Eine Methode der Spektroskopie des Hämoglobins im lebenden Tiere.

Von
Prof. Dr. R. H. Kahn.

(Aus dem physiologischen Institute der deutschen Universität in Prag.)

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. März 1922.)

Die Physiologie besitzt kein brauchbares Verfahren, um das Hämoglobin des im Tierkörper kreisenden Blutes spektroskopisch zu untersuchen. Eine einfache und sehr brauchbare Methode hierzu habe ich in letzter Zeit ausgearbeitet und lege sie hiermit zur Prüfung und weiteren Benutzung vor. Ihre Anwendung ermöglicht zunächst einen prächtigen und auf seinem Gebiete einzigartigen Demonstrationsversuch, welcher in klarer und durchsichtiger Weise eine fundamentale Tatsache der Physiologie des Blutes, nämlich die Sauerstoffverarmung des Hämoglobins bei der Erstickung des lebenden Tieres und die neuerliche Anreicherung an Sauerstoff bei ausreichender Atmung spektroskopisch erkennen läßt. Des weiteren läßt sich durch die Möglichkeit, das spektroskopische Verhalten des strömenden Blutes zu beurteilen, eine Reihe von Untersuchungen ausführen, welche sich auf die Beziehungen sonstiger körperlicher Zustände zum Sauerstoffgehalte des Blutes bzw. zu den Verhältnissen der Sauerstoffaufnahme bzw. Abgabe erstrecken. Endlich läßt sich das Auftreten von Derivaten des Hämoglobins, sowie von pathologischen Verbindungen derselben im lebenden Tiere in bequemer Weise verfolgen.

Die Anwendung der Methode gestaltet sich folgendermaßen. Ein albinotisches Kaninchen wird auf dem Tierhalter gefesselt und ein Auge vor die Lider luxiert. Das läßt sich bekanntlich ganz leicht und ohne jede Schädigung des Auges mit einem passend zugeschnittenen spatelförmigen Holzstäbchen ausführen. Um ein Zurückgleiten des Bulbus in die Orbita zu verhindern, wird die Lidspalte hinter dem Äquator des Auges etwas verengt, indem man die Lider in einem der beiden Augenwinkel mit einer weichen Klemme faßt (Arterienklemme). Nun setzt man auf die die Sclera deckende, vorher durch einen Tropfen 1proz. Cocainlösung anästhetisch gemachte Bindehaut den Kegel einer

*Sachsschen*¹⁾ Durchleuchtungslampe zwischen Cornealrand und Bulbus-äquator auf. Die Lampe wurde vorher in ein auf dem Tische stehendes Stativ gefaßt, so daß ihr Beleuchtungskegel bequem so dem Auge genähert werden kann, daß er rechts oder links jenen Teil der Bindehaut berührt, welcher vor der Luxation in der Lidspalte sichtbar war. Sofort leuchtet der ganze Bulbus auf. Schon bei mäßiger Verdunkelung des Zimmers gewährt das strahlend rubinrot leuchtende Auge einen ganz überraschenden Anblick. Sclera, Iris und Pupille nehmen an dem Phänomen in gleicher Weise teil, die Iris läßt eine feine Zeichnung erkennen, die Pupille ist stark verengt. Diese Durchleuchtung kann ohne jede Schädigung des Auges auch bis zu einer Stunde und darüber fortgeführt werden, wenn man von Zeit zu Zeit die Anästhesie erneuert und durch gelegentliches Auftropfen von Ringerlösung ein Austrocknen der Oberfläche der Hornhaut vermeidet.

Das aus dem Auge herausdringende rote Licht wird spektroskopiert. Man stellt ein gutes Handspektroskop, in ein Stativ gefaßt, derart dem Auge gegenüber auf, daß der Spalt desselben gegen die leuchtende Iris oder Pupille gerichtet, von ihr einige Zentimeter entfernt ist. Das Instrument zeigt auch bei engem Spalte in überraschender Helligkeit das Absorptionsspektrum des Oxyhämoglobins. Die beiden Absorptionsstreifen zwischen *D* und *E* entsprechen in Breite und Schwärze einer zur Demonstration gut abgestimmten O₂Hb-Lösung. Die zur Verfügung stehende Lichtstärke gestattet eine völlig ausreichende Verengung des Spaltes. Ein Unterschied in der Brauchbarkeit des Lichtes, welches aus der Iris herausstrahlt und welches die Pupille verläßt, ist kaum zu konstatieren. Erweiterung der Pupille durch Atropin bringt keinen Vorteil. Das Tier erträgt die beschriebenen Manipulationen in der Regel ohne Abwehr, gelegentliche kleine Änderungen der Augenstellung müssen durch entsprechende Änderung der Lampenstellung korrigiert werden.

Zur Illustration der Brauchbarkeit der Methode seien vorläufig einige Demonstrationsversuche geschildert. Man curarisiert das Tier durch die Ohrvene (am curarisierten Tiere erfolgt die Luxation des Bulbus bei ganz leichtem Hebelldrücke am Orbitalrande fast von selbst) und leitet durch eine Trachealkanüle künstliche Atmung ein. Während der Beobachtung des Absorptionsspektrums des Oxyhämoglobins wird nun die künstliche Atmung ausgesetzt. Längstens 30 Sekunden später beginnt das Grün zwischen den beiden Absorptionsstreifen sich zu trüben, dunkelt immer mehr, die Streifen werden blasser und konfluieren allmählig, während sich das kurzwellige Spektrumende aufhellt. Nach 60—90 Sekunden ist das Absorptionsspektrum des reduzierten Hämoglobins mit gut ausgeprägtem breiten Absorptionsbande in Gelbgrün

¹⁾ *Sachs*, Über eine neue Durchleuchtungslampe und ihre Verwendung in der Augenheilkunde. Münch. med. Wochenschr. 1903, S. 741.

sichtbar. Nun setzt man mit der künstlichen Atmung wieder ein. Nach wenigen Atemstößen sieht man das Grün mitten im Absorptionsbande wieder auftauchen und etwa 6 Sekunden nach Wiederbeginn der Atmung ist das Absorptionsspektrum des Oxyhämoglobins wieder wie vor dem Versuche vorhanden. Der beschriebene Vorgang läßt sich beliebig oft wiederholen¹⁾ und weist stets die gleichen geschilderten Verhältnisse auf.

Ein weiterer sehr anschaulicher Versuch besteht in der Kombination des eben Beschriebenen mit der Registrierung des arteriellen Blutdruckes. Es wird also eine Kanüle in die Arteria carotis eingebunden und der Blutdruck mit dem Hg-Manometer registriert. Es ist ganz gleichgültig, ob hierzu die Carotis der gleichen oder der anderen Seite benützt wird.

Abb. 1. Albinot. Kaninchen, curarisiert, künstliche Atmung. In die Blutdruckkurve des Hg-Manometers sind folgende Marken übertragen: 1. Spektrum des O₂Hb. Aussetzen der künstlichen Atmung. 2. Die Veränderung des Spektrums wird merkbar. 3. Das Spektrum des reduzierten Hb ist ausgebildet. 4. Einsetzen der künstlichen Atmung. 5. Das Spektrum des O₂Hb ist vollendet.

Denn unser Phänomen am Auge zeigt sich von der Durchgängigkeit dieses Gefäßes vollkommen unabhängig. Man kann die Carotis der zum Augenversuche dienenden Seite temporär verschließen und wieder öffnen, ohne daß sich im Absorptionsspektrum der mindeste Unterschied zeigt. Durch ein passend angebrachtes elektromagnetisches Signal, welches der Beobachter des Spektrums betätigt, lassen sich ganz leicht in der Blutdruckkurve Marken anbringen, welche die wichtigsten Momente während der Veränderung der Atmung und des Absorptionsspektrums anzeigen. Die Kurvenauschnitte Abb. 1 und Abb. 2 mögen die zu beobachtenden Verhältnisse illustrieren.

¹⁾ Ich habe dieses Experiment am 24. I. 1922 in einer Sitzung der biologischen Sektion des deutschen naturw.-medizin. Vereins „Lotos“ in Prag demonstriert, wobei im Laufe von 45 Minuten etwa 25 Personen nacheinander der beschriebene Vorgang vorgeführt wurde.

Es zeigt sich in solchen Versuchen, daß die ersten Zeichen der beginnenden Umwandlung des O_2Hb -Spektrums zu der Zeit merkbar werden, zu welcher die dyspnoische Blutdrucksteigerung beginnt. Zur Zeit der völligen Ausbildung des Spektrums des reduzierten Hb hat die Blutdrucksteigerung ihren Höhepunkt erreicht. Der Anstieg des Blutdruckes vollzieht sich also während der Umwandlung des einen Spektrums in das andere. Wenige Sekunden nach neuerlichem Einsetzen der künstlichen Atmung erfolgt fast regelmäßig ein mehr oder weniger jäher Blutdruckabfall. Er pflegt in jenem Zeitpunkte besonders ausgeprägt zu sein, in welchem das O_2Hb -Spektrum wieder völlig aufgetreten ist, also

Abb. 2. Albinot. Kaninchen, curarisiert, künstliche Atmung. In die Blutdruckkurve des Hg-Manometers sind folgende Marken übertragen: 1. Spektrum des O_2Hb . Aussetzen der künstlichen Atmung. 2. Das Spektrum des reduzierten Hb ist ausgebildet. 3. Einsetzen der künstlichen Atmung. 4. Das Spektrum des O_2Hb ist vollendet.

etwa 6 Sekunden nach Beginn der Ventilation. Indessen hält sich bekanntlich der Blutdruck auch nach Beginn derselben meistens noch einige Zeit auf beträchtlicher Höhe, während also das Blut spektroskopisch betrachtet sich als ausreichend sauerstoffhaltig erweist. Im Hinblick auf die bekannten Anschauungen über die Blutbeschaffenheit als Atemreiz ist es auffällig, daß die dyspnoische Blutdrucksteigerung als zum großen Teile zentral ausgelöstes Phänomen doch in ihren einzelnen Phasen so enge parallel mit dem spektroskopisch zu erhebenden Sauerstoffgehalte des Hämoglobins einhergeht.

Als weiteres Beispiel der Verwendbarkeit der Methode sei folgender instruktive Versuch angeführt. Es läßt sich ohne Schwierigkeit eine teilweise oder völlige Umwandlung des O_2Hb in Met-Hb im Tierkörper durchführen und spektroskopisch beobachten. Nach Beobachtung des

Absorptionsspektrums des O_2Hb wird durch die Ohrvene oder mittels einer in die Vena jug. ext. eingebundenen Spritze Natriumnitrit in den Kreislauf eingebracht. Nach Injektion von 2 ccm einer äquimolekularen wässrigen Lösung (6,9%) erscheint nach etwa 5 Minuten neben den O_2Hb -Streifen der Met-Hb-Streifen in Rot. Zu dieser Zeit ist an der etwa gleichzeitig registrierten Blutdruckkurve noch nichts Abnormes zu sehen. Weitere Dosen von Natriumnitrit lassen das O_2Hb -Spektrum völlig schwinden, den Blutdruck sinken, bis man schließlich nach Eingabe von etwa 6 ccm der Salzlösung bei etwa 50 mm Blutdruck den interessanten Anblick des Met-Hb-Spektrums im noch lebenden Tiere hat. Von hier ab fällt dann der Blutdruck rapid und das Tier geht während andauernder künstlicher Atmung zugrunde.

Die angeführten Beispiele mögen genügen, um die Brauchbarkeit der Methode zu erweisen. Von der weiteren Ausdehnbarkeit derselben auf gewisse Probleme wird bei späterer Gelegenheit die Rede sein.