Ueber den Glykogengehalt der Frosche ueber die quantitative Zusammensetzung der Froschleber

メタデータ	言語: deu 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Kato, Kan メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/38425

原著及實驗

Ueber den Glykogengehalt der Frosche und ueber die quantitative Zusammensetzung der Froschleber.

Kan Kato

aus Japan.

Das Verhalten des Glykogens im Körper der Frösche, sowie auch der übrigen winterschlafenden Kaltblüter, ist von besonderem physiologischen Interesse. In gewissem Sinne verhält sich der Gehalt dieser Tiere an Glykogen gerade umgekehrt, wie man es von vornherein annehmen sollte. Man sollte erwarten, dasz im Körper dann am meisten Glykogen anzutreffen sei, wenn die Tiere sich am reichlichsten ernähren, also in den Sommermonaten, und dasz sie dann am wenigsten Glykogen aufweisen werden, wenn sie lange gehungert haben, also am Ende des Winterschlafes. Gerade das umgekehrte ist aber der Fall. Schon Claude Bernard[1]), der Entdecker des Glykogens, wusste, dasz die Winterschläfer am Ende ihres Winterschlafes noch grosze Mengen von Glykogen in

ihrem Körper besitzen.

Pflüger[2]) bestätigte dieses, indem er im März 1898 bei noch im Winterschlaf befindlichen Fröschen einen Glykogengehalt von nahezu 1 % des Körpergewichtes feststellte. Am eingehendsten ist alsdann in Pflügers Laboratorium der Gehalt der Frösche an Glykogen unter verschiedenen Bedingungen und zu verschiedenen Jahreszeiten von J. Athanasiu[3]) untersucht worden. Aus der Arbeit von Athanasiu gestatte ich mir die folgende Tabelle, aus welcher der Einflusz der Jahreszeit auf den Glykogenreichtum der Frösche hervorgeht, zum Abdruck zu bringen:

No. der Versuche	Datum	Gattung.	Geschlecht	Anzahl der Frösche	Gesamtgewicht	Glykogen. Gesamtmenge	In % der Lebenden-Substanz
1	1. Juni	Esculent.	Männchen	6	231	0.909	0.392
2	10. „	Fusca.	„	4	144	0.523	0.362
3	25. „	Esculent.	„	15	302	0.910	0.301
4	27. „	„	„	10	333	1.330	0.400
5	29. „	„	„	8	121	0.138	0.113
6	11. Juli	„	Weibchen	22	360	0.620	0.117
7	11. „	Fusca.	Männchen	2	72	0.338	0.467
8	18. „	„	Weibchen	4	159	0.780	0.489

[1]) Claude Bernard, Cptes. rendus t. 48 P. 683, 1859.

[2]) E. Pflüger, Beiträge zur Physiologie der Fettbildung, des Glykogens und der Phosphorvergiftung, Pfl. Arch. 71. 318.

[3]) I. Athanasiu, Über den Gehalt des Froschkörpers an Glykogen in den verschiedenen Jahreszeiten. Pfl. Arch. 74. 561, 1899.

9	18. „	„	Männchen	5	143	0.750	0.531
10	21. „	„	Weibchen	16	444	1.280	0.28
11	22. „	„	„	7	175	0.64	0.368
12	14. Sept.	Esculent.	Männchen	12	350	1.64	0.470
13	25. „	„	Weibchen	31	729	10.43	1.43
14	5. Octbr.	„	„	10	223	2.92	1.31
15	17. „	„	„	10	428	5.61	1.31
16	11. Novb.	Fusca	„	12	573	5.20	0.907
17	10. Febr.	„	Männchen	6	279	3.00	1.07
18	10. „	„	Weibchen	12	698	7.33	1.05

Man sieht aus dieser Tabelle, dasz die Menge des Froschglykogens ihr Maximum im Herbst und ihr Minimum im Sommer hat, ferner auch dasz während des ganzen Winters der Glykogengehalt nur langsam abnimmt, sodasz das Frühjahr immer noch mit einem sehr hohen Stande des Glykogenvorrates erreicht wird. Pflüger[2]) hat durch neuere Untersuchungen dieses Ergebnis bestätigt und sehr wichtige neue Beobachtungen hinzugefügt. Im ganzen Sommer ist der Glykogengehalt sehr niedrig, erst Ende September bis Anfang Oktober, also zu einer Zeit, wo die Tiere schon weniger Futter finden, wird in ziemlich schnellem Anstieg der Maximalwert erreicht. Ausserordentlich merkwürdig ist aber die Beobachtung Pflügers, dasz dieser herbstliche Anstieg auch dann eintritt, wenn die Tiere während dieser Zeit überhaupt kein Futter erhalten und auch schon lange Zeit vorher gehungert

[1]) Dieser Versuen ist in Bukarest gemacht.

[2]) E. Pflüger, Unter gewissen Lebensbedingungen nimmt die in dem lebendigen Tierkörper enthaltene Menge des Glykogenes trotz vollkommener, über Monate sich ausdehnende Entziehung der Nahrung fortwährend sehr erheblich zu. Pfl. Arch. 120. S. 253, 1907.

haben. Es musz also in diesem Falle Glykogen aus anderen Vorratsstoffen des Körpers gebildet werden. Pflüger ist der Meinung, dasz die Constanz des Glykogengehaltes der Frösche während des Winters nur scheinbar in der Erhaltung eines im Herbst schon angesammelten Glykogenvorrates bestehe, dasz sie vielmehr dadurch zustande komme, dasz zwar von dem Tier fortwährend Glykogen verbraucht aber gleichzeitig aus anderen Quellen neugebildet werde.

Während aus den angeführten Versuchen sich ergab, dasz jedenfalls die Jahreszeit ein den Glykogengehalt der Frösche mächtig verändernder Faktor ist, ging andererseits aus den Versuchen von Pflüger und Athanasiu hervor, dasz Frösche, die zu derselben Jahreszeit gefangen werden, keine so sehr groszen Unterschiede in ihrem Gehalt an Glykogen aufweisen, vorausgesetzt, dasz sie auch von derselben örtlichen Herkunft sind. Dagegen scheinen Verschiedenheiten der Gegend, in welcher die Frösche vorkommen, wiederumgrosze Unterschiede zu bedingen, auch dann wenn die Frösche zu derselben Zeit untersucht werden und der gleichen Art angehören. So fand Athanasiu als höchsten Glykogengehalt des ganzen Froschkörpers 1,43 % bei Rana esculenta (Durchschnittswert aus 31 Tieren weiblichen Geschlechts) Ende September 1898 (s. No. 13 seiner Tabelle), während Pflüger[1]) als höchsten Glykogengehalt des Froschkörpers nur 0,867 % bei Esculente (Durchschnittswert aus neun männlicqen Tieren). Ende Oktober 1907 feststellte. Die Tiere waren aber örtlich von verschiedener Herkunft, die von Athanasiu untersuchten stammten aus Gewässern in der Umgegend von Bonn (mit alleiniger Ausnahme von Nr. 12 seiner Tabelle), während die von Pflüger[2]) untersuchten Frösche alle aus den Seen und seeartigen Erweiterungen der Oberspree bei Köpenick herstammten. Bei in der Nähe von Bonn gefangenen Fröschen (Rana fusca) fand Pflüger[1]) im Herbst 1907 ebenso hohe oder noch etwas höhere Werte, wie Athanasiu sie 9 Jahre früher bei den Bonner Fröschen beobachtet hatte. Pflüger nimmt daher an, dasz es sich bei diesen Verschiedenheiten um Rassenunterschiede der Tiere handelt.

Eine Bestätigung dieser Annahme, dasz örtliche Verschiedenheiten Unterschiede und Besonderheiten im Verhalten des Glykogengehaltes der Tiere bedingen können, liegt in einer Reihe von Versuchen, die im vergangenen Herbst auf Veranlassung des Herrn Professor Bleibtreu im Laboratorium des physiologischen Instituts in Greifswald über den Glykogengehalt der in der Umgebung Greifswalds gefangenen Fröschen einen besonders hohen Glykogengehalt *in der Leber, und er veranlaszte daher Herrn Privatdocent Dr. Mangold* eingehendere quantitative Untersuchungen über den Glykogengehalt der Lebern und des Körpers dieser Tiere vorzunehmen. Das Ergebnis dieser Versuche hat Herr Dr. Mangold[1]) vor kurzem veröffentlicht. Die wichtigsten Resultate aus den Versuchen Mangold's teile ich in folgender Tabelle mit:

Datum des Versuchs	Art der Erösche	Zahl der Tiere	Körpergewicht (incl. Leber)	Gewichi der Lebern	Lebergewicht in % des Körpergewichts	Glykogen der Lebern in mgr.	Glykogen der Lebern in % des Lebergewichts	Glykogen des übrigen Körpers in mgr.	Gesamtglykogen der Tiere in mgr.	Gesamtglykogen in % d. Tiergewichtes	Vom Gesamtglykogen sindin der Leber %
25. IX. 07	Esculenta	1	54,1	2,85	5,2	329,3	11,55	191,2	520,5	0,96	63,27
25. IX. 07	„	1	44,9	1,85	4,1	201,4	10,89	138,4	339,8	0,76	59,29
25. IX. 07	„	1	47,9	2,79	5,8	353,6	12,67	113,4	467,0	0,97	75,72
8. X. 07	„	1	51,5	4,6	8,9	627,1	13,63	180,2	807,3	1,57	77,68
8. X. 07	„	1	71,36	4,97	6,9	694,2	13,97	368,9	1063,1	1,49	65,30
8. X. 07	„	1	53,74	4,4	8,1	473,41	10,76	304,5	777,9	1,45	60,86

[1]) l. c. S. 258.

[2]) l. c. S. 266.

16. X. 07	„	10	988,2	57,01	5,77	6270,6	11,00	—	—	—	—
25. X. 07	Tempo-raria	10	448,2	20,55	4,55	354,7	17,26	347,4	7021	1,56	50,50
29. X. 07	„	1	43,17	1,72	3,98	207,8	12,1	173	380,8	0,88	54,56
29. X. 07	„	1	42,21	2,33	5,28	449,4	20,15	353	802,4	1,90	56,00
29. X. 07	„	1	27,17	2,00	7,36	400,5	20,02	352,2	752,7	2.77	53,28

Man sieht aus dieser Tabelle, dasz die Greifswalder Frösche im Herbst 1907 durchweg einen hohen Gesamtgehalt an Glykogen in ihrem Körper aufwiesen. Die Zahlen für den Gesamtgehalt bewegen sich in ähnlicher Höhe wie sie von Pflüger und Athanasiu bei den Bonner Fröschen beobachtet wurden. Bei einzelnen Exemplaren der Temporarien wird dieser Wert aber auch noch bedeutend überschritten. So enthielt die Temporaria des letzten Versuches nicht weniger als 2,77% Glykogen in ihrem Körper, ein Wert, wie er bisher bei Fröschen überhaupt noch nicht, bei anderen Tieren nur selten beobachtet wurde; nur bei Hunden, die durch ein besonderes Fütterungsverfahren auf einen möglichst hohen Glykogengehalt gemästet worden waren, hat Schoendorff[1]) einen noch beträchtlich höheren Glykogengehalt, nämlich 3,787% festgestellt.

Was aber in dieser Tabelle besonders auffällt, ist der ungeheuer grosze Reichtum der Lebern an Glykogen.

Zum Vergleiche führe ich folgende Tabelle aus der mehrfach schon erwähnten Arbeit von Athanasiu (l. c. Pfl. Archiv 74. S. 566) über die von ihm beobachteten Glykogengehalte der Froschlebern an:

[1]) Ernst Mangold, Über den Glykogengehalt der Frösche. Pfl. Arch. 121 S. 309 1908.

No. d. Versuches	Datum	Art	Geschlecht	Anzahl der Frösche	Gesamtgewicht	Glykogen				
						im körper	in der Leber	in % des Leber-gewichts	Gesamt-menge	in % des Körper-gewichts
8	12. Juli	Fusca.	Männch.	15	533	1,289	0,443	2,77	1,732	0,324
9	25. Juli	„	„	20	640	1,62	0,87	4,35	2,49	0,390
10	27. Sept.	Escul.	„	10	256	0,87	1,24	8,26	2,11	0,820
11	7. Okt.	„	„	12	449	1,88	1,56	8,21	3,44	0,760
12	11.Nov.	Fusca.	„	12	624	1,13	1,88	7,52	3,01	0,482

Zu dieser Tabelle müssen wir noch hinzufügen einen Versuch Athanasiu 's den er am 28. März an 30 weiblichen Fröschen (Rana fusca) im Gesamtgewicht von 705 gr angestellt hat. (l. c. S. 566.) Hier findet er in 25 gr Leber 2,27 gr Glykogen oder 8,73% des Lebergewichtes.

Es ergibt sich also, dasz 8,73% der höchste von Athanasiu beobachtete Gehalt der Froschleber an Glykogen ist. Vasoin[1]) fand in der Leber von Winterfröschen 7,65% Glykogen.

Aus der obigen Tabelle über die Versuche Mangold' s ergibt sich, dasz bei seinen Herbstfrsöchen selbst bie Minimalzahl noch gröszer ist als die von den anderen Forschern beobachteten Maximalzahlen. Dagegen zeigen bei Mangold die Maximalzahlen (die beiden letzten Versuche der Tabelle) Procentzahlen für das Glykogen der Leber, wie sie bisher weder in der Leber der Frösche, noch in der Leber anderer Tiere, noch überhaupt in irgend einem tierischen Organ jemals beobachtet worden sind, nämlich 20,15 %und 20,02%.

[1]) Schoendorff, Über den Maximalwert des Gesamtglykogengehaltes von Hnnden. Pfl. Arch. 99. S. 191. 1903.

Selbst die Schoendorff'schen Hunde brachten es nur zu einem Glykogengehalt der Leber von 18,69%.

Diese ungeheuren Mengen von Glykogen in der Leber lieszen es wünschenswert erscheinen, auch die sonstige quantitative Zusammensetzung der Lebern dieser Frösche kennen zu lernen. Ich folgte daher gern einer Aufforderung des Herrn Professor Bleibtreu, bei einer Anzahl von Fröschen derselben Herkunft nicht blosz den Glykogengehalt im Körper und in der Leber der Tiere, sondern auszerdem auch den Gehalt der Lebern an Trockensubstanz, an stickstoffhaltiger Substanz und an Fett festzustellen.

Über das Ergebnis dieser Untersuchungen will ich im Folgenden berichten.

Bei jedem Versuche suchte ich 10 männliche oder weibliche Frösche aus und wog jeden lebendigen Frosch. Die Tiere wurden durch Durchtrennung der Wirbelsäule und Ausbohren des Gehirns getötet, darauf wurde jede Leber rasch herausgeschnitten und gewogen. Die Froschkörper — exklusive Leber — wurden auch zusammengewogen und zur Bestimmung auf Glykogen benutzt.

Die frisch herausgeschnittenen Lebern wurden mit einer Scheere auf einer kleinen Porzellanschale zu einem Brei zerkleinert und möglichst fein gleichmäszig vermischt, gewogen.

Ein abgewogener Teil von diesem Leberbrei wurde zur Glykogen-Bestimmung verwandt, ein anderer Teil davon zur Fett-Bestimmung und ein dritter Teil zur Bestimmung der Trockensubstanz: Selbstverständlich alle Portionen mit der chemischen Wage rasch und genau gewogen. Da das Gesamtgewicht des Leberbreis mit dem Gesamtgewicht der Lebern wegen Wasserverlustes beim Zerkleinern nicht ganz übereinstimmte, fand nachher eine Umrechnung der für Leber*brei* gewonnenen analytischen Zahlen auf ursprüngliche Leber statt.

Zur Bestimmung der Trockensubstanz brachte ich eine kleine Portion des Leberbreis in den Exsiccator, um leicht und sicher in Vacuo trocknen zu können. Zunächst wurde der Exsiccator mit einer Wasserstrahlpumpe

[1]) Vasoin, Lo Sperimentale t, 57, p, 536, 1903 citiert nach Maly's Jahresbr, 1904. S, 598,

verbunden und 2 Stunden lang gelassen. Alsdann wurde der Exsiccator mit einer Quecksilber-Luftpumpe in Verbindung gebracht, wodurch der Leberbrei weiter getrocknet wurde und zwar bis nach öfterem Wiederholen des Auspumpens und je 24stündigem Stehen in Vacuo eine Gewichts-Konstanz erzielt wurde. Die getrocknete Substanz verwandte ich dann weiter zur Bestimmung der stickstoffhaltigen Substanz nach Kjeldahl, indem die getrocknete Substanz in dem Wägegläschen mit der für die Kjeldahlbestimmung nötigen Menge Schwefelsäure unter Zusatz von wenig Wasser gelöst und in den Kjeldahlkolben quantitativ hinübergespült wurde. Zur Glykogen-Bestimmung brachte ich die Froschkörper in einen Kochkolben hinein, welcher bereits eine siedende Lauge von 60 % KOH enthielt, erhitzte dann noch kurze Zeit über freier Flamme, bis die Weichteile aller Tiere bis auf die Knochen in der Kalilauge aufgelöst waren. Diese Lösung, die also das gelöste Glykogen enthielt, wurde durch einen Trichter mit Glaswolle von den Knochen abgegossen. Diese gesamte Lösung verdünnte ich aufs Doppelte mit Wasser, wobei das zur Verdünnung dienende Wasser zum Abspülen der auf dem Glaswollfilter verbliebenen Knochen benutzt wurde. Einen Teil davon verarbeitete ich zur Glykogen-Bestimmung auf dieselbe Weis, wie bei der Leber.

Zur Fett-Bestimmung wurde ein Teil des Leberbreis nach der Verdauungsmethode [1]) behandelt. Zum Zwecke der Verdauung wurden zu je 2—4 gr Leberbrei 100 ccm. oder auch weniger einer Verdauungsflüssigkeit, bestehend aus 0,1 gr Pepsini 0,2 gr Acid hydrochlorici auf 100 Aq. dest. hinzugefügt und das Ganze 24 Stunden im Thermostaten einer Temperatur von 37°—38° ausgesetzt. Zur Entfernung des überhaupt nicht verdauten Teiles wurde die Flüssigkeit mittelst eines Faltenfilters filtrirt und das Filter mit dem Rückstande bei ca. 60° getrocknet und dann im Soxhlet' schen Extractionsapparate mittelst heiszen Aethers bis zur Erschöpfung extrahiert, während die filtrirte Flüssigkeit im Scheidetrichter viermal mit groszer Menge Aether sehr sorgfältig ausgeschüttelt wurde.

[1]) C. Dormeyer, Die quantitative Bestimmung von Fetten, Seifen und Fettsäure im thierischen Organ. Pfl. Arch. 61. 341 und 65. 90.

Das ber Fett-Analyse benutzte Pepsin (Finzelberg) wurde anf seinen Gehalt an praeformiertem Aetherextract untersucht: 0,5 gr in 100 ccm. $\frac{1}{10}$ Normsl-Salzsäure gelöst, gab bei erschöpfender Ausschüttelung mit Aether nur 2,3 mgr Aetherextract. Da höchstens der fünfte Teil von dieser Menge, meistens aber noch weniger, bei einer Analyse verbraucht wurde, so betrug der im Pepsin praeformierte Aether extract nur einige Decimilligramm und konnte daher vernachlässigt werden. Die aetherischen Auszüge aus dem Soxhlet und aus dem Scheidetrichter wurden vereinigt und in ein tarirtes Becherglas zusammengegossen, dann der Aether verflüchtigt und der Extractrückstand nach Trocknen auf dem Wasserbad und alsdann bei 60^0—80^0 in Trockenschrank, gewogen.

In einem Teile des Leberbreies bestimmte ich nach Pflüger das Glykogen. Möglichst bald nach der Zerkleinerung des Breies brachte ich den Leberbrei aus einer Glasschale ohne Verlust ganz vorsichtig in ein Glaskölbchen, welches eine reichliche Menge einer siedenden Lauge von 30 % KOH enthielt. Da die Menge Leberbrei. die zur Analyse benutzt wurde, gering war, so wurde die Kalilauge durch das Wasser des Leberbreis nicht wesentlich verdünnt, blieb also annähernd 30 prozentig. Alsdann wurde das Kelbchen sofort in ein siedendes Wasserbad versenkt. Nachdem die Erhitzung 2 Stunden lang gedauert hatte, nahm ich das Kölbchen aus dem Bade heraus, gnsz die Leberlösung in ein Becherglas ab. Daranf spülte ich das Kölbchen noch mit demselben Volumen heiszen Wasser aus, wie die Leberlösung betrug, und gosz dieses noch in das Becherglas hinzu.

Nun ist also diese Leberlösung beinahe aufs Doppelte verdünnt worden. eintretender Abkühlung wurde zu der Flüssigkeit ein gleiches Volumen Alkohol von 96 % hinzugefügt, worauf das Glykogen schnell in lockeren Flocken niedergeschlagen wurde. Diese Mischung wurde nach 12 Stunden filtrirt. Nach dem Filtriren wurde der Niederschlag auf dem Filter mit einer Lösung, bestehend aus

1 vol. Lauge von 15 % KOH.
2 vol. Alkohol von 96 % Tr.