an, aber die Erfahrung hat gelehrt, dass man doch noch viel mehr störende Einflüsse vermeiden bzw. auf Konstanz verschiedener Faktoren achten muss.

B. Beachtung verschiedener Faktoren bei der Eichung.

1. Erstens die Nahrung der Kaninchen. In den ersten Versuchen haben Banting und Best normale Tiere ohne besondere Vorbereitung verwendet, aber bald bemerkten sie, dass eine grössere Empfindlichkeit und gleichmässigere Reaktion erreicht werden konnten, wenn die Tiere vorher einige Zeit, z. B. 18—24 Stunden, gehungert hatten (37, 138, 165), „um sie des grössten Teiles ihres Glykogenvorrates zu berauben“. Demgegenüber haben in der letzten Zeit sich wieder Stimmen erhoben, welche das Hungern der Tiere wieder unterlassen wollen (457). Die hungernden Tiere sind zwar empfindlicher gegen die blutzuckersenkende Wirkung des Insulins als gutgenährte, die Krampfanfälle sind hingegen bei der letztgenannten Kategorie viel heftiger (165, 392) und treten schon bei einem Blutzuckergehalt von 0,45‰ auf, während bei den Hungertieren der Blutzucker viel tiefer absinken kann, ehe sich Konvulsionen zeigen (392), speziell wenn grosse Dosen gegeben wurden. Ausserdem erlischt bei den Hungertieren die Insulinwirkung oft rasch, während bei gutgenährten Tieren dieselbe Dosis einen sogar 8 Stunden dauernden Effekt erzeugen kann (469). Dieselbe (kleinere) Dosis Insulin aber, welche beim Hungertiere den Blutzucker nach 2 Stunden z. B. von 1,0‰ auf 0,20‰ sinken lässt und Krämpfe verursacht, erniedrigt ihn beim gefütterten Kaninchen nur kurze Zeit und lässt ihn nach 2 Stunden annähernd wieder auf die Norm zurückgehen (165). Darin lag ja die Ursache um Eichungen nur an Hungertieren vorzunehmen.

Auch kommt vielleicht noch der Fettgehalt der Tiere in Frage (96). Daher haben die Torontoer Forscher immer angegeben, dass es Empfehlung verdiene, die Tiere einige Tage vor dem Versuch auf eine Diät von Hafer und Heu zu setzen (33). Nach Clough bilden auch zerkleinerte Karotten und Hafer, beide in reichlicher Menge, eine brauchbare Kombination (138).

Page (450) hat dies sehr sorgfältig untersucht. Auch er fand, dass Kaninchen, genährt mit Hafer und Heu, viel regelmässiger auf Insulin reagieren als bei Fütterung von Kohl und Heu, und zwar liegt dies seines Erachtens an der Acidität bzw. Alkalität des Futters, in dem Sinne, dass bei basischer Diät (Kohl, Karotten und Heu) die Tiere nach etwa 2 Wochen krank werden, mit ziemlich heftiger Diarrhöe und Gewichtsverlust. Solche Tiere, welche im Blut eine deutliche Alkalose mit sehr hohem CO_2 -Reservebindungsvermögen aufweisen, sind überempfindlich gegen Insulin. Eine Diät mit saurer

Asche (Hafer und Brot) hingegen bringt die Tiere in einen Zustand mässiger Acidose, worin sie gegen Insulin sehr resistent werden.

Dies bestätigten Blatherwick c. s. (84, 85). Kaninchen, gefüttert mit einer kohlenhydratarmen, basischen Kost von Alfalfa-Heu waren empfindlicher gegen Insulin als die, welche eine säurebildende, kohlenhydratreiche Diät von Alfalfa-Heu und zerquetschter Gerste erhalten hatten. Dies beruht ihrer Ansicht nach nicht auf Vermehrung des Glykogenvorrats der Gewebe, denn Tiere beider Kategorien zeigten in der Leber etwa den gleichen Glykogengehalt nach 24stündigem Hungern. Die Diät ist also äusserst wichtig für die Regulierung des Blutzuckerniveaus. (An dieser Stelle möchten wir jedoch daran erinnern, dass Abderhalden (3) seine Ratten eben am empfindlichsten fand bei kohlenhydratreicher Kost.)

Fenger und Wilson (229) empfehlen, den Tieren Brot, Hafer und Heu zu füttern, und ausserdem in den ersten drei Tagen nach der Insulin-einspritzung reichlich grüne Gemüse.

2. Als zweiter Faktor kommt das Gewicht der Tiere in Frage. Leichtere Tiere sollten natürlich empfindlicher sein als schwerere, sind es auch oft, manchmal sieht man aber nach unseren Erfahrungen das Gegenteil; man hat daher arbiträr einen Mittelwert von 2 kg, mit einem Spielraum nach oben und unten von je etwa 200 g angenommen. Grössere Abweichungen vom Mittelwert sind ohne weiteres nicht zu gestatten, auch deshalb, weil, um bei den Tieren denselben Erfolg zu erreichen, die Dosis nicht proportional dem Gewicht, sondern dem Quadrat des Gewichtes sein muss. Wenigstens behauptet Walters (557) dies auf Grund reicher Erfahrungen in der Fabrik Lilly. Mit fast mathematischer Sicherheit brauche z. B. ein Kaninchen von 2 kg 4 mal soviel Insulin, um z. B. den Blutzucker eben zur Krampfgrenze zu erniedrigen, als ein Tier von 1 kg.

Nach Stross und Wiechowski (518) hingegen sei bei Tieren von 1700 bis 2500 g Körpergewicht die Dosis genau proportional dem Körpergewicht zu wählen, um genau denselben Effekt zu bekommen. Auch Fenger und Wilson (229) geben dies an für Tiere von 1 bis 2 kg: die Krampfdosis sei innerhalb dieser Gewichtsgrenzen genau proportional dem Gewicht. Blatherwick c. s. behaupten dasselbe für die intravenöse Injektion (84, 85). Penau und Simonnet (457) aber meinen, dass diese Proportionalität nicht zu streng aufgefasst werden muss.

Clough c. s. (138) empfehlen, die Tiere wenigstens jedesmal nach fünf Eichungen zu wiegen; nach unseren Erfahrungen ist dies zu wenig, da sehr grosse Gewichtsschwankungen vorkommen können. Man muss vor jeder Eichung das Gewicht der Tiere bestimmen.

Tiere von zu geringem oder zu hohem Körpergewicht braucht man aber nicht ohne weiteres zu verwerfen, sondern man kann sie ganz gut zu

den orientierenden Versuchen verwenden, während dann die definitive Eichung mit Tieren von 2 kg erfolgt (277).

Dale scheint in seinen Anforderungen weniger streng, insofern er Kaninchen, die allmählich an Gewicht bis zu 3 kg zunehmen, auch benutzt, aber das Mehrgewicht über 2 kg in einfacher Proportionalität für die Berechnung berücksichtigt.

Aber auch das Alter der Tiere spielt eine Rolle. Denn nach Gonzalez und Carrasco-Formiguera (277) erzeugt eine gleich grosse Insulindosis pro Kilo Tier viel eher Krämpfe bei jungen Kaninchen, als bei älteren Tieren. Auch Sordelli c. s. (504) fanden junge Tiere empfindlicher als ältere; Wiechowski (570) betrachtet wachsende Tiere als unbrauchbar. Nach Blatherwick c. s. kann man sie wohl verwenden, aber nur, wenn ihr Wachstum ungestört weiter geht.

3. Die Temperatur der Aussenwelt, und auch die Jahreszeit haben entschieden einen Einfluss.

Bei Erniedrigung der Aussentemperatur zeigen am nächsten Tage, auch nach unseren eigenen Erfahrungen, die Kaninchen hohe Blutzuckerwerte und Unempfindlichkeit gegen Insulin; bei Steigen der Aussentemperatur sind die Normalwerte sehr niedrig (524), und die Tiere überempfindlich. In der Übergangszeit zwischen Winter und Sommer reagieren sie bisweilen an einem bestimmten Tage so regellos, dass alle Versuche dann ohne weiteres verworfen werden müssen.

Im Sommer sind die Tiere empfindlicher als im Winter, auch wenn man die Stalltemperatur reguliert (395).

Nach Penau und Simonnet (457) sind die Kaninchen, wenn man sie während des Versuchs bei einer Temperatur von 30—35° hält, empfindlicher als bei Zimmertemperatur (18—20°).

Ausführliche Versuche über den Einfluss der Aussentemperatur haben Voegtlin und Dunn (548) an weissen Ratten angestellt (vgl. S. 180).

4. Auch die Kaninchenrasse ist von Einfluss. So hat man z. B. die Erfahrung gemacht, dass ein Insulinpräparat, das in England geeicht wurde, in Indien auf die dort gebrauchten Himalaya-Kaninchen vollständig unwirksam war, und dann, nachdem es wieder nach England zurückgeschickt worden war, dort wieder seine volle Wirksamkeit zeigte (17, 123, 216).

Andererseits soll man aber natürlich etwas vorsichtig sein mit den Berichten über grosse Unterschiede in der Wirksamkeit in verschiedenen Gegenden. So sollen z. B. in den Tropen gewisse englische Präparate ganz unwirksam gewesen sein, von denen der Fabrikant ihre volle Wirksamkeit in England behauptete. Tatsächlich handelte es sich aber um Präparate, die in England wegen ihrer schwachen Wirkung von der kontrollierenden Behörde vom Vertrieb in England ausgeschlossen waren.

5. Die Hautfarbe der Tiere soll auch Bedeutung haben: Albinokaninchen und -Mäuse vertragen ohne Schaden Insulindosen, welche graue oder bunte Tiere schnell töten würden; schwarze Kaninchen und Mäuse sind noch empfindlicher (123). Auch Fenger und Wilson (229) fanden Albinokaninchen unbrauchbar.

Vielleicht erklärt dies auch die obengenannte Unempfindlichkeit der indischen Tiere: nach Cammidge (123) sind dies partielle Albinos mit roten Augen.

6. Doch bestehen noch, auch wenn man alle Regeln berücksichtigt hat, grosse individuelle Unterschiede in der Art, wie eine Reihe von Individuen derselben Art auf dieselbe Dosis eines selben Präparates reagieren, vielleicht beruhend auf individuelle Verschiedenheiten des Kohlenhydratstoffwechsels (36, 37, 45, 182, 395, 504).

Störend wirken auch bestimmte Krankheiten: Coccidiose (450), Diarrhöe, Infektionen (570) bedingen alle eine pathologische Überempfindlichkeit gegen Insulin.

Ebenso dürfen Tiere, welche aus irgendeinem Grunde an Gewicht abgenommen haben, nicht benutzt werden (518).

Auch mag bei weiblichen Tieren vielleicht die Gravidität eine vermehrte oder verringerte Empfindlichkeit bedingen (494).

Der Frage, ob sich nun wirklich dasselbe Tier immer gleich verhält, ist wiederholt nachgegangen worden. Wiechowski ist dieser Meinung, wie wir seiner Diskussionsbemerkung auf dem letzten Kongress für innere Medizin entnahmen; Clough c. s. (138), Wiechowski (518, 570), und auch Dudley (202) meinen, dass ein bestimmtes Tier auf wiederholte Injektionen desselben Präparates recht regelmässig reagiert. Wir selbst konnten uns nicht ganz davon überzeugen, wie aus folgender Tabelle hervorgeht.

Jedes Tier erhielt bei jedem Versuch 2 Einheiten von Präparat 1122.

Kaninchen Nr.	Gewicht in g	Datum	Blutzuckergehalt			
			Vor d. Injekt.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.
46	1480	3. 5. 24	1,09	0,48	0,46	0,45
	1180	14. 5. 24	1,15	0,48	0,34	0,47
	1220	26. 5. 24	1,09	0,57	0,57	1,10
76	1500	1. 5. 24	1,36	—	0,43	0,45
	1580	14. 5. 24	1,32	0,57	0,54	0,56
	1500	26. 5. 24	1,23	0,70	0,56	1,12
77	1550	3. 5. 24	1,03	0,45	0,46	0,57
	1560	14. 5. 24	1,08	0,44	0,34	0,64
	1550	26. 5. 24	1,02	0,64	0,53	0,60

Aus der Tabelle ersieht man, dass bei der ersten Injektion in allen Versuchen die Krampfgrenze erreicht wird, später aber (z. B. beim dritten

Versuch mit Nr. 46) längst nicht mehr, und von völliger Gleichheit auch sonst nicht die Rede sein kann. Dass übrigens alle 3 Tiere mit nur zwei Einheiten öfters die Krampfgrenze erreichen oder ihr Blutzucker sogar darunter absinkt, liegt an ihrem Körpergewicht geringer als 2 kg. Krämpfe hat jedoch keines von ihnen gezeigt.

Andererseits bemerkten wir aber auch nicht, dass zwischen verschiedenen Tieren so grosse Unterschiede bestehen, dass man, wie ebenfalls Wiechowski meint, verschiedene Gruppen in den Tieren unterscheiden kann, in dem Sinn, dass deren Empfindlichkeit etwa von 1—16 variiert, d. h. dass die unempfindliche Gruppe mit dem 16 fachen eines Präparates erst so reagiert wie die empfindliche Gruppe mit dem einfachen.

Auch Dale (mündliche Mitteilung), der über sehr grosse Erfahrung verfügt, konnte derartiges nicht bemerken. Ebenso hat Clough eine wirkliche Unempfindlichkeit gegen Insulin bei normalen Tieren niemals gesehen. Wir können aus einem willkürlich gewählten Abschnitt unserer eigenen Versuche folgende Zusammenstellung geben.

Die Zusammenstellung erstreckt sich über Tiere, welche etwa 6 Wochen im März und April 1924 beobachtet wurden, Tiere, bei denen nur genau geeichte reine Präparate benutzt wurden. Es handelt sich um 233 Versuche. Bei nachträglicher Kontrolle ad hoc ergab sich, dass abnormale Reaktion im ganzen 16mal vorgekommen ist. Wir verstehen als solche, dass Tiere überempfindlich waren, in dem Sinne, dass sie mit 66% oder weniger von einer Krampfgrenzdosis die Krampfgrenze erreichten — bzw. dass sie abnorm unempfindlich waren, wenn sie mit einer Krampfgrenzdosis oder mehr nur eine Blutzuckersenkung bis auf 0,55‰ ergaben.

Es wurde nun weiter mit Hilfe unserer Kartothek, aus der die Geschichte jedes Kaninchens genau zu verfolgen ist, nachgegangen, wie sie sich in der Beobachtungsperiode vorhergehenden bzw. folgenden Zeit verhalten haben, d. i. ob immer normal oder auch bereits anormal. Danach ist die Tabelle ohne weiteres verständlich.

Tabelle.

Gewicht	Farbe	Krampf- grenzdosen	abnorme Reaktion Blutzuck. ‰	Anzahl und Art der Reaktion	
				vor	nach der abnormen Reaktion
u n e m p f i n d l i c h					
2380	grau	1½	0,60	—	2 × normal
2380	braungrau	2	0,97	9 × normal	2 × normal
1670	blaugrau	3	0,60	—	4 × normal
2200	dunkelgrau	2,5	0,70	1 × normal	3 × normal
2430	braungrau	3	0,62	3 × normal	4 × normal
2210	blaugrau	1¼	0,82	—	4 × normal
2040	braunweiss	1¼	1,05	1 × normal	2 × normal
2080	dunkelgrau	1	0,59	1 × normal	5 × normal
1970	schwarz	1	0,63	2 × normal	3 × normal
					1 × zu wenig

Gewicht	Farbe	Krampf- grenzdosen	abnorme Reaktion Blutzuck. ‰	Anzahl und Art der Reaktion	
				vor	nach der abnormen Reaktion
überempfindlich					
2380	grau	2/5	0,36	—	2 × normal
1850	grau	1/2	0,43	—	3 × normal
1980	braunweiss	2/5	Krampf	—	—
2470	schwarz	2/5	0,43	1 × normal	—
2090	dunkelgrau	1/2	0,39	3 × normal	—
2020	schwarz	2/3	Krampf	2 × normal 1 × zu viel	—
1830	grauweiss	3/5	0,44	5 × normal	1 × normal

Aus der Tabelle ersieht man, dass hier die Farbe der Tiere keinen Einfluss erkennen lässt, woran man nach Erfahrungen hinsichtlich der verschiedenen Empfindlichkeit gegen andere Noxen (Phosgenvergiftung) denken könnte (s. a. S. 164). Das Hauptergebnis ist:

1. Bei 233 Versuchen fällt 16 mal eine abnorme Reaktion auf, und zwar wird 9 mal Überempfindlichkeit, 7 mal relative Unempfindlichkeit beobachtet. —

2. Die 9 Tiere, die gelegentlich unempfindlich waren, wurden zusammen 56 mal gebraucht, und trotzdem hat darunter nur ein und dasselbe Tier zweimal im gleichen Sinne abnorm reagiert, sonst aber auch 5 mal normal.

3. Die 7 Tiere, die gelegentlich abnorm überempfindlich waren, wurden zusammen 25 mal gebraucht, und auch dabei hat nur ein und dasselbe Tier 2 mal sich in der gleichen Richtung abnorm verhalten, sonst aber auch noch 2 mal normal.

Das bedeutet, dass, wenn wir bei Eichungen mit demselben Präparat beliebige Kaninchen einspritzen, diese in der Mehrzahl gleichmässig reagieren; nur selten reagieren sie mit einer Dosis, womit bei anderen Kaninchen annähernd die Krampfgrenze erreicht wurde, wenig, bzw. nur selten erzeugen Dosen, die bei der Mehrzahl der Kaninchen den Blutzucker wenig herabsetzen, Krämpfe oder Blutzuckererniedrigung bis zur Krampfgrenze. Wir sehen von den später zu erörternden Erfahrungen (S. 194) mit der sogenannten „doppelten Krampfgrenze“ ab, da diese sicher nichts mit individuellen Unterschieden zu tun hat.

Andererseits werden aber unreine Präparate, wegen ihres verschiedenen Gehaltes an „Antiinsulin“ und ihrer verschieden schnellen Resorbierbarkeit, wobei Insulin und Antiinsulin nicht gleichmässig resorbiert zu werden brauchen, besonders leicht starke individuelle Empfindlichkeitsunterschiede vortäuschen. — Wie gesagt, kommen solche sicher vor, und Aufgabe der Erfahrung ist es, das Ausmass davon festzustellen.

Von einer Möglichkeit, diese aber zu einer Gruppenbildung hinsichtlich

der Empfindlichkeit zu benutzen (518), scheint uns keine Rede. Aus der Tabelle ersehen wir ja, dass dieselben Tiere, die gelegentlich anormal reagierten, dies eben nur gelegentlich taten, und vor oder nach diesem abweichenden Verhalten sich ganz regelmässig betrug. Die abnorme Reaktion hängt also wesentlich von verschiedenen Zuständen desselben Individuums ab und nicht von einer dem Individuum konstanten Eigenschaft, die es grundsätzlich von anderen Individuen unterscheiden lässt. Trotzdem hat es nicht nur aus Spar-samkeitsgründen Vorteile, dieselben Tiere wiederholt zur Eichung zu benutzen, sondern um sie auch besser zu kennen. (Siehe auch weiter unten.)

Doch hat auch dies seine Grenzen, denn nach Macleod und Orr (395), die in solchen Fragen doch wohl eine enorme Erfahrung haben, werden die Tiere, nachdem sie 2 oder 3 Monate für Eichungen verwendet sind, refraktär gegen Insulin und nehmen an Gewicht zu.

Von Bedeutung, weil womöglich die Empfindlichkeit hiervon abhängig, ist das Intervall, das zwischen den Versuchen liegen muss. Als eine Art technischer Frage kommen wir auch darauf weiter unten noch zurück.

C. Die den Definitionen zugrunde liegenden Massstäbe.

Nachdem wir nun die Faktoren, die bei der Eichung eine Rolle spielen, kurz kennen gelernt, wollen wir nochmals zu den verschiedenen Definitionen der Einheit zurückkehren.

Es ist natürlich weniger wichtig und von einem nur praktischen Interesse, wie gross diese Einheit ist (z. B. der Unterschied von Definition V und VI oder VIII und X), dagegen ist von grösster Bedeutung, ob in den verschiedenen Definitionen ein wirklich reproduzierbares Mass enthalten ist. Kann man sich doch ziemlich schnell verständigen, ob wir diesen oder jenen Eisenstab als Längeneinheit benutzen wollen, ob wir nach Elle oder nach Meter rechnen, und schnell kann man die Meterlänge auf die Ellenlänge zurückführen und umgekehrt; aber sehr schwer ist die Verständigung, wenn ich in einem Fall einen nassen Bindfaden und in dem anderen ein Gummiband nehme. Ja auch nur die Ergebnisse, sämtlich gewonnen mit einem Gummiband, sind schwer miteinander zu vergleichen.

Die den biologischen Messmethoden zugrunde liegenden Vergleichsobjekte erinnern aber sehr oft an die letztgenannten „Massbänder“. Den oben genannten 11 Definitionen liegen nun 4 Massstäbe zugrunde. Es werden die kleinsten Mengen angegeben, welche

1. eine bestimmte prozentische Erniedrigung des Anfangsblutzuckers hervorrufen (um 50%, I, IX),
2. diesen um eine absolute Menge erniedrigen (um 0,7 mg pro ccm Blut, III,)
3. Krämpfe hervorrufen (IV, VIII, X),
4. den Blutzucker bis auf ein bestimmtes Niveau (0,45 ‰) erniedrigen (II, V, VI, VII, XI).

1. Gegen das erste Mass wäre zu sagen, dass man eine bestimmte prozentische Herabsetzung von denselben Mengen nur erwarten kann, wenn der Anfangsblutzucker konstant ist. Dies ist aber nach der Mehrzahl der Untersucher nicht der Fall. Am besten sieht man dies aus einer Zusammenstellung von Clough c. s. (138), wobei er den normalen Blutzuckergehalt bei mehr als 1000 Bestimmungen an mehreren 100 Kaninchen, bestimmt nach verschiedenen Methoden, zusammengestellt hat. Wir geben die Tabelle abgekürzt wieder und setzen dazu in den untersten Zeilen unsere eigenen Erfahrungen auch ein.

Blutzuckerniveau normaler (nüchterner) Kaninchen.

	Anzahl Bestimmungen	Anzahl Tiere	Stunden gefastet	Tiefster Blutzucker der Serie (mg)	Höchster Blutzucker der Serie (mg)	Mittel	Blutzucker-Methode
Scott & Ford	85	27	24	68	177	118	Maclean
Univ. Toronto	157	?	wenige	83	154	116	Shaffer-Hartm.
Univ. Rochester	100	100	18	71	143	105	Folin-Wu.
Eigene Versuche Amsterdam	435	435	23	40 ¹⁾	525 ²⁾	138	Folin-Wu.

Blutzuckerniveau zur Eichung von Präparaten gebrauchter Kaninchen.

Toronto	88	88	24	89	180	127	Shaffer-Hartm.
Rochester	764	64	18	63	182	113	Folin-Wu.

Aus der Tabelle ersieht man, dass bei nichtbenutzten Tieren bei den verschiedenen fremden Autoren der mittlere Blutzucker nur in ziemlich engen Grenzen schwankt, zwischen 1,05 und 1,18, dass die äussersten Werte zwischen 0,68 und 1,77‰ liegen, und zwar sind die beiden äussersten Werte von demselben Autor gefunden. Wenn wir auch unsere eigenen Versuche mit in Betracht ziehen, deren Zahl noch erheblich grösser ist als die der drei anderen Untersucher zusammen, dann wird die Schwankung für die mittleren Werte etwas grösser, nämlich von 1,05—1,38. Viel grösser aber sind die Extreme bei uns. Allerdings kommen extreme Zahlen, wie schon bei der Tabelle vermerkt, was die niederen Zahlen betrifft unter 0,80 in knapp 3‰ aller Fälle vor, höhere Werte über 1,80 auch in weniger als 10‰, extreme Werte über 300 in weniger als 1,5‰. Die schon für Insulineichung verwendeten Tiere zeigen ein etwas höheres Mittel, zwischen 1,13 bzw. 1,27, die äussersten Werte liegen aber noch mehr auseinander: zwischen 0,63 und 1,82‰. Bei diesen mehrmals gebrauchten Tieren (bis zu 41 Male) zeigt der Anfangs-

¹⁾ Dieser Wert kam nur einmal vor: unter 50 lagen 2 Werte, unter 60 3, unter 70 8 unter 80 14, d. h. also etwa 3‰. Die Tiere mit den niedrigsten Anfangswerten starben oft während des Versuchs, bisweilen trotz Glukoseinjektion.

²⁾ Ein solcher Wert ist nur einmal vorgekommen, und war der einzige, der über 400 lag. Über 300 kamen aber 6, und über 200 im ganzen 15 vor, über 190 24, über 180 33. Also mehr als 90‰ der Tiere hatten Werte unter 180. Die höchsten Werte sind bei der kolorimetrischen Methode mit grossen Unsicherheiten behaftet.

blutzuckergehalt auch keine Konstanz, wie dies Clough c. s. bei seinen zahlreichen Tieren gefunden hat. Wiechowski (570) findet als Anfangswert bei etwa 100 Tieren $0,96 \pm 0,16\%$.

Aus alledem geht nun hervor, dass der Anfangsblutzuckerwert sehr stark schwanken kann. Gibt man Tieren mit verschieden hohem Blutzucker die gleiche Insulinmenge, so erreichen sie zwar sehr häufig dieselbe absolute Erniedrigung; die prozentige Erniedrigung ist dann aber natürlich sehr verschieden. Benutzt man nun Tiere mit ähnlichem Anfangsblutzuckergehalt, (Clough schlägt vor, nur Tiere mit einem Anfangsblutzuckergehalt von 1,13 mit einer Abweichung von $\pm 0,17$ nach oben und unten zu benutzen), dann ist natürlich eine Beurteilung des Insulins nach der prozentischen Herabsetzung eher möglich. Für die Praxis wird aber dann ohne zureichenden Grund eine ganze Reihe von sonst brauchbaren Tieren ausgeschlossen.

Neuerdings haben Macleod und Orr (395), gleichfalls nur den Blutzucker als Kriterium annehmend, gearbeitet nach der Formel

$$\text{Anzahl „physiologische“ Einheiten pro ccm} = \frac{a}{b} \times \frac{w}{c} \times \frac{1}{2},$$

(= unsere Krampfdosen)

worin **a** = die Differenz zwischen Anfangsblutzucker einerseits und Mittelwert des Blutzuckers nach 1¹/₂, nach 3 und nach 5 Stunden andererseits,

b = die Differenz zwischen Anfangsblutzucker und 0,45 ‰,

w = Gewicht des Tieres,

c = Anzahl ccm eingespritzter Flüssigkeit,

$\frac{1}{2}$ = Faktor, weil die ursprüngliche Methode nur für 2-Kilo-Tiere galt.

Auch in dieser, Sommer 1924 erschienenen, Arbeit betrachtet Macleod die klinische Einheit noch als $\frac{1}{3}$ der physiologischen, so dass dann die Formel wird:

$$\text{Anzahl „klinische“ Einheiten pro ccm} = \frac{a}{b} \times \frac{w}{c} \times 1,5.$$

Ein Versuch, eine Eichung auszuarbeiten, beruhend auf Steilheit und Tiefe der Blutzuckersenkung in der ersten halben Stunde nach intravenöser Einspritzung von sehr kleinen Insulindosen bei durch Hungern und Adrenalin „glykogenfrei“ gemachten Tieren, misslang durch unregelmässiges Reagieren der Kaninchen (395).

2. Nach dem hier unter 1. besprochenen erledigt sich das von Murlin gewünschte Mass (s. Def. III) von selbst, denn eine Abnahme von stets 0,7 mg pro Kubikzentimeter hängt natürlich vom Anfangsblutzucker ab.

3. Was nun das dritte Mass betrifft: die Mengen zu bestimmen, die gerade noch Krämpfe hervorrufen, so haben die Untersucher mit den grössten Erfahrungen dieses Mass aufgegeben [Toronto, Dale, wir, auch Pollak im Laboratorium von H. H. Meyer (465, 466)]. Die Torontoer haben sehr bald

eingesehen, dass man mit gleichen Mengen viel eher einen Blutzucker von 0,45 erhält als Krämpfe, andererseits haben sie beobachtet, gerade in ihren ersten Versuchen, dass bei 0,45‰ oft Krämpfe auftreten. Darum hat man, was natürlich sonst willkürlich wäre, 0,45‰ als Grenze für die Eichung überhaupt benutzt. Warum nun die Krämpfe nicht selber? Die Antwort ergibt sich aus folgendem:

a) Während bei den ursprünglichen Präparaten in einem grossen Prozentsatz der Fälle (35) bei einem Blutzuckergehalt von 0,45‰ wie gesagt Krämpfe auftraten, haben in der letzten Zeit mehrere Untersucher und auch wir selbst gesehen, dass mit fortschreitender Reinigung der Präparate und bei Benutzung von Hungerkaninchen die blutzuckersenkende Wirkung bleibt, aber prozentual viel weniger Krämpfe auftreten, bei bestimmten Präparaten fast überhaupt keine, auch mit relativ hohen Dosen. Am besten ersieht man diese Tatsache aus folgenden Zusammenstellungen. Die erste ist von Clough c. s. gegeben, wobei er alle Fälle zusammenfasst, bei denen in Rochester der Blutzuckergehalt unter 0,45‰ sank (s. Tab.).

Blutzucker ‰	Krämpfe	Keine Krämpfe	Total
0,000—0,005	1 ×	1 ×	2
0,006—0,010	2 ×	0 ×	2
0,011—0,015	9 ×	2 ×	11
0,016—0,020	5 ×	3 ×	8
0,021—0,025	16 ×	7 ×	23
0,026—0,030	12 ×	13 ×	25
0,031—0,035	5 ×	25 ×	30
0,036—0,040	6 ×	33 ×	39
0,041—0,045	2 ×	26 ×	28
Total	58 ×	110 ×	168 ×

Auch Macleod (392) fand, in der letzten Zeit ebenfalls, dass von 335 Kaninchen bei 64 Tieren der Blutzucker innerhalb 5 Stunden deutlich unter 0,40‰ gesunken war, ohne dass Krämpfe auftraten.

Mit am deutlichsten geht wohl aber aus unserem eigenen Material hervor, dass die Krämpfe um so seltener sind, je besser die Präparate.

Wir haben 3000 Versuche, die seit etwa anderthalb Jahren (bis Juni 1924) unter ein und derselben Administration standen, chronologisch genommen und zwar immer je 300 Versuche zusammengefasst und in nebenstehender Tabelle unter folgendem Gesichtspunkt geordnet:

Gruppe S: wie viele von je 300 Tieren Krampfgrenze erreicht haben (d. h. Krämpfe bekommen oder einen Blutzucker, der geringer als 0,45‰).

Gruppe B: wie viele davon ohne Krämpfe waren.

Gruppe K: wie viele davon Krampf hatten. Daraus haben wir den Prozentgehalt $\frac{K \times 100}{S}$ (wie viele von den Tieren, die die Krampfgrenze erreicht hatten, Krampf bekommen hatten) berechnet.

Tabelle.

Gruppe	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
S (Krampfgrenze)	140	164	140	94	139	164	112	109	118	122
davon B (ohne Krämpfe)	5	33	21	14	32	39	33	55	65	72
K (Krämpfe)	135	131	119	80	107	125	79	54	53	50
$\frac{K \times 100}{S}$	96,5	79,8	85,0	82,2	76,8	76,3	70,5	49,6	45,0	41,0

Aus der Tabelle ersehen wir, sprechender als aus irgendetwas anderem, wie der Prozentgehalt der Tiere, die bei der Krampfgrenze Krämpfe bekommen, von etwa 96% im Laufe der Zeit fällt bis auf etwa 40%.

Nach Blatherwick c. s. (84, 85) bekommen Kaninchen, welche schon einmal Krämpfe gehabt haben, auch bei genügend langen Zwischenpausen bei einer folgenden Injektion eher Krämpfe als frische Tiere, die dies erst noch „lernen“ müssen (sie empfehlen daher allen Tieren, bevor man sie zu Eichungen verwendet, zuerst eine sicher krampferzeugende Dosis einzuspritzen). Das stimmt nicht mit unseren eigenen, in obenstehender Tabelle angegebenen Erfahrungen, denn da waren eben alle Tiere aus der ersten und die meisten der zweiten und dritten Gruppe alle frisch, und zeigten in einem hohen Prozentsatz Krämpfe, während die späteren Gruppen zum weitaus grössten Teil aus wiederholt gebrauchten Tieren bestehen.

b) Dass Krampf und Blutzuckererniedrigung nicht unmittelbar aneinander gebunden sind, sieht man aus der Tatsache, dass in seltenen Fällen allerdings Krämpfe auch bei höherem Blutzucker auftreten können (35, 103, 181, 357, 466).

Auch wir selbst haben dies wiederholt beobachtet und fanden dies während des Krampfes bzw. unmittelbar danach allein unter unseren ersten 1000 Versuchen, die wir daraufhin durchgesehen, 82 mal (bei den späteren Versuchen haben wir den Blutzucker nicht mehr bestimmt, wenn Krampf eingetreten war). Dabei war allerdings der Blutzucker sicher öfter vor Auftreten der Krämpfe schon einmal an bzw. unter die Krampfgrenze gesunken; sicher festgestellt haben wir dies 16 mal. Entscheidend bleibt aber, dass es vor allem bei unreinen Präparaten vorkommt, dass Krämpfe auftreten, während der Blutzucker noch weit über 0,45‰ liegt. Meist handelte es sich um Zahlen zwischen 0,55—0,65, wiederholt aber auch von 0,65—0,75; höhere Zahlen über 1,00 kamen nur 4 mal vor.

Ferner wurde selbst das Auffallende beobachtet (165), dass sehr grosse

Dosen vom gleichen Präparat erst Krämpfe erzeugen, wenn der Blutzucker weit die Grenze $0,45\text{‰}$ unterschritten hat, während kleinere Dosen bei dieser Grenze Halt machen und dann oft schon Krämpfe entstehen lassen (vgl. dazu die Mitteilung Wiechowskis (518, 570), dass er bei Krämpfen meistens einen Blutzuckergehalt von nur $0,26 \pm 0,06\text{‰}$ finde). Dies ist ganz besonders für Macleod und Mitarbeiter ein Grund, um das Auftreten oder Wegbleiben von Krämpfen nicht als Kriterium der physiologischen Eichung zu benutzen. Auch wir fanden sehr oft, dass die Krämpfe erst bei erheblich unter der sog. Krampfgrenze liegendem Blutzuckerwert auftraten. Eigentlich das noch paradoxere beobachteten wir auch sowohl bei holländischen, amerikanischen wie englischen Präparaten (257), und zwar, dass mit einer grossen Dosis überhaupt kein Krampf auftritt, mit einer kleinen dagegen wohl.

Gegen diese Auffassungen gaben nun vor kurzem Depisch c. s. (185, 187, 354) bei 300 zur Eichung des Insulin-Chemosan ausgeführten Versuchen folgendes an: nur einmal sei der Blutzucker unter $0,45\text{‰}$ gesunken, ohne dass Krämpfe auftraten.

Wir glauben die Erklärung dieser Tatsache darin zu sehen, dass die Präparate noch relativ unrein waren, ähnlich wie die Präparate zunächst in Amerika und Holland, wo die gleichen Erfahrungen gemacht wurden. Für diese Auffassung sprechen auch die Zahlen, die Depisch c. s. angeben, dass nämlich ihre Präparate für die Krampfgrenze ein hohes Trockengewicht hatten (3—5 mg).

Auch in einer späteren Mitteilung, die jetzt über 532 Eichungen läuft, halten diese Autoren (186) noch an den Krämpfen als Kriterium fest, geben aber zu [was mit den im Vorangehenden mitgeteilten Tatsachen, und auch mit Macleods Meinung (395) stimmt], dass die so festgestellte Einheit viel grösser ist, als wenn man nur die blutzuckererniedrigende Wirkung betrachtet. Sie haben niemals Krämpfe gesehen, ohne dass der Blutzucker in irgendeinem Moment unterhalb des Krampfniveaus abgesunken war. Zur Orientierung begnügen sie sich mit den Krämpfen oder deren Äquivalent, der stärkeren Dösigkeit. Bei der endgültigen Eichung jedoch nehmen sie jedenfalls eine Blutzuckerbestimmung 1 Stunde nach der Einspritzung vor, und ebenfalls bei den Tieren, welche nach 2 Stunden noch keine Krämpfe oder Dösigkeit gezeigt haben. Die Observation dauert im ganzen wenigstens 4 Stunden.

Sie bezeichnen dann als Torontoeinheit jene niedrigste Insulinmenge, bei welcher in mindestens 4 Versuchen bei wenigstens 2 oder 3 Tieren Krämpfe oder schwere Dösigkeit aufgetreten sind und bei den übrigen der Blutzucker bis auf mindestens $0,45\text{‰}$ abgesunken ist. Sie möchten daher auch die Definition der amerikanischen Autoren so aufgefasst wissen, dass als Torontoeinheit jene kleinste Insulinmenge zu bezeichnen ist, bei welcher nicht nur der Blutzucker auf mindestens $0,45\text{‰}$ absinkt, sondern bei $\frac{3}{4}$ der Tiere Krämpfe auftreten müssen.

Wir glauben sicher, dass man im allgemeinen sagen kann, dass bei den aus Säugetierpankreas bereiteten Präparaten, die Wahrscheinlichkeit, Krämpfe zu erzeugen, mit ihrer grösseren Reinheit abnimmt, dass auch im besonderen Krämpfe bei über der Krampfgrenze liegenden Werten bei den unreinen Präparaten und bei solchen, die mit alkalischen Extraktionsmitteln erzeugt sind, am ehesten auftreten.

Die sehr wichtige Frage, ob es Unreinheit als solche ist, die die Krämpfe hervorruft, oder ob dies damit zusammenhängt, dass unreine Präparate langsamer resorbiert werden, und dabei die Chance zur Krampfentwicklung grösser ist, weil die Entwicklung der Blutzuckersenkung sich langsamer vollzieht (392), und die Krämpfe erst auftreten, wenn das Blutzuckerniveau eine gewisse Zeit abnorm niedrig ist, können wir vorläufig nicht entscheiden. Wir selbst neigen mehr dazu, anzunehmen, dass eine Beimischung einer Substanz für die Krämpfe verantwortlich ist, als dieselbe Substanz, welche den Blutzucker senkt; und wir glauben, dass diese Substanz meist nur bei einem niedrigen Blutzucker, der nur das Symptom eines stark abnormalen Zustandes ist, Krämpfe hervorbringen kann. Delezenne c. s. (181) sind entgegengesetzter Meinung. Dass es sich um eine besondere bei verschiedenen Tierstämmen verschieden gebundene Substanz handelt, die Krämpfe verursacht, wenn einmal das Blutzuckerniveau niedrig, dafür könnte folgendes sprechen. Während die Abnahme der Fähigkeit, Krämpfe zu erzeugen, mit der grösseren Reinheit der Präparate aus Säugetierpankreas parallel geht, ist dies nach Macleod (392) nicht der Fall bei aus Rochen hergestelltem Insulin. Solches hat auch in reinem Zustand eine im Verhältnis zu seinem blutzuckersenkenden Einfluss sehr starke Krampfwirkung (392). Man müsste also annehmen, dass die krampfmachende Beimischung in dem Rochenextrakt anders gebunden ist, jedenfalls weniger leicht als beim Säugetierextrakt abzutrennen ist.

Solange wir nicht bestimmt wissen, dass Krämpfe und Blutzuckersenkung beides koordinierte Wirkungen eines reinen Insulins sind, oder dass die Krämpfe nur abhängig sind von der Blutzuckersenkung, also ein Symptom dieser darstellen, sollte man sicher lieber die Blutzuckersenkung zum Massstab nehmen als die Krämpfe [s. a. Pollak (466) und Wiechowski (518)]. Denn wir wollen ja schliesslich Präparate haben, die auch beim Menschen möglichst den Blutzucker beeinflussen, nicht aber etwa Krämpfe machen. Und es wäre möglich, dass wir, nur mit den Krämpfen arbeitend, in den Präparaten die Fähigkeit züchteten, Krämpfe zu erzeugen, an Stelle der, den Blutzucker zu senken.

4. Wenn aus keinen anderen Gründen, dann müssten wir per exclusionem die Blutzuckersenkung bis zu einer gewissen Grenze als Massstab für die Eichung wählen. Wie gesagt, geschieht dies auch bei der Eichung der meist verbreiteten amerikanischen, englischen und holländischen Präparate.

Man nennt also, um dies nochmals zu wiederholen, die Tatsache, dass der Blutzucker von Kaninchen auf $0,45\text{ }^0\text{/}_{\text{00}}$ sinkt, „erreichen der Krampfgrenze“

und die Menge Milligramm Insulin, bzw. Kubikzentimeter der betreffenden Lösung, die das bewirkt „Krampfgrenzdosis“ für ein bestimmtes Kaninchen. Die kleinste Dosis, bei welcher bei 75% der benutzten etwa 2 kg schweren, 20—25 Stunden hungernden Kaninchen innerhalb 4 Stunden die Krampfgrenze erreicht wird oder Krämpfe auftreten, wird als „minimale Krampfgrenzdosis“ oder als „minimale Krampfdose“ oder endlich — in einem eigentlich nicht zu rechtfertigenden Laboratoriumsjargon — oft einfach und kurz als „Krampfgrenze“ bezeichnet.

Es bedeutet also z. B.: 0,4 ccm einer Lösung A, entsprechend 5 g Pankreas, ist die „Krampfgrenze“, dass 0,4 ccm dieser Lösung (oder 1,0 einer 2 $\frac{1}{2}$ so verdünnten Lösung) bei wenigstens 75% der untersuchten Tiere die genannte Blutzuckersenkung oder Krämpfe hervorbringen; in den restierenden 25% der Tiere treten keine Krämpfe auf bzw. ist der Blutzucker höher als 0,45‰. 0,3 ccm der Lösung müssen dann eine schwächere Wirkung haben, in dem Sinne, dass weniger als 75% der Tiere die Krampfgrenze erreichen bzw. Krämpfe haben; und durch 0,5 ccm muss dies bei noch mehr als 75% der Tiere der Fall sein, bei 0,8 bei noch mehr bzw. es müssen relativ noch mehr Krämpfe auftreten. (Siehe später doppelte Krampfgrenze.)

D. Technik der Eichung.

Hinsichtlich des praktischen Vorgehens beschreiben wir kurz die Methode, wie sie bei uns selbst jetzt an vielen tausend Tieren geübt ist.

Man spritzt an Kaninchen, die eine Weile bei konstantem Futter, hauptsächlich Hafer und Heu, gegessen haben und denen 24 Stunden vor dem Versuch das Essen entzogen war, subkutan verschiedene Dosen eines Präparates ein, mit grösseren wie kleineren beginnend, (immer 2 Tiere mit der gleichen Dosis), und bestimmt nach 2 und 4 Stunden den Blutzucker, ausser wenn Krämpfe auftreten. Bei den verschiedenen Präparaten wird die Grenzdosis verschieden schnell, aber bei den reineren fast immer mit recht grosser Sicherheit gefunden. Ein Beispiel macht das Vorgehen am deutlichsten: es seien zunächst 20 Tiere benutzt. Hiervon waren 6 Tiere mit weniger als 1 ccm eingespritzt, von denen 2 die Krampfgrenze erreicht hatten. 14 hatten mehr als 1 ccm erhalten, wobei 4 mal Krämpfe auftraten, und 8 mal die Krampfgrenze erreicht wurde. Die Krampfgrenze liegt also über 1,0 ccm. Im genaueren war die Verteilung so, dass 4 Tiere mit 1,2—1,4 ccm 1 mal Krampf und 1 mal Krampfgrenze zeigten; 4 Tiere mit 1,6—2,0 ccm 1 mal Krampf und 3 mal Krampfgrenze zeigten, und die 6 letzten Tiere mit 2,2—2,6 2 mal Krampf und 3 mal Krampfgrenze zeigten.

Um die Grenze genau festzustellen, wurden noch 8 Tiere eingespritzt, und zwar 4 mit 1,6 und 4 mit 1,8 ccm. Es wird 7 mal die Krampfgrenze erreicht, also wird für die Krampfgrenzdosis angenommen 1,8 ccm.

Die Injektion unter „peinlichster Asepsis“ vorzunehmen (518), scheint uns eine überflüssige Komplikation.

Wie gesagt, darf man auf Grund vieltausendfacher Erfahrung überzeugt sein, dass bei Benutzung von genügenden Tieren — es gehören nach unserer Ansicht bei manchen Präparaten 50 und mehr dazu, nach den Angaben der Fabrik Lilly werden dort 100 und mehr gebraucht — mit einer Sicherheit die Grenzdosis festgestellt werden kann, als dies nur bei irgend einem anderen biologischen Präparat möglich ist.

Eichungen durch Vergleich mit Standardpräparaten.

Trotzdem stellt diese Eichungsmethode kein Ideal dar. Nach Ansicht mancher ist es besser, weil man so den individuellen Faktor sehr verringert, wenn man bei jeder Eichung jedesmal dieselben Tiere erst mit einem Standardpräparat injiziert und nach einigen Tagen mit dem zu prüfenden, bzw. in umgekehrter Reihenfolge. So scheint es Wiechowski (518) zu tun (Diskussionsbemerkung beim letzten Kongress für innere Medizin) und auch Dale benutzt ein ähnliches Verfahren zum Nachprüfen bereits geeichter Präparate. Nach mündlicher Mitteilung geschieht auf diese Weise die dem Medical Research Committee anvertraute Kontrolle der in England vertriebenen Präparate.

Von 6 Kaninchen, die sehr oft wiederverbraucht werden, erhalten zunächst je 3 (Gruppe A) die Krampfgrenzdosierung eines bekannten Präparates k und die 3 anderen (Gruppe B) die vom Fabrikant angegebene Krampfdosis des Präparates x . Es wird jede Stunde im ganzen bis zur 5. nach der Einspritzung der Blutzucker bestimmt. Nach 4—5 Tagen wird der Versuch wiederholt, nur erhält jetzt Gruppe A das Präparat x und Gruppe B Präparat k . Es werden alle Blutzucker-Stundenwerte erhalten mit dem bekannten Präparat k (S^k) und alle mit dem zu prüfenden Präparat x (S^x) zusammengezählt und durcheinander geteilt. Der Wert S^k/S^x darf nicht mehr als etwa 10% von 1 abweichen, soll das Präparat x zugelassen werden. In Ergänzung zu früher besprochenem sei erwähnt, dass auch Dale nur selten Krämpfe beobachtet, die dann diese Berechnungen stören.

Die Methode ist im Grunde ähnlich wie eine sozusagen Integralmethode, wie sie schon Banting (36, 37) vorgeschlagen. Er wollte als Mass für die Wirkung einer bestimmten Insulindosis eine Fläche nehmen, deren Grösse und Form von der Blutzuckerkurve abhängt. Man bestimmt vor der Injektion, und dann z. B. jede Stunde den Blutzucker, bis dieser wieder die Anfangshöhe erreicht hat, trägt die Zeiten als Abszissen, die Blutzuckerwerte als Ordinaten auf. Die gegen die Abszissenachse konvexe Blutzuckerkurve und die gerade, zur Abszissenachse parallele Verbindungslinie des Anfangs- und Endpunktes der Kurve umschliessen die genannte Fläche. Im speziellen soll man aus der Fläche schliessen können, wieviel KH durch die entsprechende Insulindosis vom Diabetiker umgesetzt werden können (s. a. später).

Auf die Dale-Methode zurückkommend, die ja zu Nacheichungszwecken gebraucht wird, während dies bei der Bantingschen Flächenmethode nicht der Fall war, ist zu sagen, dass sie uns sehr wohl brauchbar erscheint, sofern die zu prüfenden Präparate nur quantitativ voneinander verschieden sind. Sind sie aber qualitativ auch voneinander abweichend, so ist die Brauchbarkeit sehr zweifelhaft. Dass solche Abweichungen nicht vorkommen, kann man vorläufig wohl nur bei gewissen Präparaten, die durch ein und dieselbe stets scharf eingehaltene Fabrikationsmethode eingestellt sind, erwarten, nicht aber bei Präparaten, hergestellt durch verschiedene Verfahren. Denn der Vergleich scheint uns nur dann etwas zu liefern, wenn die Blutzuckersenkungen sich ganz gleichmässig vollziehen, die Blutzucker-

kurven einen sehr ähnlichen Verlauf haben. Denn durch Summierung so vieler Zahlen (für das Standardpräparat wie für die zu prüfenden werden beim Gebrauch von 6 Kaninchen je $6 \times 5 = 30$ Werte zusammengezählt) kann eine Gleichheit entstehen, obwohl die Präparate recht verschieden wirksam sind. Ist eines z. B. praktisch „schlecht“, in dem Sinne, dass es nur eine Blutzuckersenkung bis auf 0,60‰ hervorruft, dafür aber diese Senkung relativ lange unterhält, so wird die Summe der Blutzuckerwerte gleich sein der Summe, die sich bei einem anderen „guten“ Präparat ergibt, das nach 2 Stunden bereits die Grenzen und dann nach 4 Stunden schon wieder den Ausgangswert erreichen lässt.

Unzweifelhaft liegt aber in der Idee, für die Prüfung Vergleichspräparate heranzuziehen, die immer wieder die Tiere einzustellen ermöglicht, sehr wertvolles. Schon vor mehr als einem Jahre wollte unseres Wissens das Torontoer Komitee ein solches Standardpräparat für die Institute, die sich mit Eichungen befassen, ausgeben, und augenblicklich ist wieder Dale, wie er uns mitteilte, beschäftigt, ein möglichst gutes und haltbares Präparat in fester Form darzustellen, das von der Völkerbundskommission, die sich die Standardisierung von Arzneimitteln angelegen sein lässt, zur Ausgabe gelangen soll. Wie gesagt, wäre es sehr wertvoll, solche Präparate zu besitzen, obwohl dies beim Insulin nicht so absolut nötig erscheint, wie z. B. für die Prüfung von Hypophysenpräparaten; denn bei diesen missen wir eigentlich jedes absolute Mass und sind nur auf den Vergleich der Wirkung mit einem anderen Präparat angewiesen, beim Insulin können wir jedoch durch die Einstellung auf die bestimmte Blutzuckergrenze viel erreichen.

Freilich — und damit beginnt erst die wahre crux — erreichen? Wir können erreichen, ein Präparat zu haben, das beim Tier, genau genommen nur beim Kaninchen, unter den und den Bedingungen gehalten, diesen Effekt erzielt. Erreicht soll aber werden, Präparate zu erhalten, die am Menschen, und zwar am kranken, etwas Bestimmtes leisten. Bevor wir darauf eingehen, wollen wir erst noch einige mehr technische Fragen der Eichung am Kaninchen besprechen, dann noch die Versuche, andere Arten von gesunden Tieren zur Standardisierung zu benutzen und endlich noch eine prinzipiell andere Gruppe von Eichungsverfahren, nämlich die Wertigkeit von Insulin zu bestimmen durch seine Fähigkeit, ein gestörtes Gleichgewicht wiederherzustellen.

E. Einzelnes zur Technik der üblichen Eichung am Kaninchen.

Hier seien zunächst kurz einige zum Teil technische Fragen hinsichtlich der Kanincheneichung erwähnt.

- a) Wie muss der Blutzucker bestimmt werden?
- b) Wann und wie oft soll man dies tun?
- c) Wie ist das Blut zu entnehmen?
- d) Wie oft und in welchen Zwischenräumen darf man die Tiere benutzen?

e) Wie kann man die Schädigung durch Insulin für die Lebensdauer am kleinsten halten?

a) Was die Blutzuckermethode betrifft, so sehen wir alle neueren Verfahren benutzt, ohne dass Gründe wären, um einem bestimmten den Vorzug zu geben (33, 137). Mit uns haben viele Untersucher das Verfahren von Folin und Wu benutzt; sein Nachteil ist, dass man ziemlich grosse Mengen Blut (1,0 ccm) nötig hat, obwohl einige auch mit 0,4 ccm noch recht befriedigende Resultate erhalten haben. Wir waren mit den Bestimmungen an kleinen Blutmengen nicht so zufrieden. Oft ist auch das Verfahren von Benedict benutzt worden, ferner das von Shaffer-Hartmann; auch die ursprüngliche Methode von Bang ist häufig gebraucht worden. Grosse Vorteile scheint uns diesem gegenüber die Modifikation von Jensen und Hagedorn zu besitzen. Wir haben jetzt auch schon viele 100 Bestimmungen damit durchgeführt, und wenn wir zwar auch noch nicht die Fertigkeit erreicht haben, um 18 Bestimmungen in einer Stunde zu machen, so doch schon eine ganze Reihe (60 pro 8^h eines Laboranten), und zwar mit recht grosser Genauigkeit bei Benutzung von nur drei Tropfen Blut. Je weniger Blut, um so schneller die Blutentnahme, und um so schonender für das Tier. Wie oben erwähnt (siehe den trägen Kreislauf S. 38 u. f.) dauert es bei grösseren Mengen recht lange, sie zu erhalten; und so lange Ohren das Kaninchen auch hat, am Ende ist das Mass doch voll, und man findet, je grössere Verletzungen man hat machen müssen, keine Stelle mehr zur Blutentnahme.

b) Wann und wie oft muss man Blut entnehmen? Zu Eichungszwecken scheint es uns und den meisten anderen genügend, wenn 2 und 4 Stunden nach der Injektion untersucht wird. Den Anfangsblutzucker zu bestimmen ist im allgemeinen auch nicht mehr nötig, da wie oben auseinandergesetzt, die endgültige Senkung bis zur Krampfgrenze in weiten Grenzen unabhängig von diesem ist. Wir können noch folgende Zahlen als Beleg anführen:

Tabelle.

Kaninchen	Präparat	Menge	Blutzucker							Krämpfe
			Anfang	nach		nach		nach		nach
Nr. 55	20/21	2 ccm	1,95	47'	1,13	1 ^h 32'	0,59	2 ^h 17'	0,49	3 ^h 7'
56	"	1 ccm	1,46	55'	0,69	1 ^h 40'	0,49	2 ^h 25'	0,30	3 ^h 5'
66	102/104	1 ccm	5,25	1 ^h 21'	1,25	3 ^h 11'	0,54	—	—	Ø
69	"	1 ccm	1,55	55'	0,73	1 ^h 50'	0,65	—	—	3 ^h 5'
154	43/44	2 ccm	2,59	1 ^h 32'	0,61	—	—	—	—	4 ^h 17'
153	"	3 ccm	1,30	1 ^h 24'	0,54	2 ^h 29'	0,44	—	—	2 ^h 7'
437	237	1,1 ccm	3,18	1 ^h 58'	0,50	4 ^h 15'	1,13	—	—	Ø
438	"	2,2 ccm	1,23	2 ^h 7'	0,74	4 ^h 13'	0,89	—	—	Ø

Vor allem, wenn man mit denselben Tieren öfters arbeitet, verliert die Bestimmung des Anfangsblutzuckers noch mehr an Bedeutung. Trotzdem ist es richtig, von Zeit zu Zeit zur Kontrolle der Tiere diese Anfangsbestimmung zu tun.

Statt nach 2 und 4 Stunden haben McCormick, Macleod c. s. (165) nach 1 $\frac{1}{2}$ und 3 Stunden die Entnahme empfohlen. Je resorbierbarer die Präparate werden, um so mehr ist etwas für diese kürzeren Zeiten zu sagen. Eine einzige Bestimmung genügt aber nicht (167), weil ja der Verlauf und die Dauer der Blutzuckersenkung keineswegs bei allen Präparaten identisch ist.

c) Auch die Art der Blutentnahme hat verschiedene Untersucher beschäftigt. Ob man vorher mit Xylol abreibt oder nicht, scheint kaum Unterschied zu machen. Man wird ohne Xylol auszukommen suchen, solange es nicht nötig ist, weil es die Ohren doch auf die Dauer zu reizen scheint.

Wenn man 1 ccm nötig hat, ist das Auffangen in einer Schale mit Kaliumoxalat-Krystallen erforderlich. Clough (138) hat ausführlich beschrieben und ist auch warm dafür eingetreten, die ganze Blutentnahme aseptisch vorzunehmen. Hat man eine grosse Zahl Tiere zu beobachten zur Standardisierung und wissenschaftlichen Zwecken (bei uns sind es fast täglich 24) dann ist dies schwer durchführbar und schliesslich auch nicht nötig; denn an septischen Infektionen haben wir kaum ein Tier verloren.

d) Die Frage wie oft und in welchen Abständen man dasselbe Tier benutzen kann, ist auch aus ökonomischen Gründen sehr wichtig. Wir glauben, dass es zum Teil mit der Art der Präparate zusammenhängt, die man ausprobieren will. Je reiner sie sind, um so häufiger und in um so kürzeren Abständen scheint man das Tier benutzen zu können. Bis 41 mal, wie dies Clough c. s. (138) angibt oder gar 83 mal, wie Pucher c. s. (469) ist uns nicht geglückt. — Die Jahreszeiten scheinen auch das Widerstandsvermögen der Tiere zu beeinflussen. Dale benutzt die Tiere alle 4—5 Tage, wir haben als Grenze 7 Tage genommen, Wiechowski (518, 570) ist für noch grössere Zeiten. Fenger und Wilson (229) sagen, dass, wenn man die Tiere mehr als zweimal pro Monat benutzt, die Resultate sehr irreführend werden können. Clough c. s. halten einen Zwischenraum von zwei Tagen für genügend bei Tieren ohne Krämpfe, von einigen Tagen bei Tieren mit Krämpfen. Ist der Abstand zu kurz, so sinkt der Anfangsblutzucker und nach Clough (138) stirbt das Tier, wenn ihm jeden Tag hintereinander Insulin gegeben wird, ziemlich rasch. Wie bei solchen Versuchen, respektive ob hierbei, die Tiere vor der Insulineinspritzung stets gehungert haben, ist uns nicht deutlich. Pucher c. s. (469) bemerkt dagegen nach 83 Tagen keine Schädigung oder Abnahme der Toleranz. Macleod (392) sah insofern eine Abnahme der Empfindlichkeit als die Krämpfe schwächer werden, je öfter die Tiere eingespritzt sind. Von einer Zunahme der Empfindlichkeit von wiederholt benutzten Tieren

hat man nichts gesehen, und wir glauben, dass Löwe (382) kaum berechtigt war, eine solche auf Grund von ganz wenigen Versuchen zu erörtern.

e) Die Lebensdauer der gebrauchten Tiere, die wir ja schon erwähnt haben, ist ausser von den Intervallen abhängig, wie schon kurz erwähnt, von der Art des benutzten Insulins, wenigstens scheint uns wenn die Tiere nicht nur zu Standardisierungszwecken mit reinstem Insulin sondern auch aus wissenschaftlichen Gründen mit Vorfraktionen behandelt sind, die Gefährdung noch viel grösser. Sehr wichtig, auch beim reinsten Insulin, ist die schnelle Zufuhr von Zucker, wenn die Tiere Krämpfe gehabt haben. Man muss sogleich mit Glukoselösung, am besten 10—20 ccm 20%ige Lösung subkutan einspritzen. Dies aseptisch zu tun, ist sicher von Vorteil. Die Einspritzung muss aber mehrfach wiederholt werden, auch dann, wenn die Tiere wieder ganz normal scheinen und fressen. Von Clough c. s. (138) wird vorgeschlagen, auch wenn die Tiere keine Krämpfe gezeigt haben, 50 ccm 20%ige Glukose mittels Magensonde zu geben.

Recht häufig treten Verluste während der Nacht auf, und diese sind wohl zum Teil auf Hypoglykämie zurückzuführen, wenn die Tiere im Schlafe nicht mehr fressen. Abgesehen hiervon kommt es aber sehr auf die allgemeine Pflege der Tiere an und damit letzten Endes auf den Stalldiener. Im National Institute for Medical Research in London werden die Tiere trotz häufigster Benutzung, wie uns Dale sagt, allmählich schwerer, so dass sie darum, wenn sie auf 3 Kilo gekommen sind, ausgeschlossen werden müssen. Bei uns nahmen sie zu Zeiten oft sehr stark ab und starben. Dass sie trocken und nicht in zu grossen Mengen beieinander gehalten werden, scheint eine ziemliche Rolle zu spielen, und dies war z. B. bei uns wegen der grossen Zahl der Versuchstiere nicht immer durchführbar.

Soviel über das Technische. Schon aus dem letztgenannten kann man ableiten, dass die Standardisierung am Kaninchen ziemlich kostspielig ist, und schon aus diesem Grunde, abgesehen von wissenschaftlichen Erwägungen, die Eichung womöglich auf eine breitere Basis zu stellen, hat man versucht, andere Tiere zur Eichung zu benutzen.

F. Versuche, Kaninchen durch andere Tiere zu ersetzen.

Am meisten hat man dies mit weissen Mäusen versucht. Ohne besondere Massnahmen sind Mäuse aber vollkommen unbrauchbar, wegen ihrer grossen individuellen Verschiedenheit und ihrer allgemeinen Unempfindlichkeit bei Zimmertemperatur. So hört man zwar von verschiedenen Forschern, welche versucht haben, eine Mäuseeichung auszuarbeiten (185, 393), aber es liegt nur eine einzige etwas ausführlichere Mitteilung von Fraser (249) vor. Er benutzt Tiere von 18 Gramm, die erst sehr reichlich mit Rüben und Hafer gefüttert wurden und dann 24 Stunden hungerten. Spritzt man Insulin ein, dann sollen die Tiere sehr empfindlich sein, und die Resultate gut stimmen.

Nach einer genügend langen Pause kann man dasselbe Tier wieder benutzen. Vor der Injektion muss man sich überzeugen, dass die Tiere gesund sind und keine Zeichen von Schwäche zeigen. Das Insulin wird intraperitoneal eingespritzt, gelöst in $\frac{1}{4}$ ccm und eventuell verdünnt mit Pufferlösung nach Evans von $p_{H} = 6,8$. Der Injektion folgt eine Latenzperiode von 20 Minuten, dann treten entweder Parese und Ataxie oder Konvulsionen auf. Werden jetzt 0,25 ccm einer 15%igen Dextroselösung in 0,9% NaCl intraperitoneal gegeben, dann muss die Maus nach 5 Minuten wieder normal sein. Man soll die Tiere 2 Stunden lang beobachten. Die kleinste Dosis, bei der hypoglykämische Erscheinungen auftreten, wird als Minimaldosis bezeichnet. Jede Insulinverdünnung wird mindestens 3 Tieren gegeben.

Eine Minimaldosis von 0,0025 ccm Insulin an der Maus entspricht einer Lösung, welche eine Kaninchenkrampfdosis pro ccm enthält.

Depisch c. s. (185) fanden bei weissen Mäusen, welche ein Gewicht von 30—40 g hatten und 8—10 Stunden hungerten, als Krampfdosis etwa $\frac{1}{30}$ — $\frac{1}{50}$ einer Kaninchenkrampfdosis, also 10 mal soviel.

Krogh (393) hat, ebenso wie wir selbst (283) gesehen, dass bei Zimmertemperatur die Mäuse höchstens etwas Schwäche zeigen, während ihre Temperatur sehr tief abfällt. Hält man die Tiere aber im Brutschrank bei 28°, dann erscheinen die charakteristischen Insulinsymptome. Er findet als Krampfdosis, pro Gramm Körpergewicht berechnet, etwa ein Fünftel der für Kaninchen nötigen Menge, und definiert als Mäuseeinheit diejenige Menge Insulin, welche bei 50% der Tiere innerhalb 2 Stunden Krämpfe gibt, vorausgesetzt, dass man dafür sorgt, dass die Körpertemperatur während des Versuchs konstant gehalten wird, und zuvor eine bestimmte Diät gegeben wurde.

Wie man sieht, laufen die Ergebnisse noch so weit auseinander, dass von einer brauchbaren Methode noch gar keine Rede ist; verhält sich doch die Krampfdosis für Mäuse gefunden von Fraser zu der von Depisch zu der von Krogh wie 1:10:?

Ausserdem reagiert ein bestimmtes Individuum inkonstant auf dieselbe Insulindosis (518).

Mit weissen Ratten haben nur Voegtlin und Dunn (548, 549) gearbeitet. Zu diesem Zweck haben sie eine Standardrasse gezogen, und bei diesen Tieren die minimale tödliche Dosis bestimmt. Wie die Autoren selbst zugeben, können dabei eventuelle toxische Beimengungen eine grosse Rolle spielen, so dass die Methode nur Wert haben kann, wenn man annehmen darf, dass die Fabrik die moderneren Reinigungsverfahren genügend durchführt. Die Ratten erhalten eine Standarddiät, was für das Erreichen der nötigen Gleichmässigkeit äusserst wichtig ist. Sobald sie 100—110 g wiegen, werden sie zum Versuch benutzt. Nach 18 Stunden Hungern werden sie gewogen und mit verschiedenen Dosen eingespritzt. Als bald bemerkten die Autoren, dass an kalten und an heissen Tagen der Erfolg ganz verschieden war. Je höher die Tem-

peratur, je kleiner der Prozentsatz der spät sterbenden Tiere wurde. Im ganzen dehnen sich die Versuche auf über 270 Tiere aus. Auch die typischen Symptome erscheinen bei höherer Temperatur (28—30° C) eher.

Doch geben die genannten Autoren selbst zu, dass die Methode bis jetzt noch nicht genügend in Einzelheiten ausgearbeitet ist, um für Eichungszwecke brauchbar zu sein. Uns ist bei vergleichenden Versuchen über den Einfluss der Nahrung hinsichtlich der Insulinempfindlichkeit an bunten Ratten, die wir nach dem Vorbild von *Abderhalden* angestellt haben, die enorme Unempfindlichkeit aufgefallen. 7 Einheiten, also etwa $2\frac{1}{3}$ der für ein Kaninchen von 2 kg nötigen Krampfdosis hatten öfter überhaupt keine Wirkung, (d. i. bei einer Ratte, die etwa $\frac{1}{8}$ vom Kaninchen wiegt, eine etwa 18 mal so grosse Dosis) und erst 21 Einheiten (also die 54fache Dosis pro Gewichtseinheit) machte die Tiere komatös und erzielte krampfhaftige Bewegungen; jedoch war manchmal mit 3 Einheiten auch schon Temperaturabfall zu erzielen.

Einen Versuch, bei normalen Hunden eine Eichungsmethode auszuarbeiten, haben *Desgrez c. s.* (189) unternommen, weil sie vor allem arterielles Blut benutzen wollten, das hier leichter als bei Kaninchen zu erhalten ist. Die Resultate waren aber nicht besser als bei anderen Tierarten, auch hier bewirkte eine gleiche Dosis pro Kilo Körpergewicht bei verschiedenen Individuen einen verschiedenen Erfolg; beim selben Tier war der Erfolg verschiedener Dosen nicht den Dosen proportional (auch mit *Lilly-Insulin*). Das Erscheinen oder Ausbleiben von hypoglykämischen Symptomen ist unsicher: die Dosis hat einigen Einfluss; die Symptome erscheinen nicht immer im Moment der tiefsten Blutzuckererniedrigung. Es besteht eine optimale Dosierung, verschieden für jedes Individuum.

Später scheinen sie doch bessere Resultate erhalten zu haben (192), denn sie erklären, dass Insulinpulver eine normale Aktivität besitzt, wenn 5 mg davon pro Kilo Hund bei einem Tiere von 10—12 kg den Blutzuckergehalt um 40—50% absinken lässt. Dann ist die gewöhnliche Dosis beim Menschen etwa 400—500 mg; (dies ist etwa 1000 bis 100 mal so viel als bei reinen Präparaten der Fall ist!)

Meerschweinchen sind unbrauchbar, weil bei ihnen die individuellen Schwankungen noch grösser sind als bei Kaninchen (45).

G. Eichungen nach dem Prinzip: Störungen auszugleichen.

Bei all den bisher genannten Verfahren ist man grundsätzlich davon ausgegangen, die Änderung zu bestimmen, die Insulin an gesunden unter möglichst konstanter Verhältnissen stehenden Individuen hervorbringt. Auf einem anderen Prinzip beruhen die folgenden Methoden, wobei man durch einen bestimmten Eingriff (auch Eingabe eines Stoffes) eine Veränderung des Blutzuckers hervorruft und nun trachtet, diese wieder durch Insulin zu beseitigen (120).

Erstens hat man mit pankreasdiabetischen Hunden gearbeitet.

Allan (14, 387) hat an zwei Huuden, denen das Pankreas vollständig exstirpiert war, versucht, ein Glukoseäquivalent (s. S. 184) für das Insulin festzustellen. Das gelang ihm aber nicht, denn das Äquivalent änderte sich mit der verabreichten Dosis Insulin und mit der Menge Kohlenhydrate in der Nahrung.

Wenn die Kohlenhydratzufuhr konstant ist, wird das Glukoseäquivalent pro Einheit doch progressiv kleiner, je höher die Dosis steigt. Wenn die Insulindosis konstant ist, steigt das Äquivalent pro Einheit progressiv, je mehr Kohlenhydrate man zuführt, bis zu einer gewissen Grenze: erst darüber bleibt es konstant.

Diese Tatsachen, mit denen man auch in der Klinik rechnen müssen wird, komplizieren die Eichung dermassen, dass Allan sie vorläufig noch als praktisch unbrauchbar betrachtet.

Auch Banting c. s. (37) sind zum selben Schluss gekommen und haben die Methode verlassen, ebenso Murlins Mitarbeiter Clough c. s. (138). Doch meint Macleod (389, 393), dass Hunde gleichmässiger reagieren als Menschen, da die individuellen Verschiedenheiten geringer seien und auch Thiroloix (531) glaubt noch an die praktische Brauchbarkeit der Methode.

Nach Penau und Simonnet (457) gehen sogar die Resultate bei pankreaslosen Hunden und die bei Kaninchen vollkommen parallel. Die Hunde sind nach der Operation mit Insulin und einer geeigneten Diät vollkommen gut zu halten. Man kann bei ihnen monatelang zweimal tags eine Herzpunktion machen ohne Schaden.

Die Zahlen aber, welche diese Autoren anführen als Beweis für die Brauchbarkeit der pankreaslosen Hunde (456) sind keineswegs überzeugend (s. auch weiter unten: Glukose-Insulingleichgewicht und „Glukoseäquivalent“).

Ferner hat man den Gegensatz von Adrenalin- und Insulinwirkung zur Eichung herangezogen. Hier bedingt aber der Unterschied in der Dauer der Wirkung von beiden Stoffen eine neue Verwicklung (5, 6), denn die Adrenalinwirkung ist im allgemeinen viel kürzer.

Banting c. s. (34) hofften, bei Kaninchen in dieser Weise Eichungen ausführen zu können, und Eadie und Macleod (209) haben dann die Methode weiter ausgearbeitet. Kaninchen von genau 2 kg hungerten während 24 Stunden (während genügend Wasser zu ihrer Verfügung stand). Dann wurde ihnen Blut entnommen und Insulin subkutan in der Lumbalgegend eingespritzt. Nach 1 $\frac{1}{4}$ Stunde, wenn der Insulineffekt maximal war, wurde zum zweitenmal Blut entnommen und dann sogleich 1 ccm Epinephrin eingespritzt. Darauf wurde der Blutzucker wieder bestimmt nach $\frac{1}{2}$, nach 1 und nach 2 Stunden (Methode Shaffer-Hartmann). Die Tiere erhielten 0,3 bis 2 Krampfdosen Insulin. Es liess sich empirisch die Formel ableiten: $d \cdot (r)^a = K$, worin $a = 0,62$; $K = 10^{1,08}$; $r =$ Erhöhung des Blutzuckers in Milligramm pro 100 ccm nach 2 Stunden; $d =$ Anzahl Krampfdosen pro Kilo Tier. Wenn Versuchsergebnisse weit von der Formel abweichen, kommt dies

durch „biological variation“. Um dies auszuschalten, braucht man also ebensoviele Tiere wie bei der gewöhnlichen Eichung, obwohl vielleicht durch intravenöse Einspritzung diese Variabilität zu beschränken wäre.

Für die Periode von 1 Stunde kann man dieselbe Formel, mit anderen Konstanten, auch noch verwenden, wenn auch weniger gut; für die Periode von $\frac{1}{2}$ Stunde variieren die Resultate aber so stark, dass eine ähnliche Formel vollkommen unbrauchbar ist.

Schon Zülzer hat vor vielen Jahren die Adrenalinmethode zur Eichung seiner Präparate verwendet, und tut dies jetzt noch (593).

Im allgemeinen darf man aber doch wohl sagen, dass anscheinend auch diese Methode keine Vorteile vor der gebräuchlichen Eichung bringt, und so hat sie in der Praxis auch nirgends Eingang gefunden.

Bodansky (92) hat seinerzeit über Versuche berichtet, den Antagonismus Thyroxin-Insulin für die Wertbestimmung zu verwenden. Weitere Mitteilungen sind aber unseres Wissens nicht darüber erschienen.

Ringer (474) hatte vorgeschlagen, Phlorhizin-Hunde für die Eichung zu verwenden, in der Weise, dass man die Stärke des Insulins direkt ausdrückt in der Anzahl Gramm mehr verbrauchter Glukose. Aber auch von dieser Methode hat man nichts mehr vernommen.

Dann kommen schliesslich noch die Versuche, wo man ein Gleichgewicht zwischen von aussen zugeführter Glukose und Insulin herzustellen bestrebt war. Mit einiger Erfahrung gelingt es, die Dosierung von beiden so zu wählen, dass die Blutzuckerkurve nahezu horizontal verläuft (323).

Eadie und Macleod (209) haben sich eingehend mit der Methode beschäftigt. Trotz der grossen individuellen Variabilität konnten sie feststellen, dass (bei Kaninchen) Insulin die Dauer der Glukose-Hyperglykämie am deutlichsten beeinflusst, wenn es gleichzeitig mit der Glukose eingespritzt wird; die Höhe der Blutzuckerkurve hingegen wird am stärksten beeinflusst, wenn man den Zucker 1– $1\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Insulin gibt. Für Eichungszwecke wäre dann die maximale Menge Glukose festzustellen, welche subkutan eingespritzt werden kann, ohne die Blutzuckerkurve zu erhöhen, oder, für praktische Zwecke, die Höhe und die Dauer der Blutzuckererhöhung, welche nach Injektion einer bestimmten Menge Glukose auftritt; dazu wäre dann $\frac{1}{2}$ und 1 Stunde nach der Glukoseeinspritzung der Blutzucker zu bestimmen. Als eine Einheit wäre dann zu betrachten diejenige Menge Insulin, die imstande ist, eine Erhöhung des Blutzuckers bis über das normale Niveau von 1,15‰ innerhalb $1\frac{1}{2}$ Stunden nach der subkutanen Injektion von 2 g Glukose pro Kilo Körpergewicht zu verhindern, wenn das Insulin 1 Stunde vor der Glukose subkutan eingespritzt wurde.

Weiter ist die Methode aber nicht ausgearbeitet worden (393), weil die vorläufigen Resultate ziemlich schlecht waren.

Für die Methode: Bouckaert-Stricker (104) siehe unten: Glukoseäquivalent.

Zusammenfassend wird man sagen müssen, dass alle diese zuletzt genannten Methoden, welche den hypoglykämischen Einfluss des Insulins benutzen, um eine vorher erzeugte Hyperglykämie auf ein bestimmtes Mass zurückzubringen, bisher noch weniger leisten als die zunächst behandelten einfacheren Methoden; hierbei galt ja als Mass der Insulinwirkung die Grösse der Abweichung vom normalen Zuckerspiegel.

A priori war das auch nicht anders zu erwarten; denn alle die Schwierigkeiten, die sich bei den letzten Methoden finden (individuelle Unterschiede), werden in gewissem Sinne verdoppelt, wenn man nun noch mit einem zweiten Agens zu tun hat, das erst den Normalstand in bestimmter Weise verändern soll.

Anhang: Glukoseäquivalent.

Bei der zuletzt erwähnten Methode (393) hat man sich also bestrebt, den entgegengesetzt wirkenden Einfluss von Insulin und Glukose auf den Blutzucker zu einer Eichung zu benutzen. Man hat dies damals vorläufig aufgegeben, weil die Regelmässigkeiten nicht ausreichend waren. Umgekehrt hat man nun namentlich von klinischer Seite immer wieder gesucht, ob man nicht für jede anderweitig definierte Einheit Insulin eine bestimmte Menge Kohlenhydrate oder Glukose angeben könnte, die vom Diabetiker mehr benutzt werden können, ohne dass sie im Urin erscheinen. Das „Glukoseäquivalent“ für 1 Einheit Insulin sollte 1—2 g KH (449) oder 2—2 $\frac{1}{2}$ g KH (126) sein. Je mehr und genauer untersucht wurde, um so mehr zeigte sich aber, dass dasselbe Präparat bei dem einen Diabetiker viel mehr Kohlenhydrate festzulegen imstande ist als beim andern (36, 37, 126, 387, 393).

Nach Macleod (389) variiert das Glukoseäquivalent auch für dieselben Patienten und ist abhängig von ihrer Glukosebilanz, wobei sogar von Eiweiss und von Kohlenhydraten stammende Glukose wahrscheinlich nicht gleichzusetzen ist (387).

Doch hat Allan seine Versuche in dieser Richtung an pankreaslosen Hunden noch nicht aufgegeben. Bei seiner Bearbeitung der Frage zeigte sich aber, dass das Äquivalent kleiner wurde, je mehr Insulin verabreicht wurde. Doch kann man, wenn man Glukoseäquivalente einerseits, Anzahl Einheiten Insulin andererseits auf zwei senkrechte Achsen angibt und durch eine Kurve die Punkte vereinigt, diese Kurve benutzen zum Bestimmen des Glukoseäquivalents einer unbekanntem Probe. Die Abnahme des Glukoseäquivalents bei höherer Dosierung beruhe nicht hauptsächlich auf vermehrter Ausscheidung, denn bei konstanter Insulindosierung und wechselnden Kohlenhydratmengen sieht man das Äquivalent mit Steigen der Kohlenhydratmengen zunehmen (15). In ingenieuser Weise haben Bouckaert und Stricker (104) wenigstens einen

der Faktoren konstant gemacht. Durch ununterbrochene Glukoseinfusion bewirkten sie eine sehr gleichmässige, bis 12 Stunden dauernde Hyperglykämie. Setzten sie dann der Glukose noch Insulin zu, dann zeigte sich, dass 4 g Glukose + $2\frac{1}{2}$ Einheit Insulin pro Kilo pro Stunde den Blutzucker nach 2 Stunden erhöhte um 77 bis 120^o/_o, 4 g Glukose + 3 Einheiten Insulin hingegen ihn erniedrigten um 20^o/_o, und nach einigen Stunden zu einem hypoglykämischen Anfall führten. Also würde das Glukoseäquivalent von 1 Einheit Insulin 1,33 bis 1,6 g Glukose betragen, ein Wert, der stark abweicht von dem von Allan berechneten (3 bis 20 g), aber ziemlich genau übereinstimmt mit den klinisch festgestellten Zahlen (1,45 Wilder und Boothby, 1 bis 1,5 Woodyatt). Auch für Eichung betrachten die genannten Autoren diese Methode als brauchbar, weil die individuellen Verschiedenheiten ihrer Ansicht nach verschwinden, und man normale Tiere verwendet.

H. Übertragung der Eichung auf den Menschen.

a) Beziehung von Dosis und Wirkung. Schwellenwert, Konzentrationswirkungskurve.

Die Frage der Eichung ist zwar von hohem wissenschaftlichen Werte, und doch haben sich so viele, und hat man sich vor allem so intensiv in der kurzen Zeit schon damit beschäftigt, weil diese Frage von eminentem praktischen Interesse ist, weil es sich um ein Heilmittel und ein zunächst — sit venia verbo — recht teureres handelte.

Stillschweigende Voraussetzung war nun aber, dass, wenn man eine Einheit gab (gleichgültig wie gross sie nun zunächst war), man den doppelten Effekt erwarten durfte, wenn man zwei gab usw.

Wie steht es nun eigentlich mit der Beziehung von Dosis und Wirkung?

Durch die Eichung wird festgestellt, dass die als Einheit definierte Menge Insulin pro Kilogramm Kaninchen eine bestimmte Wirkung hervorruft. Für das praktische Arbeiten mit dieser Einheit, im besonderen dann auch für die Übertragung auf den Menschen muss nun erst genauer die Feststellung folgen: welche Wirkung haben Teile bzw. das mehrfache solcher Einheiten?

Unser naives Denken — und wir glauben, die meisten Mediziner folgen diesem recht gerne — hält solche Frage eigentlich für überflüssig, weil die Antwort ja selbstverständlich: wenn man mit 1 Einheit das erreicht, dann wird man mit 2 Einheiten doppelt so viel erreichen. Hält man diese Lösung nicht für so selbstverständlich, so bekommt man meist etwas unwillig zu hören: nun ja, natürlich gilt dies in gewissen Grenzen.

Genauer festzustellen wäre also: innerhalb welcher Grenzen gilt ohne

weitere Voraussetzung die lineare Beziehung? Richtiger und voraussetzungsloser aber ist, einfach zu fragen: welche Beziehung besteht überhaupt zwischen Dosis und Wirkung?

Sogleich entsteht dann aber die schon oben skizzierte Schwierigkeit; wir können die Dosis in Gramm, in Kubikzentimeter, nach unserer Definition in Einheiten messen, woran nun aber die Wirkung? Genauere Überlegung zeigt dann, dass es ein allgemein gültiges Mass für Wirkung nicht gibt, und dass völlig abhängig von dem gewählten Mass auch die gesuchte Beziehung zwischen Dosis und Wirkung ist.

Benutzen wir z. B. die oben erwähnte von Macleod c. s. zu einer Standardisierung als vielleicht brauchbar gedachte Beziehung von Insulin zu Glukose und wissen, dass eine bestimmte Menge Insulin eine Erhöhung des Blutzuckers über 1,15‰ nach Einspritzung von 2 g Glukose verhindern kann, dann scheint die Annahme möglich, dass die doppelte Menge Insulin den Einfluss von 4 g Glukose verhindern könne, also eine lineare Funktion besteht.

Benutzen wir den Grad der Blutzuckersenkung, dann ergibt sich sofort das Absurde, eine solche lineare Beziehung zu erwarten und annehmen zu wollen: weil die Dosis a den Blutzucker von 0,9 auf 0,45‰ senkt, wird die Dosis $2a$ ihn bis auf 0 senken.

Wir werden also nicht allgemein die Frage stellen dürfen: wie nimmt die Wirkung des Insulins mit zunehmender Dosis zu? sondern ganz gesondert: wie nimmt diese ganz bestimmte Wirkung bei diesem Tiere unter diesen Umständen zu? Es ist uns aufgefallen, dass bei der Riesenliteratur diese Fragen nur relativ wenig behandelt sind.

Um sie unter den Pharmakologen bekanntere — leider auch noch immer nicht allgemein genug angewandte — Begriffe zu bringen, können wir sagen: es sind die Konzentrations-Wirkungs-Kurve — richtiger Kurven — und der Schwellenwert — richtiger Schwellenwerte — des Insulins zu besprechen.

Es ist nicht ohne Absicht, dass wir diese scheinbar so theoretische Auseinandersetzung in das praktisch wichtige Kapitel der Eichung setzen und noch im besonderen in den dem Menschen gewidmeten Abschnitt. Wir haben nämlich den Eindruck, wenn auch in der Praxis schärfer mit diesen Begriffen gearbeitet würde, könnten viele Missgriffe und Missverständnisse vermieden werden, und die Diskussion über Wert und Unwert von Präparaten und therapeutischen Massnahmen käme auf ein höheres Niveau.

Wie gesagt, ist über diese beiden Begriffe, was das Insulin betrifft, fast nirgends gesprochen. Macleod erwähnt in seiner ausgezeichneten, so oft zitierten Zusammenstellung (392) etwas auf die Konzentrationswirkungskurve (CWK) bezüglichen nur zweimal mit je zwei Zeilen. Er sagt, es ist auffallend, dass die Steilheit des Abfalles des Blutzuckers unabhängig von

der Menge des Insulins ist (und des Ernährungszustandes des Tieres); und ferner, dass die Beziehung zwischen Dosen und Wirkungsstärke mit der von Adrenalin im allgemeinen übereinstimme. Er weist dabei auf eine neuere Untersuchung von Murray Lion, 1923, hin, in der die CWK. von Adrenalin behandelt wird.

Dabei hat Macleod, in Gemeinschaft mit Mc Cormick, Noble und O'Brien, bestimmte Probleme, die hiermit zusammenhängen, behandelt, wie wir auch unten erwähnen werden. Aber wir haben den Eindruck, als ob die Fragen noch nicht scharf genug formuliert sind. Wir haben auch eigene Versuche zu ihrer Lösung unternommen.

Dass die Bestimmung des Schwellenwertes mit der Konzentrationswirkungskurve, im Verfolg CWK. genannt, verknüpft ist, ergibt sich ohne weiteres. Denn der Schwellenwert bezeichnet ja nur die Dosis, bei der sich die Kurve über die Abszissenachse erhebt, wenn auf dieser immer die Dosen, auf der Ordinate die Wirkungen angegeben werden.

Nach dem oben Erörterten ist es aber falsch, im allgemeinen von einem Schwellenwert zu sprechen, und ebensowenig ist angängig, von einer CWK. schlechthin zu reden, und gar einer solchen, der die Arzneien im allgemeinen folgen (392). Es ist vielmehr die Wirkung zu bezeichnen, die in Abhängigkeit von der Konzentration gebracht wird. An und für sich stehen hierfür eine übergrosse Zahl von Wirkungen zur Verfügung. Es ist nur Frage des Interesses und der Zweckmässigkeit, welche Wirkung man gerade ins Auge fasst. Meist sind diese recht komplex und oft nur die Resultante von verschiedenen einzelnen Wirkungen. Denken wir z. B. an den schon mehrfach zitierten Einfluss des Insulins auf die KH-Verbrennung und erhalten wir als Ausdruck der Beziehung von Dosis zur KH-Ausnutzung eine gerade Linie, dann ist dies natürlich nur scheinbar so einfach. Die gerade Linie ist die Resultante von einer ganzen Reihe von Kurven, die den Beziehungen von Dosis zu irgend einer einzelnen Wirkung entsprechen, die zusammen mit anderen den Komplex „KH-Verbrennung“ ergeben.

Man muss nun ferner genau feststellen, wie gross die Wirkungsveränderungen sind, die noch ausserhalb der Fehlergrenzen der Methodik liegen, ferner ob gerade die diese überschreitende Grösse nun das Mass darstellt, womit man die Wirkung verfolgt oder ein vielfaches davon usw. Bisher sind, wie gesagt, nur Anfänge zu solchen Untersuchungen gemacht. Man ist bisher nachgegangen:

1. dem Verhältnis von Dosis zur Fähigkeit des Körpers KH zu benutzen
 - a) beim diabetischen Individuum (Mensch wie Hund), so dass z. B. KH nicht mehr im Harn erscheint;
 - b) beim normalen Tiere, so dass die KH keine Hyperglykämie erzeugen;

2. dem Verhältnis der Dosis zum Einfluss auf den Blutzucker und zwar
- a) in bezug auf den Grad der Senkung,
 - b) in bezug auf den zeitlichen Verlauf. Zu diesem gehört:
 - α) wann beginnt die Senkung?
 - β) mit welcher Geschwindigkeit verläuft sie bis zum Minimum (Steilheit)?
 - γ) wie lange dauert sie?

Für alle die genannten Verhältnisse bestehen andere Beziehungen. Wahrscheinlich auch hinsichtlich des Punktes 2 ganz verschiedene, ob beim gesunden oder diabetischen Individuum untersucht.

Vermutlich ist die Beziehung angenähert linear für die unter 1 genannten Beziehungen, wahrscheinlich parabolisch für die unter 2 genannten. Über die ersten haben wir schon gesprochen. Die zweiten wollen wir etwas ausführlich behandeln, und zunächst die Ergebnisse über den Schwellenwert hinsichtlich der Blutzuckersenkung mitteilen.

Als „Schwellenwertdosis“ oder kurz als „Schwellenwert“ bezeichnen wir diejenige Menge Insulin, die beim nüchternen Individuum (etwa 15 Stunden beim Menschen, etwa 24 Stunden beim Kaninchen seit der letzten Nahrungsaufnahme) den Anfangsblutzucker innerhalb 2 Stunden nach intravenöser oder subkutaner Einspritzung deutlich stärker absinken lässt, als es normalerweise geschieht (nämlich allein durch weiteres zweistündiges Hungern, bzw. durch dieses in Kombination mit einer indifferenten Einspritzung). Wir meinen, dass eine Abnahme um 0,10‰, d. h. um 0,1 mg pro ccm Blut als Mittel von wenigstens zwei Bestimmungen beim gesunden Individuum ausserhalb der erwähnten Fehlerquelle liegt; beim diabetischen ist wohl eine grössere Abnahme als 0,10‰ zu verlangen.

Der Schwellenwert liegt dann beim Kaninchen zwischen $\frac{1}{10}$ und $\frac{4}{10}$ Einheit.

Beim gesunden Menschen scheint er zwischen $\frac{1}{2}$ —2 Einheiten zu sein.

Wie gesagt, halten wir die Versuche noch für keineswegs abgeschlossen, denn wir haben bisher erst mit 8 Versuchspersonen im Alter von 22—44 Jahren, alle Mitarbeiter an unserem Institut, gearbeitet. Bei derselben Versuchsperson scheint der Schwellenwert einigermaßen konstant, zwischen den verschiedenen dagegen, wie gesagt, um 400% zu wechseln. Vermutlich sind aber die Variationen noch viel grösser. Sicher ist dies bei Diabetikern der Fall. Denn bei jeder Insulinbehandlung wird ja den Ärzten angeraten, erst zu sehen, wieviel Insulin man geben muss, um eine „sichere“ Wirkung zu bekommen, festgestellt durch Kontrolle des Blutzuckers. Meist hat man dabei wohl im Auge gehabt, sogleich eine stärkere als nur eine Schwellenwertwirkung zu erreichen, also z. B. eine Herabsetzung von 2,50‰ auf 2,0 oder dergl.

Nach dem, was wir aber sogleich kennen lernen werden, ist anzunehmen,

dass die hierfür nötigen Dosen oft garnicht erheblich grösser als gerade die Schwellenwertdosis sein müssen. Jedenfalls weiss man, dass sehr viele Diabetiker erst mit 10, ja mit 20 und mehr Einheiten eine Reaktion zeigen. Eine wirklich genaue Schwellenwertbestimmung wäre praktisch recht wichtig und würde viele Enttäuschungen und Reklamationen vermeiden lassen [siehe auch unsere Auseinandersetzung (351, 352) mit Löwe]. Denn ein therapeutischer Vorteil ist erst von den Dosen ab kenntlich, die über dem Schwellenwert liegen. Ist dieser z. B. 9 Einheiten, und wir geben einem Patienten 10 Einheiten, dann kommt eine Einheit zur Wirkung; geben wir ihm dann 15 Einheiten, dann kommen 6 Einheiten zur Wirkung und diese kann dann unter Umständen viel stärker sein als etwa dem Verhältnis 10:15 entspricht. Und so entstehen die Klagen von der „unregelmässigen“ bzw. „ungleichmässigen“ Wirkung eines Präparates, das man von ein und derselben Firma bezogen, oder der „viel besseren“ Wirkung des Insulins von der Firma B, wenn die 15 Einheiten aus dem Fläschchen der Firma B, die 10 Einheiten aber aus dem Fläschchen der Firma A bezogen waren u. dgl. mehr.

Schwellenwerte beim gut gefütterten Tiere bzw. beim Menschen nach der Nahrungsaufnahme zu bestimmen, scheint wenig sinnvoll, denn die Werte haben dann selbst beim gleichen Individuum wahrscheinlich keine Konstanz.

Auf die CWK. zurückkommend, so hatten, wie schon oben erwähnt, Macleod c. s. (392) (McCormick usw.) hinsichtlich der Abhängigkeit des Grades des Blutzuckerfalles von der Dosis festgestellt, dass kleine Dosen schon oft einen maximalen Fall hervorrufen können und insoweit sich überhaupt keine Abhängigkeit ergibt.

In einem Versuch, bei dem 10 hungernde Tiere benutzt wurden, denen 7 verschiedene Konzentrationen gegeben wurden, vom einfachen bis zum achtfachen, ist in bezug auf den Grad der Senkung nichts anderes zu erkennen, als dass die kleinste Dosis einen etwas geringeren Effekt hat. Zwischen der Dosis 2 und der 4 mal so grossen Dosis 8 ist aber kein deutlicher Unterschied (zufälligerweise ist sogar die durchschnittliche Senkung der vier mit den geringeren Dosen eingespritzten Tiere etwas grösser).

Wir haben den Versuch wiederholt, aber auch noch etwas näher am Schwellenwert liegende Dosen benutzt und erhielten folgende Ergebnisse (s. Tabelle). Während die Konzentration 1 sehr nahe am Schwellenwert liegt, hat die doppelte Dosis schon eine starke Senkung zur Folge und die weitere Zunahme um nur die halbe Anfangskonzentration lässt bereits die Krampfgrenze erreichen. Die Steigung auf das 200fache der Anfangsdosis hat keinen deutlicher erkennbaren Effekt hinsichtlich der Blutzuckersenkung als die 80fach kleinere.

Injektion verschiedener Dosen an je 2 oder 3 Kaninchen.

Dosis Rohinsulin (R 11)	Blutzucker ‰ 2 Std. nach Injektion	Krampf
1	1,41	—
	1,14	—
2	0,66	—
	0,94	—
2,5	0,49	+
	0,35	+
	0,40	+
5	0,43	+
	0,42	+
12,5	0,35	+
	0,55	+
60	0,54	+
	0,54	+
200	0,45	+
	0,41	+

Man hat also auf Grund des Vorhergehenden das Recht, von einer parabelartigen Kurve zu sprechen, als Ausdruck für die Beziehung von Konzentration zum Grad der Blutzuckersenkung beim nüchternen Tier. Nicht scharf genug kann aber betont werden, dass das Parabelartige nur darum entsteht, weil nach dem steilen Anstieg der Kurve (Fall des Blutzuckers mit der Konzentration) der andere Schenkel der Kurve ziemlich parallel der Abszissenachse verläuft, nur weil praktisch der Blutzucker nicht viel unter 0,45 oder auch 0,30 ‰ bei den gewöhnlichen Bestimmungsmethoden fällt (siehe oben Eiweisszucker). Aus solcher Kurve ist nicht etwa zu schliessen, dass die Mengen, welche über der Dosis liegen, die bereits den Blutzucker maximal sinken lassen, wirkungslos sind. Es wäre dies genau das gleiche als wollte man ein Steigen der Temperatur leugnen, weil die Quecksilbersäule des zur Messung benutzten Thermometers oben anstösst.

Die Wirkungslosigkeit aller höheren Dosen zu behaupten hat nur für einen ganz speziellen Effekt (Änderung des Blutzuckers) Sinn.

Ob nicht aber darüber hinaus tatsächlich dadurch eine biologisch sehr bedeutsame Erfahrung angegeben wird, wagen wir noch nicht mit Sicherheit zu entscheiden.

Nämlich: die weitgehende Ungiftigkeit des Insulins, vorausgesetzt, dass man nur den Blutzuckerspiegel immer wieder erhöht. Collip hat zwar behauptet (siehe oben), dass die Tiere mit sehr grossen Dosen doch sterben, auch wenn man ihnen immer wieder Glukose einspritzt. Wir haben aber andererseits Tiere, die wir mit 20- und 60fachen Krampfdosen (siehe oben) behandelt haben, nur in der Nacht verloren, wo die Tiere sich selbst überlassen waren.

Die Schädigung scheint also bei reinem Insulin doch nur — sagen wir allgemein — in dem veränderten Verhalten des KH-Wechsels zu liegen, und zwar besonders dann, wenn diese Änderung lange besteht. Wird sie schnell kompensiert, und bleibt bzw. wird als Ausdruck hiervon der Blutzucker normal, dann bleibt der Organismus gesund.

Die Unschädlichkeit der grossen über der Krampfgrenzdosis liegenden Mengen wäre so zu verstehen, dass sie nichts mehr zu schädigendes vorfinden, wenn sie soweit gewirkt haben, dass der Blutzucker nicht mehr über einer gewissen minimalen Höhe bleiben kann. Diese Funktionsstörung ist an und für sich aber nicht tödlich, wenn sie nicht sehr lange bestehen bleibt. Wenn im letzten Sinne auch nur quantitativ, macht dieses Verhalten doch einen qualitativ verschiedenen Eindruck gegenüber dem Verhalten von anderen Giften. Es liegt dies an zweierlei. Einmal an dem bereits erwähnten, dass die überhaupt zu erzielende Schädigung durch Insulin erst bei langer Dauer bzw. durch die Folgezustände tödlich ist. Zweitens, dass wir ein Gegenmittel kennen. Über dieses zweite brauchen wir nicht mehr zu sprechen. Das erste wird durch folgenden Vergleich deutlicher: eine gewisse Erhöhung der Dosis von Morphium ist schlechthin tödlich, weil es fortschreitend von weniger wichtigen Zentren allmählich die höheren Zentren narkotisiert und so das Atemzentrum definitiv lähmt, oder jedenfalls so lange, dass während der Lähmung der Organismus zugrunde geht. Die Schädigung des Insulins könnte man aber vergleichen mit einer Schädigung eines viel weniger lebenswichtigen Organs, sagen wir z. B. der grossen Zehe; mehr als ganz zerstört kann sie nicht werden, aber selbst wenn dies geschehen, dann bleibt der Organismus doch erhalten, falls sich keine Folgeerscheinungen daran anschliessen. So ist zu begreifen, dass man beim Insulin keine absolut tödliche Dosis nennen kann.

Gehen wir nach dieser Abschweifung wieder auf unsere Frage zurück: Abhängigkeit der Wirkung von der Konzentration, so hatten wir noch im besonderen zu behandeln: Abhängigkeit der Wirkung in der Zeit von der Dosis. Es handelt sich hier um dreierlei:

Zunächst ist die Frage: „Wie hängt die Geschwindigkeit der Senkung (Steilheit) von der Dosis ab?“ eine zweiteilige:

- a) Wie lange nach der Injektion beginnt die Senkung?
- b) Wann tritt das Maximum der Senkung ein?

Und dann kommt als dritte bei der Frage der zeitlichen Beziehung hinzu

- c) Wie lange dauert die Senkung?

a) Macleod mit Mc Cormick usw. haben frühestens 15—20 Minuten nach der Einspritzung mit Blutzuckerbestimmungen begonnen. Auch dabei zeigt sich schon ein ziemlicher Tiefstand bei sehr verschiedenen grossen Dosen, z. B. hat die Dosis 0,25 ccm in 20 Minuten den Blutzucker auf 0,65‰ erniedrigt und die 8 mal so grossen 2,00 ccm auch nur auf 0,60‰ u. dgl.

Bei fortlaufenden Doppelbestimmungen alle 5 Minuten nach der intravenösen Einspritzung fanden wir, dass bereits nach den ersten 5 Minuten die Senkung beginnt und zwar auch bei nicht sehr grossen Dosen, z. B. eine Krampfdosis. Der Effekt kann undeutlich sein, weil wohl manchmal die Einspritzung als solche erregend auf das Tier und dann vielleicht blutzuckersteigernd wirkt. Jedenfalls sehen wir, dass wenn der Blutzucker z. B. vor der Injektion (1,07 bzw. 1,05) 1,06 war, er nach 5 Minuten (0,81 bzw. 0,91) 0,86 war nach 10 Minuten (0,64 bzw. 0,60) 0,62, nach 15 Minuten (0,52 bzw. 0,50) 0,51, nach 20 Minuten (0,53 bzw. 0,53) 0,53, nach 25 Minuten (0,48 bzw. 0,43) 0,45^{0/100} usw.

Fast genau das gleiche zeigt sich in einem Parallelversuch, also das Sinken beginnt sehr früh und verläuft auch bei kleineren Dosen steil.

b) Was nun den andern Teil der Frage nach der Steilheit betrifft. d. h. „Wie weit hängt der Zeitpunkt, bis das Minimum der Senkung erreicht ist, von der Dosis ab?“ so ist auch hier kaum etwas von einer Abhängigkeit festzustellen. Denn, wenn überhaupt eine Wirkung auftritt, so ist sie immer sehr schnell maximal, es erinnert dies an das Alles- oder Nichtsgesetz.

Dass bei intravenöser Injektion im allgemeinen die Senkungen schneller eintreten als bei subkutaner, ist schon erwähnt; und zwar bei intravenöser fast stets innerhalb der ersten $\frac{3}{4}$ manchmal auch erst $\frac{5}{4}$ Stunden, bei subkutaner innerhalb der ersten 2 bzw. 3 Stunden. In dem Versuch von Macleod c. s. ist das Minimum von der Dosis 1,0 ccm in 20 Minuten erreicht, von der 4 mal so kleinen Dosis 0,25 ccm in 50 Minuten, von der Dosis 0,5 ccm in 40 Minuten und der 4 mal so grossen Dosis 2,0 ccm ebenfalls in 40 Minuten.

c) Als die dritte Beziehung bleibt dann noch zu erörtern die Abhängigkeit der Dauer der Wirkung von der Konzentration. Viel über die Tatsache, dass kleinere Dosen eine kürzere Wirkungsdauer haben als grössere, ist man noch nicht hinaus. Die individuellen Verschiedenheiten machen sich wohl gerade hier sehr bemerkbar, und dies ist auch zu begreifen. Denn ohne weiter auf Spekulatives einzugehen, scheint es uns selbstverständlich, dass die Dauer der Wirkung ganz besonders vom Ernährungszustand, also den Reservevorräten, der Fähigkeit, sie zu mobilisieren u. dgl. abhängen muss. In den oft zitierten Arbeiten von Mc Cormick, Macleod c. s. und auch in unseren eigenen Versuchen gilt für alle Dosen, dass der absteigende Schenkel der Blutzuckerkurve, also das Erreichen des Minimums, in viel grösserer Steilheit verläuft als der aufsteigende, also das Erreichen des Anfangswertes. Der Unterschied im Verlauf bei verschiedenen Dosen ist aber wieder sehr gering. Aus den Zahlen von Macleod c. s. können wir entnehmen, dass z. B. 2 Stunden nach der Injektion mit der kleinsten Dosis die prozentische Erniedrigung des Anfangswertes im Durchschnitt nur noch 21%, bei der doppelten Dosis 29%, bei der vierfachen 27%, der fünffachen 48% und der sechsfachen 46% beträgt. Dies ist wohl eine zunehmende

Reihe, entsprechend der Dosis. Ähnliches fanden wir auch, wenn wir immer vier Tiere mit derselben Dosis gebraucht, und nach 4 Stunden den Blutzucker mit dem entsprechenden Blutzucker verglichen. Aber die einzelnen Zahlen, woraus die Mittel gewonnen sind, weichen ausserordentlich voneinander ab, so dass man viel mehr Tiere nehmen müsste, um irgend etwas Gesetzmässiges abzuleiten. Wir haben dies schon oben erwähnt, und gesagt, dass darum diese Methode zu Eichungszwecken nicht benutzbar ist. Banting strebte dies an durch Bestimmung der Fläche, die von der Blutzuckerkurve umschlossen wird.

Alle diese Beziehungen sollten eigentlich nach Möglichkeit auch für den Menschen näher festgestellt werden, um wirklich Genaueres über den Einfluss des Insulins aussagen zu können, dieses Mittels, das nun schon einen so breiten Raum in der Therapie einnimmt.

Ausgangspunkt für diese zuletzt behandelten Fragen nach Schwellenwert und Konzentrations-Wirkungs-Kurve war die anscheinend selbstverständliche Annahme: wenn eine Einheit oder eine bestimmte Anzahl beim Kaninchen so wirkt, dann wird sie beim Menschen auch einen bestimmten Einfluss haben, und das mehrfache davon einen „entsprechend“ grösseren ausüben. Den Entdeckern des Insulins und ihren klinischen Mitarbeitern fiel die Aufgabe zu, zu ermitteln, wie viele von den beim Kaninchen nötigen Dosen nötig waren, um beim Diabetiker einen bestimmten Einfluss zu entfalten. Es entstand so die Drittelung der ursprünglichen Einheit = Krampfdosis, weil man bei manchen Patienten mit Teilen dieser Einheit beginnen wollte.

b) Klinische Nacheichung.

Als wir in Holland Insulin dargestellt hatten und dieses Insulin Kranken geben liessen, wurde uns sehr schnell deutlich, dass nach sorgfältiger Standardisierung eines einzelnen Präparates am Tier eine Prüfung in der Klinik an möglichst genau eingestellten Patienten erfolgen musste, ehe man ein solches Präparat der allgemeinen Anwendung zuführen lassen durfte. Denn ganz selbstverständlich konnte die Darstellung nicht immer gleiche Produkte liefern, denn sie beruhte auf rein empirischen, relativ groben Methoden und ging von einem in seiner Zusammensetzung stark variierenden Ausgangsmaterial aus; die Produkte aber liessen sich bei völliger Unkenntnis mit ihrer Zusammenstellung chemisch nicht kontrollieren. Also streng genommen konnte der Tierversuch nur die Grundlage für die klinische Eichung sein (353, 357). Dieses Prinzip wurde später von den Ländern, die vor uns mit der Darstellung begonnen hatten oder folgten, auch angenommen, wenigstens berichten die amerikanischen Fabriken (2, 37, 557), die dänischen (291) und österreichischen (185) hiervon; auch in England soll dies, soweit es nicht schon geschehen, wie uns Dale mündlich mitteilte, in Zukunft erfolgen. In Argentinien scheint es gleichfalls zu geschehen (562).

Wie nötig solche Prüfungen waren, zeigt folgende Tatsache, die wegen ihres theoretischen Interesses hier genau besprochen werden muss.

Doppelte Krampfgrenze.

Präparate mit einer sehr ausgesprochenen Wirkung am Kaninchen versagten in den zu erwartenden Dosen unter Umständen ganz beim Menschen.

Wenn z. B. 0,1 ccm einer bestimmten Lösung des Präparates A bei mehr als 75% der untersuchten Tiere die Krampfgrenze erreichen bzw. Krämpfe auftreten liess, also darin 3 Einheiten enthalten waren, blieb die Wirkung beim Menschen ganz aus, als es in einer andern Präparaten entsprechenden Menge gegeben wurde. Es brachten z. B. 1,5 ccm der Lösung, die 30 Einheiten enthielten, gar keine Wirkung hervor, während 0,75 ccm eines anderen ebenso geeichten Präparates B, also 15 Einheiten, eine erhebliche Hyperglykämie völlig beseitigten. Solche Präparate wie A waren aber nicht ganz unwirksam, denn wenn man z. B. 4mal soviel gab, so trat der gewünschte Effekt ein: es wirkten also 60 Einheiten der ursprünglichen Lösung des Präparates A so wie 15 Einheiten beim Präparat B.

Woran lag dies? Als wir beim Kaninchen nochmals nachprüften, bekamen wir mit 0,15 ccm wieder deutlich Krampfgrenze bzw. Krämpfe. Als wir aber 0,3 einspritzten, so war die Wirkung oft geringer, der Blutzucker sank z. B. nur auf 0,6 ‰, auch die dreifache Menge 0,45 ccm hatte eine so schwache Wirkung, und erst etwa 0,6 ccm liessen die Krampfgrenze entstehen. Eine weitere Verstärkung der Dosis änderte nichts mehr, unwirksame oder schlecht wirksame Konzentrationen ergaben sich nicht. Wir hatten also eine, wie wir es kurz nannten, „doppelte Krampfgrenze“, d. h. es liessen sich zwei Konzentrationen feststellen, bei denen die Krampfgrenze auftrat, während die dazwischen liegenden Dosen viel geringer wirkten.

Es ist auffallend, dass nicht auch von anderer Seite auf diese interessanten Befunde aufmerksam gemacht wurde.

Die klinische Prüfung von Präparaten mit zwei solchen Krampfgrenzen ergab, dass eine Einstellung entsprechend der oberen Krampfgrenze gut wirksame Präparate aufwies, die denen mit nur einer Krampfgrenze entsprachen. Wurden Präparate mit „doppelter Krampfgrenze“ weiter gereinigt, so verschwand die „doppelte Krampfgrenze“, und es entstanden Präparate mit nur einer Krampfgrenze und zwar entsprach diese der unteren, d. h. alle über der unteren Krampfgrenzdosis liegenden Dosen riefen die Krampfgrenze bzw. Krämpfe hervor. Nicht nur durch weitere Reinigung, auch durch Änderung des Darstellungsverfahrens (kurzes Aufkochen) liess sich in der Folge meist das Entstehen von Präparaten mit „doppelter Krampfgrenze“ vermeiden.

Kollege de Jongh (322) in unserem Laboratorium hat sich die Aufklärung dieser Befunde besonders angelegen sein lassen, und wir denken, diese auch gefunden.

Er nimmt an, dass sich bei solchen Präparaten bzw. Fraktionen mit zwei Krampfgrenzen der Einfluss eines „Antiinsulins“ geltend macht, d. h. eines Stoffes mit einem hyperglykämischen Effekt, oder doch jedenfalls einem solchen, der die hypoglykämische Wirkung des Insulins ausgleicht. Die Konzentrationswirkungskurve dieses Stoffes verläuft aber anders als die des Insulins, und ferner hat dieser entweder einen höheren Schwellenwert, oder seine Konzentration ist auch von vornherein in der Lösung geringer als die des Insulins. Er wird sich also bei kleinen Mengen der Mischlösung nicht geltend machen, und sich der Einfluss des Insulins so ungehindert entwickeln können; es entsteht so der erste Teil, die steile gerade Linie der Konzentrationswirkungskurve, die wir oben kennen gelernt haben als Ausdruck des raschen Falls des Blutzuckers bei Zunahme der Dosis von etwa $\frac{2}{10}$ Einheit bis zur unteren Krampfgrenzdosis.

Bei Zunahme der Menge der Mischlösung beginnt nun der Einfluss des Gegenstoffes hervorzutreten und verhindert, dass der Blutzucker bis zur Krampfgrenze sinkt, was zu verstehen ist, wenn die Konzentrationswirkungskurve des Antiinsulins zunächst schneller als die des Insulins steigt. Dass nun das Antiinsulin keine dauernde Verhinderung des Insulins, um den Blutzucker bis zur Krampfgrenze sinken zu lassen, hervorbringt, wird wieder begreiflich, wenn die Konzentrationswirkungskurve des Antiinsulins eine stärker gekrümmte Parabel als die des Insulins ist; die beiden Kurven laufen dann wieder auseinander, und die Insulinwirkung kann sich wieder durch Erniedrigung des Blutzuckers bis zur Krampfgrenze durchsetzen (obere Krampfgrenze).

Die klinische Wirkung kam, wie oben erwähnt, immer mit der oberen Krampfgrenze überein. Dies ist nach dem eben Gesagten auch leicht verständlich, denn bei der Benützung am Menschen kommen von vornherein grosse Dosen zur Anwendung, die zwar sogleich über dem Schwellenwert liegende Mengen Antiinsulin enthalten, dafür aber auch so grosse Mengen, dass sie bereits hinter dem Punkt liegen, wo die beiden Konzentrationswirkungskurven wieder auseinandergehen.

Man bedenke, dass der Effekt der 3—3,5 Einheiten, die unter der untersten Krampfdosis in Betracht kommen, zwar bei Kaninchen die Maximalwirkung hervorbringen, bei diabetischen Menschen aber kaum etwas bedeuten. Gibt man mehr, dann stört das Antiinsulin, sofern man nicht so viel mehr gibt, dass das Insulin wieder anfängt vorzuherrschen. Aber das heisst eben, dass man sich mit seiner Dosierung jenseits der oberen Krampfdosis befindet. Für den weniger mathematisch angelegten Leser macht ein Zahlenbeispiel den Vorgang vielleicht verständlicher.

Nehmen wir an, dass ein bestimmtes Kaninchen einen Normalblutzucker hat von $1,2\text{‰}$, dass es ferner auf eine Einheit Insulin reagiert mit einer Erniedrigung bis 0,95, auf zwei Einheiten bis 0,7 und auf drei Einheiten bis $0,45\text{‰}$. Diese Zahlen finden ihre Berechtigung in der Tatsache, dass nach unserem Eindruck bei den Präparaten mit doppelter Krampfgrenze die Blutzuckerkurve nach Einspritzungen von 1, 2 und 3 Einheiten nicht so steil verlief als wir sonst sehen, (vielleicht, weil die Resorption langsamer bei diesen unreinen Präparaten verläuft). Nehmen wir weiter eine Lösung an, die 10 Einheiten pro ccm enthält, und ausserdem soviel Antiinsulin, dass dessen Schwellenwert bei 0,35 ccm liegt. Dann bekommen wir als Ergebnis von Injektionen

mit 0,1	ccm = 1	Einheit	Blutzucker 0,95
„ 0,2	„ = 2	„	„ 0,7
„ 0,3	„ = 3	„	„ 0,45
„ 0,35	„ = $3\frac{1}{2}$	„	„ < 0,45 u. vielleicht Krampf

0,4 ccm. Jetzt beginnt die Wirkung des Antiinsulins, die des Insulins teilweise aufzuheben. Werden so durch das nun zur Wirkung gelangende in 0,05 ccm (0,40—0,35) enthaltene Antiinsulin, z. B. zwei Einheiten ausgeschaltet, so bleibt dann noch die Wirkung von zwei Einheiten übrig. Der Blutzucker wird also 0,7 ‰.

0,45 ccm. Da die Konzentrationswirkungskurve des Antiinsulins eine Parabel ist werden nun nicht direkt proportional der Zunahme 4 Einheiten an Stelle von 2 Einheiten durch die 0,10 (0,45—0,35) ccm zur Wirkung gelangendes Antiinsulin kompensiert, sondern z. B. bloss 3. Der Blutzucker wird dann etwa 0,825 ‰.

0,5 ccm. Die Wirkung von 3,75 Einheiten wird aufgehoben. Die übrigen 1,25 geben Blutzucker 0,91 ‰.

0,55 ccm. Nicht wirksam: 4,5 Einheiten. Blutzucker 0,95 ‰

0,65 " " " 5 " " 0,825 ‰

0,85 " " " 5,5 " " 0,45 ‰ es bleibe

wieder volle 3 Einheiten übrig.

Weiter kann die Insulinwirkung ungestört zunehmen, da die Antiinsulinkurve von hier ab praktisch horizontal verläuft.

Im übrigen ist es nicht möglich, dieses ganze Problem in einigen Zeilen zu besprechen, und es sei also daher auf die inzwischen erschienene Publikation (322) verwiesen.

Die Erfahrungen mit der „doppelten Krampfgrenze“ machen eine Restriktion, die wir ganz im Beginn dieses langen Kapitels gelegentlich der Definition der Einheiten gemacht haben, verständlich; man konnte sie da leicht für überflüssige Spitzfindigkeit halten.

Zu sagen: als Einheit gilt die Menge, welche die oder jene Wirkung hat, genügt nicht, wie wir (S. 160) ausgeführt haben; es ist zu ergänzen: die kleinste Menge von den Mengen, die überhaupt solche Wirkung haben. Nun ist aber weiter zu ergänzen: die kleinste Dosis unter den Dosen, welche sämtlich diese Wirkung haben. Es fallen dann die Mengen aus, die zwar z. B. auch die Krampfgrenze liefern, wenn grössere Mengen als sie dies nicht tun. Erst die Menge, von der ab alle höheren dasselbe oder mehr leisten können die Einheit sein.

Die untere Krampfgrenze ist dann definitionsmässig ausgeschlossen und kann bei der Bestimmung der Einheit eine Verwirrung nicht anrichten. Praktisch bedeutet dies, dass man bei Eichungen nicht nur die kleinste Dosis mit einer bestimmten Wirkung zu suchen hat, sondern auch nachzugehen, ob die zwei-, drei-, vierfache Dosen nicht schwächer wirken. Ist dies der Fall, dann ist festzustellen, von welchem vielfachen ab jede weitere Erhöhung von gleicher oder stärkerer Wirkung ist (natürlich immer bei der Mehrzahl der Tiere).

c) Einstellung nach klinischen Wertbestimmungen.

Diese zuletzt und ziemlich ausführlich behandelte Frage der doppelten Krampfgrenze hat uns, abgesehen von ihrem speziellen Inhalt zweierlei lehren können. Einmal, dass es aus rein wissenschaftlichen Gründen nötig ist, von den einzelnen Präparaten auch Erfahrungen am Menschen zu sammeln

und sich nicht nur mit denen am Kaninchen zu begnügen; dann aber, dass es aus praktischen Gründen erforderlich ist, die biologische Eichung am Kaninchen in der Klinik nachprüfen zu lassen, solange nicht eine absolute Sicherheit über die Bereitungsmethoden und damit Übereinstimmung hinsichtlich der Zusammensetzung der verschiedenen Präparate besteht, soweit dies bei einem chemisch noch nicht definierten Körper überhaupt möglich ist.

Was das Praktische betrifft, so ist es nicht leicht, genau anzugeben, in welcher Weise die klinische Nachprüfung zu erfolgen hat, und wie sie für die endgültige Einstellung der Präparate zu verwerten ist. Es wäre sehr zu begrüßen, wenn hier eine viel straffere Organisation sich schaffen liesse, als dies nur privaten Bestrebungen möglich ist. Denn die einzelnen Erfahrungen auch eines guten Arztes sind hinsichtlich der Beurteilung des Wertes eines Präparates wissenschaftlich fast kaum zu benutzen. Der Befund, dass ein Patient mit dem Präparat A stärker reagiert hat als mit dem Präparat B, ist nicht beweisend, dass Präparat A stärker als B ist; auch dann, wenn die gewöhnlichen Versuchsbedingungen festgestellt und kontrolliert sind, geschweige, wenn dies nicht der Fall, wie dies in der Praxis recht oft vorkommt. Die Bedeutung der Differenzen zwischen den verschiedenen Personen, des „interindividuellen Faktors“, aber auch die Wichtigkeit von Unterschieden, die in der dauernden Veränderlichkeit des lebenden Individuums vorkommen, des „intraindividuellen Faktors“, ist eine ausserordentlich grosse. Nur die Tatsache, dass dem Praktiker diese eigentlich primitive, dabei aber vollkommen begründete wissenschaftliche Erkenntnis oft nicht klar genug vor Auge steht, lässt begreifen, wie häufig von einem Präparat viel mehr verlangt wird, als es auch das idealste geben kann.

Die Unzufriedenheit mit der biologischen Standardisierung beruht weniger auf der Unvollkommenheit der Methode, als vielmehr auf der Unvollkommenheit der Ärzte, die mit solchen Präparaten arbeiten. Sie vergessen dabei zu oft, dass die erwartete Reaktion des Patienten auf das Heilmittel eine Reaktion aus vielen hundert Faktoren ist, von denen vielleicht der konstanteste das Heilmittel ist, auf dessen Inkonstanz sie durch die falsche Annahme, dass alle anderen Faktoren die konstanten wären, schimpfen. Wir haben bei sehr intensiver Beschäftigung gerade mit der Frage der Standardisierung nicht den Eindruck bekommen, dass die Feststellung irgendwelcher Ergebnisse auch an den besten Kliniken, welche die verschiedene Wertigkeit von Präparaten behauptet haben, mit der Sicherheit erfolgt und erfolgen kann, als sie bei der Standardisierung am Tier möglich ist.

Es würde darum einen Fortschritt darstellen, wenn sehr grosse Ablieferungen eines bestimmten Präparates z. B. an 5 Kliniken gingen, die jede über einige gut eingestellte, sehr genau beobachtete Patienten verfügen. Dort müssten erst die Patienten ein Standardpräparat erhalten, jedenfalls aber immer dasselbe, und dann 2—3 Tage das zu prüfende, dann nochmals das

Standardpräparat. Gerade hierfür erscheint uns das Bestreben Dale's (siehe oben S. 176), ein Standardpräparat zum Vergleich möglichst zu verbreiten, ausserordentlich zu begrüßen. Bei den klinischen Beobachtungen sollte auch die Art, wie sie anzustellen sind, nach einem gewissen Schema erfolgen (welche Blutzuckerwerte bestimmt werden müssen, möglichst genaue Angabe der Diät, die natürlich bei den verschiedenen Patienten verschieden, aber während der Prüfungstage konstant sein müsste usw.).

Bei den bisherigen Nachprüfungen ist wohl nicht immer dies alles berücksichtigt worden; das Wichtigste, soweit uns bekannt ist, jedenfalls nicht, nämlich die Einschaltung eines Vergleichspräparates, das einigermaßen konstant ist. Gerade durch diesen Mangel ist die grosse Gefahr entstanden, dass in allen Ländern — am ärgsten scheint es in Deutschland zu sein oder zu werden —, aus unsachlichen rein geschäftlichen Gründen die Präparate zunächst immer „stärker“ werden. Bei dem heutigen Stand der Technik ist es gar kein Kunststück, ein Präparat herzustellen, das statt 20 der ursprünglichen Einheiten ($\frac{1}{3}$ obere Krampfgrenzdosierung) tausend und mehr enthält. Es ist also jeder Fabrik möglich, ihre Präparate allmählich stärker zu machen und so die Konkurrenz zu bestreiten. Es ist dies aber ein absolut zu bekämpfendes Wettrennen. Zunächst hat es für den Patienten wirtschaftliche Vorteile, weil es ihm für dasselbe Geld mehr liefert. Nach einer Weile sicher aber Nachteile, weil er wie der Arzt allmählich nicht mehr wissen, was sie einspritzen. Dass Unglücke bisher noch nicht geschehen sind, liegt an der oben erwähnten Ungiftigkeit (s. S. 191) und auch daran, dass Störungen sehr oft bald bemerkt und dann durch Gegenmassnahmen (Zuckeraufnahme usw.) bekämpft werden können. Ob freilich nicht gelegentlich Todesfälle von Diabetikern in der Nacht nach zu starker Dosierung vorkommen können, ist nach einem, nicht sicher aufgeklärten, Fall nicht ausgeschlossen.

Wir selbst, die wir seit langer Zeit uns mit dem Vergleich von biologischer Wertbestimmung und klinischer Nachprüfung beschäftigt haben, sind überzeugt, dass hier nur Besserung geschaffen werden kann, wenn nicht jede Fabrik sucht, und ermuntert wird, das „stärkste“ Präparat zu haben, sondern das reinste und möglichst exakt standardisierte.

Wie die klinische Nachprüfung geschehen soll, haben wir kurz gesagt. Will man ihr eine der biologischen Standardisierung einigermaßen ebenbürtige Stelle geben, so dürfte die Zahl der Versuche in den Kliniken nicht zu gering sein. Haben wir oft 50 Tiere für die Bestimmung der Krampfgrenzdosierung nötig, dann sollten auch 10 oder 15 Patienten nach Möglichkeit für jedes Präparat verwendet werden.

Wie ist nun aber die klinische Nachprüfung für die endgültige Einstellung zu verwerten? Wir denken folgendermassen: hat die biologische Standardisierung ergeben, dass in 1 ccm jetzt also meist 28 alte = 20 „neue Einheiten“ (s. Definition VI) enthalten sind, so ist dies auf dem

Etikett zu vermeiden. Dies bedeutet die Minimalzahl, die wenigstens vorhanden ist. Ergibt jetzt die klinische Nachprüfung, dass diese 20 neue Einheiten nur so wirken, wie etwa 15 neue Einheiten des Standardpräparates (es wird sich immer nur um ein „etwa“ handeln können und statt 15 können es ebensogut 14 oder 16 Einheiten sein), dann dürfte das Präparat im Verhältnis von 20:15 verstärkt werden. Es wird dann also tatsächlich nicht 20 sondern 27 neue Einheiten enthalten.

Es ist aber sogleich zu bemerken, dass mit fortschreitender Verbesserung der Herstellungsmethoden die Übereinstimmung zwischen pharmakologischer und klinischer Eichung immer besser wird, so dass die Korrektion immer kleiner geworden ist. Will man dafür noch einen besonderen Namen haben, so könnte man etikettieren: es enthält 27 neue Einheiten = 20 sog. klinische Einheiten. — Präparate mit einem solchen Kompromis stellen kein pharmakologisches Ideal dar, werden aber der Praxis am meisten genügen (186, 187, 192, 350, 351, 352, 354, 355, 381).

Diese scheinbar nur für die Praxis wichtige Frage hat auch ihr grosses wissenschaftliches Interesse und ist darum hier ausführlich behandelt worden, weil nur, wenn mit allem Nachdruck von biologischer wie klinischer Seite gemeinsam daran gearbeitet wird, zu hoffen ist, dass man die Gründe, die der verschiedenen Reaktion von Mensch und Tier zugrunde liegen, ermittelt.

VII. Eigenschaften des Insulins.

A. Physikalische Eigenschaften.

Insulin, im zweifellos noch sehr unreinen Zustand, worin wir es im Augenblick auch in den sog. „reinsten“ Präparaten kennen, hat folgende physikalische Eigenschaften:

Im trockenen Zustand ist es ein amorphes, weisses oder gelblich-weisses Pulver, das monatelang haltbar ist (229, eigene Erfahrungen).

Löslichkeit: In reinem neutralen Wasser löst es sich schlecht, ist dagegen gut löslich, wenn man etwas Säure oder etwas Lauge zusetzt (462); Zusatz einer zu grossen Menge starker Säure schlägt es wieder nieder. Es ist nicht möglich, ganz genau das p_H anzugeben, wobei Insulin löslich bzw. unlöslich ist, weil hier die Reinheit und die Art der verunreinigenden Stoffe von entscheidender Bedeutung sind. Im allgemeinen kann man jedoch sagen, dass Insulin ausflockt in sehr stark sauren Lösungen (202), gut löslich ist zwischen $p_H = 2$ und 4 (406, 464), dann vollständig ausflockt zwischen $p_H = 4,3$ und 5,7 (197, 462) oder genauer zwischen 4,7 und 5 (493) und wieder gut löslich ist bei p_H über 6. Bei kräftig wirksamem, sehr reinem Rocheninsulin fand Macleod gar keine Fällung beim isoelektrischen Punkte (392).

[S. a. Erfahrungen in unserem Laboratorium von Nehring in VIII. (S. 231)].

Doisy und Weber (190) aber, denen es gelang, Säugetierinsulin soweit zu reinigen, dass eine klinische Einheit (= $\frac{1}{3}$ Krampfdosis) nur 0,015 bis 0,025 mg wog, sahen bei Lösungen, die nur 0,05 mg pro cc enthielten, doch eine typische Trübung beim isoelektrischen Punkte auftreten.

Wenn nicht mehr als Spuren Salze anwesend sind, liegt die Niederschlagszone für das reinste Insulin zwischen $p_H = 4,4$ und $5,8$, mit einer optimalen Flockung bei $p_H = 5$. Es löst sich vollkommen klar bei $p_H = 4$ und $p_H = 6$, wahrscheinlich als Salz. Bei Anwesenheit auch niedriger Konzentrationen von anorganischen Salzen, speziell Sulfaten, verschiebt sich die Niederschlagszone nach der sauren Seite. Lösungen von $p_H = 4$ oder etwas stärker sauer, welche bei Abwesenheit von Salzen klar sind, schlagen sofort nieder, wenn man Spuren Natrium- oder Ammonsulfat zusetzt. Andere Salze wirken ebenso, aber schwächer; darum muss man sie entfernen, bevor man eine „isoelektrische“ Reinigung (vgl. S. 231) vornimmt. Alkalisalze zeigen an der alkalischen Seite des isoelektrischen Punktes nicht eine solche Wirkung, obwohl bei $p_H = 6$ ihre Anwesenheit die Trennung von den Verunreinigungen erschweren kann, weil sie die Niederschlagszone eines weniger sauren Proteins verbreitert. Mässige Salzkonzentrationen erhöhen also die Löslichkeit der verunreinigenden Eiweissarten in der Niederschlagszone ein wenig. Höhere Salzkonzentrationen, z. B. $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{2}$ Sättigung mit $(NH_4)_2SO_4$, Sättigung mit Na_2SO_4 oder NaCl schlagen das Insulin praktisch vollkommen nieder, zusammen mit einem Teil der Verunreinigungen, sogar bei viel stärkerer Acidität als der isoelektrischen [Somogyi c. s. (501)]. Für die Verunreinigungen liegt das Flockungsoptimum bei $p_H = 4$ und bei $p_H = 7$ bis 8 (501).

Ausser in Wasser ist Insulin gut löslich in verdünntem Äthylalkohol bis zu einem Gehalt von 80%; auch hier spielt das p_H wieder eine bedeutende Rolle, denn bei seinem isoelektrischen Punkt ist es auch hierin unlöslich (197), nur, wenn etwas Säure oder Alkali anwesend ist, wird es löslich. In der Nähe seines isoelektrischen Punktes ist es in verdünntem Alkohol etwas mehr löslich als in Wasser. Wenn man eine ziemlich konzentrierte wässrige Lösung entweder schwach ansäuert mit HCl, oder sie mit NaOH oder NH_4OH alkalisch macht, kann man sie mit Alkohol etwa 80%ig machen, ohne dass sich ein Niederschlag bildet. Setzt man dann verdünntes Alkali oder verdünnte Säure zu bis nahe dem isoelektrischen Punkte, dann schlägt das Insulin prompt nieder. Setzt man mehr Alkohol oder Äther zu, dann schlägt es sogar nieder bei Anwesenheit von Überschuss Säure, die Vollständigkeit der Präzipitation hängt ab sowohl von der Menge Säure als von der Alkoholkonzentration. Bei $p_H = 5$ in Wasser niedergeschlagen löst Alkohol es nicht auf. Die physiologische Aktivität ist vollkommen stabil in Form des sauren Salzes, weniger bei Anwesenheit von Überschuss Alkali (501). Im sauren absoluten Alkohol ist Insulin löslich, nicht aber im neutralen oder alkalischen (493).

Auch Methylalkohol ist ein gutes Lösungsmittel (am besten, wenn er

mit trockenem HCl angesäuert ist), ebenso Eisessig, Phenol und Formamid (393, 566) und die Kresole (393).

Das sog. Insulinpikrat ist löslich in Aceton und in alkalischen Salzlösungen.

Hingegen ist Insulin ganz oder nahezu ganz unlöslich in Äther, Benzol, Chloroform (493, 566), Tetrachlormethan, Äthylacetat, absolutem Äthylalkohol, Isobutylalkohol, Amylalkohol, Aceton, Petroläther, Xylol, Pyridin (566), und wird bei Zusatz zu seiner wässrigen oder schwach alkoholischen Lösung daraus niedergeschlagen von Überschuss Äthylalkohol, Pikrinsäure, Uranacetat, Phosphorwolframsäure (202, 493), Phenylhydrazin, Pyrogallussäure (330), Aceton, Trichloressigsäure (493), Methyl-, Isopropyl-, n-Propyl-, n-Butyl-, n-Amyl- und n-Kaprylalkohol (330, 331), Wolfram-, Salpeter-, Gerb- und Metaphosphorsäure; Natrium-, Zink- und Ammonsulfat nehmen alle das Insulin in den Niederschlag mit, während in der Flüssigkeit Polypeptide und Aminosäuren zurückbleiben (493).

Positive und negative Kolloide präzipitieren das Insulin zusammen mit den Proteosen (493). Auch die Baryumsalze von schwachen Säuren schlagen es nieder (393).

Aus diesen Niederschlägen kann man die wirksame Substanz oft leicht wiedergewinnen, so z. B. aus dem Uranacetat-Niederschlag durch Waschen mit schwach alkalischen Na_2HPO_4 -Lösungen (202 [331]). Die Verarbeitung der Pikrinsäureniederschläge wird an anderer Stelle (S. 229) noch besprochen. Die Acetonniederschläge sind am kräftigsten wirksam und enthalten am wenigsten Stickstoff, wenn in saurem Milieu gearbeitet wird. Die n-Butyl- und Amylalkoholmethoden sind nach Kimball und Murlin (331, 406) zu präparativen Zwecken sehr geeignet.

Sehr reines Rochen-Insulin präzipitiert oft nicht mit konzentriertem Äthylalkohol (392).

Aussalzbarkeit: Ausgesalzen wird Insulin von Ammonsulfat und Natriumchlorid; das Kochsalz gibt die besten Resultate (331, 406). Von Ammonsulfat braucht man dabei nur halbe Sättigung (350 g Salz pro l), von NaCl nahezu vollständige Sättigung (350 g pro l). Indifferent oder unbrauchbar wegen der Schwierigkeit, Überschuss des Reagens schnell zu entfernen, ist Zusatz zur wässrigen Insulinlösung von Äther, Petroläther, Toluol, Xylol, Kadmiumchlorid (330), Äthylacetat, Pyrogallol, Gerbsäure (wir selbst erhielten allerdings mit Gerbsäure ein positives Ergebnis!), Benzol, Formaldehyd, Tetrachlorkohlenstoff, Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Zinksulfat, Kupfersulfat, Ferrichlorid, Bleiacetat, Quecksilberchlorid und Kaliummerkuri-jodid (331). Trichloressigsäure wirkt sehr unzuverlässig. Kadmiumchlorid ist unbrauchbar wegen seiner hyperglykämischen Wirkung, die auch bei Ammonsulfat oft auftritt (331).

Doch ist sehr wahrscheinlich, dass von diesen sog. „unbrauchbaren“

Agenzien sich bei weiterer Ausarbeitung der Technik doch noch einige als brauchbar erweisen werden. Denn z. B. Shonle und Waldo (493) benutzen die von Murlin c. s. als unzuverlässig bezeichnete Trichloressigsäure gerade zur Herstellung ihrer reinsten Präparate.

Krystallisation: Ob das Insulin imstande ist, Krystalle zu bilden, ist noch unbekannt: Kimball und Murlin (331) erhielten drei Arten von Krystallen, wenn sie Insulin mit Äthylacetat behandelten: ob es sich tatsächlich um Insulin handelte, konnten sie nicht feststellen.

Drehung: Nach einigen Autoren dreht Insulin die Polarisationssebene nach links (197, 493), nach Slosse (499) hingegen ist es optisch inaktiv. Hier wird eine Entscheidung wohl unmöglich sein, bevor wir die Substanz nahezu rein in Händen haben.

Adsorbierbarkeit: Insulin wird von allerhand Stoffen (425) schnell adsorbiert, und zwar vor allem in saurer Lösung (51, 52), so z. B. von Kaolin (51, 52, 493), von Kohle (51, 52, 419, 462, 493), von Benzoesäure in Substanz (53, 419), von Lloyds Reagens (493) und vor allem auch vom verunreinigenden Eiweiss in den Pankreasauszügen selbst (53, 462, 486).

In unserem Laboratorium fand Fr. Dingemans in saurer Lösung keine Spur Adsorption an Kaolin, wohl aber in alkalischer.

In neutraler Insulinlösung wirkt Kohle nicht adsorbierend (462).

Auch die später zu besprechenden insulinartigen Substanzen aus Pflanzen können an Kohle (Norit) adsorbiert werden, und sind aus dieser Adsorption durch Eisessig wieder zu befreien (200). Dem steht gegenüber, dass weder saurer, noch neutraler oder alkalischer Alkohol imstande ist, adsorbiertes tierisches Insulin von Holzkohle oder Kaolin zu lösen (462).

Dialysierbarkeit (s. a. VII, B, S. 205): Mit der anscheinend amorphen, kolloidalen Natur des Insulins, oder wenigstens seiner wesentlichen Begleitstoffe, steht auch sein Verhalten Membranen gegenüber, in Zusammenhang.

Schon bei Berkefeld-Filtration hält die poröse Porzellanwand unter gewissen Umständen einen beträchtlichen Teil der wirksamen Substanz zurück (51, 52, 393). Doch hat Dudley (202) angegeben, dass, wenn man die schwach-sauren Lösungen von Rohinsulin zuerst auf $p_H = 7,5$ bringt, die Filtration ohne Verlust vor sich geht.

Inwieweit dabei auch Adsorption eine Rolle spielt (393) ist noch unentschieden.

Bei Ultrafiltration einer Insulinlösung unter Druck durch eine Kollodiummembran gehen nur minimale Mengen der Substanz durch (202).

Ebenso hat man lange bestritten, dass Insulin imstande sei, durch eine Kollodium-Membran oder durch Pergamentpapier zu dialysieren (30, 51, 52, 393, 425, 462); vielleicht haben dabei aber die kolloidalen Verunreinigungen störend eingewirkt, denn Shonle und Waldo (493) waren mit dieser Methode gerade imstande, das reinste Präparat darzustellen, das sie überhaupt in

Händen gehabt haben; vielleicht sind sie von einem weniger Kolloide enthaltenden Präparat ausgegangen.

Auch in unserem Laboratorium gelang es trotz vieler Versuche Elisabeth Dingemans bis jetzt nicht, das Insulin vom Eiweiss mit Hilfe der Dialyse oder Elektrodialyse zu trennen.

Beim Dialysieren von Insulin, in $\frac{1}{100}$ n. HCl gelöst, durch eine Kolloidmembran, während 5 Tagen, gab die äussere Flüssigkeit, beim Kaninchen eingespritzt, keine Blutzuckererniedrigung.

Beim Dialysieren von Insulin, in $\frac{1}{100}$ n. HCl oder $\frac{1}{10}$ n. NaOH gelöst, durch Pergamentpapier waren die Resultate kaum günstiger. Von 1200 Einheiten wurden 36 resp. 15 Einheiten nach fünftägiger Dialyse im Dialysat nachgewiesen. Dem Stickstoffgehalt nach musste auch noch eine Spur Eiweiss mit hindurch gegangen sein, weil mehr Stickstoff gefunden wurde als dem durchgegangenen Insulin entsprach.

Die Biuretreaktion war äusserst schwach.

Bei der Elektrodialyse wanderte, beim Durchleiten eines elektrischen Stromes von 110 Volt durch die Lösung von Insulin in $\frac{1}{100}$ n. HCl, im Bechholdschen Glockenapparate das Insulin zur Kathode und flockte dort aus mit dem Eiweiss, jedoch stärker als dieses. Im Durchschnitt flockte aus 200 mg Insulin etwa 25% aus. In dem Niederschlag wurde etwa $\frac{2}{3}$ des Insulins zurückgefunden. Die Trockensubstanz war dabei von 0,3 mg auf etwa 0,13 mg pro Einheit zurückgegangen. Wurde das auf diese Weise gereinigte Insulin nochmals der Elektrodialyse unterworfen, so war es nicht mehr möglich, die Trockensubstanz pro Einheit noch weiter zurückzudrängen.

Eine Schüttelinaktivierung, welche bei einem derartigen kolloidalen Stoffe eventuell eintreten könnte, ist noch nicht mit Sicherheit festgestellt worden, obwohl einige Autoren auf diese Möglichkeit geachtet haben (129). In eigenen Versuchen sahen wir auch nichts davon.

B. Chemische Eigenschaften.

Da wir das Insulin bisher zweifellos nur in sehr unreiner Form kennen, ist über seine chemische Natur eine endgültige Aussage natürlich vollkommen unmöglich.

In erster Linie hat man die gebräuchlichen Farbreaktionen untersucht, und dabei die folgenden Resultate erhalten:

Reaktion auf	Methodik	Herkunft des Insulins
Eiweiss	Biuretreaktion	Rind und Schwein +, purpurn, Intensität wechselnd, bisweilen schwach: 51, 52, 197, 202, 393, 406, 493; — 463. Bei reinsten Präparaten + (Krampfdosis = 0,020 — 0,075 mgr), ebenso stark wie die eines gleichen Gewichts an Pepton (198, 501). Dog-Fisch + 202. Rochen — 51, 52, 392; + 202.
Benzolkern	Xanthoprotein	Rind und Schwein +, orange, Intensität wechselnd: 51, 52, 493; — 463. Rochen — 51, 52.
Tryptophan	Hopkins-Cole	Rind und Schwein +, blasspurpurn (bräunlich), Intensität wechselnd: 51, 52, 197, 393; — 202, 463, 493, 501. Rochen — 51, 52.

Reaktion auf	Methodik	Herkunft des Insulins
Tyrosin	Millon	Zweifelhaft. 197. Deutlich + bei reinsten Präparaten. 501. Schwach und atypisch. 202, 393, 493; — 463.
Tyrosin und Histidin	EhrlichsDiazoreaktion	+ 493.
Tyrosin und Cystin	Folin-Looney	+ 493.
Histidin und Iminazolring	Pauly	+ (intensiv), noch bei ziemlich reinen Präparaten (Krampfdosis = 0,25 mg). Auch die aktiven Bestandteile der Hypophyse geben diese Reaktion. 202, 494.
α -Aminosäuren	Ninhydrinreaktion	Schwach + 493.
Purinderivate	Ammoniakale Silbernitratlg.	— 493.
Indolderivate	Ehrlichs p-Dimethylaminobenzaldehydreaktion	— 493.
Epinephrin (Adrenalin)	?	— 51, 52, 494.
Kohlenhydrate	Molisch	+ 202. — 493.
Fruktose	Seliwanoff	— 202, 499.
Pentosen	?	— 499.
Oxydasen und Peroxydasen	Naphthol u. Paraphenylendiamin	— 528.
Organischen Schwefel	?	+ Sehr deutlich, sogar bei ziemlich reinen Präparaten (Krampfdosis = $\frac{1}{4}$ mg) 202.
Reduzierten Schwefel	Kochen mit NaOH	+ 493, 494.
SH-Gruppen	Nitroprussidnatrium	— 493.
Phosphor	Verbrennung	— 493.

Dass einige Autoren also negative Eiweissreaktionen erhielten, beruht nach Somogyi c. s. (501) darauf, dass sie, bei sehr wirksamen Präparaten, in zu grosser Verdünnung untersucht haben. Wäre auch in den ausserordentlich reinen Präparaten von Somogyi das Eiweiss eine Verunreinigung, dann könnte bei diesen Präparaten, deren Krampfdosis zwischen 0,020 und 0,100 mg lag, ihrer Ansicht nach auf Grund von hier nicht wiederzugebenden Überlegungen der wirksame Stoff nur höchstens 5% von diesem Gewicht betragen, d. h. er würde eine Krampfdosis von 0,001 mg haben. Die Konzentration im Körper eines Kaninchens von 2 kg würde dann 1:2 Milliarden betragen!

Weiter enthält Insulin keine echten Fette, keine Sterole, keine Phospholipide, nur eine Spur von anorganischen Stoffen (494).

Die Elementaranalyse lieferte folgende Ergebnisse:

14% N, kein P [in einem Pulver, von dem $\frac{1}{4}$ mg eine Krampfdosis für ein Kaninchen von 1 Kilo war (197)].

14% N (colorimetrisch bestimmt) in einem der reinsten bisher hergestellten Präparate (Krampfdosis 0,045 bis 0,075 mg) (198).

Kein P, weder anorganisch noch organisch. [Hydrochlorid, von dem $\frac{1}{2}$ —1 mg = 1 Krampfdosis für ein Tier von ± 2 Kilo (202, 494)]. 4 bis 6% N (331).

Der relative Gehalt an C, H und N läuft für verschiedene Präparate weit auseinander (493).

Die Aktivität ist oft am grössten bei den Präparaten, die am wenigsten N enthalten (406); doch ist es nicht möglich, den Stickstoffgehalt unter 0,006 mg pro klinische Einheit herabzudrücken: die amerikanischen Handelspräparate von Lilly enthalten meistens 17—20% N (493); nach Untersuchungen unseres Laboratoriums (Frl. Dingemanse) enthalten die holländischen von Organon gegen 13%, die englischen von Allen und Hantbury ebenfalls. Auch wenn man Insulin mit Phosphorwolframsäure nochmals enteiwisst und das Reagens mit Äther und Baryum entfernt, behält es seine hypoglykämische Wirkung (52).

Insulin, das durch eine Pergamentpapier- oder Kollodiummembran „diffundiert“ war, enthielt noch 0,002 mg Stickstoff pro Einheit: die Reaktion mit Ehrlichs Diazoreagens war dann noch ebenso stark wie zuvor, Cystin und Tyrosin waren gleichfalls noch anwesend, ebenso wie die übrigen Eiweissreaktionen des ursprünglichen Präparates. Der Schwefelgehalt hingegen war deutlich vermindert (493).

Soweit bekannt, geht keine von diesen Reaktionen der physiologischen Wirksamkeit parallel (493), vielleicht mit Ausnahme der Reaktion von Pauly und der auf organischem Schwefel (202). Auch wenn ein Präparat unwirksam geworden ist, sind sie alle noch unvermindert stark (493).

Hydrolyse mit HCl liefert unter passenden Umständen nach Reduktion eine starke Natriumnitroprussidreaktion nach Hopkins, die nichthydrolysierte Lösung aber nicht, so dass der Schwefel im intakten Insulin nicht reduzierbar erscheint, wie z. B. in Glutathion (202).

Die Wheeler-Johnsonsche Reaktion auf Uracil und Zytosin ist nach Hydrolyse negativ (493).

Nach Hydrolyse mit Säure liefert Insulin 70 bis 75% α -Aminosäure-N. Vom Gesamt-N-Gehalt kommt auf Rechnung von Melanin- und Amid-N 7 bis 10%, von der Diaminosäure-Fraktion 35%, von Tyrosin 3,6%, von Cystin 3,2% (493).

Doisy und Weber (198) fanden nach Hydrolyse ihrer allerreinsten Präparate (Krampfdosis 0,045 bis 0,075 mg): Ammoniak-N 10%, Amino-N 70% vom Gesamt-N. Tyrosingehalt 10%. Zystingehalt 13%. Tryptophan fehlte.

Die Reaktion von Seliwanoff auf Kohlenhydrate wird nach Hydrolyse positiv, ebenso wie bei den blutzuckererniedrigenden Stoffen aus Hefe (579).

Die insulinartigen Präparate von Wallis (556) bestanden nach seinen Angaben aus einem Polypeptid und etwas Lipoid, weiter keine Proteine, keine Peptone, kein Cholesterin, kein Histidin, kein Histamin, kein Cystin. Die Methodik, mit der er dies feststellte, wird aber leider nicht mitgeteilt.

Rohinsulin, nach der Methode Chabanier hergestellt, enthält nach la Barre (42, 43) enorme Mengen Cholin, wenigstens 10 mg pro klinische Einheit. Er weist daraufhin, dass Cholin auch Hyperglykämie erzeugen kann.

Petschacher (459) beobachtete, dass der blutzuckersenkende Stoff aus dem Pankreas sich bei einer bestimmten Verarbeitungsmethode in der l-Leuzinfraktion anhäuft, obwohl reines Leuzin selbst eben den Blutzucker erhöht.

Jetzt wollen wir kurz referieren, wie Insulin sich gegen die gewöhnlichen chemischen Eingriffe verhält.

Die Mehrzahl der physikalischen und physikochemischen Agenzien haben wir im vorigen Abschnitt schon besprochen: nur der Einfluss der Temperatur wird am besten hier behandelt.

Anfangs war man der Meinung (29, 30, 38, 452, 486), dass Insulin äusserst empfindlich ist gegen höhere Temperaturen, so dass z. B. die ganze Bereitung nach Collip unter 30° C stattfand.

Bald bemerkte man aber (51, 52, 174, 406, 425, 427), dass eine kurzdauernde (532) Erwärmung nicht schadete, und jetzt weiss man, dass man sogar ohne jeden Schaden minuten- ja stundenlang kochen kann, unter der einzigen Voraussetzung, dass man für einen geeigneten Säuregrad (etwa $p_H < 5$) sorgt (177, 202, 393, 462, 464). Neutrale Lösungen hingegen verderben beim Kochen ziemlich schnell (38, 51, 52, 179), alkalische sogar noch schneller (177, 202).

Nach Mattill c. s. (406) ist Insulin thermostabil, sowohl bei $p_H = 6,7$ bis 7,2, als bei p_H unter 4. In der zwischenliegenden Zone scheint Erwärmung auf 80° während einer halben Stunde regelmässig die Wirksamkeit zu vernichten [Paulesco (452) fand 70° schon gefährlich]. Bei $p_H = 7,2$ kann durch 30 Minuten Erwärmen auf 80° C sogar eine Wirksamkeitssteigerung auftreten; bei $p_H = 5,7$ bis 4,3 entsteht ein Niederschlag, der zum Teil die wirksame Substanz enthält, während die Flüssigkeit vollkommen wirkungslos ist, bei p_H unter 4,0 nimmt gleichfalls vielleicht die Wirksamkeit etwas zu (462, 464). Hagedorn (291) verwendet überhaupt nur Präparate, die 24 Stunden eine Temperatur von 37° bei $p_H = 7,2$ ohne Verlust überstanden haben. Nach Clough c. s. (136a) ist es sogar besser, bei der Extraktion des Pankreas schnell auf 75° zu erhitzen und schnell zu kühlen, als während einer Stunde auf 50° zu erwärmen.

Auch die von Winter und Smith gefundene Wirkung des Insulins in vitro auf das optische Verhalten von Glukoselösungen bei Anwesenheit von Leberextrakt ist nach diesen Autoren thermostabil (574, 577).

Krastel (339) erhielt sogar nach 8 Stunden Kochen am Rückflusskühler noch saure, methylalkoholische Pankreasextrakte, welche wirksam waren.

Die Furcht, dass Insulin sich in den Tropen nicht halte, hat sich denn auch als vollkommen unbegründet erwiesen (17).

Anfänglich hat man bei der Insulinbereitung auch ängstlich vermieden, an der alkalischen Seite zu arbeiten, weil man von der Hypothese ausging, bei dieser Reaktion müssten die proteolytischen Fermente schnell zur Vernichtung des Insulins führen.

Auf diese Streitfrage wollen wir weiter unten eingehen: es hat sich aber gezeigt, dass die alkalische Reaktion auch ohne Mithilfe von Fermenten schon imstande ist, Insulin unwirksam zu machen.

Zwar wird eine mässige Alkalität während kurzer Zeit ohne Schaden vertragen (51), bei etwas längerer Dauer aber verschwindet die Aktivität schnell, sogar bei Körpertemperatur (177, 202); Kochen wird äusserst schlecht vertragen (202).

Wenn es durch Erwärmen mit Alkali unwirksam geworden ist, zeigt die Ninhydrin-Reaktion keine Zunahme der α -Aminosäuregruppen. Shonle und Waldo denken an die Möglichkeit, dass das Alkali eine Gruppe von wesentlicher Bedeutung im linksdrehenden Insulin razemisiert und so unwirksam macht (493). Sie versuchten ohne Erfolg, durch Erwärmen mit Alkali unwirksam gewordenes Insulin durch nachheriges Erwärmen mit Säure wieder zu aktivieren.

Witzemann und Livshis (588, 589) haben aber die interessante Beobachtung gemacht, dass Insulin, das während 6 Tagen bei Zimmertemperatur gestanden hatte mit $N/2$ NH_4OH , zwar unwirksam geworden war, aber durch schwach Ansäuern mit HCl wieder sofort wirksam wurde. Dies haben sie dann weiter systematisch untersucht. Es wurde die soeben beschriebene Beobachtung bestätigt; $NaOH$ und KOH (0,1 N und stärker) inaktivieren Insulin irreversibel schon bei Zimmertemperatur. Na_2CO_3 (202), $NaHCO_3$ und Na_2HPO_4 haben kaum einen Einfluss auf die Aktivität des Insulins. Gemische von diesen Alkalien wirken bisweilen schwächer, bisweilen aber auch stärker zerstörend als der Summe ihrer Komponenten entspricht. So erhöht NH_4OH stark die zerstörende Wirkung von KOH . Die genannten Autoren vermuten bei der Inaktivierung einen tautomerischen Übergang der einen Form des Insulinmoleküls in die andere.

Je länger mit Ammoniak inaktiviertes Insulin mit Säure steht, je wirksamer wird es wieder. Lange dauernder Kontakt von Insulin mit Na_2CO_3 , $NaHCO_3$, oder Na_2HPO_4 schien die Krampfwirkung des Präparates abzuschwächen, obwohl das blutzuckererniedrigende Vermögen dasselbe blieb. Nach Ansäuern schien es oft, als ob die Präparate kräftiger wirksam geworden waren: wenn man ein gewöhnliches Präparat ansäuert, bemerkt man nichts von einer derartigen Wirkungsverstärkung.

Na_2CO_3 beugt meistens die Inaktivierung durch NH_4OH vor (589).

Dann ist oft von der Vernichtung des Insulins durch proteolytische Fermente die Rede gewesen. Man vermutete diese in den Pankreasauszügen, und hat daher, um ihre Wirksamkeit möglichst einzuschränken, das Pankreas mit saurem Alkohol extrahiert, und die ganze Verarbeitung bei möglichst tiefer Temperatur vornehmen lassen. Alsbald aber hat dann Roberts (475) darauf hingewiesen, dass im Pankreas nur inaktives Trypsinogen vorkommt, das nur aktiviert werden kann entweder von der Enterokinase des Darmes, oder (langsam) durch Autolyse des intakten oder mazerierten Pankreas bei Körpertemperatur.

Demgegenüber konnten Best und Macleod (52) durch Formoltitration feststellen, dass die alkoholischen Rohextrakte von Rinderpankreas proteolytische Enzyme enthalten: in den fertigen Präparaten fehlen diese aber.

Allgemein findet man die Angabe, dass die Wirksamkeit des Insulins von Pepsin und Trypsin vernichtet wird (29, 177, 179, 198, 393). Nach Untersuchungen von Shonle und Waldo (493) wirken auch Papain und Erepsin zerstörend. Auch Witzemann und Livshis (588) meinten, dies bestätigen zu können: sie verwandten aber für jeden Versuch bisweilen nur ein einziges Tier, meistens nur zwei Individuen. Ausserdem sind ihre Angaben über die verwendete Menge Insulin untereinander widersprechend. Von Reversibilität, wie bei der Alkaliinaktivierung, konnten sie nichts bemerken. Die gekochten Digestionsprodukte lähmten die Wirkung von neu zugesetztem Insulin nicht; Formoltitration der Digestionsprodukte ergab eine Erhöhung des Aminosäuregehaltes um 50%, dies kann aber ebensogut von den eiweissartigen Verunreinigungen wie vom Insulin selbst herrühren.

Auch Shonle und Waldo (493) sind augenblicklich noch weiter mit der Untersuchung der Digestionsprodukte beschäftigt.

Eins hat man aber bei all diesen Untersuchungen vergessen: es könnte auch sein, dass das Insulin unverändert aktiv fortbesteht, seine Wirksamkeit aber vollkommen verdeckt wird von der blutzuckererhöhenden Wirkung des Fermentpräparates. Um das zu entscheiden, müsste man die „digerierte“ Insulinmasse nochmals wiederholt nach den üblichen Methoden (mit Alkohol oder durch kurzdauerndes Aufkochen in saurem Milieu und nachfolgendem starken Kühlen) reinigen. Die gereinigte Substanz müsste dann vollkommen wirkungslos sein.

Die Untersuchungen von Epstein und Rosenthal (224) sprechen dafür, dass dies nicht der Fall sein wird. Bei ihren Versuchen, die mit einem sehr reinen Trypsinpräparat angestellt wurden, und wobei die eventuelle Insulinwirkung am Versuchstiere geprüft wurde, erhielten sie Ergebnisse, welche sie in folgender Form zusammenfassen: „Die Reaktion zwischen Insulin und Trypsin tritt unmittelbar ein. Setzt man dem Insulin Trypsin zu und spritzt dann sofort bei geeigneten Tieren ein, dann sieht man keinen physiologischen

Effekt. Die Reaktion wird begünstigt von einer niedrigen Wasserstoffionenkonzentration, gehemmt von einer hohen. Nachdem die Reaktion zwischen Insulin und Trypsin vollständig geworden ist, kann man das Insulin zurückgewinnen durch Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration. Insulin, gemischt mit Blut oder Serum zeigt nach Injektion seinen gewöhnlichen physiologischen Effekt, nicht aber, wenn man das Insulin mit Blut und Trypsin vermischt. Diese Reaktion zwischen Insulin und Trypsin scheint sowohl *in vitro* als *in vivo* aufzutreten. Einspritzung von grossen Dosen Insulin, innerhalb einer gewissen Zeit gefolgt von Einspritzung von Trypsin, beugt bei den Versuchstieren der Insulinwirkung vor. Dies weist darauf hin, dass die neutralisierende Wirkung des Trypsins auf Insulin im Körper stattfindet und nichtproteolytischer Natur ist. Injektion von Trypsin in die Art. pancreatica oder ihre Äste oder ins Pankreas selbst bewirkt Hyperglykämie und Glykosurie von verschiedener Dauer, abhängig von der Menge eingespritzten Trypsins. Berücksichtigt man die Nachbarschaft von zymogenem und Inselgewebe im Pankreas, so kann dies vielleicht auch zur Erklärung der Ätiologie des Diabetes beitragen“. Wir glauben auf Grund der von uns gesperrten Sätze, annehmen zu dürfen, dass hier keine „Reaktion“ eintritt, sondern die soeben erwähnte Überdeckung der Insulinwirkung durch ein „Anti-Insulin“, in diesem Falle durch Trypsin.

Insulin ist ziemlich resistent. Man kann eine Lösung verderben lassen, so dass sie trübe ist durch die Bakterien und Hefezellen, und nach Schwefelwasserstoff stinkt: doch bleibt sie unverändert wirksam (462, 464).

Das Märchen, dass Insulin in Lösung nach kurzer Zeit verdirbt, hat leider, sogar in wissenschaftlichen Kreisen, noch viele Anhänger. Doch ist dies wirklich nicht richtig, vorausgesetzt, dass man auf das p_H des Lösungsmittels achtet; auch nach unserer eigenen Erfahrung bleibt es, gelöst in $n/100$ HCl, mindestens 9 Monate, wahrscheinlich viel länger, unverändert wirksam (406, 462, 486).

In saurer Lösung ist Insulin ziemlich unempfindlich gegen schwach oxydierende oder reduzierende Agenzien (393); sehr verdünnte Lösungen von H_2O_2 oder $KMnO_4$ zerstören es aber, ebenso wie reduzierende Substanzen, wie Natriumbisulfit, SO_2 , H_2 und Stannochlorid; nach Reduktion kann es durch Oxydation nicht wieder aktiviert werden (493).

Aus dieser grossen Menge von Tatsachen hat man die Schlussfolgerung gezogen, dass die anfängliche Ansicht, dass Insulin eine komplizierte eiweissartige Substanz (177, 197, 202) bzw. eine Albumose (393) sei, wahrscheinlich unrichtig ist. Dass die Handelspräparate, z. B. das aus Schweinepankreas hergestellte Iletin-Lilly hauptsächlich aus Proteosen bestehen, mit Beimischung von Peptonen, Peptiden und Aminosäuren (493), kann man doch nicht als einen Beweis für die Eiweissnatur des Insulins betrachten, um so weniger, als das Verhältnis dieser Stoffe zueinander variabel ist.

Zwar ist es auffällig, wie auch Widmark (566) betont, dass Insulin sich, genau wie die Albumosen, auffällig gut in Methylalkohol, in Phenol und vor allem in Formamid löst.

Demgegenüber stehen die zahlreichen negativen Farbreaktionen. Unseren eigenen negativen Dialyserversuchen gegenüber stehen die positiven Ergebnisse von Shonle und Waldo (493), wodurch schwer zu sagen ist, ob es sich um einen Stoff von relativ kleiner Molekülgrösse und relativ einfacher chemischer Konstitution handelt, der nur noch mit eiweissartigen Beimengungen verunreinigt ist (588). Das darf man vielleicht auch schliessen aus der Tatsache, dass bei kräftig wirksamem Rocheninsulin Macleod (392) wiederholt das Fehlen der Biuretreaktion beobachtete, und dass diese Reaktion bei fortschreitender Reinigung der gewöhnlichen Präparate ebenfalls abgeschwächt wird.

Doch haben Fenger und Wilson (229) auch jetzt noch die Meinung, dass Insulin ein Eiweiss sei von nicht einfacherer Struktur als die der primären Proteosen.

Dieselbe Meinung vertreten auch Somogyi c. s. (501) noch in ihrer letzten Arbeit auf Grund ihres Befundes, dass bei ihren sehr weitgehend gereinigten Präparaten aus Rinderpankreas (kleinste Krampfdosis 0,02 mg!), wenn man die Lösung nicht zu verdünnt nimmt, sowohl die Biuret- als die Millonsche Reaktion noch immer deutlich geblieben war, während das Präparat sich nicht weiter fraktionieren liess. Sie glauben daher jetzt nahe am Ziel der Reinigung zu sein, um so mehr als mit verschiedenen Herstellungsverfahren verschiedene Präparate nahezu dieselben Eigenschaften und nahezu gleiche Wirksamkeit besaßen, während andererseits dieser Stoff in keinem wirksamen Präparate fehlte.

Es scheint sich bei einem Teil der Forscher die Überzeugung Bahn zu brechen, dass das Insulin vielmehr Verwandtschaft mit dem Guanidin habe² (151), weil die Guanidinderivate erstens ebenso wie Insulin glatt mit Pikrinsäure präzipitieren, zweitens physiologisch beim normalen Tiere dieselbe, wenn auch schwächere blutzuckersenkende Wirkung haben wie Insulin. Eine systematische Untersuchung der Guanidin- und Cyanamidderivate ist von Sjollem und Seekles (498) angekündigt, aber noch nicht publiziert worden. Über den physiologischen Effekt des Guanidins siehe später.

Die Reaktion von Pauly und diejenigen auf Schwefel sind nach Dudley (202) charakteristisch für Insulin vom Rinde: sie bleiben trotz aller weiteren Reinigungen unvermindert stark. Inwieweit man daraus schliessen darf auf Anwesenheit des Imidazolringes im Insulin selbst, auch bei anderen Tierarten, und speziell auf Verwandtschaft mit den wirksamen Substanzen der Hypophyse, bzw. mit Histidin, steht noch aus.

Dann haben noch Piper, Allen und Murlin (462) die Aufmerksamkeit gelenkt auf die Übereinstimmung, welche in verschiedener Hinsicht besteht zwischen Bereitungsweise und Eigenschaften von Insulin einerseits und

Hopkins' Glutathion andererseits. Doch geben sie selbst an, dass chemische Unterschiede bestehen (a. a. O. S. 205) (202).

Auch Krastel (339) hielt derartig erhaltene und im gleichen Sinne wie Insulin wirkende Substanzen für Aminbasen, bzw. „biogene“ Amine.

Bei derartiger Unsicherheit der chemischen Konstitution braucht man sich nicht zu wundern, dass eine Reihe von Forschern oder besser gesagt, von Theoretikern versucht haben, das Insulin den Fermenten einzureihen: wie wir aber schon früher (S. 67, 98) gesehen haben, liefern in vitro-Versuche dafür kaum Anhaltspunkte, und die genannten Forscher kommen denn auch fast alle zu negativen Schlüssen. Schon Wallis (556) meinte, dass seine insulinartige Substanz kein Katalysator sein könnte. Krogh (341) und ebenso Piper c. s. (462) sind der Meinung, dass Insulin zwar unentbehrlich ist für die Vorbereitung des Zuckers für den weiteren Umsatz im Körper, letzterer aber ganz ohne Mitwirkung des Insulins verläuft: auch sie verneinen die Enzymnatur desselben.

Winter und Smith (576, 577) fanden tatsächlich bei in vitro-Versuchen etwas Derartiges: Insulin allein war nicht imstande, ein Gleichgewichtsgemenge von α - und β -Glukose in normalen Blutzucker überzuführen, wohl aber, wenn ausserdem noch Leberextrakt zugesetzt wurde.

Macleod (392) meint, aus dem Verlauf der Blutzuckerkurve bei hungernden Kaninchen folgern zu dürfen, dass für diese Wirkung des Insulins anscheinend die Gesetze der Enzymwirkung gelten. Dieser Schluss scheint uns wohl doch zu weit zu gehen, wenn nicht noch andere Gründe vorhanden sind. Mattill c. s. (406) verneinen die Enzymnatur auf Grund der Thermostabilität und der Beständigkeit gegen 0,5 n HCl.

Crofton (174) meinte schon vor der eigentlichen Entdeckung des Insulins von Banting und Best gezeigt zu haben, dass das interne Pankreassekret der essentielle Teil sei eines zusammengesetzten Fermentes, dessen temperaturempfindlicher Anteil von den Gewebezellen produziert wird. Van de Put (349) kam zu ähnlichen Anschauungen, meinte aber, das Insulin bestehe aus einer essentiellen Komponente, dem eigentlichen Hormon Insulin, das bei 80° zerstört werde, und einem Kohormon, das das glykolytische Ferment aktiviere, eine Temperatur von 110° aushalte und vielleicht in allen Geweben entstehe.

Simonnet (494) denkt an die Möglichkeit, dass das Insulin genau wie das externe Pankreassekret ein Gemisch von verschiedenen Fermenten mit verschiedenem Angriffspunkt sei, was vielleicht den auseinanderlaufenden Effekt bei verschiedenen Individuen erkläre.

Neuerdings haben Cambridge und Howard (124) experimentelle Gründe für eine Dualität des Insulins beigebracht, die zugleich für die Frage der peroralen Verabreichung von grossem Interesse sind. Bei einer Reihe von Meerschweinchen und Ratten, die Insulin per os erhalten hatten, zeigte sich

aus dem respiratorischen Quotienten, dass, obwohl der Blutzucker nicht abgesunken war, der Effekt einer nachher eingespritzten Dosis Adrenalin ebenso gut gehemmt wurde wie wenn das Insulin subkutan eingespritzt war. Die genannten Autoren denken entweder an eine Änderung der Eigenschaften des Insulins bei der Resorption, oder wahrscheinlicher an eine Vernichtung einer Fraktion, welche die Zuckerverbrennung der Gewebe befördert, während eine Fraktion, welche die glykogenolytische Wirkung des Adrenalins zu neutralisieren imstande ist, unverändert in die Zirkulation übergeht. Vielleicht liegt hier auch die Erklärung, warum bisweilen bei Diabetikern perorale Verabreichung von rohem Pankreas oder Rohinsulin (Wallis) doch günstig wirkt. Dies müsste dann der Fall sein, wo die Hyperglykämie abhängig ist von gestörter Glykogenbildung, während der Zuckerverbrauch selbst normal ist. Aus theoretischen Gründen waren die Kliniker Ambard c. s. (20) gleichfalls zur Annahme einer glykogenbildenden und einer die Verbrennung anfachenden Komponente gekommen.

Ob man das Insulin ein „Hormon“ nennen darf oder nicht, darüber kann man streiten (140, 174), dies entbehrt aber jeder praktischen Bedeutung.

Es besteht ausser den Fermenten und den Hormonen noch eine dritte Gruppe von Substanzen, über deren chemische Konstitution wir nichts wissen: die Vitamine. Selbstverständlich hat man auch versucht, dabei das Insulin einzuteilen. Bei den avitaminösen Tauben von Bickel und Collazo (56) half Insulin nur symptomatisch und schnell vorübergehend, ohne die Tiere zu heilen.

Funk und Corbitt (256) arbeiteten gleichfalls mit avitaminösen Tauben: sie beobachteten eine starke Erniedrigung des pathologisch erhöhten Blutzuckers unter Einfluss von Extrakten von Hefe, gezogen auf Vitamin-D-reichem Nährboden; da diese Erniedrigung auffällig lange anhielt, denken sie, dass dieser Stoff nicht mit Insulin identisch ist, aber vielleicht eine Vorstufe bildet. Der Diabetes sollte nach ihnen vielleicht zum Teil auf dem Fehlen einer derartigen Insulinvorstufe in der Nahrung beruhen.

Desgrez, Bierry, Rathery (191) glauben beobachtet zu haben, dass Diabetiker, denen man Vitamin B verabreicht, weniger Insulineinspritzungen brauchen als zuvor (vgl. auch S. 138).

Inwieweit Verwandtschaft besteht zwischen Insulin und Schlangengift Flury (240)], ist experimentell noch gar nicht untersucht worden.

Schliesslich besteht noch die Möglichkeit, dass „Insulin“ gar kein chemisch definierter Stoff ist, sondern nur eine gemeinschaftliche pharmakologische Wirkungsweise von mehreren Stoffen (532), vielleicht beruhend auf Anwesenheit einer bestimmten Strukturgruppe in den Proteinen, den Peptonen und den Polypeptiden, welche in wirksamen Präparaten vorkommen (588

VIII. Bereitungsmethoden.

In der Einleitung haben wir gesagt, warum es unserer Ansicht nach Banting und Best im Gegensatz zu ihren Vorläufern geglückt ist, Insulin in brauchbarer Weise herzustellen.

Bei der Bereitung spielt eine grosse Rolle erstens das Insulin überhaupt, wenn auch nur in rohem Zustand, in ausreichender Menge zu erhalten, dann aber zweitens, es zu reinigen, um es aller Nebenwirkungen zu entkleiden.

Nachdem wir im vorigen Kapitel die Eigenschaften des „reinen“ Insulins, sofern man überhaupt im Augenblick hiervon sprechen kann, kennen gelernt haben, können wir jetzt auch fragen: welche von diesen Eigenschaften sind für die Darstellung und Reinigung benützt worden. Ganz kurz, um sich die Prinzipien klar zu machen, sind es die folgenden:

1. Seine Löslichkeit in Wasser und Löslichkeit in 80%igem Alkohol.
2. Seine Unlöslichkeit in 93% und höherprozentigem Alkohol, Äther, Aceton und anderen fettlösenden Stoffen.
3. Unlöslichkeit in konzentrierten Salzlösungen, und dadurch Verdrängung des Insulins durch verschiedene Salze aus der wässrigen Phase.
4. Löslichkeit bei einem bestimmten Säure- und einem bestimmten Alkali-grad, d. h. Unlöslichkeit beim sogenannten isoelektrischen Punkt.
5. Unlöslichkeit bei sehr hohen Säuregraden.
6. Unlöslichkeit in halbgesättigter wässriger Pikrinsäurelösung.
7. Adsorbierbarkeit an Kohle, Benzoesäure u. dgl.

Ferner sind, um es von Eiweiss und Fett zu befreien, folgende Eigenschaften dieser Stoffe benutzt worden:

1. Löslichkeit der Lipoide und Fette in Äther.
2. Ihre Abscheidung in fester Form in der Kälte.
3. Unlöslichkeit des Eiweiss in 80% und höherprozentigem Alkohol.
4. Teilweise Löslichkeit des Eiweiss beim isoelektrischen Punkt des Insulins.
5. Aussalzbarkeit des Eiweiss.
6. Bessere Löslichkeit des Eiweiss in Pikrinsäure, im Vergleich mit Insulin.

Endlich: um das Insulin vor dem Trypsin zu schützen benutzt man dessen Eigenschaft, nicht zu wirken bei niedriger Temperatur und umgekehrt durch hohe Temperatur vernichtet zu werden.

Alle uns bisher bekannt gewordenen Methoden beruhen auf den eben erwähnten Eigenschaften, und es ergibt sich daraus ohne weiteres, dass man eine Fülle von Verfahren durch die verschiedene Kombination bzw. Reihenfolge der sich auf diese Eigenschaften gründenden Prozeduren erhalten kann.

Neben dem wissenschaftlichen Gesichtspunkt, Insulin möglichst rein darzustellen, spielen bei diesem wichtigen Heilmittel ökonomische Über-

legungen eine wesentliche Rolle, das ist also: ein möglichst billiges Verfahren und weiter, eine möglichst grosse Ausbeute.

Unter dem Gesichtspunkt der Billigkeit hat man vor allem danach gestrebt, den Alkohol als Extraktionsmittel überhaupt zu ersetzen (s. Murlin, Dodds und Dickens) oder, wenn dies doch nicht vorteilhaft, dann mit der möglichst geringen Menge auszukommen (Robertson und Anderson) bzw. ihn quantitativ zurückzugewinnen, und endlich möglichst schnell zu arbeiten (Murlin, Sordelli und Deulofeu). Unter dem Gesichtspunkt der Ausbeute hat man gesucht durch möglichst weitgehende Zerkleinerung des Pankreas (Fischer, wir), oft wiederholte Extraktionen, höhere H-Ionenkonzentration, durch autolytisches Aufschliessen des Pankreas (wir), möglichst viel Insulin in den ersten Extrakt zu bekommen; ferner die Verluste bei der Reinigung minimal zu gestalten.

Nach dem hier Gesagten wollen wir jetzt auch aus historischem Grunde die wichtigsten Methoden ausführlich angeben, selbst wenn dadurch die eine oder andere Wiederholung nötig ist. Andererseits ist es aber natürlich nicht unsere Absicht, alle jetzt wirklich angewandten Methoden zur technischen Bereitung des Insulins mitzuteilen. Und wenn diese Absicht bestände, wäre sie nicht durchführbar, weil natürlich im Laufe der Zeiten die verschiedenen Fabrikationsstätten Modifikationen eingeführt und diese nicht veröffentlicht haben. Andererseits lohnt es sich aber auch nicht, etwa alle Methoden, die veröffentlicht sind, zu erwähnen oder gar ausführlich zu behandeln, denn es ist kein Massstab für die Wichtigkeit oder Neuheit einer Sache, dass sie publiziert wird. Wollte man etwas paradox sein, so könnte man beinahe sagen: bei technischen Methoden ist oft das Wichtigste, was nicht mitgeteilt wird. So steht es nun hier nicht, dank der ausserordentlichen Grosszügigkeit und Weitsichtigkeit der Entdecker des Insulins und des Comitées der Universität von Toronto, dem die Entdecker den Schutz des Insulins anvertraut haben.

Es sind durchaus von Beginn an die Prinzipien der Methode so mitgeteilt worden, dass einigermaßen erfahrene Arbeiter danach Insulin bereiten konnten und, was das Wesentliche ist, nicht nur genug für einige Versuche, sondern für den Allgemeingebrauch. Und auch die späteren Autoren auf diesem Gebiet wie Shaffer, Dudley, Findlay, Murlin, haben, wenn sie wesentliches mitzuteilen gedachten, dies in deutlicher Weise getan.

Andererseits, und damit kommen wir auf das eben Gesagte zurück, sind auch verschiedene Mitteilungen von weniger erfahrenen Autoren erfolgt, die irgendwelche Modifikationen für wesentlich und neu ansahen, sie publizierten, und falsche Meinungen erzeugten und verbreiteten. Denn bei einem so wichtigen und — zunächst — recht teuren Präparat beschäftigte sich mit solchen Mitteilungen nicht nur die — auch nicht immer verständnisvolle — Fachpresse, sondern auch die Tagespresse bemächtigte sich solcher Publikationen. Die mehrfachen „Entdeckungen“ rühren wohl daher, dass auch den

Wissenschaftlern nicht immer klar genug ist, welcher grosser Unterschied zwischen einem Laboratoriumsverfahren, das mit 1, 10, ja 100 kg Ausgangsstoff ausgearbeitet wird, und einem fabrikmässigen Prozess, bei dem tausende Kilos und mehr regelmässig zu verarbeiten sind, besteht. Laboratoriumsverfahren bieten oft ausgezeichnete Ausbeuten, enttäuschen aber ausserordentlich bei der Übertragung ins Grosse.

Aber auch die Laboratoriumsausbeuten sind keineswegs konstant.

Diese Frage ist von grossem wirtschaftlichen aber auch hohem wissenschaftlichen Interesse; nur genauere und an einem grossen Material ausgeführte, über lange Zeit gehende Untersuchungen können uns die wichtige Frage beantworten: welchen Vorrat besitzt der Körper an Insulin bzw. Vorstufen hierzu (s. auch Kapitel IX), und wovon hängt dieser Vorrat ab. Die wirtschaftliche Seite dieser Frage brachte aber eben voreilige Mitteilungen zustande, wo der eine behauptete, aus einem Kilo Pankreas viele tausend Einheiten herausholen zu können, wo andere es nur zu Hunderten gebracht haben. Die grössere Erfahrung zeigt, dass solche Zahlen nur Bedeutung haben, wenn sie sich gründen auf ein lange geübtes und regelmässige Auskünftgebendes Verfahren. Bei derselben Technik unter Einhaltung scheinbar aller Bedingungen ergeben sich ausserordentliche Unterschiede in der Ausbeute. Die Jahreszeit scheint eine beträchtliche Rolle zu spielen, vielleicht auch die Haltung der Tiere (ob sie im Stall oder im Freien gehalten sind, die Art der Fütterung usw.). Die Unterschiede können Tausende von Prozent betragen. Wir hatten in unserem Laboratorium schon Ausbeuten von über 4000 Einheiten aus einem Kilo und erhielten dann Ergebnisse von nur 300.

Wir haben den Eindruck, als ob die Differenzen durch Verluste bei den verschiedenen Reinigungsverfahren, auf die wir weiter unten zurückkommen, hinsichtlich der Gesamtausbeute eine untergeordnete Rolle spielen, gegenüber den Unterschieden, die sich schon im ersten Extrakt finden. Selbstverständlich, aber doch zu erwähnen, ist die Tatsache, dass zu jedem der angegebenen Verfahren eine gewisse Übung und Technik gehört, und darum oft die Ausbeute weniger von dem gewählten Verfahren abhängt, als von dem Arbeiter, der es benutzt.

Bei der Wiedergabe der verschiedenen Verfahren können wir die Methoden der Darstellung des Rohinsulins und die der Reinigung nicht ganz trennen, weil dann oft der Zusammenhang einer bestimmten Methode weniger klar werden würde.

Die erste brauchbare Methode der Insulindarstellung ist von Banting und Best (35) angegeben und in der Form, wie sie Collip weiter ausgearbeitet hat, Allgemeingut geworden (35, 149).

Da diese im Prinzip noch immer verwendet wird, sei es auch mit verschiedenen Modifikationen, wollen wir sie hier wörtlich übersetzen:

„Einer kleinen Menge 95%igem Äthylalkohol setzte man frisch zerkleinerten Pankreas in gleicher Menge zu. Das Gemisch liess man einige Stunden unter zeitweiligem Umschütteln stehen. Dann wurde es durch „Käsetuch“ koliert, und die Flüssigkeit sofort filtriert. Das Filtrat wurde mit zwei Volumina 95%igem Äthylalkohol behandelt. Es wurde festgestellt, dass durch diese Behandlung der grösste Teil des Eiweisses entfernt wurde, während der aktive Bestandteil in der alkoholischen Lösung verblieb. Nachdem die Präzipitation des Eiweisses sich innerhalb einiger Stunden vollzogen hatte, wurde das Gemenge filtriert und das Filtrat durch Destillation in vacuo bei niedriger Temperatur (18° bis 30° C) auf ein kleines Volumen eingeeengt. Die lipoiden Substanzen wurden dann entfernt durch zweimalige Extraktion mit Äther in einem Scheidetrichter, und die wässrige Lösung wieder in den Vakuumdestillationsapparat zurückgebracht, wo sie weiter eingeeengt wurde, bis sie von pastenartiger Konsistenz war; 80%iger Äthylalkohol wurde dann zugesetzt und das Gemisch zentrifugiert. Nach dem Zentrifugieren zeigten sich in der Röhre vier deutliche Schichten. Die oberste war vollkommen klar und bestand aus Alkohol, der alle aktive Substanz in Lösung hielt. Darunter folgten, der Reihe nach, eine flockige Eiweisschicht, eine zweite klare, mit Salz gesättigte wässrige und eine untere, aus Salzkristallen bestehende Schicht. Die alkoholische Schicht wurde mit einer Pipette weggenommen, und sofort in mehreren Volumina 95%igem Alkohol, oder besser absolutem Alkohol, ausgegossen. Es wurde gefunden, dass diese Schlussbehandlung mit hochprozentigem Alkohol den aktiven Bestandteil zusammen mit anhängenden Stoffen präzipitieren liess. Einige Stunden nach dieser Schlusspräzipitation wurde der Niederschlag auf einem Buchnerfilter gesammelt, in destilliertem Wasser gelöst, und dann in vacuo bis zur gewünschten Stärke eingeeengt. Dann wurde es durch ein Berkefeldfilter filtriert, wurde auf seine Sterilität geprüft und als fertiges Präparat der Klinik übergeben.“

Im Kleinbetrieb gab diese Methode befriedigende Resultate, bei Versuchen, Insulin in grösseren Mengen herzustellen, liess sie im Stich; und als man wieder zur Bereitung in kleinen Portionen zurückkehrte, schlug auch die alte Methode fehl. Daher wurde eine Modifikation ausgearbeitet, wobei das Pankreas mit Aceton unter Zusatz von höchstens eins pro Mille Ameisen- oder Essigsäure ausgezogen wurde, während die weitere Verarbeitung der vorher beschriebenen nahezu gleichkam. Diese Methode ist auch eine Zeitlang von der Lilly-Fabrik verwendet worden (53).

Dann haben Moloney und Findlay (s. S. 231) ihre Benzoesäureadsorptionsmethode ausgearbeitet, welche die grossen Massen Alkohol überflüssig machte und ein viel reineres, weniger toxisches Präparat lieferte. Bisweilen aber verursachte die Filtration des Benzoesäure-Präzipitats grosse Schwierigkeiten (53).

Ende Juli 1923 war die in Toronto gebräuchliche Methode folgende (53):

Frishes Rinderpankreas, gemahlen und gewogen, lässt man in irdenen Töpfen mit dem gleichen Gewicht denaturierten Alkohol (10% Methyl-, 90% 95%igen Äthylalkohol), während 3 Stunden unter langsamem Schütteln extrahieren. Der Alkohol war angesäuert mit 1,3% Essigsäure. (Die Säure hemmt die Wirkung der proteolytischen Enzyme und erleichtert nachher die Trennung von flüssiger und fester Substanz. Auch H_2SO_4 ist brauchbar, färbt aber die Präparate dunkler.)

Nach dem Extrahieren zentrifugiert man: der Rückstand wird nochmals ausgezogen mit 60%igem Alkohol in einer Menge gleich der soeben entfernten. Nach 3 Stunden wird wiederum abzentrifugiert: man vereinigt die beiden Flüssigkeiten und neutralisiert mit NaOH und Lackmus als Indikator (man kann, obwohl es nicht nötig ist, abkühlen auf 0° C). Beim Kühlen trennt sich eine Trübung ab, die durch Papier abfiltriert wird. Das Filtrat wird im Vakuum bei einer Temperatur unter 30° C eingeengt bis auf etwa $\frac{1}{20}$ seines Volumens. Nach der Destillation wird schnell erhitzt auf 55° C, das Fett scheidet sich ab. Dieses Fett enthält etwa $\frac{1}{4}$ der aktiven Substanz, welche durch Auflösen des Fettes in Äther und Extraktion des Rückstandes mit 80%igem Alkohol zurückgewonnen werden kann. Die Destillation direkt bei höherer Temperatur durchzuführen ist unerwünscht, weil sich dann Eiweiss abscheidet, das Insulin adsorbiert hält, und ausserdem, weil solche Präparate sich zu stark färben.

Die konzentrierte Flüssigkeit wird dann, nach dem Prinzip von Shaffer (S. 219), halbgesättigt mit Ammonsulfat (37 g pro 100 ccm). Nach einer halben Stunde wird die abgeschiedene Masse entfernt; man lässt sie auf gehärtetem Filtrierpapier 3–6 Stunden abtropfen, und setzt dann so viel 95%igen Alkohol zu, bis die Endkonzentration 75–80% Alkohol beträgt. Meistens braucht man nur ganz wenig zuzusetzen; dies hängt vom Wassergehalt ab. Durch Filtration wird das Eiweiss entfernt. Das Filtrat wird gemischt mit dem aus der Fettfraktion erhaltenen, und dann ein gleiches Volumen Äther zugesetzt; das Ganze lässt man nachts über stehen, giesst am nächsten Tage ab, trocknet den Niederschlag in vacuo, und behandelt ihn dann mit verdünntem Ammoniak bis $pH = \pm 8$ ist: dabei ist das Insulin vollkommen löslich. Dann bringt man das pH auf 3,5. Der Farbstoff scheidet sich ab und wird abfiltriert. Das Filtrat kann rein genug sein für den klinischen Gebrauch: besser ist jedoch es noch einmal zu reinigen nach der isoelektrischen Methode (s. S. 231), nach der Pikratmethode (s. S. 229), oder mit Holzkohle (s. S. 232). Das gereinigte Präparat wird aufgelöst und eventuell verdünnt mit saurem Wasser ($pH = 2,5$); nach Eichung setzt man 1‰ Trikresol zu, filtriert durch ein Mandler-Filter, eicht dann nochmals und füllt es in Fläschchen, nach Kontrolle der Sterilität.

Die in der Toronto-Patentschrift (1) mitgeteilte Methode stimmt mit der soeben beschriebenen im wesentlichen vollkommen überein. Sie lautet:

Frishes Rinderpankreasdrüsen, von denen Fett und Bindegewebe entfernt sind, werden zerkleinert und mit dem gleichen Gewicht 80%igem Alkohol, der 0,3% absolute Schwefelsäure enthält, vermischt. Das Gemisch wird während 3 Stunden fortwährend geschüttelt. Dann wird es auf Faltenfilter in Glastrichter gegossen, und das Filtrat aufgefangen. Der Rückstand wird nochmals 3 Stunden mit 60%igem Alkohol extrahiert, wiederum in derselben Weise abfiltriert, und die beiden Filtrate vereinigt; das Gemisch wird gegen Lackmus neutralisiert und auf 0° C abgekühlt. Die trübe Flüssigkeit wird filtriert, und das Filtrat in vacuo bis etwa $\frac{1}{15}$ seines Volumens eingeengt bei Temperaturen unter 30° C. Die eingeengte Flüssigkeit bringt man in einen Scheidetrichter, säuert an bis zu 1% absoluter Schwefelsäure und setzt Ammonsulfat bis zur halben Sättigung (37 g pro 100 ccm eingeengte Flüssigkeit) zu. Nach einer Stunde lässt man die klare Flüssigkeit ablaufen vom Eiweiss, das sich abgeschieden hat und zum Teil an der Oberfläche schwimmt, zum Teil an den Wänden des Scheidetrichters klebt. Diese Eiweissmasse im Scheidetrichter (welche das Insulin enthält) wird behandelt mit so viel 95%igem Alkohol, dass die Alkoholkonzentration im Gemisch zwischen 70 und 80% liegt. Dieses Gemisch wird filtriert, und im alkoholischen Filtrat (das das Insulin enthält) wird durch Zusatz des gleichen Volumens wasserfreien Äthers ein Niederschlag erzeugt. Nach 6 Stunden wird die Flüssigkeit abgegossen vom

Niederschlag; dieser wird in vacuo getrocknet und gut mit angesäuertem Wasser (p_H 4,7 bis 5,0), welches 0,3% Kresol enthält, gewaschen, und damit die Nacht über stehen gelassen. Dann wird die obenstehende Flüssigkeit abgegossen, und das Präzipitat durch Zentrifugieren getrocknet. Dieser Niederschlag wird aufgenommen in angesäuertem Wasser, (das 0,3% Kresol enthält, das p_H auf 3,7 eingestellt, und das Ganze filtriert. Das Filtrat, welches das Insulin enthält, wird gereinigt durch eine sogenannte isoelektrische Präzipitation, d. h. man stellt die Acidität auf $p_H = 4,7$ ein und lässt die Lösung im Eisschrank 10—24 Stunden stehen. Dann filtriert man: der Niederschlag wird in saurem Wasser ($p_H = 2,5$) aufgenommen, filtriert, und mit angesäuertem Wasser bis zur gewünschten Stärke verdünnt. Dann wird in der üblichen Weise geeicht und soweit nötig verdünnt mit sterilem destilliertem Wasser von „richtigem“ p_H (gewöhnlich = 2,5) bis zur gewünschten Stärke; man setzt 0,1% Kresol zu, filtriert durch einen sterilen Mandler-Filter, eicht die Flüssigkeit nochmals physiologisch und füllt sie in Fläschchen. Hie und da wird ein Fläschchen aus der Reihe genommen und der Inhalt auf Sterilität geprüft, ehe der Rest für den Verkauf freigegeben wird.

Auch die Methode, welche die Firma Lilly, eine der grössten Hersteller, in ihrer Patentbeschreibung (2) angibt, beruht auf denselben Prinzipien. Sie lautet wie folgt:

Frische tierische Pankreasdrüsen, von denen Fett und Bindegewebe entfernt worden sind, werden gemahlen, und extrahiert mit $1\frac{1}{2}$ Volumina 95%igem Alkohol, der 0,11% absolute Schwefelsäure enthält. Das Gemisch wird während 2 Stunden geschüttelt und dann filtriert. Der Rückstand wird nochmals mit einem gleichen Volumen 70%igem Alkohol, der 0,11% absolute Schwefelsäure enthält, ausgezogen. Diese Flüssigkeit wird wieder abfiltriert, und das Filtrat zum ersten Filtrat gefügt. Das Gemisch wird auf 0° C gekühlt und filtriert; dann wird das Filtrat bis auf etwa $\frac{1}{25}$ seines Volumens konzentriert, filtriert, und das Filtrat in ein 5,3-fach so grosses Volumen 95%igen Alkohols gegossen. Dieses Gemisch lässt man mehrere Stunden stehen, filtriert dann und bringt den Alkoholgehalt des Filtrats auf 93%. So lässt man es mehrere Tage stehen, sammelt danach den entstandenen Niederschlag und löst ihn in destilliertem Wasser. Das Präparat wird weiter gereinigt durch Präzipitieren beim isoelektrischen Punkte, wobei das p_H auf annähernd 4,7 eingestellt wird. Dann stellt man die Flüssigkeit in den Eisschrank. Der entstandene Niederschlag wird in angesäuertem Wasser ($p_H = 2,5$) aufgelöst, filtriert, und falls nötig, nochmals niedergeschlagen und aufgelöst. Dann wird die Flüssigkeit bis etwa zur gewünschten Stärke verdünnt, durch ein Berkefeld-Filter filtriert, geeicht und auf Sterilität untersucht.

Von Robertson und Anderson (476) ist eine Modifikation angegeben worden, wo dem 50% Alkohol enthaltenden Pankreasextrakt soviel anhydriertes bzw. getrocknetes Natriumsulfat ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) zugesetzt wird, dass $\frac{4}{5}$ des Wassers weggenommen werden. Die Alkoholkonzentration wird so etwas über 80%, ähnlich wie bei Collips Methode, aber in einem viel kleineren Volumen. Daher braucht man viel weniger Alkohol. Die weitere Verarbeitung gleicht sehr der jetzigen Toronto-Methode. Die Methode soll ökonomisch sein, wenig Zeit fordern und gute Ausbeuten liefern. Das Natriumsulfat kann durch Glühen vollkommen regeneriert und aufs neue verwendet werden.

In der französischen Literatur begegnet man oft dem Namen Insulin-Chabanier. Dies wird in folgender Weise hergestellt (130).

Pferdepankreas, möglichst frisch, reinigen, zermahlen, das doppelte Gewicht Alkohol von 95° zusetzen. Neutralisieren mit HCl, dann ansäuern bis zu etwa 1,2%. 1 Stunde auf Wasserbad bei 60° (Zerstörung des externen Sekrets) unter fortwährendem Rühren,

Abkühlen, filtrieren durch Gaze, auspressen. Danach durch Papier filtrieren. Das klare gelbe Filtrat bei Portionen von 300 ccm in Kolben von 2 l bringen und unter reduziertem Druck destillieren. Wenn aller Alkohol weg ist, ist es eine dunkle, trübe, fast pastöse Masse. Filtrieren durch Papier. Das blassgelbe, klare Filtrat wird durch eine Kerze filtriert zur Sterilisation und dann sofort vor dem Gebrauch genau mit n/10 NaOH neutralisiert. Es soll sehr wirksam und nicht schmerzhaft sein.

Prinzipiell neues bietet diese Methode also nicht, ebensowenig wie die Methode-Boivin (99), welche sich nur darin von der vorigen unterscheidet, dass nicht in vacuo, sondern im halbgeöffneten Trockenschrank eingengt wird und dann das Insulin nach dem Shaffer-Prinzip erst mit Ammonsulfat ausgesalzen wird.

Eine andere Methode, um den Alkohol an Stelle durch die lästige und zeitraubende Destillation in vacuo durch Äther los zu werden, ist kurz von Sordelli und Deulofeu (503) angegeben. Die wässerigen Alkoholauszüge werden mit Äther entmischt, die wässrige Phase angesäuert und gesättigt mit Ammonsulfat. Der Niederschlag wird abfiltriert und weiter verarbeitet. Alkohol und Äther können zurückgewonnen werden. Diese Methode braucht grosse Mengen Äther und ist daher wieder verlassen worden.

Die letztgenannte Methode benutzt auch das Prinzip der sogenannten Shaffer-Methode, welche zuerst von Doisy, Somogyi und Shaffer (197) veröffentlicht wurde.

Durch Shaffer kam wirklich ein neues Prinzip in die Darstellung des Insulins, ohne dass allerdings alle Bereitungsverfahren sich bisher diesem Prinzip angeschlossen haben.

Das Wesentliche ist, dass Shaffer bei dieser Methode bewusst benutzt, was schon in der ersten von Collip angegebenen technischen Bereitungsweise in nuce enthalten war, nämlich: Insulin aus der wässerigen Phase durch Salze hinauszudrängen. Collip hatte schon gefunden, dass sich Insulin in Gegenwart von Salzen vom Eiweiss zum Teil trennt (s. oben S. 216). Er hat da bereits angegeben, dass man drei Phasen erhalten kann, nämlich eine hauptsächlich salz- und wasserenthaltende, zweitens eine mehr flockige Eiweiss-Schicht, drittens eine alkoholische Schicht, die im wesentlichen das Insulin enthält. Shaffer nimmt nun die Trennung vom Eiweiss und das Hinausdrängen des Insulins erst vor, wenn die Lösung schon ziemlich weit eingedampft ist und nur noch wenig Alkohol enthält, und zwar durch Zufügen von Ammonsulfat. Es gelingt ihm so, das Insulin in die oberste Schicht zu bekommen, wobei es sich meistens in feinen Flocken absetzt. Im einzelnen ist seine Methode die folgende (die erste Aufgabe betraf nur die Herstellung eines Präparates für Laboratoriumszwecke):

Zu je einem Kilo fein zermahlenen Pankreasbrei setzt man etwa 40 ccm 10 N H₂SO₄ (oder 40 ccm konzentrierter Salzsäure), 1200 ccm 95%igen Alkohol und 300 ccm Wasser zu. Während 4—12 Stunden wird von Zeit zu Zeit gut gerührt bei Zimmertemperatur. Dann wird durch Tuch koliert, und die Flüssigkeit so vollkommen wie möglich abgepresst. Der Rückstand wird aufs neue mit einem Liter oder mehr 60%igem Alkohol ausgezogen, und

wiederum gesiebt und abgepresst. Zu den vereinigten Flüssigkeitsportionen (sehr trübe) setzt man NaOH zu, bis sie nur noch schwach sauer gegen Lackmus reagieren. Man filtriert durch Papier, und dampft das Filtrat in platten Trögen in einem warmen Luftstrom ein (Temperatur der Flüssigkeit 20—30° C), bis aller Alkoholgeruch verschwunden ist oder bis das Volumen auf $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{10}$ des ursprünglichen reduziert ist. Dann wird die Flüssigkeit ohne Filtrieren in einen Scheidetrichter gegossen; die Tröge spült man mit wenig Wasser nach. Nach schwachem Ansäuern mit HCl oder H₂SO₄ setzt man zu je 100 ccm Flüssigkeit 40 g festes Ammonsulfat zu, und schüttelt, bis es gelöst ist. Nach Stehenlassen während einiger Stunden steigt der flockige Niederschlag zur Oberfläche und verschmilzt zu einer kompakten Schicht. Man lässt die untere flüssige Schicht so vollkommen wie möglich ablaufen und den Rückstand im Scheidetrichter austropfen. Ist alle Flüssigkeit abgelaufen, so giesst man in den Scheidetrichter 75%igen Alkohol (etwa 50 ccm für jedes verwandte Kilo Pankreasbrei). Dieser löst das Insulin. Lösung und unlöslicher Rückstand werden mit kleinen Mengen 60%igen Alkohol in Zentrifugiergläsern gespült und zentrifugiert. Die klare alkoholische Lösung wird abpipettiert, und dann 8—10 Volumina 95%igen oder absoluten Alkohol zugesetzt. Die Reaktion des Gemisches wird auf p_H 5—6 eingestellt. Nachdem es einige Stunden gestanden hat, filtriert man. Der Niederschlag wird in Wasser mit Hilfe kleiner Mengen Säure oder Alkali gelöst. Für den klinischen Gebrauch muss das Präparat erst weiter gereinigt werden durch wiederholtes Präzipitieren beim isoelektrischen Punkt, durch Ammonsulfat und durch Alkohol.

Die Ausbeute dieser Methode war gewöhnlich eine „1 kg-Kaninchen-Einheit“ pro 2 g Pankreasbrei nach den genannten Autoren, gelegentlich auch mehr.

Eine Modifikation der Shaffer-Methode wurde von Fischer (233, 236) in Carlsons Laboratorium ausgearbeitet.

Rinderpankreas wird direkt nach dem Schlachten zerschnitten und ins Wasser-Säure-Alkoholgemisch gebracht, schnell zum Laboratorium transportiert und dort, nachdem die Flüssigkeit abgegossen, durch eine Fleischmühle getrieben. Dann wird die Masse in der Kühlmaschine, in der Absicht durch das Gefrieren und Auftauen die Zellmembrane zu sprengen, auf -10° C abgekühlt und 12—24 Stunden gefroren gehalten. Dann lässt man bei Zimmertemperatur auftauen, wonach man die zuerst abgegosse bei Zimmertemperatur aufbewahrte Flüssigkeit wieder zusetzt, und gegebenenfalls noch weiter anfüllt bis zur pro Kilo Pankreas benötigten Menge. Weiter folgt man dann der Methode Doisy-Somogyi-Shaffer ziemlich genau bis zum Ende. Bei der letzten Präzipitation mit 9 Volumina Alkohol kann man einen giftigen Bestandteil entfernen, wenn man zuerst 1 Volumen Alkohol zusetzt, den dann sich abscheidenden grauen Niederschlag entfernt, und erst dann den Rest des Alkohols zusetzt (oder etwas mehr, z. B. 10 Volumina).

Die Ausbeute betrug (bei nur 12 Präparaten!) gewöhnlich 650—800 Einheiten pro Kilo Pankreas. Pankreas von alten Rindern lieferte nur etwa 100 Einheiten pro Kilo, Kalbspankreas hingegen 1000 Einheiten pro Kilo.

Auch die jetzige Toronto-Methode (53) benützt zum Teil das Prinzip der Shaffer-Methode, wie wir schon gesehen haben (S. 217).

In allerletzter Zeit ist eine „einfache Bereitungsweise von Insulin“ von Sjollemas und Seekles (497) mitgeteilt worden. Wir würden sie an dieser Stelle nicht erwähnen, wenn sie nicht durch den Ort ihrer Publikation die Aufmerksamkeit, wenigstens in Holland, auf sich gelenkt hätte.

Die Methode besteht in folgendem: Pankreas wird auf die übliche Weise gemahlen usw., in salzsaurem Alkohol extrahiert, der Extrakt statt durch Abpressen durch Zentrifugieren gewonnen. Prozedur wiederholt und dabei, wie in anderen Methoden auf p_H geachtet. Der Extrakt auf etwa $\frac{2}{3}$ bei $\pm 30^\circ$ in vacuo im Kupferkessel eingedampft unter Durchleitung von Wasserstoff. Durch Schütteln mit Ammonsulfat werden 2, manchmal auch 3 Schichten erhalten, in welchem letzterem Fall nochmals filtriert werden muss, um die trübe Zwischen-

schicht zu entfernen. Die oberste Schicht, ungefähr $\frac{2}{3}$ des Ganzen, wird zum zweitenmal auf etwa die Hälfte eingedampft und wieder mit Ammonsulfat gesättigt, dabei bilden sich aufs neue 2 Schichten, von denen die oberste, weniger als die Hälfte des letzten Volumens, zum drittenmal auf die Hälfte eingedampft wird. Jetzt wird zum drittenmal Ammonsulfat zugesetzt und eine Schicht, die etwas weniger als $\frac{1}{3}$ des letzten Volumen ist, erhalten. Diese wird bei -20° gehalten, der Niederschlag abzentrifugiert, die klare dunkelbraune Flüssigkeit mit absolutem Alkohol versetzt; dabei und nach dem Stehen bei -20° bildet sich ein Niederschlag, der abzentrifugiert wird. Diese Prozedur, Zusatz von absolutem Alkohol, Stehen lassen bei -20° , Abzentrifugieren, wird 3 mal wiederholt. Zuletzt wird die Lösung auf etwa das 15fache des Volumens mit absolutem Alkohol verdünnt und 48 Stunden bei 0° gehalten. Insulin scheidet sich dann in der Form von weissen Flocken ab. Die Ausbeute war 140000 Einheiten für 100 kg Rinderpankreas und 0,8 mg des Präparates enthalten 3—4 alte Einheiten (siehe Definition V).

Wir sind nicht imstande, hierin wesentliche Änderungen gegenüber dem Shaffer'schen Verfahren wie auch den sonst in den verschiedenen Fabriken und Laboratorien benutzten Prozeduren zu sehen, höchstens einige Modifikationen, die wir nach Erfahrungen in unserem Laboratorium als technisch weniger praktisch befunden haben, wie z. B. 1. den Zusatz von Ammonsulfat zu einem Zeitpunkt, wo das Flüssigkeitsvolumen noch sehr gross ist, 2. die Abscheidung bei einer ausserordentlich tiefen Temperatur (-20°), 3. das Zentrifugieren des ersten Pankreasextraktes. Nr. 2 und 3 sind bei kleinen Mengen bequem, jedoch bei fabrikmässiger Darstellung von Hunderten von Kilos sehr schwierig und überflüssig. 4. Das wiederholte Eindampfen. 5. Der Alkoholverbrauch scheint keineswegs geringer als bei anderen Methoden. Die kleineren Modifikationen scheinen nach unseren Erfahrungen umständlicher als die meisten geübten Methoden.

Indessen wäre all diese Kritik hinfällig, wenn die Ausbeute höher und das Verfahren billiger. Bei der Ausbeute muss, wie schon oben erwähnt, die regelmässige Ausbeute und nicht die einmalige wesentlich höher als bei anderen Verfahrensweisen sein. Hiervon wird aber nichts mitgeteilt, sondern nur die oben erwähnte Zahl der Verarbeitung von 100 kg.; und was den Preis anlangt, so ist die Zahl, die die Verfasser selbst hierfür angegeben haben und wobei jeder ökonomische Vorteil ausgeschlossen sein sollte, bereits durch den Weltmarktpreis, in den natürlich solche Vorteile einkalkuliert sind, unterschritten.

Die neueste Modifikation, welche von Shaffer und seinen Mitarbeitern selbst (501) mitgeteilt worden ist, und ein ausserordentlich reines Präparat liefern soll, ist folgende (die Autoren geben selbst an, dass sie nicht für Grossbetrieb geeignet ist, sie verwenden sie als Praktikum-Übung für die Studenten!):

Frisches Rinderpankreas wird fein zermahlen durch zweimalige Passage durch eine Fleischmühle. Man setzt 20 oder 30 ccm 10 n H_2SO_4 pro Kilo Pankreasbrei zu und vermischt diese durch Rühren, bevor die Masse zum zweiten Male durch die Mühle getrieben wird, vor allem, wenn das Zermahlen langsam erfolgt; mit einer von einem Motor schnell getriebenen Mühle ist dies weniger nötig. Ist die Säure schon zugesetzt, dann fügt man 1500 ccm 95%igen Alkohol zu; wo nicht, dann gibt man diese Menge Alkohol + 20 oder 30 cc 10 n-Säure pro Kilo Pankreasbrei hinzu. Es wird gut gerührt. Nach 4—12 Stunden Stehen bei Zimmertemperatur unter gelegentlichem Rühren wird das Gemisch (ohne Neutralisation) auf grosse Filter gegossen. Es filtriert schnell, doch ist es empfehlenswert, es während der Nacht austropfen zu lassen. Der Filtrerrückstand wird in einer Handpresse ausgepresst und die erhaltene Flüssigkeit filtriert. Wiederholung der Extraktion des Rückstandes mit 60—70%igem Alkohol erhöht die Ausbeute ein wenig. Die kombinierten Filtrate (insgesamt, ohne Zusatz der Zweitextrakte, etwa 2100 ccm pro Kilo) werden bei niedriger Temperatur eingeeengt. Dazu benutzten die Autoren einen Tunnel, wodurch ein warmer Luftstrom streicht ($40-45^{\circ} C$), der durch einen Ventilator erzeugt wird. Darin werden die Filtrate in gläserne photographische Entwickelschalen gestellt. Während des Abdunstens ist die Temperatur der

Flüssigkeit in ihrem Apparate 25—30° C. Wenn der Alkoholgeruch weg ist und das Volumen bis auf ein Zehntel oder weniger zurückgebracht ist, wird die Flüssigkeit auf feuchte Papierfilter gegossen, welche das Fett leicht zurückhalten, ohne verstopft zu werden. (Bisweilen muss man Wasser zusetzen während des Abdunstens, um zu starke Konzentration, bevor aller Alkohol weg ist, zu vermeiden.) Die Filtration erfolgt schnell, und die abgetrennten Fette und Proteine werden so leicht entfernt. Schalen und Filter werden wiederholt mit kleinen Mengen Wasser nachgespült, bis das klare Filtrat ein Volumen von 200 ccm pro Kilo Pankreas hat. (Der Rückstand auf dem Filter ist der Mühe des Verarbeitens auf Insulinreste nicht wert; weiteres Einengen ist nicht empfehlenswert, weil sonst beim Auswaschen zusammen mit den Verunreinigungen zu viel verloren geht.)

Dem klaren, aber gefärbten Filtrate (dessen p_H zwischen 2,5 und 3,1 liegt) setzt man 40 g $(NH_4)_2SO_4$ pro 100 ccm zu und löst dies unter Rühren. Nach einigen Stunden Stehen im Eisschrank friert das Präzipitat zusammen und klebt an Wänden und Rührstab, so dass man die Flüssigkeit ohne Verlust abgiessen kann. Den braunen gummiartigen Niederschlag löst man in Wasser auf und verdünnt die Flüssigkeit bis auf etwa 100 ccm pro kg Pankreasbrei; dann schlägt man es wiederum nieder durch Zusatz von $\frac{2}{3}$ Volumen gesättigter $(NH_4)_2SO_4$ -Lösung. Nach einigen Stunden Stehen im Eisschrank friert wieder der (jetzt viel geringere) Niederschlag zusammen, haftet an den Wänden, die Flüssigkeit wird abgegossen, und falls nötig, zentrifugiert, um Verlust von kleinen Teilchen der klebrigen Substanz zu vermeiden. Der Niederschlag wird in Wasser gelöst unter Zusatz von genügend 0,1 n NH_4OH , um die Reaktion eben deutlich gelb gegen Methylrot (p_H 6—8) zu machen: darin löst sich das „Insulin-Protein“, aber, wenn die Reaktion nicht zu alkalisch ist, bleibt das verunreinigende „ p_H 8-Protein“ (vgl. S. 200) ungelöst. Die Lösung wird zentrifugiert und vom dunkelgefärbten Niederschlag abgegossen; wenn man will, kann man letzteres nochmals mit Wasser extrahieren. Die vereinigten Lösungen verdünnt man bis zu etwa 100 cc für jedes Kilo Pankreas. Wenn man dann verdünnte Essigsäure zusetzt bis das p_H etwa 5 beträgt (A) (ungefähr halbwegs des Farbenumschlags von Methylrot), dann bildet sich ein flockiger Niederschlag, der nach einigen Stunden abzentrifugiert wird, dann gewaschen mit Wasser von $p_H = 5$, und gelöst wird in einem geringen Überschuss von 0,1 n HCl. Aus der Flüssigkeit A setzt sich bei weiterem mehrtägigen Stehen im Eisschrank und Zusatz von mehr Essigsäure gewöhnlich noch mehr Präzipitat ab, das wirksam ist, darum entfernt und aufgelöst und der Hauptportion zugefügt wird. Obwohl diese Lösung stark gefärbt ist und als Verunreinigung etwas „ p_H 4-Protein“ enthält, ist sie wahrscheinlich rein genug für experimentelle oder klinische Arbeiten. Jedes Kilo Pankreasbrei liefert etwa 50—100 mg dieses Stoffes; grössere Ausbeuten enthalten wahrscheinlich hauptsächlich mehr „saures Protein“. Besser ist, es nochmals wie folgt zu reinigen: Der obengenannte Niederschlag, der sich nach Zusatz von Essigsäure bis zu etwa $p_H = 5$ gebildet hat, wird ein oder zweimal mit Wasser in der Zentrifuge gewaschen, um Sulfate zu entfernen. Dann wird er gelöst in einem abgemessenen Volumen etwa 0,1 n Essigsäure (5 oder 10 ccm pro Kilo ursprünglichem Pankreas). Dann setzt man genau 20% von seinem Äquivalent NaOH zu. Dieses Gemisch ($\frac{1}{5}$ neutralisierte Essigsäure) gibt ein p_H von nahezu 4.—, bei welcher Reaktion das „Insulinprotein“ löslich ist, während das saure Protein zum grössten Teile niederschlägt. Nachdem es einige Stunden im kalten Zimmer gestanden hat, wird der Niederschlag abzentrifugiert und durch erneutes Zentrifugieren mit weniger Wasser gewaschen (die Pufferlösung im Niederschlag genügt, um das p_H des Waschwassers auf der erforderlichen Höhe zu halten). Den zusammengewaschenen, oft opaleszenten, obenstehenden Flüssigkeiten setzt man dann eine Menge NaOH zu, genau gleich dem halben Äquivalent der verwendeten Essigsäure. Das gibt eine $\frac{7}{10}$ neutralisierte Essigsäurelösung, dessen p_H etwa 5 beträgt. Bei dieser Reaktion scheidet sich sofort das „Insulinprotein“ ab und dies kann man (nachdem es einige Tage im Eisschrank gestanden hat, um eine möglichst grosse Ausbeute zu erlangen) durch Zentrifugieren sammeln, mit destilliertem Wasser ein- oder zweimal waschen und schliesslich unter Zusatz von einigen Tropfen verdünnter Salzsäure in Wasser lösen. Falls nötig, kann man dieses Reinigungsverfahren noch einmal wiederholen. Die Ausbeute beträgt 1500—2500 klinische Einheiten pro Kilo Pankreas.

In derselben Weise in 80–95%igem Alkohol mit Spuren Alkali und Säure fraktioniert präzipitierend, erhält man noch reinere Präparate.

Fenger und Wilson (229) haben sich bemüht, die Ausbeute möglichst zu erhöhen, und dazu die folgende Methode ausgearbeitet:

Rinder-, Schweins- oder Schafspankreas, möglichst frisch, wird möglichst fein zermahlen, und fällt dann sofort in saurem Alkohol; das Pankreas braucht nicht mehr vorher gekühlt zu werden, gefrieren ist sehr schädlich.

5 kg zermahlene Pankreas lässt man stehen mit einem Gemisch von 6000 cc 95% zu diesem Zweck speziell denaturierten Alkohol (Äthylalkohol 100 Teile, Methylalkohol 10 Teile), 1500 cc destilliertem Wasser, und 200 cc konzentrierter Salzsäure (S.G. 1,20) bei Zimmertemperatur während 4 Stunden unter wiederholtem Rühren. Längerdauernde Extraktion erhöht die Ausbeute nicht: nur verursacht sie ein Schleimigerwerden der Masse, wodurch diese sich schlechter auspressen und filtrieren lässt. Die Masse wird gesiebt, und der Rückstand in einer geeigneten kräftigen Presse ausgepresst. Der Presskuchen wird nochmals ausgezogen während 2 Stunden mit 70%igem Alkohol; wiederum koliert man und presst den Rückstand aus. Die Reaktion der vereinigten Flüssigkeiten bringt man mit NaOH-Lösung auf $p_H = 2,5$ und filtriert. Der Alkohol wird in vacuo abgedunstet bei Temperaturen unter 30°C . Die restierende Flüssigkeitsmenge wird gemessen und ohne Filtration durch Wasserzusatz auf 1250 ccm gebracht. 500 g feinkörniges Ammonsulfat werden zugesetzt, und man rührt bis alles Salz aufgelöst ist. Dann filtriert man und wäscht den nassen Niederschlag mit 250 ccm 80%igen Alkohol, der 0,14% HCl enthält. Man zentrifugiert, sammelt die klare Flüssigkeit, und extrahiert den Rückstand nochmals mit derselben Menge angesäuerten Alkohols. (Der Insulinniederschlag enthält nicht genügend Säure, um ihn in 80%igem Alkohol vollkommen löslich zu machen, daher muss man den Alkohol etwas ansäuern. Dies gilt sowohl hier als in späteren Stadien der Bereitung, überall wo Insulin in Alkohol gelöst werden soll.) Die Reaktion der vereinigten Flüssigkeiten wird auf $p_H = 5,5$ eingestellt, man setzt $6\frac{1}{2}$ Volumina 95%igen Alkohol zu und lässt es wenigstens 48 Stunden in der Kühlzelle stehen (Insulin ist vollkommen löslich in angesäuertem 93%igem Alkohol; man muss die Einstellung des p_H sorgfältig vornehmen und dem sich bildenden Niederschlag alle Zeit geben, um auszuflocken. Achtet man darauf nicht, dann leidet die Ausbeute wesentlich.) Man filtriert den Niederschlag ab und entfernt den grössten Teil des Alkohols durch Abdunsten. Der Niederschlag wird in 500 ccm destilliertem Wasser, das 0,14% HCl enthält, gelöst, und die Lösung filtriert. Dann setzt man 150 g fein kristallisiertes Kochsalz zu und rührt bis es aufgelöst ist. Flockt der Niederschlag nicht sofort vollkommen aus, dann setzt man vorsichtig ein wenig Natronlauge zu, bis die Flockung vollständig ist, und filtriert. Bei dieser zweiten Aussalzung wird unter anderem auch die Hauptmenge des Ammonsulfats entfernt. Der gut ausgetropfte, aber noch feuchte Niederschlag wird aufgenommen in 250 cc 80%igen Alkohol, der 0,14% HCl enthält, und die Lösung filtriert. Dann stellt man das p_H auf etwa 5,5 ein und setzt 8 Volumina 95% Alkohol zu. Man lässt den Niederschlag sich in der Kühlzelle absetzen, bis die obestehende Flüssigkeit vollkommen klar ist (dies fordert 2–3 Tage). Der Niederschlag wird gewaschen mit 95%igem Alkohol bis das Filtrat frei von Chloriden ist, und bei Zimmertemperatur in vacuo getrocknet. Die feuchten Insulinniederschläge, entweder rein oder unrein, müssen möglichst wenig mit der Luft in Berührung gelassen werden, weil es dann eine gummiartige dunkelbraune Masse wird; bei guter Verarbeitung ist es ein weisses oder blassgraues Pulver.

Ausbeute 1500–2200 Einheiten pro kg. 1 Einheit = 0,3–0,6 mg.

Die wichtigste technische Verbesserung zur Erhöhung der Ausbeute war wohl die Erhöhung des Säurezusatzes zur Extraktionsflüssigkeit (29, 53, 140, 141, 424, 426, 462, 464, 503).

Zum Teil kommt der höhere Säurezusatz auch in dem bereits letzterwähnten Verfahren zur Geltung. Aus eigenen Versuchen (van Willes)

in unserem Laboratorium können wir folgende Beispiele über den Einfluss der Säure für die Ausbeute mitteilen:

1 kg Pankreas extrahiert mit 1 l 96%igem Alkohol und 10 cc 25%iger HCl.	Ausbeute etwa 166 Krampfdosen.
1 „ „ „ „ 1 l „ „ „ 20 „ „ HCl.	Ausbeute etwa 285 Krampfdosen.
1 „ „ „ „ 1 l „ „ „ 30 „ „ HCl.	Ausbeute etwa 500 Krampfdosen.
1 „ „ „ „ 1 l „ „ „ 50 „ „ HCl.	Ausbeute etwa 450 Krampfdosen.

Die Befunde von anderen Autoren stimmen damit überein. So ist nach Somogyi c. s. die Extraktion des Rohmaterials wohl am besten (501) bei $p_H = \pm 3$, was erreicht wird durch Zusatz von etwas mehr als 200 ccm n-Säure pro Kilo Pankreas; mehr als 30 ccm 10n-Säure pro Kilo muss man aber nicht zusetzen, weil sonst immer mehr verunreinigendes Eiweiss mit in Lösung geht. H_2SO_4 ist am geeignetsten, weil es den Pankreasbrei am wenigsten quellen lässt, weshalb er schnell filtriert und viel Filtrat liefert. (Die Quellung durch HCl kann man wohl vermindern durch Neutralisieren vor der Filtration, aber dies ermöglicht Störungen der Präzipitation durch das sich bildende Salz.)

Auch wenn man das p_H der Flüssigkeit weit nach der alkalischen Seite vom isoelektrischen Punkte des Insulins entfernt, kann man doch noch ein brauchbares Extraktionsmittel erhalten. Dieses Verfahren ist von Dudley und Starling (206) ausgearbeitet worden. Sie gingen von der Tatsache aus, dass Insulin in saurer Umgebung stark an allerhand Stoffen adsorbiert wird, in alkalischer hingegen nicht. Ausserdem zeigte sich, dass die Furcht, es würde in dieser alkalischen Umgebung durch Trypsin angegriffen, unbegründet war. Ihre Vorschrift war folgende:

Ein Kilogramm frisches Rinderpankreas wird feingemahlen und schnell in einen Liter 95%igen Alkohol gebracht; dann verrührt man 85 g Natriumbicarbonat mit dem Gemisch, giesst dies dann wieder in die Mühle und zermahlt es nochmals; dies wird noch einmal wiederholt. Dann lässt man das Gemisch unter wiederholtem Rühren 2 Stunden bei Zimmertemperatur oder nachtsüber in der Kühlzelle stehen. Dann giesst man es in ein dickes Tuch, und presst es in einer geeigneten Presse gründlich aus. Das trübe Filtrat, welches ein p_H von etwa 7,5 hat, wird behandelt mit $1\frac{1}{2}$ Volumina 95%igem Alkohol und nachts über in der Kühlzelle ($-3^\circ C$) stehen gelassen. Dann wird durch ein Faltenfilter filtriert, 10 ccm Eisessig dem Filtrat zugesetzt, und dann in vacuo auf dem Wasserbade von $40-45^\circ$ eingeeengt. Wenn das Volumen des Rückstandes etwa 150 ccm erreicht hat, wird das abge-schiedene Fett durch Ausschütteln mit Petroläther entfernt, und die wässrige Schicht von Spuren hiervon durch Destillation (Vakuum, Wasserbad $40-45^\circ$) in wenigen Minuten befreit. Dann werden der wässrigen Lösung 4 Volumina absoluten Alkohols zugesetzt, und nach etwa 10 Stunden Stehen in der Kühlzelle wird die alkoholische Lösung sorgfältig vom Niederschlag abgegossen, und der Lösung 2 Volumina absoluten Alkohol zugesetzt. Nach wieder 12—24 Stunden Stehen in der Kühlzelle wird die überstehende Flüssigkeit sorgfältig abgegossen, und der Niederschlag in Zentrifugengläser gespült mit absolutem Alkohol, mit solchem und mit trockenem Äther gewaschen, und schliesslich in einem Vakuum-exsikkator über Schwefelsäure getrocknet.

Bei einer grossen Anzahl von Laboratoriumsversuchen (allerdings immer ausgehend von nur 1 Kilo Pankreas) erhielten sie als bestes Ergebnis eine Ausbeute von 300—480, ja sogar einmal 508 Krampfdosen pro Kilo, während die originale Collip-Methode nur 88 Krampfdosen, die saure Extraktion nach Shaffer nur 257 Krampfdosen lieferte. Das Präparat ist aber nur Rohinsulin, das dann noch mit irgend einer Methode, z. B. mit Pikrinsäure, gereinigt werden muss.

Das Prinzip des Alkalizusatzes war schon früher von anderen Autoren angegeben worden (424); im allgemeinen waren aber doch die Erfahrungen damit ziemlich ungünstig (426, 428). Auch wir selbst haben die Bicarbonatmethode nach Dudley praktisch durchzuführen versucht, allerdings mit negativem Resultat: die Ausbeute war viel schlechter als bei den Kontrollen, welche mit Säure angesetzt waren. —

Während die beschriebenen Methoden alle mit alkoholischen Pankreasauszügen arbeiten, hat die Kostspieligkeit hiervon immer Forscher verlockt, nach billigeren Methoden zu suchen. Allererst kam hier Wasser in Frage, und tatsächlich haben einige Untersucher hier sehr gute Resultate zu verzeichnen gehabt. Es sind mehrere kürzere oder längere methodische Angaben publiziert worden (270, 427, 462); diese werden aber alle übertroffen durch die von Allen, Piper, Kimball und Murlin (18, 406) angegebene Schnellmethode, welche in 18 Stunden ein fertiges Präparat liefern soll. Die Vorschrift ist folgende:

1. Frisches Pankreas, von anhängendem Gewebe befreit, wird noch im Schlachthaus sofort in auf 0° gekühlte 0,2 n-Salzsäure geworfen und so zum Laboratorium gebracht.
2. Dort wird die Säure weggegossen, das Pankreas in einer Fleischmühle gemahlen und ein bestimmtes Gewicht davon unmittelbar mit 4 Volumina frischer 0,2 N-Salzsäure gemischt.
3. Das Gemisch wird auf 75° C gebracht und während einer Stunde auf dieser Temperatur gehalten, oder es wird über der freien Flamme schnell gerade bis zum Siedepunkt erhitzt.
4. Dann wird es unter dem Wasserhahn auf 20° C oder niedriger gekühlt, um das geschmolzene Fett festwerden zu lassen, so dass man es abschöpfen kann.
5. Die Masse wird durch „Käsetuch“ gepresst und mit $\frac{N}{1}$ NaOH neutralisiert bis $p_{H} = 4,9$ oder durch Titration gegen Phenolphthalein bis 0,01 n. Dann lässt man es die Nacht über durch grobes Filtrierpapier filtrieren.
6. Jedem Liter Filtrat setzt man 250 g NaCl zu und rührt bis alles gelöst ist. Ein Niederschlag bildet sich schnell und vollständig; er enthält alle wirksame Substanz zusammen mit eiweissartigen Verunreinigungen.
7. Nach wenigstens 2 Stunden stehen wird das suspendierte Präzipitat abgegossen und entweder filtriert oder abzentrifugiert.
8. Dann wird der Niederschlag behandelt mit Alkohol von nicht mehr als 70 Volumprozent, und der unlösliche Anteil weggeworfen.
9. Darauf setzt man 3—5 Volumina Amylalkohol zu, schüttelt das Gemisch gründlich und zentrifugiert. Der Niederschlag häuft sich zwischen der wässrigen und der alkoholischen Schicht an.

10. Der Niederschlag wird behandelt mit 80%igem Alkohol, filtriert, und das Filtrat bis zur Trockne eingedampft im Luftstrom oder in vacuo. Weitere Reinigung geschieht durch erneutes Lösen in 80%igem Alkohol usw.
11. Der trockene Rückstand wird in sterilem Wasser aufgenommen und aseptisch filtriert, wozu man das p_H auf 4,0 oder niedriger einstellt.
12. Dieses Endprodukt gibt meistens eine sehr schwache Biuretreaktion.

Das Endprodukt ist in Wasser vollkommen löslich: die Lösung ist wasserklar und ohne weitere Reinigung brauchbar.

Auch heisses saures Wasser ist vielleicht als Extraktionsmittel zu verwenden (51, 52, 53) und liefert dann etwa 225 Einheiten maximal pro Kilo Pankreas. Andere Forscher aber befriedigt die Methode nicht (196, 233), und zwar hauptsächlich darum nicht, weil die Reinigung dieser wässrigen Auszüge sehr schwierig ist (53).

Best und Scott (53) haben die wässrige Extraktion des Pankreas an etwa 150 Präparaten mit allerlei Modifikationen versucht: ihre Ausbeute blieb, obwohl einzelne Präparate ziemlich gut waren, weit hinter der bei alkoholischer Extraktion zurück.

Eine andere Methode, von der man hohe Erwartungen hatte, war die von Dodds und Dickens (196) angegebene. Obwohl die pharmakologische Prüfung des Produktes bei der ersten Publikation noch äusserst dürftig war, enthält die Methode einige neue Prinzipien, weshalb wir sie hier doch mitteilen wollen. Hauptsache ist, dass diese Autoren die von Dudley für die Reinigung von Rohinsulinpräparaten angegebene Methode (s. S. 229) schon in den allerersten Stadien der Fabrikation verwenden.

Frisches Pankreas wird von anhängendem Fett und Bindegewebe gereinigt und gewogen; 5 Kilo davon werden gemahlen und aufgefangen in 2½ Liter 1%iger wässriger Ameisensäurelösung, welche zuvor auf $-3^{\circ} C$ gekühlt war. Man rührt gut von Zeit zu Zeit, lässt 10–20 Minuten stehen, giesst dann durch ein feines Sieb, und presst mit der Hand möglichst viel Flüssigkeit aus, die in einem gleichen Volumen gesättigter wässriger Pikrinsäurelösung aufgefangen wird. Der Rückstand aus dem Sieb wird durch Tuch gepresst, und die Pressflüssigkeit zum Pikrinsäuregemisch gefügt. Der Presskuchen wird aufs neue zermahlen und in 2½ Liter der gekühlten Ameisensäurelösung getaucht, und derselbe Prozess wie oben wiederholt mit Hilfe von neuer Pikrinsäurelösung. Dann wiederholt man es noch ein drittes Mal, so dass man im ganzen etwa 15 Liter der Pikratflüssigkeit erhält. Nachdem diese gut gerührt worden ist und 10 Minuten gestanden hat, nimmt man eine Probe ab, filtriert diese durch ein kleines Faltenfilter, und untersucht, durch Zusatz von mehr Pikrinsäure zum klaren Filtrat, ob alles niedergeschlagen ist. Entsteht doch ein Niederschlag, dann muss auch der Hauptmenge noch mehr Pikrinsäure zugesetzt werden. Dann sammelt man die niedergeschlagenen Pikrate durch Filtration. Das macht man am schnellsten, wenn man zuerst durch Chardin-Faltenfilter filtriert, und dann den nassen Niederschlag auf Buchner-Trichter bringt. Diese ganze Prozedur soll nicht länger als 2 Stunden dauern. Die nassen Pikrate werden 2 oder 3 mal extrahiert durch gründliches Rühren mit Aceton (etwa 1 Liter für jeden Chardin-Filter), und schliesslich durch Tuch abgepresst. Der klare, dunkelbraune Acetonextrakt wird mit der gleichen Menge Wasser verdünnt. Die Präzipitation des Pikrates wird vollendet durch Zusatz von einem Volumen gesättigter wässriger Pikrinsäurelösung. Den Niederschlag lässt man während der Nacht absetzen.

Am zweiten Tage wird die obenstehende klare Flüssigkeit abgehebert und das Filtrat auf einem Buchnerfilter gesammelt. Bisweilen steigt der Niederschlag an die Oberfläche,

ohne dass dies sehr stört. Er wird mit verdünnter Pikrinsäurelösung gewaschen, und das nasse Pikrat nach Dudley's Methode in das Hydrochlorid übergeführt. Hierzu wird es in saurem Alkohol gelöst (hergestellt durch Mischen von 25 ccm 3-n wässriger Salzsäure mit 75 ccm Alkohol). Man braucht meist pro Gramm Pikrat 10—20 ccm dieses Gemisches. Durch sorgfältiges Reiben mit einem Glasstabe entsteht eine trübe dunkelbraune Flüssigkeit, woraus das Hydrochlorid niedergeschlagen wird durch Zusatz von 10—20 Volumina Aceton. Man lässt das Hydrochlorid sich absetzen, und giesst die klare überstehende Flüssigkeit ab. Der Rest wird auf ein Buchner-Trichter gegossen, und der Niederschlag gewaschen mit Aceton bis er frei ist von Pikrinsäure, und zuletzt mit trockenem Äther. Dann wird er die Nacht über im Vakuumexsikkator aufbewahrt. Das so erhaltene Rohhydrochlorid ist ein vollkommen weisses amorphes Pulver. Die Kanincheneinheit ist in 3—6 mg, in neueren Präparaten sogar in 1,5—2 mg enthalten.

Ein zweites Verfahren ist neuerdings von Dodds (195) angegeben worden:

Das Pankreas wird zermahlen, auf einem Buchnertrichter abgesaugt und gut gemischt mit fein zerpulverter Pikrinsäure (45 g pro Kilo Pankreas). Das Gemisch wird nochmals zermahlen, und es kann von Vorteil sein, speziell mit gefrorenem Pankreas, dies nochmals zu wiederholen. Während des Zermahlens scheidet sich meistens etwas Wasser ab; dies wird ohne Mühe in einer Handpresse durch Tuch abgepresst. Wenn frisches Pankreas bei niedriger Temperatur benutzt wird, scheidet sich nur wenig oder gar keine Flüssigkeit ab; dann kann man das Abpressen unterlassen, muss aber eine grössere Menge Aceton gebrauchen bei der ersten Extraktion (siehe unten).

Aus der gut gemischten Pikratmasse zieht man dann das Pikrat mit Aceton aus. Drei Extraktionen sind notwendig, und die Acetonkonzentration in der Extraktionsflüssigkeit muss etwa 70% betragen. Die Menge Aceton, welche man bei der ersten Extraktion braucht, hängt ab vom Wassergehalt im Pikrinsäure-Pankreasgemisch. Bei der ersten Extraktion erhält man die besten Resultate, wenn man so viel absolutes Aceton verwendet, dass die Konzentration schliesslich 70% beträgt. Bei den folgenden Extraktionen verwendet man 70%iges wässriges Aceton und zwar das halbe Gewicht des verwendeten Pankreas.

Die Extraktionsmethode ist folgende:

Das zerkleinerte Pankreas-Pikrinsäuregemisch wird mit der nötigen Menge Aceton verrührt, und nochmals durch die Mühle getrieben. Dadurch erhält man eine Paste von rahmartiger Konsistenz, woraus man die Flüssigkeit in einer geeigneten Presse abpresst durch eine doppelte Tuchsicht. Wenn man keine Flüssigkeit mehr aus dem festen Material abpressen kann, wird letzteres aufs neue zermahlen und wieder mit dem nötigen Volumen 70%igem Aceton ausgezogen. Dies wiederholt man nochmals.

Wo nötig, werden die zusammengegossenen Extrakte filtriert und in vacuo destilliert, bis alles Aceton entfernt ist. Aus der wässrigen Flüssigkeit scheidet sich nach Köhlen ein amorpher Niederschlag von Pikrat zusammen mit etwas Fett und Krystallen von Pikrinsäure ab. Man kann noch ein gleiches Volumen gesättigter, wässriger Pikrinsäurelösung zusetzen, damit die Niederschlagsbildung vollkommen ist. Wenn der Niederschlag viel Pikrinsäure-Krystalle enthält, ist der Zusatz der gesättigten Pikrinsäurelösung natürlich überflüssig. Der Niederschlag wird auf einem Buchner-Trichter gesammelt, gewaschen durch Röhren mit Äther, und dann der Äther abfiltriert. Dabei bleibt das Pikrat ungelöst, während das Fett und Überschuss Pikrinsäure mit dem Äther entfernt werden. Das so erhaltene Pikrat ist ein blassgelbes, amorphes Pulver, das nach Dudley's Methode (s. S. 229) schnell in Hydrochlorid umgesetzt werden kann. Dazu wird es gelöst in saurem Alkohol, den man sich herstellt durch Vermischen von 25 ccm wässriger 3 n HCl mit 75 ccm Alkohol. Meistens braucht man pro Gramm Pikrat 10—20 ccm dieses Gemisches. Durch sorgfältiges Abreiben mit einem Glasstabe erhält man eine trübe dunkelbraune Lösung. Diese wird dann zentrifugiert, und die überstehende Flüssigkeit abgegossen. Der Rückstand wird nochmals mit etwas von der sauren Alkohollösung abgerieben und aufs neue zentrifugiert. Eventuell kann man dies noch ein drittes Mal wiederholen. Aus der erhaltenen klaren Lösung wird das Hydrochlorid niedergeschlagen durch Zusatz von 10—20 Volumina Aceton. Man lässt das

Hydrochlorid sich absetzen, und giesst die klare überstehende Flüssigkeit ab. Der Rest wird auf einen Buchner-Trichter gegossen, und das Präzipitat mit Aceton gewaschen bis es frei von Pikrinsäure ist. Zum Schluss wäscht man es mit trockenem Äther, und trocknet es dann in einem Vakuumexsikkator. Das so erhaltene Rohhydrochlorid ist ein vollkommen weisses, nicht-hygroscopisches, amorphes Pulver, dessen Kanincheneinheit zwischen 0,25 und 1 mg liegt.

Auch andere Autoren haben die Pikratmethode schon in den ersten Stadien der Pankreasverarbeitung verwendet.

So ist z. B. die Methode von Sordelli c. s. (503) folgende:

Der saure alkoholische Pankreasextrakt (Alkoholgehalt wenigstens 60%) wird neutralisiert nach Doisy-Somogyi-Shaffer, dann setzt man ein gleiches Volumen Wasser zu, und dann im ganzen das halbe Volumen gesättigter Pikrinsäurelösung (langsam oder portionsweise). Das entstandene krümlige Präzipitat wird abfiltriert oder abzentrifugiert. Um die Pikrinsäure zu entfernen, wuschen sie es zuerst mit 0,1—0,2 n saurem Alkohol-Äther. Besser war das Ergebnis mit Aceton: das Pikrat wird gemischt mit etwas 0,1—0,2 n-Säure, dann setzt man langsam 2 Volumina Aceton zu, und dann einen Überschuss von Aceton. Dies wird noch zweimal mit dem Niederschlag wiederholt: dann ist er nahezu weiss. Danach fraktioniert man mit Alkohol von 70—80° und reinigt den löslichen Teil.

Während der letzten Zeit verwenden sie statt Aceton Seide, welche die Pikrinsäure adsorbiert und das Insulin in Lösung lässt.

Später hat Sordelli (502) noch eine andere Modifikation angegeben:

1. Extraktion des Pankreas mit saurem Alkohol, Filtration in saurem Milieu.
2. Präzipitieren mit Pikrinsäure.
3. Entfernen der Pikrinsäure mit Seide.
4. Präzipitieren mit Ammonsulfat, danach Extrahieren mit schwach saurem Alkohol von 70°.
5. Insulin präzipitieren mit Alkohol-Äther.
6. Reinigen durch Präzipitieren in einem Milieu von $p_H = 4,7$ in Gegenwart von 3—5% Trikresol.
7. Auflösen in saurem Wasser, $p_H = 2,5$.
8. Präzipitieren beim isoelektrischen Punkt.
9. Auflösen in saurem Wasser ($p_H = 2,5$), filtrieren durch Berkefeld.

Der einzige Verlust tritt auf bei der Extraktion mit Alkohol von 70°, denn diese ist unvollständig.

Ausbeute 100 Kanincheneinheiten pro Kilo Pankreas.

Wernicke (562) modifizierte die Sordelli-Methode wie folgt:

1 kg Rinderpankreas von Fett befreien, 1200 ccm Alkohol von 95°, 300 ccm Wasser und 40 g HCl zusetzen. Nach 2 Stunden abgiessen, den Rückstand aufs neue extrahieren mit Alkohol von 60° während 1 Stunde. Beide Extrakte vereinigen und 18% gesättigte NaCl-Lösung zusetzen. Durch Papier filtrieren. Dem Filtrat 1 Volumen Wasser und dann ein gleiches Volumen gesättigter Pikrinsäurelösung zusetzen. Niederschlag abzentrifugieren, wieder aufnehmen in 150—200 ccm Wasser, welches 0,5% H_2SO_4 enthält. Stückchen Rohseide zusetzen, schütteln bis die Flüssigkeit grün wird. Die Seide mit angesäuertem Wasser waschen. Alle Flüssigkeiten vereinigen. Festes Ammonsulfat zusetzen bis zu einer Konzentration von 40%. Den Niederschlag trocknen, danach 2 mal während 24 Stunden ausziehen mit 70 ccm Alkohol von 70°, dem 0,5% H_2SO_4 zugesetzt war. Den alkoholischen Extrakten setzt man 1 Volumen Alkohol von 95° und 1 Volumen Äther zu, lässt mehrere Stunden in der Kühlzelle absetzen, filtriert, wäscht mit Äther, trocknet. Dieses halbne Insulin kann man weiter reinigen wie folgt: Wieder aufnehmen in 10—20 ccm Wasser, 5 $\frac{0}{100}$ Trikresol

zusetzen, p_H auf 4,7—5 einstellen (elektrometrisch kontrollieren). Nach 24 Stunden in der Kühlzelle durch Buchnerfilter filtrieren, waschen mit 5‰ Trikresol enthaltendem Wasser von $p_H = 5$, dann mit 5‰ HCl enthaltendem Alkohol. Äther in Überschuss zusetzen bis alles vollständig niedergeschlagen ist. Flüssigkeit abgiessen, auf Buchnerfilter filtrieren. Niederschlag mit Äther waschen und trocknen.

Dieses gereinigte Insulin ist vollkommen löslich in Wasser, und gibt fast farblose Lösungen. 1‰ Trikresol zusetzen, p_H auf 2 einstellen, durch Kerze filtrieren. Ausbeute: 750—1200 klinische Einheiten pro Kilo Pankreas.

Die Murlinsche Bereitung von Pankreasperfusaten (426, 427) hat nur noch historisches und wissenschaftliches Interesse: praktisch kommt sie gar nicht in Frage.

Die Methode von Paulesco (452, 453) ist auch ohne praktische Bedeutung, nur muss bemerkt werden, dass er für seine Pankreasauszüge auch eine Methodik der Enteiweissung durch Alkohol, durch Verschiebung des p_H und durch Tyndallisieren bei $\pm 50^\circ C$ ausgearbeitet hat, wie es scheint, vollkommen unabhängig von den anderen Forschern.

Zum Schluss wollen wir noch kurz die Methode von Wallis (556) anführen, welche zwar kein eigentliches Insulin liefert, deren Produkt aber nach verschiedenen Autoren auch bei Gebrauch per os erfreuliche Resultate gibt.

Frisches Schweinepankreas von Tieren, welche 24 Stunden hungerten, wird von Fett und Bindegewebe befreit und gemahlen, dann bringt man es in einen Jenakolben mit Alkohol der auf dem Wasserbade während einer Stunde auf $60^\circ C$ erhitzt wird. Dann destilliert man weiter in vacuo. Der zuerst farblose Alkohol wird langsamerhand dunkel; wenn dies der Fall ist, ist die Extraktion vollkommen (in etwa 30 Stunden). Dann wird durch Gaze filtriert, danach durch Papier auf einen Saugfilter. Das Filtrat ist klar, goldgelb. Es wird im elektrischen Trockenschrank bei $100^\circ C$ getrocknet: der harzartige Trockenextrakt wird in zugeschmolzenen Fläschchen im Eisschrank aufbewahrt, und in Gelatine kapseln per os verabreicht.

Auf Grund der Bereitungsmethode muss dieses Produkt für ein sehr unreines Insulin gehalten werden. Jedoch behauptet Wallis, dass es nur aus Polypeptiden und etwas Lipoid bestehe und frei sei von Proteinen, von Peptonen, von Cholesterin, Histidin, Histamin und Cystin.

Für die Reinigung der Präparate ist ausser der üblichen Fraktionierung mit Alkohol, Äther oder Aceton, und den Aussalzmethode mit NaCl oder $(NH_4)_2SO_4$, sehr wichtig die in England (415) meist gebrauchte Pikratmethode nach Dudley, die für das mit den verschiedenen genannten Methoden erhaltene Rohinsulin brauchbar ist. Die ursprüngliche Vorschrift (202) bot praktisch einige Schwierigkeiten, welche aber in der jetzigen Modifikation (206) behoben sind. Letzere wollen wir darum in extenso wiedergeben:

Das Rohinsulin wird in einer kleinen Menge Wasser gelöst: das nicht gelöste wird abzentrifugiert. (Hier muss bemerkt werden, dass Insulin sich in neutralem Wasser schlecht löst, so dass hier die Möglichkeit von Verlusten besteht, wenn man nicht auf das p_H achtet.) Die klare Flüssigkeit wird dann mit so viel Wasser verdünnt, dass man eine 1½‰ige Lösung des ursprünglichen Materials, ohne Rücksicht auf die abzentrifugierte Masse, erhält. Das p_H der Lösung wird dann auf etwa 5 eingestellt durch Zusatz von so viel Säure oder

Alkali (je nach dem ursprünglichen p_H), bis eine schwache Trübung auftritt durch Niederschlagsbildung beim isoelektrischen Punkte. Dann setzt man das halbe Volumen gesättigter, wässriger Pikrinsäurelösung zu. Nachdem die Flüssigkeit einen oder zwei Tage gestanden hat, wird die obenstehende, klare Flüssigkeit abgegossen. Das zitronengelbe Präzipitat, das sich am Boden gesammelt hat, reibt man mit wenig Wasser an und setzt dann wiederholt $n/10$ Natriumcarbonatlösung in kleinen Mengen unter beständigem Rühren zu, bis eine klare oder nahezu klare dunkelbraune Flüssigkeit entstanden ist. Sobald weiterer Sodazusatz keine weitere Aufhellung bewirkt, wird durch ein Faltenfilter filtriert, das nach Ablauf der Filtration nochmals mit Aq. dest. nachgespült wird. Diese ganze Verarbeitung muss so schnell wie möglich durchgeführt werden, und es ist empfehlenswert, die Temperatur dabei unter 10°C zu halten.

Die Lösung wird dann verdünnt, bis sie etwa $1\frac{1}{2}$ –2 g Pikrat pro l enthält. Das benötigte Volumen berechnet man unter der Annahme, dass die erhaltene Menge Pikrat etwa $\frac{1}{12}$ vom Gewicht des ursprünglichen, rohen Insulins beträgt. Dann fügt man unter starkem Rühren eine Menge $n/10$ HCl zu, äquivalent mit der verwendeten Menge Na_2CO_3 ; dadurch präzipitiert sofort das Pikrat. Zu jedem Liter Lösung setzt man 250 ccm gesättigter wässriger Pikrinsäurelösung zu. Nach etwa zweitägigem Stehen liegt der Niederschlag wieder am Boden, so dass man die überstehende klare Flüssigkeit abgiessen kann. Man stellt sich eine Lösung her, welche 5 ccm gesättigte, wässrige Pikrinsäurelösung in 100 ccm Wasser enthält. Das Pikrat wird mit einer kleinen Menge dieser Flüssigkeit verrieben und dann durch ein Buchner-Filter filtriert. Nach genügendem Waschen mit der Pikrinsäurelösung, um das NaCl zu entfernen, wird das nasse Pikrat in einem Becherglas gesammelt und gerührt mit einer Lösung von Salzsäure in Alkohol. Diese Lösung stellt man durch Mischen von 25 ccm 3 n (wässriges) HCl mit 75 ccm absolutem Alkohol her. Das Pikrat bildet zuerst dicke, dunkelbraune, klebrige Tropfen, löst sich dann zu einer trüben, braunen Lösung. Diese muss gerührt werden bis alle klebrigen Tropfen verschwunden sind. Es kommt wenig auf die verwendete Menge des Alkohol-Wasser-Salzsäure-Gemisches an: etwa 10–15 ccm pro Gramm Pikrat ist die geeignete Menge. Dann setzt man schnell reines Aceton zu bis kein weiterer Niederschlag entsteht. Man braucht 10–20 Volumina. Der weisse flockige Niederschlag von „Insulinhydrochlorid“ setzt sich schnell ab, er wird sofort auf einem Buchner-Trichter filtriert, gewaschen mit Aceton und schliesslich mit trockenem Äther, bis er vollkommen von Pikrinsäure befreit ist. Der Trichter wird mit seinem Inhalt schnell in einen Vakuumexsikkator gestellt und über Schwefelsäure getrocknet.

Das Produkt ist ein weisses, nicht-hygroscopisches Pulver, vollkommen löslich in Wasser.

Eine sehr interessante Methode zur Entfernung der Pikrinsäure hat Sordelli (502, 503) angegeben. Er lässt sie an Seide adsorbieren (S. 228).

Die Pikratmethode ist auch von anderen Autoren mit Erfolg angewandt bei der Verarbeitung von Rohinsulin, hergestellt nach verschiedenen Methoden (53, 196, 502, 503), zum Teil auch schon in früheren Stadien der Fabrikation, wie wir schon (S. 226 u. f.) erwähnt haben.

Statt Pikrinsäure kann man auch Dinitrosalicylsäure nehmen zur Reinigung des Insulins von den diesem entgegenwirkenden Substanzen (200).

Auch kann man aus ziemlich reinen wässrigen Lösungen Insulin niederschlagen durch Zusatz von Überschuss Säure, z. B. so viel HCl, bis die Lösung etwa 3,3% enthält. So erhält man sehr reine Präparate: die Methode gibt aber ziemlich beträchtliche Verluste (202).

Die „isoelektrische“ Reinigungsmethode des Rohinsulins beruht darauf, dass beim isoelektrischen Punkte des eine Spur Eiweiss enthaltenden Insulins ($p_H = 4,7$ – $5,7$) das Insulin ausfällt, während ein grosser Teil seiner

Verunreinigungen noch in Lösung bleibt und entfernt werden kann. Dabei treten aber Verluste auf (202, 462).

Die Methode hat praktisch bei der Herstellung Verwendung gefunden (53, 427, 501), ist jedoch technisch etwas schwierig trotz der Einfachheit des Prinzips.

Daher kommt es wohl auch, dass die Angaben der verschiedenen Autoren über die Lage des isoelektrischen Punktes nicht ganz übereinstimmen. So können wir zu den obigen Angaben Shaffers und anderer (vgl. S. 200) über die Reinigung des Insulins beim isoelektrischen Punkt nach Versuchen aus unserem Laboratorium (Nehring) noch folgendes hinzufügen: Das p_H , bei dem das Insulin unlöslich ist und infolgedessen aus seinen Lösungen ausfällt, ist, wie selbstverständlich, stark abhängig von der Vorbehandlung des Insulins, dem Reinheitsgrade und der Gegenwart von Salzen. Letztere verschieben den isoelektrischen Punkt und verhindern gegebenenfalls eine Fällung. (Wir versuchten zuerst mit Pufferlösungen zu arbeiten; dies gelang aber nicht.) Aus unreinen Lösungen gelingt eine Fällung nur schlecht und unter starken Verlusten. Nach unseren Versuchen jedoch sind die Grenzen für die Fällung des Insulins beim isoelektrischen Punkt, auch bei reineren Präparaten, nicht so eng als oben angegeben, sondern erweitern sich nach der alkalischen Seite. Brachten wir unsere Insulinlösungen (etwa 1% von $p_H = 3-3,5$) mit $n/10$ NH_4OH auf ein $p_H = \pm 5$, entfernten nach einigen Stunden im Eisschrank die entstandene Flockung, und setzten weiter $n/10$ NH_4OH zu, bis das $p_H = 6-6,5$ war, so entstand sofort wieder eine starke Flockung, die, wenn auch etwas stärker gefärbt, starke Insulinwirkung hatte. Eine Trennung des Insulins von Shaffers „ p_H 8-Protein“ ohne starke Verluste durchzuführen, gelang uns nicht. Ein Versuch sei hier angegeben.

Eine Insulinlösung (0,5%; eine Einheit = 0,046 mg) wird auf ein $p_H = 7,2$ gebracht, (wobei nach Shaffer sich nur das p_H 8-Protein abscheiden soll). Es schlug etwa $\frac{3}{5}$ der Trockensubstanz nieder, die 75% des Insulins (eine Einheit = 0,038 mg) enthält. Bei anderen Versuchen (Frl. Dingemans) sollte Insulin in $n/100$ Bicarbonatlösung gelöst werden. Es zeigte sich, dass in Lösung nur unwirksame Substanzen gegangen waren, und das Insulin gänzlich im Ungelösten geblieben war (ca. 10% der ursprünglichen Menge Substanz; p_H der Lösung = $\pm 7,0$).

Wir brachten deshalb unsere Insulinlösungen auf ein $p_H = \pm 6$. Das hierbei ausgefallene Insulin enthielt gewöhnlich in 0,04—0,06 mg eine Einheit.

Schliesslich erwähnen wir noch die Adsorptionsmethode von Moloney und Findlay (419), die auch bei der fabrikmässigen Herstellung des Insulins eine Zeitlang Verwendung gefunden hat (s. S. 216).

Zu 1 Liter roher, wässriger Insulinlösung setzt man 50 ccm 25%ige Lösung von Natriumbenzoat und 12,5 ccm starke Salzsäure zu, oder soviel mehr oder weniger, bis ein bleibender Niederschlag von Benzoesäure entsteht. Dann setzt man noch 40 ccm 25%ige Natriumbenzoatlösung und 10 ccm starke Salzsäure zu, und nachdem es lange genug gestanden hat, um vollkommen niederzuschlagen, filtriert man ab. Der Niederschlag enthält gewöhnlich etwa $\frac{2}{3}$ der totalen aktiven Substanz. Beim Filtrat fügt man wieder 40 ccm

25%ige Benzoesäure und 10 ccm starke Salzsäure zu, filtriert wieder und wiederholt dies gegebenenfalls noch einmal. Der Niederschlag wird mit gesättigter Benzoesäurelösung gewaschen (obwohl dies einen geringen Verlust gibt). Aus reineren Insulinlösungen wird weniger adsorbiert als aus unreineren.

Man kann das etwa adsorbierte Insulin (wenn die wässrige Lösung schon ziemlich rein war) durch Behandeln des Niederschlages in einem Scheidetrichter mit Äther und Wasser wieder erhalten: das Insulin geht ins Wasser, die Benzoesäure in den Äther. Die wässrige Phase wird noch ein paarmal zwecks Entfernung der letzten Benzoesäurereste mit Äther gewaschen und dann zur Beseitigung des Äthers in vacuo destilliert. Spuren von Äther erhöhen den Blutzucker oder verzögern die Insulinwirkung. War die ursprüngliche Lösung sehr unrein, dann entsteht aus dem Niederschlag mit Äther eine Gallerte. Ist dies der Fall, dann kann man:

- a) den feuchten Niederschlag mit Äthylalkohol auf 80% bringen, im Eisschrank sich absetzen lassen und filtrieren: das Filtrat wird in vacuo abdestilliert und mit Äther in der vorher beschriebenen Weise ausgeschüttelt;
- b) den Niederschlag in Eisessig auflösen, nach Stehen im Eisschrank filtrieren und das Insulin präzipitieren durch Zusatz von viel Äther, oder man kann Äther und Wasser zusetzen, so dass zwei Schichten entstehen, von denen die wässrige das Insulin enthält. Spuren von Essig- oder Benzoesäure entfernt man durch Waschen mit Äther.

So konzentriert man leicht eine Insulinlösung bis auf $\frac{1}{6}$ ihres Volumens, wobei ausserdem das Präparat viel reiner wird.

Fabrikmässig hat man die Methode bei den eingeeengten alkoholischen Auszügen verwendet (53, 419).

Ein Reinigungsverfahren, beruhend auf Adsorption an Kohle, ist zwar schon ausgearbeitet, aber noch nicht veröffentlicht worden (419).

Aus der grossen Zahl der oben beschriebenen Darstellungsverfahren sieht man, dass noch keines ideal ist. Trotzdem muss man anerkennen, dass in kurzer Zeit in vielen Ländern ausserordentlich viel erreicht ist. Die Ausbeute ist, wie wir schon im Anfang des Kapitels erwähnten, im allgemeinen gestiegen, und so das Ziel vieler, das Präparat billig zu beschaffen, erreicht. Wie sich die Ausbeute, jedenfalls im Laboratorium, gelegentlich verändert hat, dafür können unsere eigenen Zahlen als Prototyp gelten. Vor anderthalb Jahren brauchten wir zur Behandlung eines Patienten an einem Tage (mit 30 Einheiten) die Organe von 10 Schweinen; später ist es gelegentlich gelungen, aus dem Organe eines Schweines einen Patienten (mit der gleichen Dosis) acht Tage zu behandeln. Also die Ausbeute ist in vereinzelt Fällen etwa auf das achtzigfache gestiegen. Dass dies leider noch kein regelmässiges Ergebnis ist haben wir oben besprochen. — Wenn man dann bedenkt, dass allein schon in den Vereinigten Staaten von Nordamerika alljährlich $5\frac{1}{2}$ Millionen Kilogramm Pankreas zur Verfügung stehen (229), dann sieht man, welche enorme Insulinmengen schon jetzt produziert werden können.

Ausserdem sind aber die Präparate viel reiner geworden: waren die ersten rötlich und trübe, oder braungelb, jetzt sind die Lösungen wasserklar und fast farblos. Der Gehalt an festen Stoffen ist jetzt minimal: pro Einheit

nur Bruchteile eines Milligramms: in der Literatur findet man als höchst erreichte Reinheit angegeben 0,25 mg pro Krampfdosis (177, 181, 197), [allerdings bei Shaffer nur für Kaninchen von 1 Kilo (197)], 0,2 mg pro Krampfdosis für Kaninchen von 2 Kilo (206), ja neuerdings sogar 0,01—0,02 mg pro Kilo Kaninchen (501).

Das nach der ursprünglichen Pikratmethode hergestellte Insulin enthält meistens in $\frac{1}{2}$ —1 mg eine Krampfdosis (202); die nach dem isoelektrischen Verfahren gereinigten Präparate unseres Laboratoriums (Nehring) in 0,1 bis 0,2 mg.

Die wirklich im Handel vorkommenden Präparate enthalten meist mehr und sind nach unserer Erfahrung auch von denselben Fabriken oft noch von wechselnder Zusammensetzung, was Trockensubstanz und Stickstoffgehalt betrifft. Die Lillypräparate scheinen nach unserer geringen Erfahrung recht konstant. Jedenfalls geht aber aus unseren Bestimmungen hervor, dass eine einzelne Analyse eines Präparates wenig Bedeutung hat. Ob man den Stickstoffgehalt ganz auf Eiweiss umrechnen kann ist noch recht zweifelhaft.

Um einige Zahlen anzuführen, hatten die von uns in 1924 untersuchten drei amerikanischen Präparate im Durchschnitt 0,086 mg Trockensubstanz und 0,005 mg Stickstoff pro alte Einheit ($\equiv \frac{1}{3}$ Krampfdosis), die vier untersuchten englischen Präparate durchschnittlich 0,45 mg Trockensubstanz und 0,064 mg Stickstoff, und der Durchschnitt der gesamten Insulinproduktion seit Januar 1924 in Holland, die wir an unserem Institut regelmässig bisher untersucht haben, ergab zufällig fast genau die gleichen Zahlen.

Von vielen ist wiederholt die Frage behandelt worden, ob es wünschenswert ist, die Reinigung der Präparate zu sehr in die Höhe zu treiben. Denn von klinischer Seite meinte man bemerkt zu haben, dass die Wirkungsdauer der reineren Präparate viel kürzer ist als die der unreineren. Auch bei den Blutzuckerbestimmungen an den Eichungskaninchen zeigt sich dies schon (35). Eigene Versuche, um diese Frage exakt zu entscheiden, sind noch nicht abgeschlossen.

Wohl können wir aber schon jetzt sagen, dass nach diesen Versuchen auch diese Frage nicht so einfach ist, wie sie es scheint. Wir können bestätigen, dass bestimmte Rohpräparate eine weniger schnell auftretende, aber dafür auch nachhaltigere Wirkung besitzen als reines Insulin. Doch gilt dies keineswegs für alle rohen Pankreasextrakte: wir haben den Eindruck, dass die Art der Vorbehandlung (z. B. Säuregrad des Extraktionsmittels) von durchschlagender Bedeutung ist, vielleicht wegen der gleichzeitig extrahierten Menge Anti-Insulin. Die Anwesenheit von Kolloiden ist als solche gewiss nicht von so grosser Bedeutung, denn bei absichtlich unternommenen Versuchen konnten wir weder nach Zusatz von Gummi arabicum noch von eiweissartigen Abfallfraktionen eine nennenswerte Verlängerung der Wirkungsdauer beobachten, wohl aber eine gewisse Abschwächung.

Die Versuche nach verschiedener Richtung sind aber noch im Gange, weil es natürlich ärztlich sehr wertvoll wäre, z. B. nur mit einer Einspritzung am Tage auszukommen.

Auch andere Forscher haben versucht, eine erschwerte Resorbierbarkeit zu erzielen durch Zusatz von Gummi arabicum zur Lösung (118). Die Resultate waren aber nicht eindeutig, auch wohl dadurch, dass diese Untersuchung, wie es scheint, mit einem sehr unreinen Präparat angestellt wurde. Man hat auch absichtlich die Präparate relativ unrein gelassen, wie man sagt, mit gutem Erfolg (225, 291, 341, 342, 467).

Obwohl schon an anderer Stelle (S. 20) kurz darauf hingewiesen wurde, wollen wir hier nochmals die Aufmerksamkeit darauf lenken, dass sogar eine weitgehende Reinigung keine Gewähr dafür bietet, dass nicht doch gelegentlich sich am Orte der Einspritzung eine kleine entzündliche Reaktion zeigt. Meistens lässt sich dann aber doch wohl ein Präparat finden, das vom Patienten reaktionslos vertragen wird. Dies hat aber nichts zu tun mit der eventuellen Schmerzhaftigkeit der Injektion, die auf Hypotonie und zu stark saurer Reaktion der Flüssigkeit beruht und der durch Neutralisation unmittelbar vor der Einspritzung leicht vorgebeugt werden kann (377 a). Zwar bekommt man dann eine trübe Insulinsuspension, aber diese wirkt ebenso gut wie die klare saure Lösung. Wir glauben, dass in hunderten Fällen jede solche Massregel überflüssig ist, und wir kennen Patienten, die jetzt seit $1\frac{3}{4}$ Jahren ununterbrochen mit Insulin behandelt werden, ohne dass andere Massnahmen als antiseptische je erforderlich waren.

Sterilisation. Als Desinfiziens ist gleich bei den ersten Präparaten von Banting und Best Trikresol in 0,3%iger Lösung gewählt worden, und unseres Wissens auch bisher durch kein Besseres ersetzt. Gelegentliche Klagen über Nebenwirkungen von Präparaten sind wahrscheinlich auch nicht auf das Desinfiziens zu beziehen (s. o.).

Neuerdings haben Fenger und Wilson (229) angegeben, dass man das Insulin (gelöst in physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von 0,3% Essigsäure) ohne Schaden durch Hitze sterilisieren kann. Man kann z. B. die Ampullen an drei nacheinanderfolgenden Tagen jedesmal 15 Minuten in kochendem Wasser untertauchen, ohne dass das Präparat schwächer wird. Würde sich diese Methode bewähren, dann würde natürlich sowohl die oft mit Verluste einhergehende Berkefeld-Filtration wie der Zusatz von Desinfizienzien überflüssig.

Im allgemeinen kommt es bei der ganzen Verarbeitung darauf an, dass man (425, 426, 486):

1. Pankreas von gut genährten Tieren schnell verarbeitet (über die Notwendigkeit, es gefrieren zu lassen, sind die Meinungen noch geteilt; wir haben selbst zum Zwecke der besseren Zerkleinerung das Pankreas in flüssige Luft geworfen, ohne Nachteil zu sehen);

2. das Trypsin unwirksam macht, zerstört oder entfernt, obwohl andere Forscher (475) meinen, dass hier nur inaktives Trypsinogen in Frage kommt;
3. verunreinigendes Eiweiss entfernt, ebenso wie reizende Stoffe im allgemeinen;
4. die Extrakte konzentriert;
5. die Extraktionsflüssigkeit genügend ansäuert;
6. Niederschläge genügend lange, eventuell ein paar Tage, stehen lässt, bevor man filtriert;
7. nicht zu lange und zu hoch erhitzt;
8. immer das p_H im Auge hält.

IX. Herkunft und Menge des Insulins und Anwesenheit ausserhalb des Pankreas.

A. Anwesenheit, Vorrat im Pankreas.

Stellen wir uns jetzt die Frage 1. in welcher Form, und 2. in welcher Menge, das Insulin beim normalen Tiere vorrätig ist, so kommen wir zu folgenden Ergebnissen:

Spritzt man einem pankreaslosen Hunde das aus seinem eigenen Pankreas hergestellte Insulin ein, dann wird nicht nur die pathologische Hyperglykämie aufgehoben, sondern das Tier stirbt, vollkommen unter dem Krankheitsbilde der exzessiven Hypoglykämie (284). Auch Paulesco (452) konnte mit Extrakt aus 14 g Hundepankreas ein pankreasloses diabetisches Tier vollkommen aglykämisch machen.

Man kann also wohl annehmen, dass beim gesunden Tiere immer ein Vorrat Insulin anwesend ist, der alle Bedürfnisse decken kann (393).

Es muss aber ein regulatorischer Mechanismus anwesend sein (341), welcher verhindert, dass der Blutzuckergehalt unter ein bestimmtes Niveau absinkt. Diese Regulation wird wohl zum grössten Teil nervöser Natur sein, und in dieser Beziehung ist es interessant, dass gerade in letzter Zeit von spanischer Seite gefunden ist, dass die Langerhansschen Inseln ihre eigene reichliche Versorgung mit speziellen Nerven besitzen (129 a).

Zu wundern braucht man sich darüber nicht, denn es ist bekannt, dass auch in anderer Richtung das Nervensystem beim Blutzuckergleichgewicht eine Rolle spielt. Dafür sprechen auch die Versuche von Burn (387), der fand, dass, wenn man ein normales Kaninchen mit Insulin hypoglykämisch macht, keine neue Glukose aus den Depots abgegeben wird, wenn man die zur Leber verlaufenden Nerven durchschneidet, bzw. ihre Enden mit Ergotamin lähmt.

Banting and Gairns (40) haben Hunde narkotisiert, ihnen dann 2 g Glukose pro kg eingespritzt und den Blutzuckergehalt verfolgt; einige

Tage später wurde dasselbe getan, nachdem während einer ebensolange dauernden Narkose das Pankreas entfernt war. Ist das Pankreas noch anwesend, dann steigt durch die Glukose der Blutzucker steil, um innerhalb etwa $1\frac{1}{2}$ —2 Stunden wieder abzusinken bis zur Norm. Spritzt man aber den Zucker sofort nach der Pankreasexstirpation ein, dann kehrt der Blutzucker nicht bis zur Norm zurück, sondern bleibt hoch. Dies betrachten die genannten Autoren als einen Beweis, dass das Insulin bei plötzlicher Erhöhung des Blutzuckergehalts in der Norm vom Pankreas in genau passender Menge ans Blut abgegeben wird. Uns scheint aber, dass der Operationsschock in diesem Falle nicht vernachlässigt werden darf.

Die Regulation ist aber nach denselben Autoren nicht rein nervöser Art, denn bei gestielter Transplantation der Bauchspeicheldrüse unter die Bauchhaut mit Verätzung der längs des Gefässstieles verlaufenden Nerven ändert sich ihre Reaktion auf Zuckereinspritzung nicht gegen die Norm.

Hier sei auch auf die interessanten Auseinandersetzungen von K. Spiro über Regulationen gerade auf dem Gebiet der Kohlenhydrate hingewiesen.

[Die möglichen hormonalen Regulationen haben wir schon an anderer Stelle (S. 129 u. f., 143 u. f.) besprochen].

McCormick und O'Brien (166, 393) haben untersucht, welchen Einfluss Reizung des rechten Vagus unterhalb der Herzäste bzw. nach Degeneration derselben auf den Blutzuckergehalt von dezerebrierten Katzen und mit Äther narkotisierten Hunden und Kaninchen hatte.

Konstante Resultate scheint diese Untersuchung nicht ergeben zu haben: oft blieb der Blutzucker unbeeinflusst, bisweilen aber nahm er tatsächlich deutlich ab. Diese Abnahme war jedoch nur vorübergehend, trotz fort-dauernder Reizung. Bessere Resultate gab eine Reizung mit schwachen Induktionsschlägen in grossen Zeitabständen: so gelang es den Blutzucker bis zu 0,70‰ zu erniedrigen: nach Beendigung der Reizung stieg er wieder bis zur Norm an.

Banting und Best (29) hingegen reizten gleichfalls den Vagus (unterhalb des Zwerchfells) und injizierten den Hunden ausserdem Sekretin, um gerade die externsekretorischen Pankreaszellen zu erschöpfen. Dieses Pankreas lieferte ein äusserst kräftig blutzuckersenkendes Präparat!

Mauriac und Aubertin (411) atropinisierten Hunde. Als ihnen dann Insulin eingespritzt wurde, war der Insulineffekt unregelmässig geworden. Wurde der Versuch aber mit denselben Tieren wiederholt, dann schien die hemmende Atropinwirkung viel geringer geworden zu sein, als ob eine Gewöhnung eingetreten war. Bei 2 Kaninchen mit beiderseits durchschnittenen Vagi sank der Blutzucker durch Insulin ebenso gut ab wie sonst bei intakten Tieren.

Doch könnte es sein, dass diese Widersprüche nur scheinbar sind, und die Nervenreizung eine grosse Menge Insulin im Pankreas in Freiheit setzt,

die aber nur zum Teil an den übrigen Körper abgegeben wird. Denn es sind einige Anzeichen vorhanden, dass Insulin im Pankreas nicht als solches, sondern als Vorstufe anwesend ist, die erst aktiviert werden muss.

Vielleicht wird auch aus anderen Körperteilen stammendes Insulin in dieser Form im Pankreas gespeichert (443).

Dass Rohextrakte oft kaum, das daraus hergestellte Insulin aber deutlich blutzuckersenkende Wirkung besitzen (31) ist noch kein Beweis dafür, weil es sich hier auch um die später zu besprechende entgegengesetzte Wirkung bestimmter Verunreinigungen, welche die Insulinwirkung verdecken, aber bei der Reinigung entfernt werden, handeln kann. Die Tatsache, dass bei bestimmten Herstellungsverfahren Produkte gewonnen werden, welche erst nach vielen Stunden oder Tagen eine Hypoglykämie erzeugen (146), ist gleichfalls kein zwingender Beweis, denn auch dies kann nach unserer Erfahrung auf Unreinheit der Präparate beruhen. Murlin c. s. (426) meinten, die Tatsache, dass saure Extraktionsflüssigkeit die beste Ausbeute lieferte, könnte auf einer besseren Löslichkeit der Insulinvorstufe darin beruhen; Sordelli und Deulofeu (503) denken an die Möglichkeit einer Aktivierung durch die Säure.

Ob die Granula in den Inselzellen mit der Vorstufe identifiziert werden dürfen (426), ist noch reine Hypothese. Möglich ist es aber, um so mehr, als Fenger und Wilson (229) die Aufmerksamkeit darauf gelenkt haben, dass bei allen Tierarten das Pankreas ein charakteristisches p_H zwischen 5,5 und 5,7 besitzt, dass also das Insulin eben in seiner isoelektrischen Flockungszone sich befindet.

Später gelang es Murlin c. s. (462) andere Beweise für das Vorhandensein einer Vorstufe beizubringen. Sie beobachteten, dass ein frisch hergestellter Extrakt am ersten Tage oft gar keine Wirkung zeigte, nachdem er ein oder zwei Tage gestanden hatte aber eine deutliche Blutzuckererniedrigung hervorrief, ohne dass sich die Reaktion geändert hatte. Diese Beobachtung haben sie wiederholt gemacht, und wir selbst können sie vollkommen bestätigen. Wenn man einen alkoholischen Pankreasextrakt monatelang in der Wärme stehen lässt, sieht man in vielen Fällen eine Wirksamkeit entstehen, welche, auf die verwendete Menge Pankreas berechnet, unter den gewöhnlichen Umständen niemals erreicht wird, obwohl an der Flüssigkeit nichts Auffälliges zu sehen ist und Verdunstung ausgeschlossen ist. Etwas Derartiges haben Dudley und Starling (206) beobachtet bei Rinderpankreas, welches eine Woche in der Kühlzelle bei -3° C aufbewahrt wurde, ehe sie es verarbeiteten: die Ausbeute war auffällig hoch. Dasselbe beobachteten wir an einem nahezu alkoholfreien Sirup im Eisschrank nach \pm 5 Monaten.

Autolyse von Pankreasgewebe in alkalischer Umgebung gibt nach Best und Scott (53) grosse Verluste.

Es scheint jedoch Insulin als solches doch tatsächlich vorzukommen. Dies ist zu schliessen aus der blutzuckererniedrigenden Wirkung von Lymphe

und Blut, die aus der Pankreasgegend herkommen (32, 57, 58), ferner aus der Tatsache, dass durch örtliche Anwendung von Wärme auf das Pankreas beim lebenden Tiere dieses eine exzessive Hypoglykämie bekommt (40). Auch spricht dafür der Befund, dass man bei einfacher Durchströmung des Gefässsystems des überlebenden Pankreas kräftig wirksame Präparate erhält (129, 139, 426, 428).

Insulinähnliche Stoffe scheinen überall in der belebten Natur, wo Kohlenhydratstoffwechsel vorkommt, in jeder Zelle in irgend einer Form anwesend zu sein (116).

Auch für Hefe hat man die Vermutung der Anwesenheit des blutzuckererniedrigenden Agens (s. a. S. 253) in Form einer Vorstufe ausgesprochen (314), aber man hat sie nicht beweisen können.

Obwohl bei unserer jetzigen mangelhaften Kenntnis der Konstitution des Insulins derartige Betrachtungen noch vollkommen spekulativ sind, wollen wir hier doch die Aufmerksamkeit auf einige Koinzidenzen lenken. Die Langerhansschen Inseln sind die Organe, welche relativ das meiste Insulin vom ganzen Körper enthalten: sie sind es auch, welche den höchsten Gehalt an Pentosen aufweisen (48, 49); das Pankreas ist ausserdem die klassische Fundstätte der ebenfalls eine Pentose-Gruppe enthaltenden Guanylsäure (512), welche wieder mit dem insulinartig wirkenden Guanidin (s. S. 248) verwandt ist. Berkeley (49) denkt an die Möglichkeit, dass die kohlenhydratartige nichtreduzierende (auch nicht nach Hydrolyse mit Säure) Substanz, welche von Winter und Smith im Blut von Insulinkaninchen gefunden wurde, eine Nukleotidnatur haben, d. h. ebenfalls ein Pentose-Guanidin-Derivat sein könnte, weil sie, ebenso wie die Nukleotide, eine positive α -Naphtholreaktion gibt.

Andererseits liefert auch Hefe Stoffe, welche physiologisch insulinartig wirken (s. S. 252): gekochter wässriger Pankreasextrakt (eine Temperatur, die vielleicht wohl vom Insulin, sicher aber nicht von den digestiven Fermenten überstanden wird) zerlegt Nukleinsäure aus Hefe zwar nicht in seine einfachsten Nukleotide, aber sprengt doch ausschliesslich Nukleotidbindungen, ohne dass sich eine titrierbare Acidität entwickelt (321). —

Wieviel Insulin im ganzen im Körper anwesend ist, darüber kann man bis jetzt nur Vermutungen äussern, da die Ausbeute sich bisher mit Änderungen der Technik noch immer hat erhöhen lassen (53, 136 a, 137, 139, 206, 233, 236), so dass in unserem Laboratorium schon einige Male Mengen von 5000 Einheiten aus einem einzigen Kilo Pankreas erhalten sind; Wiechowski (570) erhielt aus einem Kilo sogar 10000 Einheiten.

Vergleicht man damit, dass Best und Scott (53) im April 1922 etwa 15 Einheiten pro Kilo erhielten, im Juli 1923 etwa 400 Einheiten, dann sieht man, wie enorme Fortschritte die Technik gemacht hat, wie schwierig aber auch eine endgültige Schätzung des Quantums Insulin ist. Zu bedauern ist nur, dass die in einzelnen Fällen geglückte Ausbeute keineswegs auch nur annähernd technisch und konstant realisierbar ist.

Nach unserer und anderer Erfahrung gibt Schweinepankreas eine etwas höhere Ausbeute als die Drüsen von Rindern, was vielleicht auch an der üblichen Nahrung liegt (377). Nach Sammartino (485) gibt Pferdepankreas die höchste Ausbeute.

Die Langerhansschen Inseln vom Kabeljau, welche isoliert im Mesenterium liegen, liefern etwa 25 Einheiten pro Gramm (387). Mc. Cormick und Macleod (168) erhielten beim „Cod“ (*Gadus callarius*) 11,3 bis 22,3, beim „Pollack“ 35, beim „Halibut“ (*Hippoglossus hippoglossus*) 18, beim „Hake“ 15, beim „Haddock“ 28,3 klinische Einheiten pro Gramm Inselgewebe. Dudley (203) erhielt mit seiner Pikratmethode beim „Cod“ eine Ausbeute von 40 klinischen Einheiten pro Gramm, d. i. $3\frac{1}{2}$ Einheit pro Fisch. Die Krampfdosis für Kaninchen betrug 1 mg. Auch das Hepatopankreas von Karpfen liefert grosse Mengen (392), ebenso wie die Lebern von vielen Fischen (168).

Aufgefallen ist uns, dass möglicherweise ähnlich wie bei der Schilddrüse der Jodgehalt, also wohl auch der Thyroxingehalt, der Gehalt an Insulin von der Jahreszeit abhängt.

Wenn man sich die Frage vorlegt, was der Körper mit dem vom Pankreas abgegebenen Insulin tut, muss man erkennen, dass wir darüber noch sehr wenig wissen. Dass der Körper das Insulin aktiv zerstört, erscheint ziemlich unwahrscheinlich, in Anbetracht der bisweilen viele Stunden dauernden Wirkung (152, 469), z. B. wenn man viel Insulin gibt und jedesmal bei den ersten Symptomen Glukose einspritzt. Eher kommt eine Entfernung mit den Sekreten und Exkreten in Frage: wir werden noch sehen (S. 244), dass man über den Insulingehalt des normalen Harns noch nicht einig ist. Wohl wissen wir, dass exogen zugeführtes Insulin zum grössten Teil mit dem Harn wieder ausgeschieden wird: wenn man es bei Hunden in Veronalnarkose ins Gefässsystem einspritzt, zeigt es seinen gewöhnlichen physiologischen Effekt, ist jedoch fast quantitativ wiederzugewinnen. Dann zeigt es noch genau dieselbe physiologische Wirkung wie vorher: wieder ein Hinweis, dass der Körper es nicht zu zerstören vermag. Auch nach Verabreichung durch Schleimhäute (Thiry-Fistel) oder subkutan kann man es zum Teil zurückbekommen, und zwar im ersteren Falle mehr als im zweiten. Fisher denkt sogar an die Möglichkeit, dass in der Niere auch für Insulin ein Schwellenwert bestehe, so dass erst wenn die Konzentration im Blute einen gewissen Wert übersteigt, der Überschuss ausgeschieden wird (234). In weiteren Mitteilungen (236, 238) werden die erhaltenen Zahlen noch genauer angegeben: beim Hunde mit Thiry-Fistel konnte die Hälfte, bei diabetischen Menschen und Hunden etwa ein Drittel, nach Verabreichung von 700 Einheiten per Magensonde bei einem Hunde etwa die Hälfte wieder zurückgewonnen werden (im letzteren Fall hatten die Tiere meistens als einziges Sympton nur etwas Frösteln gezeigt).

[Die beschleunigte Ausscheidung des Insulins bei grossen Dosen beeinflusst natürlich stark die Konzentrationswirkungskurve (392).]

Doch muss man auch bei der Erklärung dieser Tatsachen äusserst vorsichtig sein. Hat sich doch gezeigt, dass man keine Gewähr dafür hat, dass das gefundene Insulin wirklich das von aussen eingebrachte ist. Wenn man ein Tier mit Insulin hypoglykämisch gemacht hat, kann man nach Collip (151, 152) mit wenigen Kubikzentimetern von seinem defibrinierten Blut ein anderes normales Tier wieder hypoglykämisch machen, mit dessen Blut wieder ein anderes, usf., anscheinend bis ins Unendliche. Welcher Natur dieses hypoglykämieerzeugende Agens ist, steht noch aus: die Hypoglykämie braucht einige Tage zu ihrer vollen Entwicklung; trotz reichlicher Nahrung geht das Gewicht der Tiere ständig zurück, und schliesslich sterben sie alle, auch wenn man reichlich Glukose einspritzt. Das Agens ist thermostabil, dialysiert durch Fischblase, kann nicht mit Wolframsäure, wohl mit $\frac{2}{3}$ gesättigtem Ammonsulfat präzipitiert werden. Banting und Best (31) sahen von diesen Dingen nichts, aber es ist fraglich, ob sie ihre Tiere lange genug beobachtet haben.

Die Tatsache, dass Insulin, aus Pankreas einer Tierart hergestellt, auch bei anderen Tierspezies wirksam ist, ist uns jetzt so geläufig, dass die erste diesbezügliche Mitteilung von Murlin c. s. (427) vollkommen bestätigt ist.

Die früheren Klagen, dass Patienten mit Insulin von der einen Tierart nichts Abnormes zeigten, mit dem einer anderen Spezies aber regelmässig Hauteruptionen usw. (389) bekamen, sind fast vollkommen verschwunden, seitdem die Präparate vollkommener vom verunreinigenden Eiweiss befreit sind.

B. Anwesenheit ausserhalb des Pankreas.

In den vorangehenden Abschnitten haben wir immer gesprochen über Insulin, das aus dem Pankreas von verschiedenen Tierarten hergestellt worden war; in der Einleitung ist schon angegeben worden, wie man zum Namen Insulin gekommen ist. Unabhängig voneinander haben de Meyer, Schäfer und später Banting c. s. (32, 33, 392) denselben Namen für das vorerst noch hypothetische interne Pankreassekret vorgeschlagen [der von Clough c. s. (140) vorgeschlagene Name Glykopyron hat praktisch kaum Eingang gefunden]. Der Name setzt als bewiesen voraus, dass das Insulin tatsächlich aus den Langerhansschen Inseln stamme, deren anatomische Differenzierung zuerst Langerhans gelang, denen aber von Laguesse (1893) zuerst die endokrine Funktion des Pankreas zugeschrieben wurde (349). Bewiesen wurde dies aber nicht, bis Macleod (388, 393) auf den Gedanken kam, bei bestimmten Fischarten, wo extern-sekretorisches und intern-sekretorisches Gewebe getrennt liegen, und histologisch mit den übereinstimmenden Geweben beim Säuger identifiziert werden können, beide getrennt zu verarbeiten und das Produkt bei Versuchstieren einzuspritzen. Da zeigte sich

unzweideutig, dass die isolierten Langerhansschen Inseln ein äusserst kräftig blutzuckererniedrigendes Agens lieferten, während die damit übereinstimmenden Extrakte vom extern-sekretorischen Gewebe keine Spur einer derartigen Wirkung erkennen liessen. Auch noch in anderer Richtung haben die Torontoer Forscher (38) dafür Beweise beigebracht, indem sie die hypoglykämische Wirkung erweisen konnten, erstens von Extrakten aus Pankreas, dessen extern-sekretorischer Teil durch Unterbindung des Ausführungsganges zum Verschwinden gebracht war, zweitens von Auszügen von fötalem Pankreas, wo der extern-sekretorische Teil noch nicht funktioniert. Trotzdem diese Versuche kritisiert worden sind (475), haben sie doch ihren Wert behalten.

Vincent c. s. (547) haben die Versuche mit Langerhansschen Inseln und extern-sekretorischem Pankreas von Fischen wiederholt, und zwar in der Hauptsache mit gleichem Resultat: die Inseln lieferten etwa 6 bis 7 mal so viel wie das Pankreas, das in ihren Händen doch noch, im Gegensatz zu Macleod, eine beträchtliche Ausbeute ergab. Der Unterschied war jedoch so überzeugend, dass Vincent seine ursprüngliche Ansicht, dass beide Zellarten nur zwei leicht in einander übergehende verschiedene funktionelle Zustände ein und derselben Zellart seien (546), in folgender Weise geändert hat: Tubulus und Insel sind zwar beim Säugetier nur verschiedene Modifikationen gleicher anatomischer Teile, diese Modifikationen bleiben aber doch längere Zeit bestehen, und so entsteht in der Insel eine neue Funktion, die der internen Sekretion des Insulins.

Aus den Langerhansschen Inseln kommt das gebildete Insulin zuerst in den Ductus thoracicus und die Vena pancreatico-duodenalis: biologisch kann man seine Anwesenheit sowohl in der Duktuslymphe (57, 58) als im Serum des Blutes aus der genannten Vene [Allen (32)], zeigen. Gewöhnliches Blutserum aus den übrigen Gefässen ist inaktiv [Allen (32)], doch gelingt es bei einer geeigneten Technik, auch daraus Insulin darzustellen (31, 54, 55, 393), jedenfalls bei normalen Menschen, Hunden und Kaninchen; bei pankreaslosen Tieren fehlte es (31, 40) nach den ersten Angaben.

Die Ausbeute aus normalem Blut betrug nach Banting und Best (31) etwa 1 Einheit pro 30 ccm Blut. So enthält auch das Blut von hypoglykämischen Tieren mehr Insulin als ihnen injiziert wurde (31).

Merkwürdigerweise hat sich später gezeigt, dass entgegen der anfänglichen Annahme, insulinartig wirkende Stoffe nicht nur aus Pankreas, sondern aus allerhand Organen hergestellt werden können. Dies gelingt nur schwer bei pankreasdiabetischen Tieren, bei normalen geht es leichter, aber erst nach den letzten Erfahrungen hat man wohl das Recht, um von Insulin zu reden. Denn bei den ersten Versuchen erniedrigte zwar eine bestimmte Dosis den Blutzuckergehalt stark, aber Verdoppelung bzw. Verdreifachung der Dosis gab keinen stärkeren Effekt, und Krämpfe unterblieben ganz (24).

Vermutlich lag es nur an dem Mangel besserer Reinigung der Präparate, vielleicht ist aber doch die Substanz nicht vollkommen mit Insulin identisch.

Für die erste Vermutung spricht die Tatsache, dass nach Best und Scott (54) alle diese Stoffe doch bei genügend hoher Dosis imstande sind, Krämpfe zu erzeugen und pankreasdiabetische Tiere zuckerfrei zu machen.

Nach den letzten Untersuchungen von Best c. s. (55) ist es wirkliches Insulin: es erniedrigt den Blutzucker bei normalen Kaninchen und erzeugt typische Krämpfe, die auf Zuckerzufuhr prompt verschwinden. Auch bei diabetischen Hunden erniedrigt es den Blutzucker, veranlasst Glykogenablagerung in der Leber und führt zu einer klinischen Besserung.

Anfänglich hat man gemeint, dass es nur aufgespeichertes Pankreasinsulin sei, oder in den Geweben unter Einfluss des Pankreas entstehe, weil nach den ersten Untersuchungen bei vollkommen pankreaslosen Hunden alles Insulin aus allen Organen verschwinde (13). Später aber hat sich herausgestellt, dass es zwar bei solchen Tieren in geringerer Menge anwesend ist, aber doch noch immer mehr als die Hälfte der normal vorkommenden Menge beträgt. Merkwürdig ist, dass die Gewebe von mit Äther narkotisierten nichtdiabetischen Tieren viel weniger Insulin liefern als die normaler oder sogar diabetischer Tiere (55).

Eine derartige Substanz haben Ashby (24), Fisher (233) und Best c. s. (55) aus der Niere herstellen können; aus der Leber konnten Banting und Best (29, 30, 38) keine wirksame Substanz gewinnen, nach Verbesserung der Methodik gelang dies später aber wohl (54, 55, 181, 233).

Die Glandula submaxillaris liefert sogar ziemlich viel Insulin (54, 55), mehr als mit der alten Methode aus Pankreas erhältlich war. Dodds und Dickens erhielten aus Rinderdrüsen pro Kilo 710 Toronto-Einheiten, also etwa 1500 klinische Einheiten (546).

Magen- und Duodenalschleimhaut von Schweinen liefert etwa $\frac{1}{50}$ bis $\frac{1}{75}$ von der Insulinausbeute eines gleichen Gewichts an Rinderpankreas. Als Nebenprodukt kann man Sekretin gewinnen, wenn man das Insulin nach der Shaffer-Fisher-Methode (S. 220) herstellt: es befindet sich dann im sauren wässerigen Filtrat nach Niederschlagen des Insulins durch halbe Sättigung mit Ammonsulfat. Eine toxische (Anti-insulin-)Fraktion fehlt (319).

Auch aus Testikeln kann man Einiges gewinnen (233), ebenso aus der Lunge (55).

Die Thyreoidea enthält nur relativ wenig insulinartig wirksame Substanz (54, 55, 254), welche aber auch bei Verabreichung per os wirksam sein soll (254). Banting und Best (30) hatten vergebens nach einer solchen

Wirkung gesucht, ebenso Cammidge (122); wahrscheinlich betraf dies wieder inadäquat gereinigte Extrakte.

Aus der Hypophyse hat man bisher gar keine insulinartige Substanz isolieren können: Hinterlappenextrakt wirkt gerade der Insulinwirkung entgegen, Vorderlappenextrakt hat gar keinen Einfluss (119, 122). Doch hat Burn einige Male beim normalen Tiere nach subkutaner Einspritzung von Hypophysenextrakt eine Blutzuckererniedrigung gesehen (30).

Nebennieren liefern, ausser dem blutzuckererhöhenden Adrenalin, bei richtiger Verarbeitung auch eine insulinartige Substanz (233), obwohl bei rohen Extrakten die Wirkung des ersteren überwiegt (122).

Der Thymus gibt eine sehr gute Ausbeute an Insulin (54, 55); sogar Rohextrakte sind wirksam (30).

Auch die Milz enthält es in ziemlicher Menge (24). Zwar sind Rohextrakte unwirksam (29, 30, 38, 451), aber bei genügender Reinigung erhält man doch Insulin, das bei normalen Tieren Hypoglykämie und Krämpfe hervorruft, bei pankreasdiabetischen Tieren die Symptome verschwinden lässt (54, 55).

Aus Versuchen in unserem Laboratorium und solchen der Fabrik N. V. Organon hat sich ebenfalls ergeben, dass man aus Milz, Leber, Lunge und Nieren eine Substanz isolieren kann, die blutzuckererniedrigend wirkt, aber es bedurfte erst weitgehender Reinigung, um Krämpfe entstehen zu lassen. Der Blutzucker kam zunächst sogar bei grossen Dosen nicht unter 0,50‰. Die Erniedrigung war dann unabhängig von den Dosen (2,5—100 g Grundsubstanz). Die Erklärung liegt vielleicht an dem stets vorhandenen Antiinsulin (s. später S. 244).

Skelettmuskel liefert kräftig wirksame Präparate, nach den Versuchen von Ashby (24) und von Best und Scott (54, 55).

Auch aus Herzmuskel, Knochen und Gehirn hat man es schon herstellen können (55).

Was die Verteilung des Insulins über die verschiedenen Organe des Körpers betrifft, so geben Best c. s. (55) folgende Zahlen: Die gesamte Muskulatur eines Hundes enthält wenigstens 20 mal so viel Insulin als sein Pankreas, sein Blut wenigstens 5 mal so viel, die Leber etwa gleich viel wie das Pankreas.

Sogar im Harn von gesunden Individuen kommt Insulin vor (31, 55). Ein gesunder Mensch scheidet nach Best und Scott (54) pro Tag ein paar Krampfdosen Insulin aus, schwangere Frauen noch mehr. Der physiologische Effekt war vollkommen dem Pankreasinsulin gleich. Fisher und Noble (238) aber, die die Ausscheidung von exogen zugeführtem Insulin in vielen Versuchen verfolgt haben (S. 240), verneinen das Vorkommen von Insulin im normalen Harn, auf Grund ihrer Befunde an drei Personen.

Lundberg (384) meint, aus tuberkulösen Lungen und Drüsen Insulin abgesondert zu haben, weil die mit dem Extrakt eingespritzten Mäuse Krämpfe zeigten, die auf Glukosezufuhr wichen. Er hat aber keine Blutzuckerbestimmungen ausgeführt, sodass diese Angabe nur mit Vorsicht zu verwerten ist. Aus Tuberkelbazillen und Tuberkulin war ein derartiger Stoff bei ähnlicher Verarbeitung nicht herzustellen, ebensowenig wie aus dem Blut oder den übrigen gesunden Organen der tuberkulösen Tieren.

X. Anti-Insulin.

(In diesem kleinen Kapitel sind verschiedene Dinge vereinigt, die vielleicht spätere Forschung als durchaus nicht zusammengehörig erweisen wird.)

Schon im Anfang der Insulinforschung bemerkte man, dass unreine Präparate träger aber auch anhaltender wirken als reinere (33, 138, 283). Öfter sieht man eine anfängliche Erhöhung des Blutzuckers, der erst dann, einige Zeit später, die eigentliche Insulinwirkung folgt; dies später bedeutet meist $\frac{1}{2}$ oder einige Stunden, es kann sich aber auch um Tage handeln (146). Bei manchen Präparaten trat überhaupt nur die Erhöhung auf, während erst nach weiterer Reinigung die echte Insulinerniedrigung erschien (181). Als bald vermutete man, dass dies auf die Anwesenheit eines in entgegengesetzter Richtung wirkenden Stoffes beruhe (24, 138, 233, 349, 392), und tatsächlich erhielten Murlin (233, 269, 427) und seine Mitarbeiter bei der weiteren Insulinreinigung Abfallfraktionen, welche deutlich blutzuckererhöhend wirken. Er nannte sie „Glukagon“, wir selbst nannten sie Anti-Insulin, beides nicht sehr glücklich gewählte Namen, denn sie setzen mehr Spezifität voraus, als vorläufig zu erweisen ist.

Oben (S. 194) sahen wir bereits, dass die merkwürdige Tatsache der „doppelten Krampfgrenze“ und der auffallende Verlauf der Konzentrationswirkungskurve mancher Insulinpräparate ebenfalls zur Annahme eines Anti-Insulins drängte (de Jongh), und dass man sich ferner gewisse Vorstellungen bilden konnte, wie dieses Anti-Insulin selbst sich in seiner Wirkung mit zunehmender Konzentration verändert (185).

Mit Hilfe der dort entwickelten Anschauung wird man wohl auch die Annahme einzelner Forscher (504) verstehen können, die mit schwächeren Insulindosen nur Hyperglykämie bekommen haben: es waren wohl unreine Präparate, bei denen im Bereich dieser kleinen Dosen die Anti-Insulinwirkung den Insulineinfluss überdeckte.

Jedenfalls ergab sich, dass, je besser man das Anti-Insulin entfernte desto höher die Ausbeute an Insulin aus einer bestimmten Menge von Material wurde (233, 236).

Die erwähnte theoretische Betrachtung von de Jongh, und eine Reihe von Experimenten hat gelehrt, den störenden Einfluss des Anti-Insulins meis

zu beseitigen, aber doch weiss man augenblicklich noch zu wenig von der Natur des Insulins wie des Anti-Insulins, um mit absoluter Sicherheit das Auftreten des Anti-Insulins zu vermeiden. Nach unseren eigenen Erfahrungen können wir nur sagen: es gelingt vielleicht 30 oder mehr mal, dann kommt aber doch plötzlich einmal wieder ein Präparat mit „doppelter Krampfgrenze“, also mit deutlichem Anti-Insulingehalt, ohne dass man wüsste, welche methodischen Änderungen bei der Darstellung etwa gemacht seien; allerdings haben wir seit $\frac{1}{2}$ Jahr den Eindruck, dass bei der jetzigen Reinigung der Übergang des Anti-Insulins in das fertige Präparat zu vermeiden ist.

Man hat die Anti-Insulinwirkung von unreinen Präparaten (Erhöhung des Blutzuckergehaltes, schnell auftretendes Koma, Atmungsstörungen, Krämpfe, Tod) auf Rechnung einer Trypsinvergiftung stellen wollen. Dagegen spricht aber, dass die Anti-Insulinwirkung auch nach Kochen der Präparate auftreten kann und auch bei nicht aus Pankreas hergestellten Präparaten vorkommt. Auch gleichen die Symptome, welche Börner-Patzelt (98) bei echter Trypsinvergiftung an Mäusen feststellte, sehr wenig denen bei Anti-Insulinvergiftung von Kaninchen.

Ausser bei Pankreasextrakten hat man die Anti-Insulinwirkung auch beobachtet bei Auszügen aus Katzenmuskeln (269), ja sogar auch bei denen von Muscheln [*Mya arenaria* (146, 148)]. Auch für Pflanzenextrakte gilt dasselbe; auch daraus ist eine blutzuckererhöhende Fraktion abzutrennen, nach deren Entfernung die Präparate eine viel schnellere und reinere blutzuckersenkende Wirkung haben (150, 200, 237); das gleiche gilt für Hefeextrakte (269, 331).

Ob zu dem Anti-Insulin auch Stoffe zu rechnen sind, welche das Insulin zerstören, jedenfalls seine Wirkung verhindern, ist mehr Sache des Geschmacks. Insofern könnte man natürlich Trypsin auch als Anti-Insulin bezeichnen.

Die ganze Sache ist aber so unklar, weil man auch Fraktionen bei der Insulindarstellung kennt, die auch in saurer Lösung das Insulin vernichten, bzw. seine Wirkung nicht aufkommen lassen: so hat z. B. Dr. Riebensahm in unserem Laboratorium Beobachtungen gemacht, denen wir vorläufig nicht weiter nachgegangen sind, die aber wohl in dieses Kapitel gehören.

Spritzte man insulinhaltende Fraktionen gleichzeitig mit einer Vorfraktion ein, so unterblieb jede Insulinwirkung, wenn die Einspritzungen auf demselben Platze geschahen, dagegen trat sie ungehindert auf, wenn die eine Lösung z. B. auf der rechten Seite, die andere auf der linken eingespritzt wurde; das Antiinsulin würde also wirksam sein, nur wenn es das Insulin unmittelbar erreicht (s. a. S. 209).

Man kann in verschiedener Weise Anti-Insulin, sagen wir Lösungen mit blutzuckererhöhenden Eigenschaften, herstellen.

Kimball und Murlin (331) teilen folgende Methode mit: Extrakt von Rinderpankreas in 0,2 norm. HCl wird von Eiweiss befreit teils durch Neutralisation der Säure, teils durch Niederschlagen mit 5 Volumina 95%igen Alkohol, eingeengt bis $\frac{1}{10}$ des Volumens, ent-

fettet mit Chloroform, wieder konzentriert mit einem gleichen Volumen Alkohol, 18 Stunden dialysiert, niedergeschlagen mit 5 Volumina Aceton. Nach 4 stündigem Stehen filtriert man durch Papier, wäscht gründlich mit 95%igem Alkohol. Der Alkohol wird in vacuo abdestilliert, der Rückstand in sterilem Wasser aufgenommen. Diese Lösung erhöht bei Injektionen den Blutzucker. Der Stoff ist löslich in 95%igem Alkohol, wird von Aceton niedergeschlagen.

Fisher (233, 236) hat zielbewusst seine Präparate dadurch von Antiinsulin befreit, dass er (bei der Methode Doisy-Somogyi-Shaffer) bei der letzten Präzipitation statt 9 Volumina Alkohol zuerst nur 1 Volumen zusetzte, dann den dabei entstandenen grauen Niederschlag (der starke Biuretreaktion gab und bei Ratten äusserst toxisch wirkte) abfiltrierte und durch Zusatz des übrigen Alkohols das reine Insulin aus dem Filtrat präzipitierte. Der graue Niederschlag gab in grossen Dosen nur allerheftigste Krämpfe und Tod innerhalb weniger Minuten, ohne dass der Blutzucker sich nennenswert änderte; bei kleineren Dosen, welche weniger akut wirkten, trat jedoch eine beträchtliche Blutzuckererhöhung (z. B. von 0,7‰ auf 2,31‰) auf. Der Stoff wirkt speziell reizend auf das Atmungszentrum, die Tiere sind dyspnoisch. Wird die Anspruchsfähigkeit des Gehirns durch Äther vermindert, dann werden viel höhere Dosen ohne Schaden und ohne Krämpfe vertragen. Mit Äther kann man immer die Dyspnoe, die Krämpfe und die Gähnbewegungen zum Verschwinden bringen, und die Tiere überleben den Versuch. Dies soll beweisen, dass der fatale Ausgang auf exzessiver Reizung der Zentren der Medulla oblongata beruht. Meerschweinchen zeigten dasselbe Bild wie Ratten, nur reagierten sie etwas langsamer. Bei Kaninchen sinkt nach intraperitonealer Injektion der Blutdruck, der Blutzucker steigt hoch an, ebenso wie nach subkutaner Injektion. Bei Hunden bilden sich am Orte der Einspritzung Abszesse und Infiltrate.

Auch die gewöhnlichen Insulinreinigungsverfahren bewirken, sei es auch unbewusst, eine Entfernung des Anti-Insulins.

Ebenfalls kann man dies nach unserer eigenen Erfahrung erreichen, wenn man die saure wässrige Lösung (sauer für Kongo, noch nicht für Tropäolin 00) während 2 Minuten an der Luft kocht und dann während einer Nacht in der Kühlzelle den Niederschlag sich absetzen lässt und abfiltriert. Das Filtrat ist dann zum grössten Teil von Anti-Insulin befreit. Ein absoluter Schutz gegen Auftreten von Anti-Insulin-Wirkungen scheint, wie gesagt, auch diese Methode nicht zu sein, denn es kommen doch plötzlich wieder einmal Präparate mit doppelter Krampfgrenze vor, ohne dass methodische Abweichungen von den üblichen Darstellungsverfahren nachzuweisen waren.

Foerster und Heuner (241) haben gleichfalls einen derartigen Stoff bei der Insulinbereitung als Nebenprodukt erhalten. In ihrem Falle war er wasserlöslich, gab keine Biuretreaktion und verursachte bei intravenöser Einspritzung bei Kaninchen einen vorübergehenden Blutdruckabfall und Hyperglykämie.

Wir haben den Eindruck, soweit ein solcher bei der kurzen Beobachtungszeit überhaupt möglich ist, als ob die Sommerpräparate etwas schwerer von den Anti-Insulin-Fractionen zu befreien seien.

Die obigen Erfahrungen mit Insulinen aus anderen Organen (s. unsere eigenen betr. Leber, Milz, Nieren), wobei man vor ihrer weitgehenden Reinigung auch mit den grössten Dosen keine Krampfgrenze erreichte, sondern immer nur Blutzuckererniedrigungen bis zu 0,55‰, haben wir auch durch die Gegenwart von Anti-Insulin erklärt, das sich schlechter als beim Pankreas-

Insulin trennen lässt oder das einer anderen Konzentrationswirkungskurve folgt als das Anti-Insulin aus dem Pankreas.

Nach der jetzt gangbaren Meinung scheint es sich beim blutzuckererhöhenden Agens nicht um eine so spezifische Wirkung zu handeln als beim Insulin selbst: man hat die Überzeugung, dass die Erhöhung durch überall vorkommende eiweissartige Substanzen hervorgerufen wird. Jedenfalls kann man diese Versuche nicht als einen Beweis betrachten für die von Wohlgeuth und Koga (591) verteidigte Abgabe zweier entgegengesetzt wirkender spezifischen Aktivatoren durch das Pankreas.

Es muss noch auf die Möglichkeit hingewiesen werden, dass die blutzuckererhöhende Substanz die Muttersubstanz für das Insulin ist. So könnte man dann das gelegentliche Stärkerwerden bestimmter Präparate erklären (146).

XI. Andere insulinartige Stoffe.

Jetzt wollen wir uns noch kurz mit einigen Agenzien beschäftigen, deren blutzuckersenkende Wirkung z. T. schon vor der Insulinzeit bekannt war, und, obwohl sie niemals so kräftig ist, wie die des Insulins, doch unsere Aufmerksamkeit verdient, weil sie uns vielleicht einen Einblick geben kann in die Struktur und die Wirkungsweise des Insulins selbst.

Dass Coccidiose (151, 152, 396), Diarrhöe (450), extreme Blutdruckerniedrigung (392), basische Diät (450) und lange fortgesetztes Hungern (152) an sich den Blutzucker schon beträchtlich herabsetzen, bzw. sogar schon zu hypoglykämischen Symptomen führen können und die Tiere gegen Insulin überempfindlich machen, hat zwar grosse praktische Bedeutung, hilft uns aber für die Beantwortung unserer Fragestellung nicht. [Merkwürdig ist, dass auch die Coccidien-Hypoglykämie serienweise übertragbar ist (152).]

Dann gibt es eine Reihe von pharmakologischen Agenzien, welche zwar den gleichen Effekt haben, uns für die Auslegung der Insulinsymptome aber ebensowenig Anhaltspunkte bieten. Dazu gehören z. B. Phosphor-Uranyl-salze (33) und Salze von anderen schweren Metallen (122). Die gleichartige Wirkung von Alkalicarbonaten (33, 122) bei erhöhtem Blutzuckergehalt ist uns jetzt besser verständlich, weil wir wissen, dass diese dann die alkalotische Tendenz der Insulinwirkung unterstützen werden.

Von hypertonischen basischen Phosphatlösungen (222) würde man dasselbe voraussetzen können: dazu stimmt aber nicht, dass auch hypertonische saure Phosphatlösungen denselben Effekt haben bei intravenöser Injektion (222), ja, nach unserer eigenen Erfahrung kann auch eine ganz geringe Menge (0,2 bis 2 ccm) n/100 HCl bei intravenöser, aber noch stärker bei subkutaner Injektion den Blutzuckergehalt beträchtlich herabsetzen. Der Einfluss der Phosphate erklärt vielleicht auch, warum Hutchinson, Smith und Winter

(314) bei ihren Versuchen zur Isolierung einer insulinartigen Substanz aus Hefe eine scheinbar höhere Ausbeute erhielten, wenn sie der Kulturflüssigkeit zuvor basisches Natriumphosphat zusetzten.

Auch organische Stoffe, welche den Blutzucker herabsetzen, sind bekannt. Erstens das früher auch bei der Diabetesbehandlung empfohlene Opium (122), das aber ziemlich schwach wirkt; einen kräftigeren Einfluss zeigt Atropin, auch im Experiment.

Ergotamin (Ergotoxin, Ergotin) verstärkt nach Burn (119) erheblich die Wirkung einer nachfolgenden Insulininjektion. Wenn man ein normales Kaninchen mit Insulin hypoglykämisch macht, wird keine neue Glukose aus den Depots abgegeben, wenn man die Enden der zur Leber verlaufenden Nerven mit Ergotamin lähmt (387). Spritzt man das Ergotoxin eine Stunde nach dem Insulin intravenös ein, so ist die verstärkende Wirkung nur vorübergehend. Jedenfalls ist es verständlich, dass Sammartino und Liotta (484) keine antagonistische Wirkung von Ergotin gegenüber den Insulinkrämpfen fanden.

Guanidinsalze haben besonders die Aufmerksamkeit auf sich gezogen wegen des möglichen Zusammenhanges mit dem Pankreasinsulin, auch weil Kutscher früher schon die Anwesenheit von Guanidin im Pankreas gezeigt hat (7). Guanidinsulfat erzeugt bei normalen Kaninchen erst nach vielen Stunden eine Hypoglykämie. Wenn ein sehr niedriger Blutzuckergehalt erreicht ist, treten meistens Krämpfe auf, welche nur vorübergehend mit Glukoseverabreichung verschwinden. Immer tritt schliesslich der Tod ein. Auch diese Guanidinhypoglykämie ist von Tier zu Tier übertragbar. Der ganze Verlauf ähnelt sehr dem nach Injektion von den Collip'schen Pflanzenextrakten, oder von Passageserum (151, 152). Izar (320) fand, dass Guanidin und Methylguanidin (die beide ebenso wie Insulin durch Pikrinsäure präzipitiert werden) den Blutzucker bei Kaninchen und Hunden mässig, beim diabetischen Menschen aber gar nicht erniedrigen. Frank (247) berichtete beim letzten Kongress für innere Medizin in Kissingen, dass sich die wirklichen Mengen Guanidin zu denen von Insulin, bezogen auf die Trockensubstanz, etwa wie 600:1, oder sogar 10000:1 verhalten.

Nach Freudenberg (251) komme die Guanidin-Hypoglykämie erst sekundär zustande, dadurch, dass das Guanidin eine Anhäufung von anorganischem Phosphat bewirkt, welche dann zu Hypoglykämie führe.

Nach György und Vollmer (288) werde sie durch Säurezufuhr günstig beeinflusst, weil sie auf einer Alkalose beruhe (diese Autoren haben nur die Blutsäurephosphate und den Blutkalk bestimmt, aber weder das p_H noch den Blutzuckergehalt).

Frank (247) fand für das Auftreten der Guanidinkrämpfe die gleiche Abhängigkeit vom Kohlenhydratvorrat des Körpers wie sie für Insulin gilt: 24 Stunden hungernde Kaninchen und Mäuse zeigen nach Guanidininjektion

dieselbe Adynamie und dieselben Krämpfe wie nach Insulin: die Guanidinkrämpfe treten beim Kaninchen bei einem Blutzuckergehalt von etwa 0,50^o/₁₀₀ auf. Glykogen- oder glukosereiche Tiere bekommen keine Krämpfe: der Krampf kann durch subkutane oder intraperitoneale Injektion von Glukose oder Adrenalin 24 bis 36 Stunden verschoben werden. Die Guanidinkrämpfe hängen aber durchaus nicht ausschliesslich von der Hypoglykämie ab, denn z. B. Dimethylguanidin erzeugt Krampf ohne deutlichen Zusammenhang mit dem Blutzuckergehalt. Wichtig ist auch die Feststellung Hummels (313), dass auch bei lokaler Applikation von Guanidincarbonat, in Ringerlösung gelöst, auf Froschmuskeln, welche ihres Zusammenhanges mit dem Rückenmark beraubt waren, sich eine deutliche Hemmung oder meistens sogar vollkommene Unterdrückung der Muskelzuckungen durch Zusatz von Glukose erzielen liess; diese krampflösende Glukosewirkung ist also rein peripher.

Cholin soll beim Diabetiker den Blutzuckergehalt herabsetzen (143).

Weiter ist noch eine hypoglykämische Wirkung bekannt von Hydrazinsulfat (33), welche von Underhill und Karelitz (540) näher untersucht ist, in verschiedenen Beziehungen aber von der Insulinwirkung abzuweichen scheint. Nach Hendrix und Mc Amis (302) erzeugt es bei Hunden (bei denen es Leberschädigungen verursacht) Hypoglykämie und Alkalose (das p_H des Blutes steigt, ebenso wie sein CO_2 -Bindungsvermögen), nicht nur wenn man grosse Dosen gibt, sondern auch wenn man jede 48 Stunden kleine Dosen einspritzt. Die Hypoglykämie ist am stärksten am Tage der stärksten Alkalose oder am darauf folgenden Tage.

Auch Phlorhizin kann schliesslich, nach der hyperglykämischen Phase, zu einer Hypoglykämie führen (33, 232, 431, 474, 505).

Äthylalkohol soll ebenfalls den Blutzuckerspiegel erniedrigen, und zwar stärker bei Diabetikern als bei normalen Individuen (272).

In Zusammenhang mit dem, was wir früher hinsichtlich der temperaturerniedrigenden Wirkung des Insulins (s. a. S. 42) gesagt haben, ist es von Interesse, dass auch viele Antipyretika den Blutzucker herabsetzen (227).

Dann gibt es noch eine Reihe von Substanzen, denen nur ihre offenbar kolloidale Natur gemeinsam ist. Von allen diesen, von Pepton (532), von Salvarsan (532), von Caseosan (50, 495, 496), von „Proteinkörpern“ (551), von steriler Milch (308, 496), ja sogar von T.A.B. Vakzine (532) hat man behauptet, eine Erniedrigung der Hyperglykämie und der Glykosurie speziell bei Diabetikern beobachtet zu haben, und sogar einen bleibenden Effekt (495).

Zum Schluss wollen wir noch kurz das wichtigste hierher gehörige Kapitel besprechen, und zwar die insulinartigen Stoffe, welche aus dem Pflanzenreich stammen.

Als bald, nachdem Collip seine Methodik der Insulinbereitung aus Säugerpankreas ausgearbeitet hatte, begann er zu versuchen, ob auch aus anderen Organismen, die, es sei Glykogen, es sei Stärke zu speichern, bzw. niedrigere Kohlenhydrate zu verarbeiten imstande sind, insulinartige Körper herzustellen waren. Und tatsächlich gelang ihm dies als bald: zuerst bei einer glykogenreichen Muschel [*Mya arenaria* (148, 150, 153)], dann aus Hefe, und schliesslich aus allerhand Pflanzenteilen: er nannte diese blutzuckererniedrigenden Extrakte Glukokinin (150).

Die Symptome, die solche Glukokinine machen, sind etwas verschieden von denen des reinen Tierinsulins. Nach der Injektion tritt zuerst eine starke Blutzuckererhöhung mit Schwäche usw. auf: einzelne Tiere sterben. Dann sinkt der Blutzucker stark ab, bis 10 bis 24 Stunden nach der Injektion sich eine lange anhaltende Hypoglykämie entwickelt hat, während deren die Leber sich vollkommen glykogenfrei zeigt; zum Teil treten Krämpfe auf, welche mit Zucker bekämpft werden können. Die Glukose kann aber nicht verhindern, dass schliesslich doch die Tiere alle zugrunde gehen. Die Hypoglykämie ist mittels einiger Kubikzentimeter Blut von Tier zu Tier serienweise übertragbar, wie es scheint bis ins Unendliche (152).

Bei diabetischen Tieren beeinflusst das Glukokinin die Glykosurie günstig (150, 151). So konnte Collip einen total pankreaslosen Hund mit nur drei Injektionen von Extrakt von Zwiebelausläufern 66 Tage am Leben erhalten. Als er dann starb, war keine Spur von Pankreasgewebe mehr zu finden; wohl zeigten sich einige grosse Abszesse: mit dem Blut dieses Tieres konnten Kaninchen wieder in Serien hypoglykämisch gemacht werden.

Welche Beziehung besteht zwischen dem Agens, das beim ersten Tiere einer Reihe Hypoglykämie erzeugt, und dem, das von Tier zu Tier übertragbar ist, ist noch nicht festgestellt. Solche Übertragungen sind möglich bei Hypoglykämie durch Pflanzenextrakte, durch gewöhnliches Insulin, durch Guanidinsulfat und durch Coccidiose. Die Hypoglykämie eines Passagekaninchens entwickelt sich meistens innerhalb 1—3 Tagen. Die mit diesen Stoffen eingespritzten Tiere fressen wie Raben, wenn ihnen genügend Futter zur Verfügung steht: doch nimmt ihr Gewicht fortwährend ab, und, wenn sie schliesslich trotz allem hypoglykämisch sterben, sind sie oft stark abgemagert. Collip denkt daher an einen intensiven Eiweissstoffwechsel.

Findet man Tiere, welche unbeobachtet gestorben sind, dann kann man entscheiden, ob das hypoglykämische Agens hier mit im Spiele war, dadurch, dass man ihr Blut einem normalen Tiere einspritzt und sieht, ob dieses eine Passagehypoglykämie bekommt (151).

Die Passagehypoglykämie entwickelt sich regelmässiger und schneller als die Glukokinin-Hypoglykämie.

Als Ursache für den Tod der Passage-, wie der Glukokinin-, ja auch

der Insulintiere, muss neben der Hypoglykämie noch etwas anderes im Spiele sein. Denn der Tod ist bei Tieren, die grosse Dosen Insulin (wohl doch noch nicht reinstes) erhalten haben, und die wiederholt Glukose bekommen, oft nicht aufzuhalten, ebensowenig wie bei den obengenannten Passagetieren, auch wenn sie ausserordentlich viel Futter erhalten und dies leidenschaftlich verzehren. Auch die Glukokininversuche Collips, bei denen er zu diesem Ergebnis gelangte, sind aber doch wohl noch nicht mit den reinsten Präparaten vorgenommen worden.

Ob andererseits nicht die Hypoglykämie, welche Collip bei seinen Passagetieren beobachtet, die alle hungern, nicht mit der Nahrungsentziehung zusammenhängt, wie Collip (152) selbst angibt, ist noch nicht entschieden, denn gerade an den Tieren, welche zu fressen bekommen haben, scheinen keine Blutzuckerbestimmungen gemacht zu sein.

Methoden zur Herstellung der Pflanzenextrakte (150, 151).

1. Frische Gewebe mit CO_2 -Schnee gefrieren lassen, im Mörser pulverisieren, 5 Volumina 95%igen denaturierten Alkohol zusetzen. Nach mehreren Stunden abfiltrieren, Filtrat in einem warmen Luftstrom konzentrieren. Bisweilen wurde das gefrorene pulverisierte Gewebe zuerst mit heissem Wasser extrahiert: dann wurde Alkohol zugesetzt bis die Konzentration etwa 80% war, und nach Filtration der Extrakt im warmen Luftstrom eingeengt.]

2. (Eine Variante von 1.) Die Pflanzen werden mit CO_2 -Schnee gefroren bis sie hart sind, dann zu Pulver zermahlen, das, noch gefroren, in so grosse Mengen kochenden Wassers fällt, dass die Temperatur des Gemisches $70-80^\circ \text{C}$ beträgt. Diese Temperatur wird 3 Minuten eingehalten, dann kühlt man ab und setzt sogleich 5 Volumina mit Aceton denaturierten 95%igen Alkohols zu. Nach Filtration wird die hellgrüne Flüssigkeit zu einem kleinen Volumen in einem warmen Luftstrom eingeengt; dann präzipitiert das Chlorophyll, wenn der Alkohol verdunstet ist, und es bleibt eine klare gelbe syrupöse Flüssigkeit übrig, welche sich leicht filtrieren lässt.

3. Wirksame Extrakte kann man herstellen entweder durch Extraktion mit kaltem Alkohol oder durch Behandeln eines Gemisches von pulverisierten Pflanzengeweben mit 5 Volumina mit Aceton denaturiertem 95%igen Alkohol am Rückflusskühler.

4. Zuerst werden die Pflanzengewebe permeabel gemacht durch höchstens 20 Minuten schnelles Erwärmen im Autoklaven bei einem Druck von höchstens 5 engl. Pfund, dann wird die Masse schnell herausgenommen und ausgepresst. Der Saft wird verarbeitet, z. B. in der Weise, dass man 2 Volumina Aceton zusetzt; nach Filtration wird das klare strohgelbe Filtrat nach Bedarf eingeengt und eventuell gereinigt.

5. Aus frischem Saft kann der wirksame Stoff durch Zusatz von Ammonsulfat gewonnen werden (150, 151).

Dubin und Corbitt (200) ist es gelungen, ebenso wie beim tierischen Insulin, auch bei Pflanzenextrakten den hypoglykämieerzeugenden Stoff von seinen hyperglykämieerzeugenden Verunreinigungen zu befreien; die vorläufige Trennung geschieht mit Alkohol, die endgültige mit Dinitrosalicyl- oder Pikrinsäure. Man kann das Glukokinin an Holzkohle (Norit) adsorbieren, und es daraus wieder mit Eisessig zurückgewinnen. Das so erhaltene Produkt hat nicht mehr die träge Wirkung des Collipschen Glukokinins, sondern wirkt ebenso schnell und genau in der gleichen Weise wie reines Insulin,

so dass die genannten Autoren das Pflanzenprodukt als vollkommen identisch mit dem Insulin betrachten. Diese Tatsachen sind von Fisher und Mc Kinley (237) an Glukokinin ganz anderer Herkunft vollkommen bestätigt worden.

Damit sind auch wohl die Hypothesen erledigt, welche man über die Natur der Glukokininwirkung aufgestellt hat: Eine Beförderung der Insulinabgabe durch das Pankreas (393) unter Einfluss des Glukokinins ist ebenso wenig bewiesen als die Vermutung, dass die Glukokinine Vorstufen des Insulins seien (256, 393).

Bei den reinen Präparaten gibt Glukose vollkommene und bleibende Erholung (314, 574).

Die Herstellung von Glukokinin ist schon gelungen aus Zwiebeln, aus grünen Zwiebelblättern, aus Salatblättern, Blättern von keimendem Weizen, Blättern und Stengeln von grünen Bohnen, Wurzeln von Roggen und gekeimtem Samen ohne Blättchen, aus Zwiebelwurzeln (150, 153), aus Sellerie (200), aus grünen Kornstengeln (230), aus Orangen, Zitronen und *Citrus decumana* (237), (sowohl aus dem Saft wie aus Fruchtfleisch und Rinde), aus Bohnen (*Phaseolus multiflorus*) (220), aus Kartoffelsaft (528a).

[In diesem Zusammenhang mag daran erinnert werden, dass Mahler und Pasterny (400) günstigen Einfluss sahen vom Gebrauch von rohem Knoblauch per os bei einigen Diabetikern.]

Aus alten getrockneten Blättern von *Diascia* sp. gelang die Herstellung nicht.

Ellis (222a) hat das Glukokinin aus Zwiebelausläufern oder Kornpflanzen dialysiert: die Fraktion, die nicht durch die Membran passiert, beschleunigt, die, welche wohl passiert, hemmt das Wachstum von Maiskeimlingen. Lässt man die Pflänzchen 3 oder 4 Tage in konzentrierten Lösungen der letztgenannten Fraktion stehen, dann schwitzen aus den Blattgipfeln Tropfen einer braunen, klebrigen, stark zuckerhaltigen Flüssigkeit aus, und die Pflanzen sterben: mikroskopisch kann man Anomalien der Stärkespeicherung beobachten. (Bei Dialyse von Rohinsulin erhielten sie Fraktionen mit derartiger, sei es auch schwächerer Wirkung.)

Aus Hefe gelingt es wohl, Insulin darzustellen, aber es scheinen verschiedene wichtige Faktoren in Betracht zu kommen, so dass einigen Forschern der Nachweis vollkommen misslang.

Collip (150, 151), Fetzner (230), Funk c. s. (256), Winter (573, 579), Brugsch c. s. (114) gelang es wohl bei *Saccharomyces cerevisiae* und *S. ellipsoideus*, Hutchinson, Smith und Winter (314) hatten nur Erfolg bei einer bestimmten Heferasse, die auch nach Züchtung in Reinkultur diese Eigenschaft behielt. Viele andere Rassen aber waren bei allerlei Modifikationen der Verarbeitung in allen Fraktionen vollkommen wirkungslos. Das Hefe-

präparat lässt Ratten in Konvulsionen sterben, genau wie Insulin (579). Es soll nach Winter und Smith (579), ebenso wie Insulin (? Ref.) sowohl Phosphor als Kohlenhydrate enthalten und nach Hydrolyse eine positive Reaktion nach Seliwanoff geben.

Herstellungsmethoden für Hefeextrakte (150, 151).

1. Frische Hefe mit $\pm 70\%$ igem Aceton während vieler Tage in Kugelmühle mahlen, filtrieren. Filtrat in einem warmen Luftstrom konzentrieren (eventuell Hefe zuvor mit CO_2 -Schnee gefrieren lassen).

2. Wie 1. Konzentriertes Acetonfiltrat reinigen a) nach dem Collipschen Verfahren für Insulin, b) nach einer Variante davon.

3. Frische Hefe trocknen mit Aceton oder Alkohol, dann an der Luft trocknen, pulverisieren, zum Schluss extrahieren mit Wasser von 70 bis 90°C . Filtrat entweder als solches, oder nach Reinigung mit Alkohol oder Aceton einspritzen.

4. Frische Hefe, gefroren mit CO_2 -Schnee, extrahieren mit heissem Wasser, filtrieren. Wird entweder als solches oder gereinigt wie 3. eingespritzt.

5. Frische Hefe extrahieren mit kaltem 70 bis 80% igem Alkohol. Filtrieren; Filtrat im Luftstrom konzentrieren (150, 151).

6. Nach dem Collip-Dudley-Verfahren für Insulin (314).

Um wirksame Extrakte zu erhalten, ist es unbedingt notwendig, die Hefezellen gründlich zu zerkleinern, entweder in der Kugelmühle oder durch Zerfriren mit Kohlensäureschnee.

In vitro konnte Gottschalk (278) zeigen, dass Hefe-Glukokinin, genau so wie Insulin, die Acetaldehyd-Produktion durch Leberbrei um ein Vielfaches steigert. Das erinnert ihn an den günstigen Einfluss von Hafer- u. a. dergleichen Kuren bei Diabetes, welche vielleicht bei Verdauung ihrer Glukokinine Produkte liefern, die zum Pankreasinkret in Beziehung stehen. Diese Vermutung scheint nicht unrichtig, denn Boden c. s. (97) haben angegeben, dass Suppe von Haferkleie bei Diabetikern oft ebenso günstig wirkt wie eine vollständige Hafermehlkur. Deshalb haben sie die Haferkleie extrahiert und den Extrakt weitgehend gereinigt.

100 g Haferkleie werden mit 300 ccm 96% igem Alkohol versetzt. Es wird tüchtig geschüttelt und über Nacht stehen gelassen. Zu je 100 ccm des Alkohols wird zuvor 1 ccm Eisessig zugefügt. Man giesst dann nach 12 Stunden den Extrakt in grosse Zentrifugengläser und zentrifugiert scharf. Es setzt sich unten Haferkleie und Staub ab, darüber eine klare goldgelbe Schicht von alkoholischem Kleienextrakt. Dieser wird im Messzylinder abgemessen, und die gleiche Menge von 60% igem Alkohol zu dem ersten Rückstand von fester Kleie dazugegeben, und so die Kleie zum zweiten Male ausgezogen. Man lässt wieder über Nacht stehen und bringt dann den ganzen Kolbeninhalt in ein Faltenfilter zum Filtrieren. Das Filtrat wird vermisch mit dem ersten Zentrifugat und wird mit 10% Natronlauge gegen Lackmus neutralisiert und dann die Gesamtflüssigkeit auf 0° gebracht. Dabei tritt meist eine Trübung auf. Es wird dann noch einmal filtriert, und der Alkohol unter 80° im Wasserbad und bei Luftverdünnung verdampft. Der syrupartige goldgelbe Rückstand, mit grünem Pflanzenfarbstoff bedeckt, wird mit sterilem Wasser versetzt (ungefähr 40 ccm), tüchtig geschüttelt und durch Tierkohlefilter (! Ref.) zur Entfärbung und Reinigung geschickt. Es bleibt eine wasserklare, farblose Flüssigkeit übrig, die sofort zur Injektion verwandt werden kann. Verwahren auf Eis. Dosis: Kaninchen 3–5 ccm, Mensch 1–2 mal täglich 5 ccm.

Die nach der beschriebenen Methode hergestellten Extrakte hatten bei intravenöser Injektion eine starke Blutzuckererniedrigung, sowohl bei Kaninchen als bei normalen und diabetischen Menschen zur Folge, die meist schon 1 $\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden nach der Injektion maximal war und einige Stunden später wieder verschwand. Die Wirkung auf die Acetonurie war sogar noch viel deutlicher als die auf die Glykosurie. Auch dieser Stoff ist also wohl ein Glukokinin.

Auch andere Mikroorganismen (584) können bei geeigneter Verarbeitung blutzuckerherabsetzende Substanzen liefern. Schon Collip (150) hatte die Frage aufgeworfen, ob nicht Bakterien dazu imstande waren.

Sehr merkwürdig sind die diesbezüglichen Befunde von Little c. s. (378), weil sie ihre Bakterien (*B. coli*, *B. subtilis*) auf einen genau bekannten Nährboden (K_2HPO_4 1 Gramm, $MgSO_4$ 1 Gramm, Asparagin 2 Gramm, Aqua dest. ad 1 Liter) wachsen liessen. Wurde dann die 4—7 Tage alte, bei 37,5° gezüchtete Kultur mit Alkohol 75%ig gemacht, dem ganzen $\frac{1}{2}$ % H_2SO_4 zugesetzt und alles nach einer beschriebenen Methode weiter verarbeitet, dann wurde ein Präparat erhalten, das den Blutzucker schnell, stark und während langer Zeit erniedrigte, z. B. bis auf 0,48%, ohne dass Krämpfe auftraten. Das Präparat gab keine Biuretreaktion.

Bickel und Collazo (56) lenken die Aufmerksamkeit auf die auffallende Tatsache, dass Vitamine (speziell Vitamin B) und Glukokinine demselben Rohmaterial entstammen.

Zum Schluss wollen wir erwähnen, dass sogar auch physikalische Einwirkungen den Effekt einer Insulininjektion haben können, so z. B. kann Röntgenbestrahlung des Schädels den Blutzucker bei Kaninchen bis zu 0,40% erniedrigen, ohne dass Krämpfe auftreten (178).

XII. Zusammenfassung und Schluss.

Wir konnten uns nicht entschliessen dies letzte Kapitel „Theorie der Insulinwirkung“ zu nennen. Am liebsten hätten wir es überhaupt nicht geschrieben, haben aber einem sanften Druck nachgegeben. Warum wir so widerhaarig waren?

Weil wir den Eindruck hatten, dass auf diesem Gebiet im Verhältnis zu den bisherigen Tatsachen schon zu viel theoretisiert sei, und es darum besser wäre, noch ein paar Jahre ruhig wirkliche Tatsachen zu sammeln, ehe man sich immer wieder den Kopf zerbricht, Dinge zu vereinigen, die gar nicht zu vereinigen sind, weil — ein Teil gar keinen Realitätswert hat.

Andererseits geben wir aber unbedingt zu, dass ohne solche theoretische Versuche man gar nicht wüsste, nach welcher Richtung man eigentlich weiter suchen muss, und darum haben theoretische Beschauungen sicher einen gewissen Wert. Wir verzichten trotz dieses Wertes auf die Wiedergabe der einzelnen schon geäußerten Theorien, von welchen man dann zeigen müsste,

an welchem Punkt oder meistens an welchen Punkten sie versagt haben; zumal auch oft solche Theorien von den eigenen Vätern nach kurzer Zeit verlassen wurden.

Klipp und klar sei darum ausgesprochen, dass im Augenblick eine wirkliche Theorie über die Wirkung des Insulins, die diesen Namen verdient, uns unmöglich scheint; und dass wir auch mehr die Courage als die Ratio mancher Autoren bewundern, welche die „Rätsel des Insulins gelöst“ haben.

Eine Theorie soll nicht nur bekannte Tatsachen zusammenfassen, sondern auch womöglich neue vorauszusagen gestatten. Von beidem ist noch nicht die Rede. Ein Vergleich mit einem andern innern Sekret wird dies deutlich machen. Wenn wir vom Adrenalin sagen: seine Wirkung ist als eine Reizung des sympathischen Systems zu begreifen, so liegt darin, dass eine Fülle von Wirkungen ohne weiteres „erklärt“ scheinen; des weiteren können wir aber auch, wenn diese Theorie richtig ist, sobald ein neuer Effekt von sympathischen Endigungen entdeckt wird, mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit prophezeien: Adrenalin wird dann wohl auch dies oder jenes tun.

So weit sind wir bei Insulin noch lange nicht. Wir kennen keinen bestimmten Angriffspunkt des Insulins, und aller Wahrscheinlichkeit nach ist auch seine Bedeutung eine allgemeinere, und vielleicht nicht einmal damit erledigt, dass wir sagen: es greift in den Kohlenhydratstoffwechsel ein. Und dabei ist dies auch noch eine recht vage Formulierung, solange dieser selbst einerseits uns noch ein sehr verschlossenes Gebiet ist und andererseits in viel engerem Zusammenhang mit anderen Gebieten, dem Fett- und Eiweißstoffwechsel steht, als man oft wegen übertriebener Systematisierung hat zugeben wollen.

Nach diesen Vorbehalten wollen wir uns darum auf folgendes beschränken:

- A. auf eine Zusammenfassung des „tatsächlich“ (?) Festgestellten;
- B. auf eine Aufzählung der Punkte, die man für besonders erklärungsbedürftig angesehen;
- C. auf eine Wiedergabe der Haupteklärsmöglichkeiten und
- D. zum Schluss auf die Mitteilung einer Hypothese, wie wir uns selbst die Wirkung des Insulins vorstellen, um damit anzugeben, nach welcher Richtung hauptsächlich neue Tatsachen gesucht werden sollen.

A. Zu allererst darum nochmals eine kurze Zusammenfassung dessen, was uns im Augenblick als tatsächlich festgestellt erscheint.

Wir drücken uns so vorsichtig aus, weil wir uns nicht einbilden, dass uns eine solche Feststellung immer geglückt ist. Denn trotz unserer Bemühung, durch kritische Durchsicht der Literatur und — so oft es uns nur möglich war — durch Vergleich mit eigenen Erfahrungen zu einem Urteil

zu kommen, ist dies keineswegs immer gelungen, und auch wenn dies der Fall war, braucht dies Urteil noch nicht das richtige zu sein. In einzelnen, und gerade sehr wichtigen, Fällen haben wir darum, um dem Leser das Finden einer eigenen Ansicht über die Befunde zu erleichtern, diese nochmals in Tabellen vereinigt; wir geben z. B. Zusammenstellungen über das Verhalten der KH, im besondern über das Schwinden des Glykogens in der Leber, desgleichen im Muskel, ferner über den Gaswechsel usw.

Warum das Tatsächliche uns so schwer herauszufinden schien? Weil auf diesem Gebiete sämtliche Erschwerungen zu solcher Feststellung vorliegen, die man sich überhaupt denken kann:

a) Die Ergebnisse sind als solche oft sehr unsicher und zwar, weil nur mit Methoden mit sehr grossen Fehlergrenzen erreicht oder weil an viel zu wenig Material erhalten.

b) Die Autoren interpretieren die erhobenen Befunde anders, als ein unvoreingenommener Leser dies tun kann.

c) Der folgende Autor, der eine Theorie aufstellt, übernimmt die sog. Ergebnisse wieder anders, als der vorhergehende sie selbst erhalten haben will. — Für all dies kann man Beispiele im Vorhergehenden finden.

Was nun zunächst die Zusammenstellung des Tatsächlichen betrifft, trennen wir die Wirkung des Insulins auf den normalen und auf den diabetischen Organismus nur insofern, als sichere Unterschiede bekannt sind, so dass, wenn nichts hierüber gesagt ist, ein gleiches Verhalten angenommen werden kann.

a) **Im Blut:** 1. Abnahme des ohne weiteres reduzierend wirkenden Materials (Abnahme des „freien Blutzuckers“) und zwar sowohl des normalerweise vorhandenen, als auch des vermehrten (wie bei Diabetes, nach Adrenalin, Asphyxie u. dgl.).

2. Erreichen des niedrigen Blutzuckerspiegels innerhalb $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Stunden, unabhängig von der Grösse der Dosis; geringfügige weitere Senkung, deren Dauer vor allem von der Dosis abhängt.

3. Abnahme des Phosphatgehaltes (dasselbe gilt für den Harn).

4. Relative und auch absolute Zunahme des durch Hydrolyse erhaltenen, reduzierenden (vorher gebundenen) Materials („gebundener Zucker“, „Eiweisszucker“, „Lactacidogen“, „Zwischenzucker“, vielleicht auch das, was man auf Rechnung der γ -Glukose gestellt hat).

5. Auftreten bzw. Zunahme des in seiner chemischen Zusammensetzung noch unbekanntes, auch nach Hydrolyse nicht reduzierenden KH-artigen Stoffes von Winter und Smith (s. S. 92).

6. Verschiebung der Reaktion.

7. Abnahme bzw. Schwinden der Acetonkörper falls diese in abnormen Mengen beim Diabetiker vorhanden (dasselbe gilt für den Harn).

Lebern von insulinvergifteten Tieren

Sofort nach Töten des Tieres analysiert				Durchströmungsve	
	Glykogen	Andere Kohlenhydrate	Blutzuck. in Lebergefaßen		
Normale, gut genährte Tiere	(Maus, Kaninchen)	— Babkin 28 — Brugsch 111 + ? Cammidge 121 — Dudley 205	Nichtreduzierendes Kohlenhydrat + + Winter 585	— in Vena hepat. (Kaninchen) Cori 161 Zuckeraufnahme aus V. portae nicht grösser als normal (bei narkotisierten Tieren!) Macleod 304	Abnahme der Glykogen (Hund) Griesbach (Frosch) v. Issekut kohle aber malen 317) Frosch, Maus, Meerschweinchen, Kaninchen, normal u. diabetisch } Brugsch I säure
	(Maus, Meerschweinchen) keine gewöhnlich	+ Dudley 204 — Macleod 393 = Macleod 164 — Nitzescu 436 — Staub, 272			
Normal hungernd	nach Krampf (Meerschweinchen und Kaninchen) (Kaninchen) = (Maus)	— Brugsch, 111 — Brugsch 112 oder — Cori 160 — ? Cori 160	Freier Leberzucker — (Kaninchen, Maus) Cori 160		Gleichbleiben der Glykogen (Frosch, normal und diabetisch) Bissinger
Normal, ev. + Glukose	(Kaninchen) (Meerschweinchen, Kaninchen) (Meerschweinchen) (Kaninchen) (während der ersten drei Stunden +, Endzustand aber =) meistens	= Babkin 28 + Brugsch 111 + Brugsch 112 (höher als ohne Glukose, aber nicht höher als bei normalen Tieren ohne Insulin) + Collazo 145 + Cori 159, 162, 163 (auch bei subnormalem Blut- und Leberzuckergehalt; beim selben Tiere von Zeit zu Zeit verfolgt) Lesser 373 — Macleod 387, 393 — Macleod 164 (zu grosse Dosen, Überreizbarkeit der Muskeln)	Freier Leberzucker — Cori 163		
Diabetisch, bei gleichzeitiger Kohlenhydratverfütterung	(Hund)	+ + Banting, Macleod c. s. 32, 35, 167, 390, 393, 441 + Brugsch 111 + + Collip 148 + + Hédon 299, 300 + Nitzescu 436			
Avitaminose	(Taube)	+ Bickel, 56			

— Abnahme gegenüber Kontrollen, = Gleichbleiben gegenüber Kontrollen, + Zunahme gegenüber Kontrollen.

n der Kohlenhydrate.

		Lebern von normalen Tieren	
versuche	Versuche mit Leberbrei	Durchströmungsversuche. Zusatz von Insulin zur Durchströmungsflüssigkeit	Versuche mit Leberbrei. Zusatz von Insulin in Substanz
Glykogenolyse Griesbach 284 Issekutz 318 (Gesamt- kohlenhydratgehalt aber = den normalen Kontrollen 317)	Abnahme der Glykolyse Geringere Glukose- und Milchsäure- Produktion. (Frosch, Meer- Brugsch 112. Glukose- schweinchen Defizit: viel mehr nach hypo- Zucker verschwun- glykäm. den als Milchsäure Komplex, entstanden. Gleich- unter Zusatz zeitiges Verschwin- von Glukose den von anorg. P. zu Leber- brei und viel Sauerstoff.	Zunahme des Glykogengehalts, de Meyer Erschwerte Ausschüttung durch nachfolgenden Zusatz von Adrenalin Griesbach 284	
Glykogenolyse Issekutz 111 (keine Milch- säurebildung)			
Glykogenolyse Issekutz 81	Gleichbleiben der Glykolyse (Pankreas- Nitzescu 437 diab. Hunde- Mauriac 412 lebern)	Gleichbleiben der Glykogenolyse Schildkröte Noble 441 Frosch, nor- Bissinger 81 mal ibidem v. Issekutz 317, 318 Frosch, Maus, } Meerschwein- } Brugsch 111, 112 chen, Kanin- } chen, normal } u. diabetisch } Hund Griesbach 284	Gleichbleiben der Glykogenolyse (Meerschwein- Collazo 145 chen) Gleichbleiben der Glykolyse (Diabetischer Nitzescu 437 Hund) Mauriac 412
	Zunahme der Glykolyse Vermehrte Glukosebildung, gleich- gebliebene Milchsäureproduktion (Meer- Brugsch 112 schweinchen vor Auftreten von hypoglyk. Symptomen)	Zunahme der Glykogenolyse Schildkröte, } Hund, } Brenckmann 107 Kaninchen }	Zunahme der Glykolyse Erhöhte Azet- Neuberger 433 aldehydbildung Starke Bildung Gottschalk 280 von Azetaldehyd aus allerhand Glykogen- derivaten

Tab. B. Verhalten de
I. Muskeln von insulinve
A. Sofort nach Töten des

	Herzmuskel		
	Glykogen	Glykogen	
Tier normal hungernd	+ (wenig) Macleod 164	- Brugsch 111 - Kuhn 344 (nach Krampf) - Macleod 393 (nach grossen Dosen)	
Normal gut genährt			Nichtreduzieren
Normal (evtl. hungernd) + Glukose			Milchsäure Lactacidogen - a Phosphorsäure
Diabetisch			

B. Muskelbrei von insulinverg
 Skelettmuskel: enormer Zuckerverbrauch, viel grösser als mit der, zwar a

II. Muskeln von normalen

Herzmuskel		
Zusatz von Insulin in Substanz zur Durchströmungsflüssigkeit		
Erhöhte Zuckeraufnahme (Katze, Kaninchen):	{ Clark 134, 135 Hepburn 303, 392	Erhöhte Acetalde Erhöhte Milchsäur Etwas vermehrte Etwas erhöhte an

+ Zunahme. = Gleichbleiben, - Abnahme.

der Kohlenhydrate.

linvergifteten Tieren.
des Tieres analysiert.

Skelettmuskel	
Andere Kohlenhydrate	Blutzucker (s. auch Tab. S. 74)
erendes Kohlenhydrat ++ Winter c. s. 585	Erhöhtes Verschwinden von Zucker bei Passage durch die Muskulatur, speziell im Anfang der Insulinwirkung Cori 161
= Collazo 145	
en-artige organische	
säure-ester: {	
= Collazo 145	
+ Robison c. s. 327a (bestimmte Fraktion)	
+ Audova c. s. 25, 26	
	Meistens, aber nicht immer, erhöhtes Verschwinden von Zucker Cori 161

vergifteten Tieren in vitro.

ar auch verstärkten, Milchsäurebildung übereinstimmt. Brugsch 112.

alen Tieren.

Skelettmuskel	
Zusatz von Insulin in Substanz zum Muskelbrei.	
aldehydbildung	Toenniesen 534
nsäurebildung	Collazo 145
hrte Milchsäurebildung, aber nicht bei gleichzeitigem Glukosezusatz	Laquer
te anorganische Phosphat-Abspaltung	Collazo 145.

Tab. C. Gas
1. Normale (evtl. hungernde) Individuen

Antor	Tierart	CO ₂ -Abgabe	O ₂ -Aufnahme
Dale 117 } London	Kaninchen	{ + (im Anfang)	{ = (im Anfang)
Dudley 204 }		{ - (später)	{ - (später)
Heymans 305, 306, 407	" (normal)	=	
"	" (hungernd)	= oder -	
Macleod 392 } Toronto	"		{ + in 1/3 der Fälle
Dickson 194 }			{ = od. - in 2/3 d. Fälle
Krogh 341, 392	" (Kurare)		= oder -
Dudley 204	Meerschweinchen	-	-
Gabbe 258	Ratte	{ -(geringer als beim O ₂)	{ zuerst -, selten =,
		{ + (später)	{ später + bis zur Norm
Gabbe 260	"		- bei Fleischnahrung
Laufberger 361a	" (hungernd)	=	+ (fraglich)
"	" (normal)	-	-
Dudley 204 } London	Maus		
Dale 177 }			
Mc Cormick 167 } Toronto	Hund		+
Dickson und Pember 392 }	"	+	+
Macleod 392 }	"		{ wechselnd (im Anfang)
Dickson 194 }	"		{ + (später)
Laufberger 361a	" (hungernd)	+	+
Olmsted 448	Katze, dezerebriert	+ (wenig)	- (wenig)
Barenne 41	" hungernd, dezerebriert	+ ?	-
Lyman 385, 386	Mensch, normal		
Kellaway 328	" "	++	= oder +
Laroche 360	Leberzirrhose, M. Basedowi	{ ++	+
"	Fettsucht, Thyreo-ovarielle Insuffizienz	{ = oder -	
Krogh 342 } Bornstein 101, 102 }	{ Tierart nicht deutlich angegeben		

2. Normale (evtl. hungernde) Individuen

Heymans 305, 306, 407	Kaninchen, normal	= oder -	
"	" hungernd	{ -; nur während des Krampfanfalles + bis zur Norm	
Dudley 204	Meerschweinchen	-	= oder -

Gaswechsel.

Verhalten vor hypoglykämischen Symptomen.

	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = \text{R.Q.}$	Lungen-ventilation	Schluss im Sinne der K.H.-Verbrennung
	+ (nur im Anfang)		Keine Erhöhung des K.H.-Stoffwechsels.
		= oder -	
		--	
e	{ + (meistens, speziell,		
'alle	{ wenn vorher gehung.)		
	{ + nach 15 bis 45',	=	
	{ später -		
	+ nach 30'	= ?	{ Relative Vermehrung der K.H.-Verbrennung, Un- wahrscheinlichkeit der Bildung von Fett aus K.H. Der verschwundene Zucker des Blutes wird nicht sofort verbrannt (und auch nicht als Glykogen gespeichert).
=,	{ + (im Anfang)		{ Es werden relativ mehr K.H. verbrannt, während die Zuckerneubildung gehemmt wird; keine experim. Stützen für Fettbildung aus K.H.
orm	{ - (später)		
ung	{ stark abhängig von d.		
	{ früheren Nahrung		
	+ (fraglich)		
	+ (fraglich)		S. oben.
	+ (nur im Anfang)		S. oben.
	+		{ Anzeichen für Reduktion von K.H. zu Fett. R.Q. steigt bisweilen über 1, und bleibt auf dieser Höhe länger als durch Abblasen von CO ₂ durch Hyper- pnoe erklärlich.
	{ + (erste 2 Stunden)		
	{ - (später)		
ang)	{ + (gering, im Anfang)	{ = (im Anfang)	
	{ = (später)	{ + (später)	
	+	+	
	+ ?		
	+	+ (wenig)	
	+ (bis über 1)	=	{ Soweit R.Q. über 1 ansteigt, müssen Stoffe mit kleinerem O-Gehalt gebildet werden.
	+		
	+		
	+		
	+		{ Stoffwechsel = oder -. Änderungen sind quali- tativ, nicht quantitativ.
	=	=	Insulin steigert die K.H.-Verbrennung nicht.

Verhalten während der hyperglykämischen Symptome.

	-	
	{ im Mittel =,	
	{ nur während d.	
	{ Konvulsion +	

Dudley 204	Meerschweinchen	—	bis zur Norm	= oder —
Gabbe 258	Ratte	—		
Laufberger 361a	"	—		
Dudley 204	Maus	—		= oder —
Macleod 392	Hund	—		+
Olmsted 448	Katze, dezerebriert	— (stark)		— (stark)

3. Normale Tiere mi

Heymans 305, 306, 407	Kaninchen	=		
Gabbe 258	Ratte			
Laufberger 361a	"	unregelmässig		unregelmässig
Dudley 204	Maus	— trotz Krämpfe		+ oder =
Macleod 392	Hund			
Tsubura 538	"	+		{erst +, bei Beginn d. Symptome —

4. Pankreas-di

Banting 35	} To- ronto Rochester	Hund			
McCormick 167		"		+	
Clough 140, 141		"			
Gibbs 267, 268		"	+		+
Murlin 426, 427, 428		"	+ (wenig)		+
Hawley 295	"				
Hédon 299, 300	"				
Bornstein 102	"				
Murlin 426, 427, 428	Katze	+ (wenig)		—	

5. Phlorhizin-di

Ringer 474	Hund	=		—
------------	------	---	--	---

6. Diabetisc

Banting 35	} Toronto				
Campbell 35					
Krogh 342					
Lyman 385, 386					
Tolstoi 536					
Davies 179					
Perlzweig 458					
Chabanier 131			+ bis Doppelte		=
Feiertag 231					
Bernhardt 592 (Pat. hungernd)			+ oder =		= oder —
Laroche 359					
Lublin 383					

7. Isolier

Büchner 116	Maus } Muskel Frosch } unbrauch- Mensch } bar	+		+
Heymans 305	Kaninchen, Muskel	=		
De Cloedt 136	Frosch } Muskel Meerschw. } Kaninchen }	=		

	Konvulsion +
-	
-	
	+
-	- (stark)

S. oben.
S. oben.

e mit Insulin + Glukose.

	=
{ Geringe + des an sich schon erhöhten R.Q.	
+	
+	=
+	++

S. oben.
S. oben.
Zucker verabreicht, wenn Krämpfe drohten.
{ Im ersten Stadium „oxydative Synthese“. Keine
Bildung von Fett aus K.H.

us-diabetische Tiere.

+ (n. Zuckerverabr.)	
+ " "	
+ " "	
+ " "	
+ " "	
+ wenn Blutz. niedr.	
+	
=	=
+	

S. oben.
{ Gesamtstoffwechsel bisweilen erniedrigt (durch
Anti-Insulin?)
Gesamtstoffwechsel bleibt zu hoch.
Insulin steigert nicht die K.H.-Verbrennung.

in-diabetische Tiere.

+ (n. Zuckerverabr.)	
----------------------	--

{ Maximal-Oxydation von 0,85 g Glukose pro Ein-
heit Insulin.

etische Menschen.

+	
+	
+ (wenig)	
+	
+	
+ oder =	
+ oder =	
+	
{ zuerst -, später +, sowohl bei Hungern als nach Glukose. Bisweilen allein + (= bei ungenügender K.H. Vorrat + bei gleichzeitiger Glukoseverabreich.	

Bessere Zuckerverwertung.
{ Bestimmungen während der Hypoglykämie (Unruhe,
Änderungen der Atemfrequenz) sind wertlos.

olierte Gewebe.

+	
---	--

b) **In den Geweben:** (wobei wesentlich in dieser Zusammenstellung die Leber berücksichtigt wird [s. Tabelle A], weil da die Zahl der Versuche einigermassen ausreichend ist; hinsichtlich der „Befunde“ am Muskel geben wir auch eine Tabelle B, glauben aber nicht, dass man daraus schon „Ergebnisse“ ableiten kann.)

1. Bei normalen gut genährten, wie hungernden Tieren Abnahme des Glykogens, auch wenn keine Krämpfe vorher statthatten; Zunahme des Glykogens bei pankreasdiabetischen Tieren, aber wahrscheinlich auch bei normalen, wenn gleichzeitig mit dem Insulin Zucker gegeben wird.

2. Wahrscheinlich Abnahme des freien reduzierenden Materials, „freien Zuckers“ (die Methode ist noch unsicher) bei normalen Tieren.

3. Auftreten bzw. Zunahme noch nicht näher bekannter KH-artiger Stoffe.

4. Wahrscheinliche Abnahme des diastatischen Vermögens der Leber, beurteilt nach dem Schwinden des Glykogens bei Durchströmung von Lebern insulinvergifteter normaler Tiere.

5. Unsicherheit über die Glykolyse im Brei von Lebern insulinvergifteter Tiere; möglicherweise verschiedenes Verhalten, je nachdem die Tiere vor oder nach dem hypoglykämischen Komplex getötet waren.

c) **Gas- und Energiewechsel** (siehe Tabelle C): 1. In der ersten Zeit nach der Insulineingabe an normalen Individuen wahrscheinlich keine nachweisbare Änderung der Verbrennung; öfter ein Steigen des R.Q. durch vermehrte Abgabe von CO_2 . Bei gleicher Ventilationsgrösse finden gerade die geübtesten Untersucher, und sofern wir dies beurteilen können, die sorgfältigsten Beobachtungen keine Erhöhung des Stoffwechsels. Vielleicht (??) hat eine geringe qualitative Verschiebung statt nach der Richtung der vermehrten Verbrennung von KH.

Soweit scheinen uns Schlüsse erlaubt, aber nur hinsichtlich der Herbivoren, wo die Zahl der Versuche ausreichend ist; bei Carnivoren ist dies noch nicht der Fall.

2. All das Gesagte gilt vor Auftreten des hypoglykämischen Komplexes, danach ist eine Erniedrigung des Gaswechsels wahrscheinlich, und zwar mit einer stärkeren Beteiligung der KH, da der R.Q. sinkt. Hierzu stimmt auch das Sinken der Körpertemperatur.

3. Bei Herbivoren gibt gleichzeitige Gabe von Glukose zu Insulin keine Erhöhung des Gaswechsels; bei Carnivoren liegen zu wenig Versuche vor. Übereinstimmend mit dem mangelnden Einfluss von Glukose auf den Gaswechsel ist, dass die Wärmeabgabe nicht erhöht wird, oder höchstens um einen im Vergleich zu den gegebenen Mengen Glukose minimalen Betrag.

4. Bei diabetischen Individuen (Menschen wie Tieren) scheint eine

vermehrte KH-Verbrennung vorzukommen; keineswegs ist aber nach den bisherigen Versuchen die Frage der Verwertung der KH geklärt. In sehr vielen der Versuche ist das Verhalten der Atemgrösse nicht genügend berücksichtigt.

5. In isolierten Geweben ist unter gewissen Versuchsbedingungen eine Mehrbildung von CO_2 und u. a. auch von Acetaldehyd beobachtet worden, wenn mit Insulin zugleich Glykogen oder Glukose oder von diesen abgeleitete intermediäre Produkte hinzugefügt werden.

d) Nervensystem: 1. Auftreten von Krämpfen, fast nie (auch bei grossen Dosen) in der ersten Stunde nach der Insulininjektion.

2. Erscheinen von Koma.

e) Möglichkeit zur Verhinderung des Auftretens, bzw. Beseitigung der durch Insulin bewirkten Änderungen: Diese besteht allgemein, wenigstens für alle Vorgänge, die man bisher untersucht. Am besten geschieht die Unterdrückung bzw. Beseitigung der Insulinwirkung durch Glukose, weniger gut durch andere Monosaccharide, schlechter durch Disaccharide und Polysaccharide; sehr oft versagen diese vollständig, besonders Glykogen bei parenteraler Zufuhr. Es besteht eine gewisse quantitative Beziehung zwischen den zugeführten Mengen KH und der Dosis Insulin, die sie kompensieren, sofern die Eingabe der Glukose resp. des glukoseliefernden Materials nicht mehr als etwa 6 Stunden vor der Insulininjektion zurückliegt.

Vielleicht ist es nicht überflüssig nochmals zu betonen, dass eine solche Zusammenstellung des Tatsächlichen noch sehr viel Unsicheres enthält und die ganze Auswahl etwas Willkürliches.

B. Viel schlimmer wird aber die Willkür, wenn man an das Erklären geht, denn hier spielen Wertungen eine grosse Rolle. Ist es doch zum Teil eine Frage des Geschmackes, was man am meisten für „erklärungsbedürftig“ hält, und welche der Tatsachen man als „koordiniert, welche als subordiniert betrachten will, eine Ordnung, die ja unbedingt zur Aufstellung einer Theorie nötig ist.

Wir glauben, dass dieses willkürliche oder Geschmacksmoment nicht immer genügend als solches erkannt ist. Um durch ein einziges Beispiel zu verdeutlichen, was wir meinen, nur das folgende: Die Entdecker des Insulins sprachen von einem „hypoglykämischen Komplex“; die Folge war, dass die Mehrzahl der Untersucher den Namen insofern für die Sache gehalten hat, als man ohne weiteres die meisten der verschiedenen Symptome als abhängig angesehen hat von der Hypoglykämie.

Diese war methodisch einfach festzustellen; aber ist sie darum wichtiger und primärer als z. B. die Abnahme von Phosphaten im Blut? Und sind

nicht andere, bisher noch gar nicht festzustellende Änderungen im Gewebe das Wichtigere? und ist nicht hiervon die Hypoglykämie abhängig? —

Im besonderen hat man die Krämpfe und auch das Koma sehr oft als verursacht von der Hypoglykämie angesehen. Wir wollen hier diese Frage nicht nochmals ausführlicher behandeln, zumal wir eine Erklärung für die Krämpfe noch nicht geben können. Wir verweisen auf das hierüber tatsächlich Bekannte und die nur apodiktisch mitgeteilten Vermutungen (S. 25), im besondern erinnern wir wegen des Zusammenhanges von Krämpfen und Hypoglykämie an das immer seltenere Zusammentreffen von Blutzuckersenkungen bis zur Krampfgrenze und Auftreten von Krämpfen, je reiner die Präparate wurden. (S. Kap. Eichung S. 171.)

Ohne auch unsere Vorstellung im Augenblick exakt beweisen zu können, neigen wir folgender Ansicht zu:

1. Die Krämpfe sind kein essentielles Symptom für die Wirkung „reinen“ Insulins.

2. Sie entstehen durch Reizung bestimmter Teile des Zentralnervensystems durch unbekannte Stoffe, vermutlich nicht nur einer Art. (Siehe auch die Krämpfe nach Dimethylguanidin [S. 249].)

3. Sie treten besonders leicht auf, wenn der Spiegel an „freiem Zucker“ im Blut (vermutlich auch im Gewebe) niedrig ist.

4. Es ist nicht ausgeschlossen, dass ein besonders niedriger Spiegel als solcher erregend wirkt, oder wahrscheinlicher, dass die bei einem solch niedrigen Zuckergehalt vorhandenen bzw. gebildeten Stoffe dann krampferregend wirken.

Also trotz häufigen Nebeneinander-Vorkommens von Hypoglykämie und Krämpfen braucht kein kausaler Zusammenhang zu bestehen, und die Sache liegt vielleicht ähnlich wie für Temperatursteigerung und Tachycardie nach einer Infektion. Wir glauben, dass dieses Gleichnis, ohne dass wir es weiter ausführen müssen, verdeutlichen kann, was wir meinen.

Die obengenannten Vorstellungen haben das für sich, dass man die Sache nicht als erledigt ansieht, wie es der Fall ist, wenn man sagt: die Hypoglykämie ist allein schuld an den Krämpfen; sondern, dass man neue Tatsachen suchen und vielleicht finden kann.

Wir sind aber durch diese Besprechung schon in die Theorie hineingekommen und wollten doch zuerst erörtern, was besonders nach Erklärungen ruft. Zunächst ist sehr oft erörtert worden, ob man für eine Theorie der Insulinwirkung die Änderungen zugrunde legen soll, die es bei dem Gesunden hervorruft, oder die bei dem diabetischen Organismus. Wir glauben, dass, wie auch der Ausgangspunkt der Theorie sein mag, sie schliesslich sowohl die Erscheinungen beim Gesunden wie beim Diabetiker erklären muss. Zweifellos fällt im ersten Augenblick ein grosser Unterschied auf: die Erscheinungen beim Gesunden sind toxischer Natur und beim

Diabetiker therapeutischer. Aber das sind doch nur teleologische Unterschiede, die mit der Sache selbst wenig zu tun haben. Wir können einen Diabetiker, dem wir viel Insulin geben, in denselben Zustand bringen wie den Gesunden, dem wir nur kleine Mengen Insulin geben.

Die Befunde am Diabetiker müssen ganz gewiss für eine Theorie des Insulins verwertet werden. Gerade durch die Erfahrungen mit dem therapeutischen Effekt des Insulins dürfen wir, jetzt noch viel mehr als früher, die Diabetiker — drücken wir uns vorsichtiger aus: die meisten Fälle von Diabetes — für Individuen mit zu wenig Insulin ansehen. Natürlich ist es falsch, alle Änderungen, die nach Wegfall eines normal vorhandenen Körperbestandteiles auftreten, als direkt verursacht durch den Ausfall anzusehen. Das gilt, einerlei ob der Bestandteil nur chemischer Natur ist, oder morphologischer.

Sind auch sehr weitgehende Schlüsse auf Grund von Ausfällen im allgemeinen falsch, so sind wir beim Diabetiker in einer viel günstigeren Lage, weil wir durch Zufügung eines Stoffes, gerade des Insulins, den Ausfall weitgehend ersetzen können und auch nach der Menge, den Zeitabständen des Zusatzes usw. einen genaueren Einblick in die Reihenfolge des Schwindens der abnormen Symptome u. dgl. m. feststellen können.

Wir persönlich würden also uns lieber denen anschliessen, die zunächst den Rückgang des Diabetes begreifen wollen, um dann die Veränderungen des normalen Individuums durch Insulin zu verstehen. Dass wir hier mit einer Vergiftung zu tun haben, muss immer wieder betont werden.

Trotz des eben genannten teleologischen Beigeschmacks einer solchen Feststellung hat diese einen Wert, denn man betrachtet dann manche Symptome für selbstverständlich und nicht mehr besonders erklärungsbedürftig, ebenso wie dies z. B. auch sonst oft bei Vergiftungen der Fall ist. Ausbrechen von kaltem Schweiß geht sicher mit einer Erregung der Schweißdrüsen einher, aber man pflegt diese nicht genauer zu untersuchen, wenn man z. B. von dem Gift weiss, dass es eine Herzlähmung hervorruft. Zufuhr von Insulin in einen pankreasgesunden Organismus bedingt Vergiftung, denn sicher ist ein „zu viel“ einer zwar auch normal vorhandenen Substanz ebenso toxisch wie die Gegenwart eines wirksamen körperfremden Stoffes. Ganz besonders wird dies „zu viel“ aber toxisch sein, wenn sich auch der Weg, in dem es in den Körper kommt, von dem normalen unterscheidet. Darauf hat besonders Brugsch hingewiesen. Das normale Insulin geht durch die Vena portae in die Leber, und wie viel davon und auf welche Weise dies dann in die Gewebe kommt, darüber wissen wir nichts. Parenteral zugeführtes Insulin kommt aber direkt in die Gewebe. Nur aus der Tatsache, dass das auf solchem Wege einverleibte Insulin auch beim Diabetiker günstig wirkt und ihn mehr oder weniger normal macht, können wir überhaupt schliessen, dass dieses Moment, der abnormale Zuführungsweg, keine zu grosse Bedeutung hat.

Vielleicht verliert das Problem: Krämpfe und Insulin etwas an Interesse, wenn man sich bewusst ist, dass die Krämpfe bei schwer vergifteten Individuen auftreten — richtiger — auftreten können.

Wir wiederholen: sind also die Erfahrungen an Gesunden und an Diabetikern auch scharf zu trennen, so müssen sie von einer Theorie doch gleich erfasst werden. Zu trennen (und das ist, wie schon oben wiederholt betont, nicht immer genug geschehen) sind auch die Erfahrungen mit der Tierart. Nicht nur Kaltblüter und Warmblüter benehmen sich zum Teil anders, unter diesen verhalten sich auch wieder Karnivoren den Herbivoren nicht gleich, unter den ersteren wieder Hund und Katze verschieden. Ferner ist von wesentlicher Bedeutung, von allen „interindividuellen“ Unterschieden abgesehen, in welchem Zustand sich das Individuum befindet („intra-individuelle“ Unterschiede): also ob es hungert, oder gefüttert ist, welche Zeit seit der Nahrung verlaufen ist, die Art der Nahrung (und zwar nicht nur der letzten Mahlzeiten, sondern während aller der Injektion vorhergehenden Wochen) usw. Alle diese Unterschiede muss eine Theorie mitfassen.

C. Obwohl diese Forderung noch nicht zu erfüllen ist, soll jetzt doch noch von den Erklärungsversuchen etwas gesagt sein.

Bereits erwähnt ist, dass man die Abnahme des Blutzuckers (oder, wie wir uns oben vorsichtig ausgedrückt haben, „des ohne weiteres reduzierend wirkenden Materials“) für das ausschlaggebende Symptom angesehen und auch für das, was am meisten Erklärung heischt. Wir sind mit andern, z. B. Magnus-Levy, (D. med. Wochenschr. 1924, Nr. 16, S. 494) der Meinung, dass die Bedeutung hiervon überschätzt ist, und die Hypoglykämie eigentlich nur sekundär ist. Denn wichtiger ist doch die Frage:

Wenn der Zucker aus dem Blut schwindet, warum wird er nicht ersetzt?

Also im Kernpunkt der ganzen Sache scheint uns die Frage des Nachschubs zu stehen.

Aber abgesehen von dieser Wertung der Probleme kann gar nicht scharf genug betont werden, dass wir mit unseren jetzigen Methoden die erste Frage: Warum und in welcher Weise vollzieht sich die Abnahme des Blutzuckers?

experimentell nicht entscheiden können.

Drei Möglichkeiten liegen vor. Es ist ein Verdienst Laufbergers diese getrennt zu haben.

1. Der Zucker kann verbrannt werden.
2. Er wird aus dem Blut ausgelaugt und irgendwie deponiert.
3. Er wird in einen anderen Stoff umgewandelt.

Diese Möglichkeiten zu prüfen, sind wir, wie gesagt, ausser Stande.

ad 1. Um höhere Verbrennung nachzuweisen, sind Verschiebungen des Gaswechsels festzustellen, die innerhalb der Fehlergrenze fallen.

Es handele sich z. B. bei einem Kaninchen von 2 kg um das Absinken des Blutzuckers auf mehr als die Hälfte. Besitzt es 100 ccm Blut mit 1⁰/₀₀ Zucker = 100 mg und sinkt der Zucker auf 0,4⁰/₀₀ = 40 mg, dann würde also die Verbrennung von 60 mg Zucker im Laufe von einer halben bis 2 Stunden nachzuweisen sein. Wenn alles andere gleich bleibt (wovon wir natürlich nicht das Geringste wissen, und was eine sehr willkürliche, ja sehr unwahrscheinliche Annahme ist), so würden gerade 88 mg CO₂ mehr entstehen, gegenüber etwa 8000 mg, die ein hungerndes Kaninchen von 2 kg im Laufe von 2 Stunden entstehen lässt.

ad 2. Durch Analyse des ganzen Tieres, wie sie versucht worden ist, ist eine Zunahme des Zuckergehaltes der Gewebe um eine Menge, die dem verschwundenen Blutzucker entspricht, unmöglich nachzuweisen: z. B. wieder im Falle des Kaninchens, die Zunahme um 60 mg reduzierenden Stoffes im ganzen Tier. Es sei übrigens nochmals erwähnt, dass solche Untersuchungen gerade Abnahme des reduzierenden Materials gegeben haben an Stelle einer Zunahme (81).

ad 3. Umwandlung in einen nichtreduzierenden Körper. Durch Rest-Kohlenstoffbestimmungen hat Laufberger zeigen wollen — wie oben erwähnt —, dass eine solche Umwandlung nicht vorliegt, denn der Rest-C (und zwar ohne den Zucker-C) ist vor und nach der Insulininjektion, wobei der Blutzucker von 0,12% auf 0,05% gesunken ist gleich geblieben. Laufberger findet seine Versuche von „wunderbarer Eindeutigkeit“. Es sind aber 2! Versuche angestellt. Ferner, und diesen Einwand macht er sich in seiner ausführlichen Mitteilung selbst — die Umwandlung könnte ja in einen kolloidalen Körper statthaben, der bei der Enteiweissung mitentfernt wird. Er erwähnt auch die Befunde von Bierry und Rathery, die Zunahme des Eiweisszuckers gefunden haben, meint aber, die Autoren selbst hätten aus diesem Befunde keine Schlüsse gezogen. Auch der andere ernstere Einwand, der entstandene Körper könnte aus dem Blute ausgeschwemmt worden sein, „kann durch Rest-C-Bestimmungen im Gewebe“ nach Laufberger „leicht entkräftet werden“, aber — diese Versuche sind bisher nicht angestellt, und werden auch von Laufberger mit Recht doch als nicht genügend eindeutig gekennzeichnet.

Also — wir können im Augenblick über die Ursache des Schwindens des reduzierenden Materials im Blute viel reden und schreiben — aber leider nichts experimentell erforschen.

Nun braucht uns dies, wie gesagt, nicht dazu zu bringen, jede Theorie des Insulins vorläufig für unmöglich zu halten, da, wie gesagt, diese ganze Frage des Blutzuckers nicht so wesentlich ist. Denn auf welche Weise der

Blutzucker auch schwinden möge, eine Abnahme des Blutzuckers müssen wir ja auch in der Norm unaufhörlich annehmen. Nur merken wir nichts davon, weil der Nachschub genügend funktioniert. Also warum geschieht dies bei der Insulineinwirkung nicht? Wir begegnen hier wieder denselben Möglichkeiten, wie wir sie beim Blutzucker erörtert haben. Ungünstiger ist aber die experimentelle Situation, um die Frage: wo bleiben die KH, zu entscheiden, weil wir nicht mit einer, immerhin doch ziemlich definierten Flüssigkeit, wie Blut, sondern mit allen möglichen Geweben zu tun haben. Die daraus folgenden methodischen Schwierigkeiten sind ohne weiteres klar. —

Zunächst lag also wieder auf die Frage über den Verbleib der KH, und warum der Nachschub nicht erfolgt, die Antwort vor: weil die KH verbrannt werden (Oxydations-Theorie).

Daher also die vielfachen und wertvollen Anstrengungen mit Gaswechsel- und Energiewechselversuchen; darum die Bemühungen, die Ergebnisse dadurch zu verdeutlichen, dass man zu den ursprünglich vorhandenen, noch besonders viel KH vor oder gleichzeitig mit dem Insulin hinzufügte, sei es per os oder parenteral. —

Über das Resultat haben wir berichtet. Selbst die Autoren, die am meisten für eine Steigerung des Gaswechsels eingetreten, kommen doch zu dem Ergebnis: Unmöglich ist die beobachtete Steigerung ausreichend, um das Schwinden der als KH vorhandenen oder zugefügten Mengen zu erklären (so auch Lesser in einer von uns nicht mehr behandelten, eben erst erschienenen schönen experimentellen Untersuchung über den Gaswechsel der Maus. *Bioch. Zt.* **153**, 45, 1924).

A fortiori sprechen natürlich alle die Befunde von Forschern, die überhaupt keine Steigerung der Verbrennung fanden, oder von denjenigen, welche eine Erhöhung des R.Q. wohl sahen, aber durch erhöhtes Abblasen von CO_2 usw. erklärten, gegen die Oxydationstheorie.

2. Werden die KH nicht verbrannt, was dann? Sie können abgelagert bleiben, die Depots bleiben gefüllt, oder werden sogar noch stärker gefüllt, wenn KH zugefügt werden. Ja, wenn dies so wäre! Die Tatsachen sind aber genau die umgekehrten, wenigstens soweit sie die bekannten Reservestoffe betreffen. Das Glykogen ist nicht vermehrt, im Gegenteil vermindert, auch ohne dass Krämpfe auftreten. Wie ist die Erklärung? Laufberger sagt: Insulin blockiert den Nachschub (Hemmungstheorie). Insulin lässt die Verbrennung des als KH vorhandenen Materials zu, aber sobald dies geschehen, beginnt die schwere Vergiftung des Körpers ohne freie KH, weil keine solchen mehr, z. B. durch Umwandlung aus Fett, gebildet werden.

Es ist fraglich, ob diese Anschauung überhaupt als Theorie zu bezeichnen ist. Denn im Grunde ist sie nur eine andere Fassung der Tatsachen ohne neuen Gesichtspunkt: „Insulin blockiert, oder verbietet, den Nachschub“, scheint uns eine zu negative und anthropomorphe Anschauung.

Dass die Vergiftungssymptome wirklich nur abhängen vom Schwinden des als KH vorhandenen Materials, wollte Laufberger dadurch zeigen, dass diese Symptome schneller eintreten müssen,

1. wenn der Vorrat durch Verbrennung sehr schnell erschöpft wird (Abjagen des Tieres);

2. wenn der Vorrat besonders klein ist (nach längerem Hungern).

Tatsächlich liess sich zeigen, dass ein abgehetztes Tier schneller erlag. Es sollte allerdings nur bewegt und nicht bis zum Tode gehetzt werden. Sollte nun aber das schnellere Sterben von stark bewegten Tieren auch nicht für andere Vergiftungen gelten, ohne dass man einen speziellen Rückschluss auf die Ursache: schnelleres Verbrennen der KH, ziehen darf?

Die zweite erwartete Tatsache liess sich aber überhaupt nicht zeigen. Auch wir hatten, noch bevor Laufberger näheres über seine Theorie mitgeteilt hatte, uns gesagt: wenn sie richtig wäre, müssten Tiere, die mehr als 24 Stunden gehungert haben, noch viel schneller ihren Blutzucker verlieren, und er müsste auch noch tiefer sinken. Wir fanden eher das Gegenteil. Wie gesagt, stimmt das auch mit den Befunden von Laufberger.

Er schliesst aber nicht, dass an der Theorie etwas nicht stimmt, sondern:

„Es war zu erwarten, dass eine Verringerung der Glykogenvorräte den gleichen Effekt haben würde. Aus bis jetzt unbekanntem Gründen hat sich diese logische Voraussetzung in orientierenden Vorversuchen nicht bestätigt, und es müssen deshalb die hier mitspielenden Verhältnisse einer genaueren Untersuchung unterzogen werden.“

Wir wissen schliesslich, dass die Hemmungstheorie jedenfalls bisher keine Erklärung liefert. Die Situation erinnert, wenn man so will, an Erfahrungen in der Kriegszeit mit Lebensmitteln: Man möchte Insulin den grössten Zuckerschieber nennen. Die Zuckerdepots nämlich erklären, sie hätten ihn abgegeben (Verminderung der Glykogenvorräte), der Verbraucher aber, er hätte ihn nicht benutzt (keine erhöhte Verbrennung). Er ist also auf dem Wege irgendwo verloren gegangen, versteckt worden.

Wir können also, um ohne Bilder zu sprechen, zur dritten Auffassung: es hat eine Umwandlung des ohne weiteres reduzierend wirkenden Materials in nicht-reduzierendes stattgefunden.

Auf eine Reihe von solchen Tatsachen haben wir im Text wiederholt hingewiesen.

Hier noch eine kurze Zusammenfassung: (Tab. D.)

Alle die genannten Stoffe sind Kolloide oder stehen ihnen nahe.

Für manchen Forscher ist der Angelpunkt des Problems das Gleichgewicht $n\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightleftharpoons (\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_r + n\text{H}_2\text{O}$. Dies hat Spiro (505a) letzthin in einem lichtvollen Vortrag besonders auseinandergesetzt. Der Diabetiker sei durch abnorme Verschiebung des Gleichgewichts von rechts nach links charakterisiert. Die Wirkung des Insulins bestehe in einer Verschiebung des Gleichgewichts wieder von links nach rechts, d. h. die Bildung kolloider Stoffe wird wieder vermehrt. — Hier sei auch an die oben (S. 60 u. f.) ausführlich wiedergegebenen

Vorstellungen von Brugsch über die Verstärkung der oxydativen Synthese durch Insulin erinnert.

Tab. D. Tatsachen, welche direkt auf Synthese unter Einfluss des Insulins hinweisen.

Vermehrung von:

Glykogen (bei Diabetikern)	{	Macleod u. a. (Leber, Muskeln) (s. Tab. A u. B).	
Eiweisszucker, gebundener Zucker	{	Bierry c. s. 77	} Blut
		Condorelli 157	
		Nitzescu c. s. 436	
Lactacidogen bzw. organische Phosphorsäureester	{	Audova u. Wagner (Muskeln)	
Polysaccharide		Kay & Robinson 327a (Blut, Muskeln)	
Nicht-reduzierendes Kohlenhydrat		Clark 134, 135 (Perfusionsfähigkeit)	
Inosit		Winter u. Smith 581, 585 (Blut)	
		Needham c. s. 432 (gesamter Körper).	

D. Wir stellen uns vor, dass Insulin im allgemeinen Synthesen von Glykose mit andern Stoffen (s. Tab. D) befördert, im speziellen mit Säuren, die im intermediären Stoffwechsel entstehen und zwar ganz besonders mit Oxysäuren (Acetonkörpern). Es sei an die schon vor vielen Jahren geäusserte Vermutung von Geelmuyden erinnert, dass sich zwischen Acetonkörpern und Glykose oder den hiervon abhängigen Stoffen eine Reaktion abspielt, und ferner an die speziellen Vorstellungen von Shaffer, die er in zahlreichen Arbeiten über die antiketogene Wirkung von Glukose usw. niedergelegt hat. Shaffer hat auch experimentell in vitro die Oxydation von Acetessigsäure in Gegenwart von Glukose erwiesen und eine solche in vivo wahrscheinlich gemacht. Damit hat er der viel zitierten, aber vagen Formulierung: „die Acetonkörper verbrennen im Feuer der Kohlenhydrate“, einen bestimmten Inhalt gegeben.

Es ist hier nicht der Ort näher darauf einzugehen. Jedenfalls liefern aber diese Untersuchungen im Verein mit der Tatsache, dass man chemisch bereits Verbindungen wie Mono- und Diacetonglukose, -fruktose usw. kennt, eine gewisse Grundlage für die obige Hypothese: Insulin befähigt die verschiedenen Gewebe, den freien Zucker an die in den Geweben entstehenden Fettsäuren, im besondern die β -Oxy-Buttersäure, an Aceton usw., auch an Phosphorsäuren zu binden und so Zwischenprodukte zu bilden, die einerseits sehr geeignet sind verbrannt zu werden, andererseits zum Aufbau von Glykogen, vielleicht auch von Fett usw. zu dienen.

Die auffallendste (darum vielleicht keineswegs wichtigste) Erscheinung im Diabetes: zuviel freier Zucker und abnorme Acetonkörper bei Mangel an Insulin, der wundervolle therapeutische Effekt des Insulins: Verschwinden des Überschusses an Zucker und der Acidosis, werden verständlicher. Auch die Verschiebung nach der alkalischen Seite beim Diabetiker ebenso wie auch die toxische Hypoglykämie und deren schnelles Entstehen und lang-

sames Vergehen, ist begreiflicher. Entstehen muss die Hypoglykämie schnell, nämlich sobald nur mit normaler Geschwindigkeit die geringen vorhandenen Mengen des Zuckers aus dem Blute verschwinden und nicht ersetzt werden. Aber steigen kann der Zucker erst, wenn das Insulin allmählich aus dem Körper schwindet, vielleicht auch zerstört wird. Denn dann hört erst die in abnormer Stärke vorhandene Festlegung der Glukose wieder auf.

Vielleicht lässt sich noch etwas mehr sagen: Insulin scheint nicht ohne weiteres jede Glukose anzugreifen; z. B. scheint es weniger auf die Glukose, wie sie in der Form der gewöhnlichen Glukose dem Körper zugeführt wird oder wie sie in den ersten Stunden der Verdauung entsteht, gerichtet zu sein. Insulin scheint mehr auf die Glukose, die aus komplizierten Verbindungen im Verdauungskanal oder im intermediären Stoffwechsel frei wird, sich zu beziehen, denn nur so ist eigentlich der Unterschied zwischen sog. nüchternen und gefütterten Tieren zu verstehen.

Es ist merkwürdig, dass man über das Auffallende dieses Unterschiedes eigentlich wenig Worte verloren hat und ihn augenscheinlich für ganz selbstverständlich gehalten. Ein Kaninchen, das 24 Stunden gehungert hat, gilt als ein solches, „bei dem die Nahrungsreserven im Magen-Darmkanal fehlen“ (109).

Ist das wirklich so? Nach vier und mehr Tagen Hunger findet man den Magen bei Kaninchen noch ganz voll, nach 12 Tagen den Darm und das Coecum noch stark gefüllt. Aber auch von einer Glykogenfreiheit nach 24 Stunden zu reden ist natürlich falsch. Also, wenn wirklich nüchterne Kaninchen ganz anders reagieren, dann muss doch vielleicht noch etwas anderes im Spiele sein, als dass die nüchternen nur quantitativ weniger Glukose aus dem Verdauungstrakt liefern, bzw. weniger Glykogen besitzen. Auch dass der hypoglykämische Komplex von Polysacchariden so schlecht beseitigt wird, spricht für ein anderes Verhalten des Insulins gegenüber der Glukose so zu sagen in statu nascendi, als gegen die gewöhnliche α - und β -Glukose. Bereits abgetanene Vorstellungen von Winter und Smith über die γ -Form der Glukose (vgl. S. 74 u. f.) erscheinen so vielleicht in einem neuen Licht. Zu den charakteristischen chemischen Eigenschaften von dieser Zuckerart und ihren Derivaten gehört gerade ihre leichte Bindung an Azeton und ihre Neigung zu Polymerbildung! (Armstrong, Carbohydrates, London 1924 S. 14.)

Fragen wir jetzt, wo solche Synthesen mit Glukose, im besondern auch mit den Oxysäuren, stattfinden, so wissen wir das natürlich nicht; vielleicht überall, vielleicht auch vorzugsweise in der Niere; wir erinnern hier an die neuen und wichtigen Untersuchungen von Snapper¹⁾ über Fähigkeit der Niere zu chemischen Prozessen, zu welchen die Leber z. B. nicht befähigt ist; auch an dessen gelegentlich geäußerten Vorstellungen, dass sowohl beim Normalen als beim Diabetiker die β -Oxybuttersäure in der Niere ver-

¹⁾ Nederl. Tijdschr. v. Gen. 1924. I. 2856.

brannt wird, so dass das Koma diabeticum als eine Insuffizienz dieser oxydativen Funktion der Niere zu betrachten sei.

Zum Schluss sei man uns nicht böse, dass wir selbst nun mitten in solche hypothetische und theoretische Betrachtungen gekommen sind, und im kurzen eigentlich nicht mehr und minder als zusammen eine Theorie des Diabetes und der Insulinwirkung geben wollen, nämlich:

Verringerte Bindung von Glukose an Oxysäuren und deren Derivate ist Folge des Fehlens von Insulin beim Diabetiker, und die normale Grösse solcher Bindungen Ergebnis der Insulinwirkung.

Es liegt in dieser Hypothese, dass — wie es schon vielfach geäussert ist — man den Diabetes nicht nur für eine Störung des KH-Stoffwechsels halten darf, sondern für eine Krankheit, bei der man die Abnormitäten nur methodisch leicht an den KH erkennt.

Und darum wäre es auch sicher verkehrt, in dem mangelhaften Funktionieren dieser besonderen Synthesen die einzig krankhaften Veränderungen zu sehen. Zweifellos besteht noch eine Fülle anderer krankhafter Erscheinungen, die nicht nur von der eben genannten Abnormität abhängig sind.

Aber der Anfang einer Erkenntnis ist vielleicht doch schon gemacht, wenn wir nochmals an die Tabelle D erinnern, worin man solch synthetische Prozesse sieht, die womöglich alle unter dem Einfluss von Insulin stehen.

Das Wichtigste der Erörterungen, und was seine Wahrheit behalten wird, auch wenn jede Einzelheit sich als falsch erwiesen, ist dieses: Verlust der Möglichkeit, einen Stoff nachzuweisen, bedeutet nicht, dass er zerstört ist, bedeutet aber auch nicht, dass er in die gerade im Augenblick bekannten Stoffe umgewandelt ist.

Vor dem Insulin hat man sich davon nur selten Rechenschaft gegeben: für die Mehrzahl der Forscher war Abnahme, bzw. Fehlen von reduzierendem Material gleichbedeutend mit einer stärkeren Verbrennung von Zucker oder mit dessen Umwandlung in Glykogen oder Fett. Es gibt noch eine Fülle von anderen Möglichkeiten, und vielleicht ist nicht nur die Pflanzenwelt reich an Glykosiden.

Solche Verbindungen zu suchen, und hoffentlich neue, vermutlich komplizierte, Stoffe zu finden, wird die Aufgabe der nächsten Jahre sein. —

Wir haben in den vorhergehenden Seiten so viele Dinge von andern erzählt, dass wir ganz am Schluss unseren eigenen Ideen auf diesen zwei Seiten etwas freien Lauf haben schiessen lassen, zumal — wir wiederholen — wir dies nur benutzen wollen, um neue Tatsachen zu finden. Wenn sie nicht zu den Ideen passen, müssen diese möglichst schnell wieder verschwinden. —

Sachregister.

- Abjagen der Tiere 264.
Abkühlen 217.
Abszesse 246, 250.
Acetaldehyd 57, 62 u. f., 149, 253, 258.
Acetessigsäure 106.
Aceton 201, 213, 229.
Aceton als Extraktionsmittel 216, 227.
Acetonkörper 99 u. f., 105, 106, 129, 256 u. f.
Acetonurie 78, 254, 256 u. f.
Aceton-Zucker-Verbindungen 265 u. f.
Acidität des Harns 107.
Acidose 62, 86, 100, 103, 104, 115, 119, 129, 136, 145, 162.
Aderlässe 85.
Adipositas 110.
Adrenalin 35 u. f., 39, 41 u. f., 48, 49, 52, 53, 55, 56, 58 u. f., 62, 64, 85, 86, 90 u. f., 117, 119, 122 u. f., 131 u. f., 140, 143 u. f., 151, 182, 183, 187, 204, 212, 243, 255 u. f.
Adsorption 155, 201, 202, 213, 216, 224, 231 u. f.
Äther 201, 213 u. f., 219 u. f., 229, 232.
Äther als Narkotikum 150 u. f., 236, 242. s. a. Narkotika.
Äthylacetat 201, 202.
Äthylalkohol 138, 152, 229, 249.
Äthylalkohol als Extraktionsmittel 213, 214, 216 u. f., 225.
Äthylalkohol als Lösungs- und Fällungsmittel 155, 200, 201, 213 u. f.
Agonale Periode 84.
Akkommodationsstörungen 136.
Akromegalie 137, 148.
Aktivierung 207, 237, 247.
Alanin 66, 112.
Albumose 209, 210.
Alimentäre Hyperglykämie 36, 138.
Alkaliempfindlichkeit 207.
Alkalireserve 103, 104, 161.
Alkalische Extraktionsflüssigkeiten 224, 225.
Alkalose 104, 145, 161, 247, 249; s. a. Wasserstoffionenkonz.
Alles- oder Nichtsgesetz 192.
Alter der Tiere 163.
Ameisensäure 216, 226.
Amidstickstoff 205.
Amine 66, 81, 211.
Aminosäuren 62, 66, 77, 101, 129, 201, 208, 209.
 α -Aminosäuren 204, 205, 207.
Ammoniak 66, 106, 121, 207, 208.
Ammoniakstickstoff 205.
Ammonsulfat 152, 200, 201, 217, 219 u. f., 228, 240.
Amnesie 36.
Amygdalin 79.
n-Amylalkohol 201, 225.
Amylase 66, 67, 105, 132, 138.
Amylum s. Stärke.
Anästhesie 22, 44.
Antagonisten 139 u. f.
Antiinsulin 18, 19, 44, 103, 109, 166, 195, 233, 242 u. f., 251.
Antipyretika 249.
Antiseptika 217, 218, 234.
Anurie 116.
Arabinose 142.
Arteriell Blut 71 u. f., 84, 181.
Artunterschiede 257, 261.
Asepsis 174, 178, 179.
Asparagin 66.
Asphyxie 25, 256.
Atemmechanik 110.
Atemvolumen 41, 114, 117, 119, 258.
Atemzentrum 41.
Atmung 22, 27, 32, 36, 41, 43, 69, 109, 112 u. f., 117, 119, 120, 145, 245, 246.
Atropin 53, 123, 151, 156, 236, 248.
Auge 22, 53, 55, 58, 136, 147.
Ausbeute 215, 220, 221, 224, 225 u. f., 238, 241 u. f., 245.
Aussalzen 200, 201, 213, 217, 225.
Ausscheidung 239, 240, 244.
Aussentemperatur und Symptome 28, 31 u. f., 160, 180, 181.
Autolyse 20, 208, 214, 237.
Avitaminose 44, 50, 99, 103, 126, 138, 146, 212.
Azotämie 41, 87, 88.

- Bakterielle Zersetzung 209.
 Bakterien 66, 244, 254.
 Baryumsalze 201.
 Basalstoffwechsel 109, 121, 130.
 Basische Diät 104; s. a. Ernährung.
 Bauchfenster 47, 144.
 Benzoesäure 202, 213, 216, 231 u. f.
 Benzol 201.
 Benzolkern 203.
 Bereitungsmethoden 213 u. f.
 Beriberi 103.
 Berkefeldfiltration 202 u. f., 234.
 Bernsteinsäure 122, 123, 124.
 Beständigkeit 209.
 Bildung von Zucker aus Eiweiss 151.
 Billigkeit 232.
 Biuretreaktion 203, 210, 226, 246, 254.
 Bleiacetat 201.
 Blut 68 u. f., 239, 241, 244, 256.
 Blutaminosäuren 29.
 Blutdruck 36, 39, 44, 145, 146, 246, 247.
 Blutfarbe 41, 68 u. f., 114, 151.
 Blutfett 29, 99.
 Blutgerinnung 68, 70.
 Blutimitationen 76.
 Blutkonzentration 68, 101, 128.
 Blutserum 241.
 Blutviskosität 68.
 Blutzellen 70, 75, 83, 95, 97, 98.
 Blutzucker 18, 22 u. f., 44, 46 u. f., 52 u. f.,
 68 u. f., 83, 85, 86, 89, 90, 95 u. f., 109 u. f.,
 118, 123, 134, 141, 143, 145 u. f., 150 u. f.,
 158 u. f., 162, 167 u. f., 187 u. f., 236,
 249, 256 u. f.; s. a. Hypoglykämie.
 Blutzucker (Normalwerte) 168, 177.
 Blutzucker in verschiedenen Gefäßgebieten 53.
 Blutzuckerbestimmungsmethoden 71, 81, 92,
 177.
 Blutzuckererniedrigung s. Hypoglykämie.
 Blutzuckerkurve 36, 256.
 Blutzuckerregulierung 36, 110, 235 u. f.
 Bohnen 128, 252.
 Brechdurchfall 137.
 Brenztraubensäure 57, 64, 123, 124.
 n-Butylalkohol 201.

 Calcium 24, 56, 101, 102, 107, 108, 134, 145,
 150, 249.
 n-Caprylalkohol 201.
 Caseosan 249.
 Chemische Eigenschaften 203 u. f.
 Chinin 151.
 Chloralose 112, 151.
 Chloride 103, 107.

 Chloroform 201; s. a. Narkotika.
 Cholesterin 99, 204, 206, 229.
 Cholin 68, 206, 249.
 Citrus decumana 252.
 Cocain 151.
 Coccidiose 164, 247, 250.
 Coffein 37, 138, 151.
 Cyanamid 210.
 Cystin 204, 205, 206, 229.

 Darm 54, 58, 124.
 Darmfistel 156, 239.
 Darmschleimhaut 79, 91.
 Dauer des Hungerns 264.
 Dauer der Insulinwirkung 192.
 Dekapitierte Tiere 25, 69, 111, 135.
 Desinfiziens s. Antiseptika; Sterilisation.
 Dezerebrierte Tiere 25, 69, 117, 119, 135, 236.
 Diabetes 34, 41, 44, 48, 50, 62 u. f., 67, 70,
 72 u. f., 77, 78, 86 u. f., 90, 92, 95, 96, 98,
 99, 102, 104 u. f., 110, 120 u. f., 125, 126,
 136, 141, 143 u. f., 149, 150, 154 u. f.,
 158, 184, 193, 209, 212, 239, 248, 249, 254,
 256 u. f.
 Dialyse 202, 203, 205, 210, 240.
 Diaminosäuren 205.
 Diarrhöe 35, 104, 164, 247.
 Diastase 63, 66, 67, 68, 257.
 Diät s. Ernährung.
 Dimethylguanidin 249.
 m-Dinitrobenzol 124.
 Dinitrosalizylsäure 230, 252.
 Dioxyaceton 50, 64.
 Disaccharide 142.
 Diurese 107.
 D : N-Verhältnis 47, 121.
 Doppelte Krampfgrenze 160, 185 u. f., 194 u. f.,
 244 u. f.
 Dosierung 71.
 Dösigkeit 172.
 Drehungsvermögen s. Optische Aktivität.
 Ductus thoracicus 67, 131, 241.
 Ductuslymphe 131, 237, 241.
 Duodenalschleimhaut 242.
 Duodenalsonde 156, 239.
 Durchströmungsversuche 58 u. f., 93, 94, 141,
 146, 147, 229, 238.
 Dystrophia adiposo-genitalis 148.

 Ecksche Fistel 135, 140 u. f.
 Eichung 98, 158 u. f.
 Eichung an pankreasdiabetischen Tieren 181
 u. f.

- Eichung nach dem Prinzip: Störungen aus-
 zugleich 181.
 Eichungskriterien 167.
 Eichungstechnik 174 u. f.
 Einheiten 158 u. f., 180, 183, 193, 196.
 Eisessig 201, 232.
 Eiterung 131.
 Eiweissnahrung 29, 112.
 Eiweissnatur d. Insulins 203 u. f., 206, 209, 210.
 Eiweissstoffwechsel 25, 99, 120, 121, 184, 250,
 256.
 Eiweisszucker 79 u. f., 92, 96, 103, 256 u. f.
 Eiweisszucker, Abbau 84.
 Eiweisszucker, Aufbau 84.
 Eiweisszusatz 233.
 Elektrodialyse 203.
 Elektrokardiogramm 39, 56.
 Emulsion 82.
 Endokrine Funktion des Pankreas 240, 241.
 Ente 29, 34.
 Enzyme 211.
 Epilepsie 138.
 Erbrechen 27, 137.
 Erbrechen der Schwangeren 137.
 Erepsin 208.
 Ergotin u. dgl. 235, 248.
 Erholung 22 u. f.
 Ernährung 24, 28, 104, 106, 107, 112, 115,
 116, 118, 121, 130, 135, 161, 162, 179,
 180 u. f., 215, 239, 247.
 Ernährungszustand 36, 71, 73, 84, 88, 100,
 115 u. f., 126, 134, 161, 179, 186, 189, 192,
 215, 229, 234, 257 u. f.
 Erstickung 135.
 Erwärmung des Pankreas 238.
 Eserin 151.
 Essigsäure 201, 216, 232, 234.
 Eviszerierte Tiere 111.
 Extern-sekretorischer Pankreasteil 241.
 Extraktionsflüssigkeiten 208, 213 u. f.
- Fabrikationsmethoden 214 u. f.
 Farbe 199, 217.
 Farbreaktionen 203 u. f., 210, 253.
 Fäulnis 209.
 Fermente 211.
 Ferrichlorid 201.
 Fett und Fettstoffwechsel 48, 49, 62, 63, 69,
 85, 99, 107, 112, 115, 118 u. f., 124, 126,
 144, 161, 204, 213, 256, 267.
 Fettabscheidung bei der Herstellung 213, 217,
 225.
 Fettnahrung 29.
 Fettsäure 62.
- Fibrinogen 83.
 Fieber 42, 43; s. a. Antipyretika.
 Fische 30, 33, 239 u. f.
 Flockung 199, 230, 231; s. a. Isoelektrischer
 Punkt.
 Flüssige Luft 234.
 Fötales Pankreas 241.
 Form der Blutzuckerkurve 190 u. f.
 Formaldehyd 201.
 Formamid 201, 210.
 Freier Blutzucker 70, 74 u. f., 87, 88.
 Frösche 30 u. f., 42, 44, 56, 58 u. f., 63, 122,
 124, 129, 146, 147.
 Fruktose s. Lävulose.
 „Fühner 947 F. 62“ 122.
 Fundus lipaemicus 136.
 Furfurol 92.
- Galaktose 122, 140, 141, 143.
 Gangrän 136.
 Gastroenteritis 137.
 Gaswechsel 42, 49, 107 u. f., 129, 144, 257 u. f.
 Gebundener Zucker 79 u. f., 92 u. f., 98, 103,
 127, 256 u. f.; s. a. Eiweisszucker, Lact-
 acidogen, Polysaccharide, Glukoside.
 Gefäßgebiete (verschiedene) 68, 69, 71 u. f.,
 83, 84.
 Gefäßsystem 35, 36, 38 u. f., 44, 140, 145, 146.
 Gefrieren 234.
 Gegenmittel 139 u. f., 258 u. f.
 Gehirn 25, 32, 41 u. f., 122, 124, 148, 150, 243.
 Gerbsäure 201.
 Gesamtkohlenhydrate 49, 60.
 Geschlechtsorgane 55, 65, 242.
 Gewebekulturen 128.
 Gewebsatmung 123.
 Gewebszucker 42, 46, 125, 127, 144, 262.
 Gewöhnung 36.
 Giftigkeit 20, 190, 198.
 Glandula submaxillaris 242.
 Glukagon 109, 244.
 Glukokinin 67, 90, 100, 128, 245, 248, 250 u. f.
 Glukosamin 81.
 Glukose 45, 46, 50, 52, 56 u. f., 68, 72, 74, 75,
 80, 84, 92 u. f., 103, 106, 108 u. f., 123, 124,
 131, 134, 145 u. f., 183, 186, 235, 240,
 258 u. f.
 Glukose als Gegenmittel 23 u. f., 36, 37, 39,
 41, 42, 53, 54, 102, 133, 138 u. f., 143, 144,
 179, 249, 251, 252.
 α - und β -Glukose 77, 78, 90, 266.
 γ -Glukose 74 u. f., 91, 95, 256, 266.
 Glukose-Äquivalent 182, 184, 185.
 Glukoside 79, 82, 143, 267.

- Glutathion 205, 211.
 Glykogen 44 u. f., 50 u. f., 56 u. f., 82, 85, 111, 119, 120, 125, 126, 132, 134, 141 u. f., 161, 162, 169, 212, 242, 250, 257 u. f.
 Glykogenolyse 47, 48, 58 u. f., 144, 147, 212, 257 u. f.
 Glykokoll 66, 79, 112.
 Glykolaldehyd 64.
 Glykolyse 54, 60 u. f., 94 u. f., 122, 211, 257 u. f.
 Glykopyron 240.
 Glykosurie 47, 48, 78, 86, 87, 99, 105, 121, 129, 130, 132, 133, 141, 148, 151.
 Glykuronsäure 82.
 Glycerin 62, 63, 140, 152.
 Glycerinaldehyd 64.
 Glycerinphosphorsäure 122, 123.
 Granula in den Inselzellen 237.
 Gravidität 164.
 Guanidin 112, 210, 238, 248 u. f.
 Guanylsäure 238.
 Gummi arabicum 233, 234.

 Haferkleie 253.
 Haferkuren 253.
 Haltbarkeit 18, 20, 21.
 Hämoglobin 68, 69, 100.
 Handelspräparate 233.
 Harn 67, 85, 105 u. f., 127, 239, 244, 256.
 Harnstoff 87, 101, 106, 121.
 Haut 30, 32, 33, 152.
 Hautfarbe und Insulineffekt 164 u. f.
 Hautquaddeln 125.
 Hautreaktion 20, 234, 240, 246.
 Hefegärung 66, 128.
 Hefe-Glukokinin 90, 205, 212, 238, 245, 248, 250, 252 u. f.
 Heißes Wasser als Extraktionsmittel 226.
 Hemmungstheorie 263.
 Hepatopankreas 239.
 Herkunft des Insulins 235.
 Herstellungsmethoden 18, 19, 213 u. f.
 Herz 38, 39, 43, 44, 51, 53, 56, 57, 62, 65, 93, 122, 124, 137, 141, 146, 147, 243.
 Herzmuskelfragmente 56.
 Herzpunktion 182.
 Hexosen 141.
 Histamin 206, 229.
 Histidin 204 u. f., 210, 229.
 Historisches 16 u. f., 21, 129, 229, 240.
 Hitzebeständigkeit 19, 194, 206 u. f., 211, 225, 234, 235, 240, 245, 246.
 Hormone 143 u. f., 212, 236.
 Huhn 29, 34, 83.
 Hund 23, 27, 34, 42, 54, 60, 62, 65, 67 u. f., 74, 83, 85, 87, 88, 96 u. f., 102, 103, 107, 110, 114, 115, 121, 122, 129, 132, 135, 140, 147, 148, 150, 151, 155, 157, 181 u. f., 236, 248.
 Hunger und Insulinwirkung 28, 54, 86; s. a. Ernährungszustand.
 Hydrämie 101; s. a. Wasserhaushalt.
 Hydrazinsulfat 249.
 Hydrolyse 49, 60, 80 u. f., 89, 90, 92 u. f., 146, 205, 238, 253.
 Hyperglykämie 27, 30, 33, 35, 40, 43, 85, 87, 99, 103, 116, 121, 122, 129 u. f., 135, 136, 141, 143, 145, 148, 149, 150, 235, 244 u. f., 265 u. f.
 Hyperglykämie durch Salze 201.
 Hypertonie 40, 88, 137.
 Hypoglykämie und hypoglykämische Symptome 22 u. f., 34, 35, 37, 53, 54, 61, 69, 71 u. f., 97, 99, 102 u. f., 109, 112, 113, 115, 132, 134, 139 u. f., 145, 146, 147, 150, 180, 181, 185, 235, 238, 241, 243, 247 u. f., 256 u. f.; s. a. Blutzucker.
 Hypoglykämie ohne Symptome 35, 36, 172.
 „Hypoglykämische“ Symptome bei hohem Blutzucker 35, 141, 171.
 Hypophyse 25, 64, 119, 135, 147, 148, 150, 204, 210, 243; s. a. Pituitrin.

 Igel 42, 144, 148.
 Imiazolring 204, 205, 210.
 Individuelle Konstanz 164.
 Individuelle Unterschiede 23, 164, 175, 180 u. f., 184, 185, 197, 261.
 Indolkern 204.
 Infektionen 131, 136, 164.
 Infektionskrankheiten 138.
 Inosit 126.
 Insulin, amerikanisches 88, 159, 172, 173, 233.
 Insulin-Antolini 89.
 Insulin-Chabanier 160.
 Insulin, englisches 88, 159, 172, 173, 175, 233.
 Insulin, französisches 88.
 Insulin, holländisches (Organon) 159, 172, 173.
 Insulin-Leo 160.
 Insulin-Lilly 89, 159, 174, 181, 209, 216 u. f., 233.
 Insulin ein Gemisch? 211.
 Insulin von verschiedenen Tierarten 173, 203 u. f., 210, 240.
 Insulingehalt verschiedener Organe 131, 235, 140 u. f.
 Insulinhydrochlorid 230.
 Insulinkapseln 155.
 Insulinkonzentration im Blut 239.

- Insulinpikrat 201, 227, 230.
 Insulinsalbe 154.
 Insulintod 22, 23, 27 u. f., 32 u. f., 37, 41, 42, 51, 52, 132, 133, 180, 190, 198, 245, 251.
 Insulinvorrat des Körpers 215 235 u. f., 238, 239, 244.
 Insulinvorstufen 212.
 Insulinwirkung und chemische Struktur 207, 212, 238.
 Insulinzerstörung im Körper 239.
 Intraarterielle Verabreichung 72.
 Intrakutane Einspritzung 153.
 Intramuskuläre Einspritzung 153.
 Intraoperitoneale Einspritzung 158.
 Intraskrotale Einspritzung 153.
 Intratracheale Verabreichung 157, 158.
 Intravaskuläre Glykolyse 97; s. a. Glykolyse.
 Intravenöse Verabreichung 28, 36, 38, 39, 41, 43, 96, 134, 152 u. f., 162.
 Invertin 82.
 Ionenzusammensetzung des Blutes 101 u. f.
 Isobutylalkohol 201.
 Isoelektrischer Punkt 199, 213 u. f., 230 u. f., 237.
 Isoelektrische Reinigung 200, 217, 218, 222, 228, 230 u. f.
 Isolierte Langerhanssche Inseln bei Fischen 240; s. a. Fische, Rochen.
 Isopropylalkohol 201.

 Jahreszeit 163, 215, 239, 247.
 Jod 68.

 Kabeljau 239.
 Kadmiumchlorid 201.
 Kaffee 151.
 Kalbspankreas 220.
 Kalilauge 207.
 Kalium 101, 145, 150.
 Kaliummerkuriiodid 201.
 Kaltblüter 83.
 Kaninchen 21 u. f., 34, 41, 44, 46, 47, 51 u. f., 60, 69 u. f., 74, 76, 78, 89, 93, 97, 103, 106, 109, 111, 112, 114 u. f., 118, 122, 124, 133, 134, 138, 149 u. f., 155, 157 u. f., 235, 236, 242, 245, 248, 254.
 Kanincheneichung 158 u. f.
 Kaolin 202.
 Kapillarblut 72 u. f., 84.
 Karpfen 239.
 Kartoffeln 252.
 Karzinom und Sarkom 88, 128, 138.
 Katalase 67.
 Katarakt 136.

 Katze 27, 41, 52, 53, 69, 76, 117 u. f., 122, 129, 133, 152, 245.
 Keimpflanzen 252.
 Klinische Nacheichung 185 u. f.
 Knoblauch 252.
 Knochen 243.
 Kochbeständigkeit 91, 194, 206 u. f., 225, 234, 240, 245, 246.
 Kohle 155, 202, 213, 232.
 Kohlenhydrate 23 u. f., 34, 49, 58 u. f., 99, 101, 106 u. f., 122, 124, 127, 144 u. f., 164, 184, 187, 204, 205, 238, 253, 256 u. f.
 Kohlenhydratnahrung 29; s. a. Kohlenhydrate.
 Kohlenhydratreserven s. Glykogen, gebundener Zucker.
 Kohlenhydratstoffwechsel s. Kohlenhydrate.
 Kohlenhydratverbrennung 120; s. a. Kohlenhydrate.
 Kohlenmonoxyd 150.
 Kohlensäure 84.
 Kohlensäure-Abgabe 41, 62, 108 u. f., 124, 257 u. f.
 Kohlensäure-Bindungsvermögen 103, 104, 249.
 Kohlensäure-Spannung im Blute 104, 145.
 Kohlenstoffgehalt 205.
 Kollaps 37, 146.
 Kolloide 201, 233, 249, 264.
 Koma 22, 55, 139, 172, 181, 245, 258.
 Koma diabetikum 95, 99, 102, 104, 136, 153, 266.
 Komplementtiter 104.
 Kondensation 77, 79, 83.
 Kontrolle der Handelspräparate 175.
 Konzentrationswirkungskurve 185 u. f., 240, 244 u. f.
 Koordinationsstörungen 35.
 Körpergewicht 162 u. f.
 Körpertemperatur 22, 28, 39, 41 u. f., 48, 83, 85, 111, 114, 116, 117, 119, 133, 152, 181, 257 u. f.
 Krampf 22 u. f., 36, 39, 41, 43, 46, 52, 53, 55, 69, 71, 89, 101 u. f., 111, 113 u. f., 126, 133, 135 u. f., 147 u. f., 152, 158 u. f., 165 u. f., 180, 242, 243, 245 u. f., 249, 253, 257 u. f.
 Krampf als Eichungskriterium 167 u. f.
 Krampfüquivalente 23.
 Krampfdosis 162, 169.
 Krampfgift 173.
 Krampfgrenze 22, 24, 27, 33, 34, 35, 165 u. f.
 Krampfwirkung und hypoglykämische Wirkung 207.
 Kreatin 121, 138.
 Kreatinin 101, 112, 121.

- Krebs s. Karzinom.
 Krebse 34.
 Kreislauf 69; s. a. Gefäßsystem.
 Kresol als Antiseptikum 218.
 Krokodile 30.
 Kröten 30.
 Krystallisation 202.
 Kupfersulfat 201.
 Kuraresierte Tiere 114.
- Laboratoriumsverfahren 215.
 Labyrinth 25.
 Lactacidogen 51, 52, 58, 61 u. f., 80, 93, 102,
 103, 126, 256; s. a. Phosphorsäure.
 Lävulose 64, 92, 94, 115, 122, 140, 141, 143,
 204.
 Lähmung 33, 180.
 Laktase 142.
 Laktose 54, 79, 107, 140, 142.
 L a n g e r h a n s s c h e Inseln 16, 19, 21, 235
 u. f., 240 u. f.
 Latenzperiode 180.
 Lebensdauer der Eichungstiere 179.
 Leber 25, 38, 44 u. f., 53, 58 u. f., 72, 74, 77,
 81, 84, 88, 91, 122 u. f., 132, 134, 135, 141,
 142, 144, 146, 147, 211, 235, 239, 242 u. f.,
 247, 248, 250.
 Leberextrakt 68.
 Leberglykogen 44 u. f., 58 u. f., 145; s. a.
 Glykogen.
 Leberzirrhose 110.
 Letale Dosis 191.
 Leukopenie 70.
 Leukozytenformel 70
 Leukozytose 70.
 Leuzin 206.
 Linksdrehende Zucker 62.
 Lipoide 99, 206, 213, 229.
 L l o y d, Reagens 202.
 Löslichkeit 199.
 Lösungsmittel 155 u. f., 200 u. f.
 Lunge 65, 124, 242, 243.
 Lungenödem 127
 Lungenventilation 69, 110 u. f.
 Lupinen 128.
 Lymphe s. Duktuslymphe.
- Magen 54.
 Magenbewegungen 54.
 Magenschleimhaut 242.
 Magensonde 155, 239.
 Magnesium 102.
- Maltase 142.
 Maltose 82, 140, 142.
 Mannose 122, 141, 143.
 Maus 28, 34, 40, 47, 48, 50, 60, 111, 124, 179.
 Mäuse-Eichung 179 u. f.,
 Medical Research Council 175.
 Meerschweinchen 28, 34, 46, 52, 57, 60, 104,
 122, 124, 181, 211.
 Melanin 205.
 Mensch 34, 50, 72, 74, 76, 78, 83 u. f., 88,
 95, 109, 110, 124, 144, 145, 152, 154, 155,
 176, 185 u. f., 232, 234, 254.
 Metaphosphorsäure 201.
 Methylalkohol 200, 201, 207, 210.
 Methylenblau 122 u. f.
 Methylglukoside 79, 143.
 Methylguanidin 248.
 Mikromethode zur Eiweisszuckerbestimmung
 81.
 Milch 107, 249.
 Milchsäure 50 u. f., 57, 60 u. f., 77, 98, 99, 109,
 120, 122, 123, 134, 152.
 Milz 53, 65, 94, 124, 150, 243, 247.
 Mobilisation der Zuckerreserven 84.
 Morbus Addisonii 67, 105.
 Morbus Basedowii 110, 137, 148.
 Morphin 41, 133, 151, 152.
 Müdigkeit 37.
 Muscheln 245, 250.
 Muskeln 25, 38, 42, 50 u. f., 61 u. f., 72 u. f.,
 84, 94, 97, 107, 111, 114, 122 u. f., 128,
 138, 149, 243 u. f., 249.
 Muskularbeit 57, 58.
 Muskelerregbarkeit 33, 51.
 Muskelextrakte 51, 57, 149.
 Muskelglykogen 46, 50; s. a. Glykogen.
 Muskelzittern 35.
 Mutarotation 77.
 Myxödem 148.
- Narkotika und Blutzucker 39, 88, 112, 117,
 150, 151, 235, 236; s. a. Äther.
 α -Naphtholreaktion 49, 92, 238.
 Natrium 101, 107.
 Natriumbenzoat 231.
 Natriumbikarbonat 207, 231.
 Natriumchlorid 200, 225.
 Natriumkarbonat 207, 208, 230, 247.
 Natriumphosphat 207.
 Natriumsulfat 200, 201, 218.
 Natronlauge 207.
 Nebenniere 39, 52, 53, 132, 133, 135, 152,
 243; s. a. Adrenalin.

- Nebenschilddrüsen 57, 133, 140, 149.
 Nebenwirkungen 234.
 Nephritis 40, 41, 77, 87, 88, 96.
 Nervendurchschneidung 38, 39, 132, 235, 236.
 Nervenerregbarkeit 44.
 Nervensystem 35, 36, 43, 44, 152, 235, 258 u. f.
 Niederschläge 235.
 Niere 52, 62, 63, 65, 85, 88, 94, 122, 124, 151,
 239, 242, 243, 247, 266.
 Nikotin 151.
 Norit 202, 252.
 Normale Insulinversorgung 48, 260.
 Nukleinsäure 68, 238.
 Nukleotide 92, 238.
- Oberflächenspannung 70.
 Ödeme 107, 125, 127, 128.
 Omentum 65.
 Operative Eingriffe an Diabetikern 136.
 Opium 248.
 Optische Aktivität von Insulinlösungen 91,
 202, 207.
 Optische Aktivität von Zuckerlösungen 76 u. f.,
 90 u. f., 94, 141, 146, 149, 206.
 Orangen 252.
 Organextrakte 143 u. f.
 Organischer Schwefel 204, 205.
 Osazone 80, 85, 90, 91, 94, 146.
 Ovulation 55.
 β -Oxybuttersäure 62, 63, 77, 106, 122 u. f.,
 265 u. f.
 Oxydasen 122, 204.
 Oxydationstheorie 263.
 Oxydative Synthese 38, 58, 61 u. f., 115.
 Oxydierende Agenzien 209.
 Oxyhämoglobin 118.
- Pankreas 55, 81, 93, 141, 229, 235, 241, 244,
 248.
 Pankreasdiabetische Tiere 44, 47, 48, 51, 54,
 60, 62, 63, 65, 67, 70, 72, 73, 86, 87, 88,
 96, 97, 100, 101, 105, 106, 108, 113, 121,
 122, 126, 129 u. f., 133, 134, 151, 153, 157,
 158, 181 u. f., 235, 236, 239, 241, 242, 243,
 250.
 Pankreasperfusate 229, 238.
 Papain 208.
 Parasympathikus 44.
 Passageserum s. Serienweise Übertragbarkeit.
 Pathol.-anat. Befunde 35, 40, 48, 52, 53, 55,
 126, 127, 128.
 Pentosen 81, 92, 142, 204, 238.
- Pepsin 208.
 Peptide 209.
 Peptone 206, 209, 229, 249.
 Peptonschock 44.
 Periphere Angriffspunkte des Insulins 42.
 Perkutane Verabreichung 154.
 Perlinguale Verabreichung 38, 154.
 Permeabilität 75.
 Perorale Verabreichung 154 u. f., 211, 212,
 229, 239, 242, 252.
 Peroxydasen 204.
 Petroläther 201.
 Pferd 27, 34, 83.
 Pferdepankreas 218, 239.
 Pflanzliches Insulin s. Glukokinin.
 Phenol 201, 210.
 Phenylalanin 66.
 Phenylhydrazin 201.
 Phlorhizin 42, 44, 62 u. f., 78, 106, 121, 126,
 151, 183, 249.
 Phosphatide 204.
 Phosphomolybdänsäure 201.
 Phosphor 204, 205, 253.
 Phosphorsäure und Phosphate 51, 57, 61 u. f.,
 77, 80, 91, 93, 98, 99, 102, 103, 106, 107,
 145, 148, 150, 152, 201, 248, 249, 256 u. f.
 Phosphowolframsäure 201, 205.
 Physikalische Eigenschaften 199 u. f.
 Physikalische Natur des Blutzuckers 75.
 Pigmentierung 33; s. a. Hautfarbe.
 Pikratmethode 225 u. f., 229, 239.
 Pikrinsäure 201, 213, 248, 252.
 Pikrotoxin 151.
 Pilocarpin 67, 131, 151.
 Piqure 135.
 Pituitrin 86, 119, 122, 123, 147, 148, 151
 s. a. Hypophyse.
 Plasma 75, 83, 95, 101.
 Polymerisation 49, 77, 83, 94, 117, 266; s. a.
 Polysaccharide, Glykogen.
 Polypeptide 83, 201, 205, 229.
 Polyphagie 130.
 Polysaccharide 58, 61 u. f., 80, 82, 83, 89 u. f.,
 92, 126, 142; s. a. Polymerisation.
 Polyurie 127, 130.
 Portalblut 71.
 Präzipitierende Agenzien 199, 201.
 n-Propylalkohol 201.
 Prostatiker 136.
 Prostration 135.
 Proteine 85, 86, 229; s. a. Eiweiss.
 Proteinkörper 249.
 Proteolytische Fermente 207, 208.
 Proteosen 201, 209.

- Protrahierte Wirkung 140, 153, 157, 173, 195, 233, 234, 244.
 Psychische Erscheinungen 35 u. f., 43.
 Psychosen 138.
 Pulsfrequenz 38, 39, 43, 115, 145.
 Pulsus alternans 39.
 Pupille 32, 44, 53, 55, 58, 147.
 Purinkern 204.
 Pyridin 201.
 Pyrogallol 201.

 Qualitative Bestimmung des Eiweisszuckers 80.
 Quantitative Bestimmung des Eiweisszuckers 81.
 Quecksilberchlorid 201.

 Rachitis 146.
 Raffinose 142,
 Rassenunterschiede 34, 163.
 Ratten 28, 34, 41, 43, 44, 50, 126, 132, 133, 135, 163, 180, 181, 211.
 Ratteneichung 180.
 Rattensarkom 138.
 Raupen 34.
 Reduktionswert des Blutzuckers 76, 90.
 Reduzierende Agenzien 209.
 Reduzierende Substanzen 74 u. f., 80 u. f.
 Reduzierendes Vermögen von Insulin 91.
 Reduzierter Schwefel 204.
 Reflexe 22, 27, 32, 33, 35, 38, 41, 43, 44, 55, 180.
 Refraktäre Tiere 53.
 Refraktionsstörungen 136.
 Regeneration des Pankreas 130.
 Reinigung 213 u. f., 244 u. f.
 Reinigungsmethoden 229 u. f., 242.
 Reizleitungssystem 57.
 Rektale Verabreichung 167.
 Resorptionsgeschwindigkeit 173, 178, 234.
 Respiratorischer Quotient 34, 36, 41, 49, 108 u. f., 124, 126, 129, 130, 141, 144, 145, 212, 257 u. f.
 Restkohlenstoff 93, 262.
 Reversible Inaktivierung 207, 208, 209.
 Rhamnose 142.
 Ribose 81.
 Richtlinien bei der Bereitung 234, 235.
 Rigor mortis 51.
 Rind 27, 76, 123, 242.
 Rinderpankreas 203 u. f., 210, 217, 220, 221, 223, 224, 237, 239.
 Rocheninsulin 24, 173, 201, 203 u. f., 210.
 Roggen 252.
 Rohrzucker 142; s. a. Saccharose.
 Rollbewegungen 22, 25.
 Röntgenbestrahlung 254.
 Rückenmark 25, 32, 42, 43, 53.

 Saccharase 142.
 Saccharose 130, 140, 142.
 Salat 252.
 Salpetersäure 201.
 Salvarsan 249.
 Salzhaushalt 127, 148.
 Salzsäure 248.
 Samenkeimung 128.
 S a n d m e y e r s c h e r Diabetes 131.
 Sauerstoff 41, 61, 62, 69, 70, 108 u. f.
 Saure Diät 104; s. a. Ernährung.
 Säure-Basen-Gleichgewicht 103; s. a. Wasserstoffionenkonzentration.
 Säurezusatz beim Extrahieren 19, 214 u. f., 223 u. f., 237.
 Schaf 27, 34, 76, 102, 134, 149.
 Schafspankreas 223.
 Schilddrüse s. Thyreoidea.
 Schildkröten 29, 30, 34, 59.
 Schlangengift 212.
 Schlappwerden 35, 54.
 Schmerzhaftigkeit der Injektion 234.
 Schmetterlingspuppen 34.
 Schock 103, 132, 133, 236.
 Schreckhaftigkeit 23.
 Schüttelinaktivierung 203.
 Schwach gebundener Zucker 82.
 Schwangerschaft 164, 244.
 Schwefelgehalt 204, 205, 209.
 Schwein 27, 68.
 Schweinspankreas 203 u. f., 209, 223, 232, 239.
 Schwellenwert 36, 37, 122, 123, 185 u. f.
 Schwellenwert der Niere für Insulin 239.
 Schwermetallsalze 247; s. a. Uran, Quecksilber usw.
 Schwitzen 35.
 Seide 226, 230.
 Sekretin 54, 236, 242.
 Sellerie 252.
 Sensible Nerven 44.
 Serienweise übertragbare Hypoglykämie 240, 247 u. f.
 Serumalbumin 83, 86.
 Serumglobulin 83.
 S h a f f e r p r i n z i p 219 u. f.
 Skorbut 138.
 Spätsymptome 26, 140, 179, 237, 240, 250.

- Speicheldrüsen 242.
 Spezifisches Gewicht des Harns 107.
 Standardisierung 158 u. f.; s. a. Eichung.
 Standardpräparat 176.
 Stark gebundener Zucker 82.
 Stärke 63, 67, 68, 140, 142, 143, 250.
 Stärkerwerden von Präparaten s. Aktivierung.
 Sterilisation 216 u. f., 234.
 Sterine 204.
 Stickstoffausscheidung 48, 49, 101, 106, 121, 130, 138, 151.
 Stickstoffgehalt 201, 204, 205, 233.
 Stoffwechselintensität 33.
 Strömungsgeschwindigkeit des Blutes 74.
 Strychnin 101, 102, 151.
 Subjektive Erscheinungen 35, 37, 145.
 Subkutane Einspritzung 36, 71, 152 u. f., 239.
 Subkutane Lufteinblasung 118.
 Sublimat s. Quecksilberchlorid.
 Sucre virtuel 82.
 Sulfate 200.
 Sulfhydrylgruppen 204.
 Sympathikomimetische Stoffe 42.
 Sympathikus 38, 39, 42 u. f., 48, 53, 55, 136, 138.
 Synthetische Wirkung des Insulins 265 u. f.
- Tachykardie 137.
 Taube 29, 34, 46, 53, 55, 101, 138, 212.
 Tautomerie 207.
 Technische Bereitung 214.
 Tee 151.
 Temperaturbeständigkeit 19; s. a. Hitzebeständigkeit, Kochen.
 Temperatur-Wirkungskurve 31.
 Tension des Auges 55, 136.
 Testis 65, 242.
 Tetanie 35, 133, 134, 138, 146.
 Tetrachlorkohlenstoff 201.
 β -Tetrahydronaphthylamin 42, 43.
 Theorie der Insulinwirkung 258 u. f.
 Thymus 149, 150, 243.
 Thyreoidea 42, 48, 64, 122, 133, 134, 148, 149, 151, 239, 242.
 Thyreo-ovarielle Insuffizienz 110.
 Thyroxin 122, 148, 149, 183, 239.
 Toluol 201.
 Totenstarre 128.
 Toxische Beimengungen 180; s. a. Giftigkeit, Verunreinigungen.
 Trichloressigsäure 201, 202.
 Trikresol als Antiseptikum 217, 229, 234.
 Triosen 50.
- Trockengewicht pro Einheit 20, 172, 200, 204, 233.
 Tropen 163, 207.
 Trübe Präparate 234.
 Trypsin 16, 18, 19, 21, 208, 209, 213, 224, 235, 245.
 Trypsinogen 208, 235.
 Tryptophan 203, 205.
 Tuberkulose 43, 88, 136, 244.
 Tyndallisieren 229.
 Tyrosin 66, 204, 205.
- Überempfindlichkeit 35, 44, 104, 161 u. f., 240, 246.
 Übererregbarkeit 23, 26, 27, 32, 33, 101, 102, 114, 135.
 Ultrafiltration 202.
 Umbildung von Kohlenhydrat zu Fett 112, 115; s. a. Fett.
 Unempfindlichkeit 165 u. f., 178, 234, 247.
 Unerregbarkeit 33.
 Universelles Vorkommen 238.
 Unlöslichkeit 201 u. f.
 Unterbindung des Ductus pancreaticus 96, 241.
 Urazil 205.
 Urämie 87.
 Uransalze 201, 247.
 Ureterenunterbindung 87.
 Urethan 112.
- Vaginale Verabreichung 157.
 Vagus 43, 44, 56, 236.
 Vakzin 249.
 Vasokonstriktion 139.
 Vena portae 84, 153.
 Venae hepaticae 84.
 Venöses Blut 71 u. f., 84.
 Verbrennung 262; s. a. Gaswechsel, Kohlenhydrate.
 Vergiftung 37, 260; s. a. Insulintod.
 Veronalnarkose 239.
 Verteilung des Blutzuckers 75.
 Verunreinigungen 35, 37, 109, 140, 166, 171, 173, 179, 232, 235, 237, 240.
 Vitamine 212, 254.
 Vögel 29, 83.
 Völkerbundscommission für Standardisierung von Arzneimitteln 176.
 Vorkommen als solches 240.
 Vorstufen 20, 237, 238, 247, 252.

- Wärmeabgabe 42.
Wärmeproduktion 36, 41, 42, 109, 110, 112, 116, 117, 145.
Wärmeregulation 41.
Wärmestich 42.
Wasser als Extraktionsmittel 225 u. f.
Wasserhaushalt 35, 107, 127, 148.
Wasserstoffgehalt 205.
Wasserstoffionenkonzentration 67, 77, 78, 103, 104, 106, 107, 109, 124, 128, 180, 199 u. f., 209, 213 u. f., 225, 230 u. f., 238, 249.
Weinsäure 82, 124.
Weizen 252.
Wertbestimmung 158 u. f.
Wiederholter Gebrauch der Eichungstiere 167.
Wiederholte Vergiftung 23, 24, 36.
Winterschlaf 42, 144, 148.
Wirbellosen 34.
Witte-Pepton 95.
Wolframsäure 201, 240; s. a. Natriumwolframat.
- Wundheilung 131.
Wurzeln 252.
Xylol 201.
Xylose 81, 142.
Zeitintervall bei Eichung 167, 178.
Zellatmung 103, 124.
Zerebrospinalflüssigkeit 105.
Zerkleinerung des Pankreas 214.
Ziege 28, 34.
Zinksulfat 201.
Zitronen 252.
Zuckerarten 50, 54, 139 u. f.
Zunahme der Wirksamkeit 207; s. a. Vorstufen, Aktivierung.
Zwiebeln 252.
Zwischenzucker 50, 58, 61 u. f., 120, 121, 256.
Zyklisches Erbrechen der Kinder 137.
Zyklosen 126.
Zytosin 205.

Autorenregister.

Diejenigen Autornamen, die in den Literaturangaben (nicht im Text) vorkommen, sind durch schräge Zahlen kenntlich gemacht.

- | | | |
|--|---|--|
| <p>Abderhalden E. 2 28, 29, 41, 162, 181.
 Abe 2, 53, 55.
 Abelin, J. 12, 49, 91.
 Abrami, P. 14.
 Achard 2, 4, 129.
 Ackermann 2.
 Adler, E. 9, 50.
 Adler, L. 2, 42, 148.
 Ahlgren, G. 2, 3, 122, 123.
 Allan 3, 11, 48, 106, 107, 121, 182, 184, 185.
 Allen 3, 5, 9, 12, 205, 210, 225, 241.
 Alles, G. A. 3, 68.
 Ambard, L. 3, 212.
 Mc Amis 9.
 Anderson, A. B. 13, 214, 218.
 Armstrong 266.
 Arnovlyévitch 3.
 Arnstein, A. 3, 43.
 Ashby, J. S. 3, 131, 242, 243.
 Aubertin, E. 11, 52, 53, 65, 97, 150, 236.
 Audova, A. 3, 51, 127, 265.
 Azuma, R. 3, 30.</p> <p>Babkin, B. P. 3, 45.
 Bang 60, 105, 123, 177.
 Banking, F. G. 3, 12, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 26, 41, 70, 100, 105, 107, 108, 127, 129, 150, 155, 158, 159, 161, 175, 182, 193, 211, 213, 215, 234, 235, 236, 240, 241, 242.
 Barenne 3.
 Barre, J. la 3, 68, 206.
 Basedow 137.
 Bauer, R. 3.
 Baur, H. 3, 24, 51, 128, 133.
 Behre. J. A. 14.</p> | <p>Bell, M. 4, 102.
 Benatt, A. 5, 8, 125.
 Benedict, E. M. 9, 101, 102, 177.
 Benedict, S. R. 3, 63, 67.
 Berkefeld 228, 234.
 Berkeley, C. 3, 92, 238.
 Bernhardt 15, 108.
 Bertram 3.
 Bertrand 79, 81, 96.
 Best, C. H. 3, 4, 13, 17, 18, 19, 21, 26, 41, 70, 89, 100, 105, 108, 127, 129, 155, 159, 161, 208, 211, 213, 215, 226, 234, 236, 237, 238, 240, 241, 242, 243.
 Biasotti, A. 11, 148, 150, 151.
 Bickel, A. 4, 29, 138, 212, 254.
 Biedl, A. 4, 131.
 Bierich, R. 4.
 Bierry, H. 4, 6, 80, 81, 82, 83, 84, 86, 87, 88, 89, 92, 95, 96, 98, 212, 262, 265.
 Binet, L. 2.
 Bissinger, E. 4, 59, 125, 146.
 Blatherwick, N. R. 4, 13, 102, 106, 162, 163, 171.
 Bliss, S. W. 5.
 Blum, L. 4.
 Bodansky, A. 4, 27, 36, 134, 148, 183.
 Boden, E. 4, 253.
 Boerner-Patzelt, D. 4, 245.
 Boivin, A. 4, 219.
 Bollmann, J. L. 11.
 Boock, E. M. 7.
 Boothby, W. M. 4, 109, 185.
 Bordet, F. 4.
 Bornstein, A. 4, 8, 37, 60, 110, 112, 114, 116.
 Bouckaert, J. P. 4, 5, 12, 184.</p> | <p>Bouge 92, 97.
 Boulud 10, 84, 96, 97.
 Bowen, B. D. 12.
 Bowie, D. J. 3, 5, 127.
 Bredin, P. 8.
 Brenckmann, E. 5, 59.
 O'Brien, M. K. 6, 187, 236.
 Briggs, A. P. 5, 98, 101, 102, 120.
 Brigl, P. 13.
 Browen, R. K. 7.
 Brugsch, Th. 5, 38, 45, 46, 57, 58, 59, 60, 62, 63, 103, 104, 115, 121, 150, 252, 260, 265.
 Buchner, S. 5, 124, 226, 227.
 Bulatao, E. 5, 54.
 Burger, G. C. E. 3.
 Burgess, N. 5.
 Burn, J. H. 5, 147, 148, 235, 248.</p> <p>Cadarin, J. 12.
 Cammidge, P. J. 5, 45, 89, 129, 164, 211.
 Campbell, J. A. 5, 154.
 Campbell, J. M. H. 5, 118.
 Campbell, W. R. 3, 5, 36, 40, 108, 141, 142.
 Mc Cann, W. S. 11.
 Canneyt, J. van 5, 124.
 Cannon, W. B. 5, 25, 38, 44, 53.
 Carlson, A. J. 5, 54, 220.
 Carrasgo-Formiguera 5, 8, 163.
 Mc Carthy 5.
 Cartotto, Ch. 13.
 Castro, F. de 5.
 Chabanier, H. 5, 108.
 Cheinisse 5.
 Citron, J. 5, 42, 56.</p> |
|--|---|--|

- Clark, A. H. 5. 56. 93, 94, 141, 265.
 Claude Bernard 49, 135.
 Cloedt, J. de 5, 124.
 Clough, H. D. 5, 11, 12, 161, 162, 164, 165, 168, 169, 170, 178, 179, 182, 206, 240.
 Cohnheim 66, 95.
 Coirre, J. 12, 79.
 Collazo, J. A. 4, 5, 44, 46, 51, 52, 56, 57, 58, 59, 100, 103, 138, 145, 212, 254.
 Collip, J. B. 3, 5, 6, 18, 19, 23, 26, 100, 103, 106, 190, 206, 215, 218, 219, 225, 240, 248, 250, 251, 252, 253, 254.
 Colwell, A. R. 6, 151.
 Condorelli, L. 6, 81, 82, 83, 84, 86, 87, 89, 95, 96, 265.
 Corbitt, H. B. 7, 8, 11, 153, 212, 251.
 Cori, C. F. 6, 12, 46, 47, 50, 71, 74, 125, 144, 151.
 Cori, G. T. 6, 45.
 McCormick, N. A. 6, 9, 48, 73, 74, 89, 108, 110, 119, 178, 187, 189, 191, 192, 236, 239.
 Cosma, S. 12, 123.
 Cowie, D. M. 6, 138.
 Cramer, W. 6, 43, 48, 49, 107.
 Creveld, S. van 6, 52, 151.
 Crofton, W. M. 6, 211.
 Csepai, K. 6, 146.
 Cullen, G. E. 6, 104.
- Dale, H. H. 6, 19, 26, 57, 110, 111, 119, 120, 126, 148, 163, 165, 169, 175, 176, 178, 179, 193, 198.
 van Dam, E. 6, 52.
 Dauptain 10.
 David 6.
 Davies, H. W. 6, 104, 109, 160.
 Delaville 6, 75.
 Delezenne 6, 24, 100, 173.
 Denis, W. 6, 76, 95.
 Depisch, F. 6, 160, 172, 180.
 Desgrez, A. 6, 7, 66, 86, 106, 141, 181, 212.
 Deulofeu V. 13, 214, 219, 237.
 Dickens, F. 7, 14, 19, 214, 226, 242.
- Dickson, B. R. 7, 51, 108, 114, 120.
 Dingemanse 202, 203, 205, 232.
 Dobbin, G. M. 3.
 Dobreff, M. 5.
 Dodds, E. C. 7, 14, 19, 214, 226, 227, 242.
 Doisy, E. A. 5, 7, 13, 102, 200, 205, 218, 220, 228, 246.
 Drabkin, D. L. 7, 68, 100, 107.
 Dubin, H. E. 7, 251.
 Ducheneau, L. 7, 134.
 Dudley, H. W. 5, 7, 19, 40, 45, 110, 118, 119, 154, 164, 202, 210, 214, 224, 225, 226, 227, 229, 237, 239, 253.
 Duttmann, G. 7.
 Dunn, E. R. 14, 163, 180.
 Dusser, J. G. 3.
 Dusser de Barenne 117, 119.
- Eadie, G. S. 7, 76, 90, 97, 182, 183.
 Eddy, N. B. 7.
 Editorial 7.
 Edwards, D. J. 7, 38.
 Ehrlich 205.
 Ehrmann, R. 7.
 Eisler, M. 7, 67.
 Elias, H. 7, 63.
 Ellis, M. M. 7, 252.
 Elschnig, A. 7.
 Epstein, A. A. 7, 208.
 Evans 180.
 v. Exten, S. 5.
- Faber, K. 7, 73, 74.
 Falk, K. G. 8.
 Falta, W. 7, 12, 137.
 Fandard, L. 4, 7, 80, 81, 82, 89.
 Fenger, F. 7, 160, 162, 164, 178, 210, 223, 234, 237.
 Fetzer, L. W. 7, 252.
 Feuerbach A. 5, 59.
 Feyertag, H. 7, 108.
 Figuiet 80.
 Findlay, D. M. 11, 214, 216, 231.
 Fischer 214, 220.
 Fischler, F. 7, 25.
 Fisher, D. 7, 40, 239, 242, 243, 252.
- Fisher, N. F. 7, 9, 130, 155, 156, 246.
 Fisher, W. S. 13, 153.
 Fletcher, A. A. 3, 5, 36, 141, 142.
 Flury, F. 7, 212.
 Foerster 7, 246.
 Folin 92, 102, 128, 134, 150, 177.
 Fonseca, F. 8.
 Forrest, W. D. 8, 90, 149.
 Forschbach 20.
 Forsyth, J. A. C. 5.
 Foster 74.
 Fraenkel, E. 8, 125.
 Frank, E. 8, 72, 74, 248.
 Fraser, S. T. 8, 160, 179, 180.
 Fredericq 8, 66.
 Freudenberg 8, 137, 138, 248.
 Freund, E. 8, 40.
 Freund, H. 13.
 Friedmann, G. A. 8.
 Fröhlich, R. 13.
 Fürth, O. 8.
 Fulton 31, 32.
 Funk, C. 8, 212, 252.
- Gabbe, E. 8, 33, 70, 112.
 Gänsslen, M. 11, 125.
 Gairns, S. 3, 235.
 Galamini, A. 11.
 Garrelon, L. 8, 38, 43, 44.
 Garrod, A. E. 8.
 Geelmuyden, H. C. 8, 16, 62, 99, 265.
 Gentil, F. 8.
 Gey, G. O. 8, 128.
 Gibbs, C. B. F. 5, 8, 11, 12, 14, 155.
 Gigon 8, 23, 39.
 Gilchrist, J. A. 3.
 Giles, N. 6, 95.
 Ginsberg, G. 8.
 Giushi, L. 8, 107.
 Gley, E. 8, 153.
 Goffin 8, 137.
 Goldscheider 15.
 Goltz, H. 6.
 Gonzalez, P. 8, 163.
 Gottesman, J. 8.
 Gottschalk, A. 8, 12, 64, 65, 253.
 Graefe 124.
 Grafe, E. 5, 8, 55, 113.

- Gray, H. 9.
 Grevenstuck, A. 1, 8, 10, 136,
 149, 152, 155, 164, 165, 177,
 194, 214, 255, 258, 260, 261,
 264, 267.
 Griesbach 4, 8, 60, 147.
 Grigaut, A. 8, 138.
 Gruat, E. 8, 86.
 Günther, F. 13.
 Mc Guire 8.
 György, P. 8, 248.
- Hachen, D. S. 9, 156.
 Haendel, M. 5, 9, 46, 56, 58,
 100, 138, 145.
 Hagedorn, H. C. 9, 160, 177,
 206.
 Haldane, J. B. S. 9.
 Hallion 6.
 Hanbury 3, 205.
 Harrison, G. A. 9, 156.
 Harrop jr., G. A. 9, 101, 102.
 Hartmann, H. N. 9, 22, 92, 99,
 177, 182.
 Hartree, W. 3, 30.
 Hamley, E. E. 9, 109.
 Hédon, E. 9, 108.
 Hédon, L. 9, 108, 121, 130,
 131, 132.
 Heidenhain 48.
 Hemmingsen, A. M. 9, 30.
 Hendrix, B. M. 9, 249.
 Hepburn, J. 9, 56, 58, 89, 94.
 Herring 143.
 Heubner 157.
 Heuner 7, 246.
 Heymans, C. 9, 43, 116, 121,
 124.
 Hill, E. 4.
 Hirsch, R. 9, 66.
 Högler, F. 6, 9, 75, 160.
 Höst 9.
 Holden, H. F. 14.
 Holm, K. 4, 8, 37, 147.
 Honeywell, H. E. 9, 13.
 Hopkins 205, 211.
 Horsters, H. 5.
 Houssay, B. A. 9, 13, 30, 34.
 Howard, H. A. H. 5, 211.
 Hughes, T. A. 9, 109.
 Hume, H. V. 6, 76.
 Hummel, H. 9, 249.
 Hutchinson, H. B. 9, 247, 252
 Huxley, J. S. 9, 31, 32.
- Irvine 76, 143.
 Isaac, S. 9, 50, 99.
 Iscovesco 92, 97.
 v. Issekutz, B. 9, 59, 60.
 Mc Iver, M. A. 5.
 Ivy, A. C. 9.
 Iwai, S. 9, 41.
 Izar 9, 248.
- Jacoby, A. 7.
 Jenke, M. 14, 77, 78, 90, 91.
 Jensen 177.
 Jonas, L. 6, 104.
 Jones, W. 9, 68.
 de Jongh, S. E. 9, 27, 55, 136,
 140, 156, 157, 194, 244.
 Joslin, E. P. 9, 35.
 Jungmann 15.
- Kahn, S. H. 12.
 Karelitz jr., S. 14, 249.
 Karsner, H. T. 9, 67.
 Kasahara, M. 9, 105.
 Katz, R. 5.
 Kay, H. D. 9, 103, 265.
 Keefer, C. S. 12, 93.
 Kellaway, C. H. 9, 109.
 Killian, J. A. 9, 67, 104.
 Kimball, C. P. 3, 9, 11, 201,
 202, 225, 245.
 Mc Kinley, E. B., 7, 252.
 Kitchen, H. D. 14, 141, 143.
 Kleiner 70.
 Kleitman, N. 9, 25, 43.
 Klemperer, P. 9.
 Knop-Niederhoff, B. 9, 98.
 Koechig, J. 5.
 Koeckert, H. L. 9.
 Koga, T. 10, 15, 67, 104, 247.
 Kogan, V. M. 10, 55, 137, 138.
 Kok, J. 10, 98.
 Koref, O. 10, 135, 140.
 Koudriavtzeva, A. L. 10, 138.
 Kourilsky, R. 4, 88, 96.
 Krastel, A. R. 10, 146, 207,
 211.
 Kretschmer, O. S. 10, 104.
 Krogh, A. 10, 114, 160, 180,
 211.
 Kuenen, W. A. 10.
 Kuhn, R. 3, 10, 51.
 Kumagai, T. 10, 67, 131.
 Kutscher 248.
- Labbé, H. 10, 106.
 Laguesse, E. 10, 240.
 Laidlaw, P. P. 7.
 Lambie, C. G. 6.
 Laquer, E. I. 8, 9, 10, 27, 50,
 57, 136, 149, 152, 155, 164,
 165, 177, 194, 214, 255, 258,
 260, 261, 264, 267.
 Laquer, F. 27, 57.
 Laroche, G. 10, 110.
 Latchford, J. K. 9, 56, 58,
 89, 94.
 Latham, E. 12, 93.
 Laudat, 14.
 Laufberger, V. 10, 42, 92, 127,
 261, 262, 263, 264.
 Lauritzen, M. 10, 99.
 Lawrence, R. D. 10, 72, 74.
 Lax, H. 10, 35, 103.
 Lebert, M. 5.
 Ledebt 6.
 Lenné 10.
 Lépine, R. 10, 82, 84, 96, 97,
 137.
 Leschke, P. 100.
 Lesser, E. J. 4, 8, 10, 46, 59,
 111, 123, 125, 146, 263.
 Levie, H. de 10.
 Levina 88.
 Levine, S. Z. 14, 91, 94.
 Levine, V. E. 11.
 Lewis, J. T. 10, 132.
 Leyton, O. 10.
 Licht, H. 13.
 Lichtwitz 8.
 Lotta, D. 13, 26, 40, 139, 147,
 248.
 Lipmann, F. 10, 78.
 Lipschitz 124.
 Little, J. F. 11, 254.
 Livshis, L. 15, 207, 208.
 Lobo-Onell 5.
 Loebel, R. O. 14.
 Loening, K. 11.
 Löw, A. 7, 63.
 Löwe, W. 11, 160, 179, 189.
 Löwy, F. E. 9, 41.
 Logan, H. D. 12, 24, 41, 69,
 135, 148.
 Long, M. L. 4.
 Lublin 11, 109.
 Luchetti, C. 11.
 Lugini, P. 11.
 Lundberg, E. 11, 244.

- Lyman, R. S. *11*, 36, 110, 144.
 Lyon, D. M. 6.
- Macleod 3, 6, 7, 9, *11*, *12*, 17,
 18, 19, 22, 23, 25, 29, 41,
 45, 48, 59, 69, 70, 71, 75,
 76, 89, 90, 91, 97, 98,
 106, 113, 114, 119, 139, 141,
 142, 143, 144, 152, 159, 160,
 167, 169, 170, 172, 173, 178,
 182, 183, 184, 186, 187, 189,
 191, 192, 199, 208, 210, 211,
 239, 240, 241, 265.
- Maestrini, D. *11*, 67, 105.
 Magath, T. B. *11*, 134, 141.
 Magonta, M. A. *11*, 148, 150,
 151.
 Magnus, R. 9, 25, 43.
 Magnus-Levy *11*, 261.
 Mahler *11*, 252.
 Major, R. H. *11*, 99, 104.
 Manguica, J. *12*, 70.
 Mann, F. C. *11*, 30, 134, 141.
 Marrian, C. F. 7.
 Martland, M. *11*, 103.
 Matthes *11*.
 Mattill, H. A. *11*, *12*, 206, 211.
 Matton, M. 9, *11*, 43, 115, 121,
 124.
 Mauriac, P. *11*, 52, 53, 65, 97,
 150, 236.
 Maxwell, L. C. 4.
 Mazocco, P. *11*, *13*, 70, 100,
 101, 102, 103.
 Meakins, J. 6.
 v. Mehring 129.
 Mendel, B. *11*, *15*, 154.
 v. Mering 18, 21.
 de Meyer 21, 58, 91, 94, 240.
 Meyer, H. H. 169.
 Meyerhof 61.
 Mezger, H. *11*.
 Mills, C. A. 9, 156.
 Minkowski 18, 20, 21, 129.
 Mohr, L. *11*, 81.
 Moloney, P. J. *11*, 216, 231.
 Moog, R. 7, 66.
 Moore, H. F. *11*.
 Morera, V. *11*, 70, 100, 101,
 102, 103.
 Müller, E. F. *11*, 125, 153.
 Müller, O. *11*.
 Murray, Lion 187.
- Murlin, J. R., 3, 5, 8, 9, *11*,
12, *14*, 19, 21, 107, 109, 129,
 155, 156, 159, 169, 182, 201,
 202, 210, 214, 225, 229, 237,
 240, 244, 245.
 Muskens 27.
 Myers 67, 99.
- Nakahayashi, S. *12*, 49, 76, 91.
 Nash, T. B. *12*.
 Needham, J. *12*, 126, 265.
 Nehring 199, 231, 233.
 Neuberg, C. *12*, 63, 64.
 Neukirch, P. 4.
 Nichells, E. *11*.
 de Niord 67.
 Nitzescu, J. *12*, 45, 65, 70, 87,
 88, 97, 99, 123, 265.
 Noble, E. C. 3, 6, 7, *12*, 18,
 19, 59, 71, 97, 141, 142,
 152, 187, 243.
 Nothmann, M. 8, 72, 74.
 Noyons, A. K. *12*, 42, 119.
- Oddo, J. 4.
 Oertel, H. *12*.
 Oka, T. *12*, 140, 141, 142, 144.
 Olmstead, H. C. 5.
 Olmsted, J. M. D. *12*, 24, 25,
 29, 32, 41, 69, 100, 135, 148.
 Olmsted, W. H. *12*, 118.
 Orr, M. D. *11*, 167, 169.
 Osato, S. *10*, 67, 131.
 Osman, A. A. 5.
- Page, J. H. 7, *12*, 38, 104, 161.
 Parnas 123.
 Parsons, J. P. 6.
 Parturier *10*, 137.
 Pasterny, K. *11*, 252.
 Paulesco, N. C. *12*, 70, 101,
 106, 129, 153, 206, 229, 235.
 Pauly 205, 210.
 Pavy 80.
 Payne, W. W. 5.
 Pember, F. R. 7, 108.
 Penau, H. *12*, 130, 162, 163,
 182.
 Perkins, M. E. 9, 68.
 Perlzweig, W. A. *12*, 93, 102,
 103, 108, 145.
 Perry, M. C. *14*, 98.
 Peskind, S. *12*, 157.
 Petenyi, G. *10*, 35.
- Peters *12*.
 Petschacher, L. *12*, 206.
 Pflüger 47.
 Mc Phedran, A. *12*, 150.
 Pick, E. P. *12*, 56, 57, 58.
 Pico, O. M. *13*.
 Piper 3, 9, *11*, *12*, 210, 211,
 225.
 Planelles, J. *10*, 78, 156.
 Pollak, L. *12*, 16, 137, 169,
 173.
 Popescu-Inotesti, C. 7, *12*, 88.
 Popper, H. 8.
 Popper, M. *12*, 44.
 Portheim, L. 7, 67.
 Portier 81.
 Poulton, E. P. 5.
 Pucher, G. W. 6, *12*, 178.
 van te Put 211.
- Raab, W. *12*, 35, 36, 37, 145.
 Radoslav, C. S. 7.
 Ranc, A. 7, 83.
 Randoin 89.
 Raphael, T. 6.
 Rathery, F. 4, 6, 8, 83, 84,
 86, 87, 88, 96, 212, 262.
 Ravis, M. O. *12*, 155.
 Redisch, W. *12*.
 Reiss, M. *14*, 112.
 Ribot, A. 2.
 Richardson, H. B. *14*.
 Richaud *12*, 79.
 Richter-Quittner, M. 6.
 Riddle, O. 9, *12*, *13*, 53, 55.
 Riebensahm, W. 8, 245.
 Riebbi, C. T. 8, 9, 30, 34, 107.
 Rigler, R. W. *10*, 135, 140.
 Ringer, M. *13*, 183.
 Roberts, F. *13*, 208.
 Robertson, T. B. *13*, 214, 218.
 Robinson, W. L. 3, 5, 127, 265.
 Robison, R. 9, *11*, *13*, 103.
 Robson, W. 6.
 Rogoff, J. M. *12*, *13*, 52, 58
 132, 133, 151, 160.
 Rona 75.
 Root jr., E. W. 5, 8.
 Root, H. F. 9.
 Rosenberg, M. *13*.
 Rosenthal, F. *13*, 42, 208.
 Rosenthal, N. E. 7.
 Rosling 124.
 Rouzaud 8.

- Rowntree, L. G. 4, 109.
 Rubino, P. 5.
- Salén, E. 13, 155, 156.
 Sammartino, N. 13, 26, 40, 67, 139, 147, 239, 248.
 Sansum, W. D. 13, 159.
 Santenose, D. 8, 38, 43.
 Savino, E. 13, 102.
 Schäfer 21, 240.
 Schmid, F. 3, 112.
 Schmidt, F. 3.
 Schouten, D. E. 13.
 Schreiner 67.
 Schridde 48.
 Schrijver, D. 13.
 Schultz, O. T. 13, 55.
 Schwab, H. 4.
 Scott, D. A. 4, 13, 89, 238.
 Scott, E. P. 13, 226, 242, 243.
 Seekles, L. 13, 150, 210, 220.
 Seliwanoff 205, 253.
 Seyfarth 13.
 Shaffer, P. A. 7, 13, 22, 92, 177, 182, 214, 217, 220, 221, 225, 228, 231, 233, 242, 246, 265.
 Shaw-Mackenzie, J. A. 13.
 Shonle, H. A. 13, 202, 207, 208, 210.
 Sierens, A. 12.
 Simonnet, H. 12, 13, 89, 92, 97, 130, 162, 163, 182, 211.
 Simpson, S. 4.
 Singer, G. 13.
 Sjollema, B. 13, 150, 210, 220.
 Slosse, A. 13, 91, 202.
 van Seyke 104, 106.
 Smith, R. G. 4, 211.
 Smith, W. 8, 9, 12, 15, 76, 77, 78, 79, 85, 90, 91, 92, 147, 148, 149, 155, 206, 238, 247, 252, 253, 265, 266.
 Snapper, J. 10, 36, 266.
 Snell M. W. 7.
 Sokoloff B. 13.
 Somogyi M. 7, 13, 200, 204, 210, 219, 224, 228, 246.
 Sordelli, A. 13, 27, 34, 133, 135, 163, 214, 219, 228, 230, 237.
 Spiro, K. 13, 236, 264.
 Starling, W. W. 7, 224, 237.
 Stasiak, A. 13, 82, 92.
- Staub 8, 13, 18, 21, 39, 45, 46, 101, 102.
 Stensheim, T. 13, 157.
 Stepp, W. 13, 76.
 Stern, R. 13.
 Steudel, H. 13.
 Stewart, G. N. 12, 13, 52, 58, 132, 133, 151, 160.
 Stokes, A. M. 5, 12.
 Stone, N. C. 5, 8, 11.
 Strauss, H. 12.
 Stricker, W. 4, 5, 117, 184.
 Strisomer, R. 9.
 Stross 13, 162.
 Strouse, S. 13, 55.
 Sundberg, C. G. 14, 133.
 Suther, C. C. 8, 12, 14.
- Tacquet 10.
 Tadenuma, K. 9, 138.
 Tallermann, K. 14, 78.
 Taya 14.
 Taylor, A. C. 12, 25, 69, 100, 118.
 Telfer, S. V. 14, 154.
 Thalheimer, W. 8, 14, 39, 98, 128, 137.
 Thannhauser, S. J. 14, 77, 78, 90, 91.
 Thatcher, H. S. 14, 155.
 Theorodesco, B. 10.
 Thiroloix 14, 182.
 Thompson, J. W. 14.
 Thomson, A. P. 14, 129.
 Thunberg 122.
 Timme, W. 14.
 Toenniesen, E. 14, 57, 64, 149.
 Tolstoi, E. R. 14, 99, 102, 109.
 Toronto 169.
 Travell, J. G. 14.
 Trevan, J. W. 7.
 Tsubura, S. 14, 115, 121.
- Ueberrack, K. 6, 9, 75, 160.
 Uetani, E. 9, 105.
 Umber, F. 14.
 Underhill, E. P. 14, 249.
- Vahlen, E. 11, 14, 18.
 Verzar 14, 67.
 Vincent, S. 14, 241.
 Visscher, M. B. 14, 77, 91.
 Voegtlin, C. 14, 163, 180.
 Vollmer, H. 8, 14, 145, 248.
- Wacker, L. 3, 51.
 Wagner, A. 8, 72, 127, 265.
 Wagner, R. 3, 51.
 Wahl, S. A. 9.
 Waldo, J. H. 13, 202, 207, 208, 210.
 Walker, F. 14, 66.
 Wallgren, A. 14, 154.
 Wallis, R. 14, 97, 155, 206, 211, 212, 229.
 Walters, A. L. 14, 162.
 Wankell, F. 4.
 Wardell 99.
 Watermann, N. 14.
 Weber, C. J. 5, 7, 200, 205.
 Weill, A. 14.
 Weiss, R. 14, 112.
 Weiss, St. 6, 146.
 Wernicke, R. 14, 228.
 Wertheimer 2, 14, 28, 41, 73, 74.
 White, H. L. 14, 77.
 Widal, F. 14, 101, 128.
 Widmark, E. M. P. 14, 210.
 Wiechmann, E. 15, 75.
 Wiechowski 13, 15, 26, 162, 163, 164, 165, 169, 172, 173, 175, 178, 238.
 Wigglesworth, V. B. 15, 93, 102, 103.
 Wilder, R. M. 15, 141, 143, 185.
 Wilson, R. S. 7, 160, 162, 164, 178, 210, 223, 234, 237.
 Winegarden, H. M. 3, 68.
 Winter, L. B. 8, 9, 12, 15, 49, 76, 77, 78, 79, 85, 90, 91, 92, 147, 148, 149, 155, 206, 211, 238, 247, 252, 253, 265, 266.
 Wittgenstein, A. 11, 15.
 Witzemann, E. J. 15, 207, 208.
 Wohlgemuth, J. 15, 63, 66, 104, 247.
 Wolff, L. K. 9, 55, 136.
 Wolfenstein, E. 11.
 Wood-Ost 92.
 Woodrow, C. E. 13, 15.
 Woodyatt 185.
 Wu 92, 102, 128, 134, 150, 177.
- Zipf, K. 4, 125, 146.
 Zondek, H. 15, 56.
 Zondek, S. G. 5, 150.
 Zülzer, G. 15, 18, 20, 183.

VERLAG VON J. F. BERGMANN IN MÜNCHEN

Soeben erschienen:

Die Vitamine

Ihre Bedeutung für die Physiologie und Pathologie

Von

Casimir Funk

Associate in Biological Chemistry, College of Physicians and Surgeons Columbia University,
New York, Vorstand der Biochemischen Abteilung, Staatliche Hygieneschule Warschau

Mit 93 Abbildungen im Text

Dritte, gänzlich umgearbeitete Auflage

1924. Brosch. 27.— Goldmark / Gebunden 29.40 Goldmark

„Zentralblatt für die gesamte Hygiene“ über die zweite Auflage:

„ Das ungemein reiche Beobachtungsmaterial der vergangenen Zeit auf dem Gebiete der Vitaminforschung hat, von einem überschauenden Standpunkte aus kritisch gesichtet, eine meisterliche Darstellung erfahren. Das bewundernswerte Werk bedeutet nicht nur ein unentbehrliches Handbuch für alle, die sich mit Ernährungsproblemen, besonders des Menschen, beschäftigen; es wird auch, da es gleichsam als eine Biologie unter dem Gesichtspunkte der Vitaminenlehre erscheint, für die verschiedensten Zweige der Naturwissenschaften ein wertvoller Ratgeber in biologischen Fragen.“

Mikrochemisches Praktikum

Eine Anleitung zur Ausführung der wichtigsten mikrochemischen Handgriffe, Reaktionen und Bestimmungen mit Ausnahme der quantitativen organischen Mikroanalyse

Von

Friedrich Emich

ord. Professor an der Technischen Hochschule Graz, korresp. Mitglied
der Akademie der Wissenschaften Wien

Mit 77 Abbildungen

1924. 6.60 Goldmark

„Die Wichtigkeit der mikrochemischen Methodik ist bereits so allgemein anerkannt, daß ein Praktikum aus der Feder des Hauptbegründers dieser Disziplin keiner besonderen Empfehlung bedarf.“ *P. Rona-Berlin in „Klinische Wochenschrift“*

„ Mit der Abfassung dieses Buches ist es Emich gelungen, zugleich ein Lehrbuch und einen Leitfaden zu schaffen, der einerseits berufen ist, im Unterrichte als Richtschnur zu dienen, andererseits den Anfänger befähigt, bei genauer Befolgung der Vorschriften sich in kurzer Zeit in dieses neue Arbeitsgebiet einzuarbeiten.“ *Mayrhofer in „Pharmazeutische Monatshefte“.*

VERLAG VON J. F. BERGMANN IN MÜNCHEN

Soeben erschienen:

Grundzüge der physikalischen Chemie

in ihrer Beziehung zur Biologie

Von

S. G. Hedin

Professor der medizinischen und physiologischen Chemie an der Universität Upsala

Zweite Auflage

1924. 7.50 Goldmark / Gebunden 8.70 Goldmark

Aus den Besprechungen der ersten Auflage:

Die Anwendung physikalisch-chemischer Methoden und Prinzipien in der Biochemie und Biologie nimmt einen immer größeren Umfang an, und ihre Kenntnis wird für das Verstehen biologischer Vorgänge immer notwendiger. Das vorliegende Werk bringt in gedrängter Form die wichtigsten Grundzüge der physikalischen Chemie in ihrer Beziehung zur Biologie. Sehr gründlich sind die Kapitel über den osmotischen Druck und die Kolloide und Enzyme bearbeitet. Die Darstellung ist elementar, sodaß auch diejenigen, welche mit der Materie wenig vertraut sind, ohne Schwierigkeiten folgen können.

Berichte der deutschen pharmazeutischen Gesellschaft.

Lehrbuch der physiologischen Chemie

Unter Mitwirkung von Prof. **S. G. Hedin** in Upsala, Prof. **J. E. Johansson** in Stockholm und Prof. Dr. **T. Thunberg** in Lund

Herausgegeben von

Olof Hammarsten

ehem. Prof. der medizinischen und physiologischen Chemie an der Universität Upsala

Zehnte, gegenüber der neunten unveränderte Auflage

Mit einer Spektraltafel

1925. 18.— Goldmark

Aus den Besprechungen der neunten Auflage:

Das Erscheinen eines neuen Hammarsten ist in den Kreisen der physiologischen Chemiker seit jeher mit Freude und Spannung begrüßt worden, denn dieses Werk, ursprünglich allein aus der Feder des schwedischen Altmeisters, in der neuen Auflage von ihm in Verbindung mit drei hervorragenden schwedischen Fachgelehrten verfaßt, hat seit langem einen fest behaupteten unbestrittenen Platz in jeder physiologisch-chemischen Bücherei inne. Es ist das Standard-Werk, welches in kurzer, klarer Form über alle Fragen Auskunft gibt, alte wie neue in gleich objektiver Weise behandelnd und mit umfassenden Literaturnachweisen belegend. Es bietet dabei für die rasch vorwärts strebende und schnell vergessende Gegenwart den unschätzbaren Vorteil, daß es fest im Boden des klassischen Zeitalters der physiologischen Chemie wurzelt und somit auch das nicht vergift, was wir diesem verdanken.

Zeitschrift für angewandte Chemie.