Hämolyse und Zustandsänderung der Blutkörperchenkolloide.

4. Mitteilung.

Hämolyse durch Hypotonie bei verschiedener H-Konzentration.

Von

F. Haffner.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität München.)

(Eingegangen am 15. September 1919.)

Seit Hamburger's klassischen Untersuchungen wird das Quellungsverhalten tierischer Zellen als Folge des osmotischen Druckes der im Zellinnern in wahrer Lösung befindlichen Substanzen aufgefasst, wobei nach der herrschenden Anschauung die Salze der Zelle die Hauptrolle spielen sollen. Zwar hat schon Hamburger die Disproportionalität der Quellungsänderung von Zellen und einer Änderung des osmotischen Druckes ihres Mediums festgestellt, ferner konnte Overton an Modellstudien nachweisen, dass eine Beteiligung der Kolloide am osmotischen Druck der Zelle nicht auszuschliessen ist; auch Höber kommt zu dem Schluss, dass ein Teil des osmotischen Druckes auf Quellungsdruck der Zellkolloide beruhe¹⁾.

Durch eine Reihe von Arbeiten der letzten Jahre ist festgestellt, dass die im Quellungsdruck sich äussernde Hydratation von Kolloiden ausschlaggebend durch herrschenden H-Konzentration ihren Ladungszustand bestimmt wird, somit von der abhängt, und zwar in der Weise, dass die Quellung im isoelektrischen Punkt ein Minimum hat, mit Vermehrung elektrisch geladener Kolloidteilchen dagegen stark ansteigt. Nachdem sich im Vorhergehenden bestimmte Anhaltspunkte über den Ladungszustand der Blutkörperchenkolloide unter den verschiedenen H-Konzentrationen ergeben hatte, war die Frage der Bedeutung des Quellungszustandes der Zellkolloide für das Quellungsverhalten der Zelle als Ganzes einer Prüfung zugänglich. Sie geschah mittels einer Untersuchung der Hämolyse durch Hypotonie bei verschiedener H-Konzentration.

Die in der üblichen Weise hergestellten Blutphosphatgemenge verschiedener H-Konzentration wurden zur Erzielung eines bestimmten

1) S. Behandlung dieser Frage bei Overton, Nagel's Handb. d. Physiol. Bd. II S. 838. 1906. Höber, Physik. Chem. d. Zelle u. d. Gewebe 4. Aufl. S. 84. 1914.

Hypotoniegrades mit Wasser versetzt; der so erhaltene osmotische Druck der einzelnen Versuchsreihen entspricht den in den Tabellen angegebenen NaCl-Konzentrationen. Die Lyse wurde bei Zimmertemperatur (18° C.) beobachtet.

Tabelle I.
Hämolyse durch Hypotonie bei verschiedener H⁺-Konzentration.

	nach	NaOH 6	5,5	5	4	2	0	2	4	HCl 5
0,6 % NaCl	1'	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	4'	—	—	—	—	—	—	—	—	+
	15'	—	—	—	—	—	—	—	+	++
	1 h	—	—	—	—	—	—	—	++	
	4 h	—	—	—	—	—	—	+		
0,5 % NaCl	1'	—	—	—	—	—	—	—	++	++
	4'	—	—	—	—	—	—	++		
	15'	—	—	—	—	—	—	—		
	1 h	+	—	—	—	+	+			
	4 h	++	—	—	—	+	++			
0,45 % NaCl	1'	—	—	—	—	—	—	++		
	4'	—	—	—	—	—	—			
	15'	—	—	—	—	—	++			
	1 h	++	+	—	—	++				
	4 h		++	—	+					
0,35 % NaCl	1'			—	—					
	4'			—	—					
	15'			—	—					
	1 h			++	++					
	4 h									

+ = teilweise, ++ = vollständig lytisch.

Bis zu einer Hypotonie entsprechend 0,6 % NaCl tritt Hämolyse nur auf der sauren Seite auf, erst mit Zunahme der Hypotonie bis entsprechend 0,5 % NaCl zeigt sie sich auch in der am stärksten alkalischen Mischung. Mit weiterer Zunahme der Hypotonie rückt die Hämolyse auf der sauren und die auf der alkalischen Seite einander entgegen, von der sauren Seite aus jedoch viel rascher wie von der alkalischen Seite, so dass von beiden Seiten her bei 5 NaOH-Zusatz gleich 9·5 pH der scharf bestimmte Punkt grösster Resistenz der Blutkörperchen erreicht wird. Dieses Ergebnis ist durchaus konstant, wie zahlreiche Versuche zeigten.

In der Nähe des Neutralpunktes bedingt demnach Zunahme der H⁺-Konzentration Resistenzverringern, ihre Abnahme Resistenzvergrößerung der Blutkörperchen, und zwar bedingen kleine Verschiebungen der H⁺-Konzentration bereits starke Resistenzänderungen, wie zum Beispiel aus Versuchsreihe mit 0,45 % NaCl deutlich hervorgeht. Damit steht Hamburgers Befund im Einklang, dass das Blutkörperchen volumen durch Alkalizusatz verringert, durch Säurezusatz vergrößert wird, was von Pauli ¹⁾ in Analogie gebracht wurde zu entsprechenden Quellungsvorgängen an Gallerten.

Die Ergebnisse stimmen auch mit neueren Befunden Girard's überein, zu deren Erklärung Höber ²⁾ ebenfalls auf Kolloidvorgänge hinweist.

Die Resistenzunterschiede bei verschiedenen H⁺-Konzentrationen sind recht bedeutend; so kommt es in der 4 HCl-Mischung, einer H⁺-Konzentration, die an sich (in isotonischer NaCl-Lösung) bei 18° C. selbst nach mehreren Tagen keine Spur Hämolyse zeigt, bei 0,6 % NaCl bereits nach einer Stunde zur vollen Auflösung, während es zur gleich raschen Hämolyse in der 5 NaOH-Mischung einer Herabsetzung des osmotischen Drucks bis auf den einer 0,35 %igen NaCl-Lösung bedarf. Es kommt hier also allein durch Änderung der H⁺-Konzentration zu einer Abnahme des Quellungsbestrebens der Zelle fast um die Hälfte.

Die das Resistenzmaximum der Blutkörperchen gegen Hypotonie, also die geringste Quellungstendenz der Zelle bezeichnende H⁺-Konzentration ist dieselbe, bei der nach den früheren Versuchen (I. Mitteil.) das Flockungsoptimum auf der alkalischen Seite liegt. Der Quellungszustand der Blutkörperchen verhält sich also gerade so wie es für den Quellungszustand des auf der alkalischen Seite optimal flockenden Kolloidkomplexes anzunehmen ist: Minimum der Quellung fällt zusammen mit Minimum der geladenen Teilchen.

Da es sehr unwahrscheinlich erscheint, dass der osmotische Druck der im Zellinnern in wahrer Lösung befindlichen Substanzen durch Verschiebung der H⁺-Konzentration erhebliche, die obigen Befunde erklärende Änderungen erfährt, so folgt, dass für das Quellungsverhalten der Zelle als Ganzes der Quellungszustand — also der Ladungszustand — gewisser Zellkolloide von ausschlaggebender Bedeutung ist.

Eine Verschiebung der H⁺-Konzentration vom Neutralpunkt bis zum Flockungsoptimum der alkalischen Seite zeigt also auf die Hämolyse durch Hypotonie eine umgekehrte (hemmende) Wirkung wie auf Wärme- und Alkoholyse. Diese Gegensätzlichkeit des Hämolysemechanismus

1) Pauli, in Ergebnisse d. Physiol. Bd. VI S. 126. 1907.

2) Höber, Physik. Chem. d. Zelle u. d. Gewebe 4. Aufl. S. 254. 1914.

von Hypotonie einerseits, Wärme und Alkohol andererseits, zeigt sich auch daran, dass beim Zusammenwirken der Faktoren keine Summation der hämolytischen Wirkung erfolgt.

Tabelle II.
Hämolyse durch 0,6% NaCl
bei 51°.

nach	HCl	
	4	5
1'	—	—
4'	—	÷
15'	+	++
1 h	+	
4 h	++	

Tabelle III.
Hämolyse durch 0,45% NaCl
bei 51°.

nach	NaOH		
	5,5	5	4
1'	—	—	—
4'	—	—	—
15'	—	—	—
1 h	—	—	—
4 h	+	—	—

In einigen der bei 18° C. untersuchten Mischungen (Tabelle I) wurde die Hämolyse auch bei 51° C. verfolgt (Tabelle II u. III). Ein Vergleich mit Tabelle I zeigt, dass Temperatursteigerung von 18 auf 51° C. nicht die geringste Beschleunigung, vielmehr eine Hemmung der Hämolyse durch Hypotonie bewirkt, wogegen bei der Alkoholwirkung (dritte Mitteilung) bei derselben Temperatursteigerung eine recht erhebliche Verstärkung gefunden worden war.

Über die Hemmung der hypotonischen Hämolyse durch Narkotika ist andererseits von Arrhenius und Bubanovic ¹⁾ berichtet worden. Der Antagonismus von Hypotonie und Alkohol zeigt sich auch sehr schön in den Volummessungen von Blutkörperchen von Knäffl-Lenz ²⁾, bei denen die durch Hypotonie hervorgerufene Quellung unter Alkohol wieder vollständig zurückging.

Der entgegengesetzte Einfluss der H⁺-Konzentration auf die Hämolyse durch Wärme und Alkohol einerseits und durch Hypotonie andererseits steht in bemerkenswerter Übereinstimmung mit dem ebenfalls gegensätzlichen Einfluss des Ladungszustandes auf die durch diese Faktoren bedingten Zustandsänderungen ungeformter Kolloide: Die Quellungstendenz der Zelle nimmt ebenso wie die ungeformter Kolloide mit der Anzahl der geladenen Kolloidteilchen zu. Im Gegensatz hierzu wurden Wärme- und Alkoholhämolyse (I. u. III, Mittel.) bei Verschiebung der H⁺-Konzentration vom Neutralpunkt aus nach den beiden Flockungsoptima der Zellkolloide zu, also mit Zunahme

1) Arrhenius u. Bubanovic, cit. nach Knäffl-Lenz.

2) Knäffl-Lenz, Pfügers Arch. Bd. 171 S. 51. 1918. Nach all dem dürfte übrigens die Annahme von Knäffl-Lenz kaum mehr aufrecht zu erhalten sein, dass die Hämolyse durch Hypotonie und Narkotika und Wärme auf demselben kolloidchemischen Vorgang — einer Dispersitätsvergrößerung der Zellkolloide — beruhe.

ihrer neutralen Teilchen gefördert, womit im Einklang steht, dass bei ungeformten Kolloiden nach Pauli¹⁾ durch Wärme und Alkohol nur neutrale Kolloidteilchen geflockt werden.

In dieser Übereinstimmung erblicken wir eine wichtige Stütze unserer Auffassung von der prinzipiellen Bedeutung des durch die H⁺-Konzentration bestimmten Ladungszustandes der Zellkolloide für das biologische Verhalten der Zelle.

Zusammenfassung.

Die Resistenz der Blutkörperchen gegen Hypotonie erfährt bedeutende Veränderungen bei Verschiebung der H⁺-Konzentration. Das Resistenzmaximum liegt bei 9.5 pH, fällt also zusammen mit dem Flockungsoptimum des bei alkalischer Reaktion optimal flockenden Anteils der Zellkolloide. Es ist daraus zu schliessen, dass für das Quellungsverhalten der Zelle als Ganzes der Quellungs-zustand gewisser Zellkolloide von ausschlaggebender Bedeutung ist.

Die Resistenz gegen Hypotonie verhält sich demnach bei bestimmten Verschiebungen der H⁺-Konzentration umgekehrt wie die Resistenz gegen Wärme und Alkohol, dem entspricht auch, dass beim Zusammenwirken von Hypotonie mit Wärme und Alkohol keine Summation der Wirkung erfolgt. Dieser Antagonismus der Wirkung von Hypotonie einerseits, Wärme und Alkohol andererseits auf die Zelle, steht im Einklang mit dem gegensätzlichen Einfluss des Ladungs-zustandes auf die durch diese Faktoren bedingten Zustandsänderungen ungeformter Kolloide. Es wird dadurch die Annahme bestätigt, dass der durch die H⁺-Konzentration bestimmte Ladungszustand der Zellkolloide von prinzipieller Bedeutung für das biologische Verhalten der Zelle ist.

1) Pauli, Pflüger's Arch. Bd. 136 S. 483, 1910.