I.

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.

Studien über die Hämolyse.

Von

Dr. med. u. phil. Oscar Gros,
Privatdozent und Assistent des pharmakologischen Instituts.

(Mit 10 Kurven.)

Einleitung.

Wiewohl die Hämolyse sich besonders seit den Arbeiten von Ehrlich und Hamburger als ein für das Studium biologischer Prozesse außerordentlich wichtiges Hilfsmittel erwiesen hat, sind doch die Untersuchungen, die quantitativ den Vorgang der Hämolyse verfolgen, nicht sehr zahlreich.

Die meisten Arbeiten, die sich mit Hämolyse beschäftigen, berücksichtigten entweder nur den Anfangs- oder den Endpunkt der Hämolyse, sie bestimmen nur die Zeit, wo entweder die Hämolyse gerade deutlich nachweisbar wird oder wo alle Blutkörperchen hämolysiert sind.

Diese Arbeiten haben uns schon eine Reihe wichtiger Tatsachen kennen gelehrt, aber es ist zu hoffen, daß das genauere Studium des Vorganges unsere Kenntnisse der biologischen Prozesse, die mit der Hämolyse zusammenhängen, noch vertiefen und erweitern wird.

Quantitative Versuche über die Hämolyse haben in erster Linie Arrhenius und Madsen¹⁾ angestellt. Die theoretische Behandlung der Ergebnisse dieser Versuche scheint aber dem biologischen Charakter der Reaktion nicht ganz Rechnung zu tragen.

Es war zu hoffen, daß man am besten einen Einblick in den Verlauf der Hämolyse erhält, wenn man dieselbe beobachtet unter Verhältnissen, die möglichst den normalen entsprechen. Es wäre also der Gang der Hämolyse von Blut, das suspendiert ist in Serum oder in einer indifferenten Salzlösung, bei Körpertemperatur zu studieren.

1) Zeitschr. f. physik. Chemie 44. (1903). Arrhenius Immunochemie.
Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmacol. Bd. 62.

Dies ist aber aus experimentellen Gründen nicht möglich. Man müßte dann beispielsweise bei Kaninchenblut bei Temperaturen von $38-39^{\circ}$ arbeiten. Bei diesen Temperaturen verläuft aber die Hämolyse in sogenannten indifferenten Salzlösungen so langsam, daß es nicht möglich ist, den Vorgang zu messen. Einmal würde, falls nicht mit einwandfrei sterilen Lösungen gearbeitet wird, durch die Bakterien die Hämolyse wesentlich beschleunigt werden. Ferner aber würde wenigstens die kolorimetrische Bestimmung des Reaktionsverlaufes unmöglich werden. Das freie Hämoglobin, d. h. das Hämoglobin außerhalb der Blutzellen wandelt sich nämlich auch in indifferenten Salzlösungen allmählich in Methämoglobin um. Die Geschwindigkeit, mit der diese Reaktion erfolgt, ist nicht allzu groß, aber doch so bedeutend, daß sie in der Zeit, in welcher die Hämolyse bei $38-39^{\circ}$ erfolgt, sehr große Versuchsfehler zur Folge haben würde.

Da die Hämolyse einen bedeutend größeren Temperaturkoeffizienten hat als diese Umwandlung des Hämoglobin in Methämoglobin, so kann man diese Störung vermeiden, wenn man höhere Temperaturen anwendet. Es wurde deshalb meist bei $47,5^{\circ}$ C. gearbeitet. Sodann wurden Versuche bei $50^{\circ}-52,5^{\circ}$ C gemacht, um den Temperaturkoeffizienten genauer kennen zu lernen.

Es soll hier zunächst der Gang der Hämolyse in einigen indifferenten Salzlösungen studiert, sodann festgestellt werden, wie sich dieser Gang ändert, wenn die roten Blutzellen während der Reaktion weiteren Schädlichkeiten ausgesetzt werden. Im letzteren Falle wurde bei der Temperatur von $37,5^{\circ}$ C gearbeitet.

Die Versuchsanordnung war ähnlich der, die Arrhenius und Madsen benutzt haben. Zu den Versuchen diente ausnahmslos Kaninchenblut. Anfangs wurde das Blut aus der Ohrvene entnommen; da dieses Blut aber schon durch sein verschiedenes Aussehen — bald ist es tief venös, bald hellrot gefärbt — erkennen ließ, daß die verschiedenen Blutproben nicht gleichartig waren und auch die Entnahme der für einen Versuch erforderlichen Blutmengen — oft mehr als 40 ccm — zu lange Zeit beanspruchte, wurde später das Blut aus der Carotis des Kaninchens entnommen. Wenn nur kleine Blutmengen für einen Versuch notwendig waren, entnahm ich das Blut der Ohrarterie. Im folgenden ist stets bemerkt, wenn das Blut einem anderen Gefäße als der Carotis entnommen. Das Blut wurde durch Schlagen mit einem Glasstabe defibriniert und dann filtriert. In manchen Fällen entfernte ich das Serum, indem ich das Blut mehrmals mit einer großen

Menge einer 0,9proz. Kochsalzlösung zentrifugierte. Es ist dies stets bei den betreffenden Versuchen vermerkt. Von dem Blute gab ich nun eine bestimmte Menge — meist 2 ccm — zu 100 ccm der im Thermostaten vorgewärmten Salzlösung. Nach bestimmten Zeiten wurde den gut durchgeschüttelten Salzlösungen eine kleine Menge entnommen und entweder nach raschem Abkühlen sogleich oder erst nach 1—2 Stunden zentrifugiert, während welcher Zeit ich sie bei etwa 0° C stehen ließ. Als Zentrifugiergläser dienten Zylinder, denen unten ein Kapillarrohr angeschmolzen war. Die Blutkörperchen werden zu Beginn des Zentrifugierens in die Kapillare geschleudert. Die Dimensionen des Zylinders und der Kapillare waren so gewählt, daß auch bei den größten angewendeten Blutkonzentrationen die Blutkörperchensäule niemals die ganze Kapillare ausfüllte. Diese Maßregel ist deshalb notwendig, weil Blutlösungen, in denen die Blutzellen irgendwie geschädigt sind, beim starken Zentrifugieren sich weiter verändern. Zentrifugiert man nämlich eine derartige Blutlösung längere Zeit, so sieht man, daß die Teile der Lösung, die sich unmittelbar über den Blutkörperchen befinden, stärker gefärbt sind als die oberen Teile der Lösung. Es werden also während des Zentrifugierens Blutkörperchen zerstört, die ihr Hämoglobin abgeben. Erwünscht ist es natürlich zu wissen, wie groß der Hämoglobingehalt der Lösung zu der Zeit war, als die Blutprobe dem Thermostaten entnommen wurde. Man muß deshalb das während des Zentrifugierens austretende Hämoglobin von dem ursprünglich in der Lösung vorhandenen trennen. Dies geschieht eben durch die Kapillare, die die Vermischung des austretenden Hämoglobins mit der Hauptmenge der Lösung in dem Zylinder nicht gestattet.

Nach dem Zentrifugieren wird der Hämoglobingehalt der Lösungen bestimmt. Diese Bestimmung geschah vermittels einer Skala, die ähnlich wie bei Arrhenius und Madsen hergestellt worden ist. 2 ccm Blut werden mit 200 ccm Wasser verdünnt. Diese Lösung entspricht also einer 50proz. Lösung des Hämoglobins, das aus den 2 ccm Blut in den Versuchslösungen frei werden kann. Von dieser Lösung werden abgemessene Volumina mit entsprechenden Mengen von Wasser verdünnt, sodaß man schließlich 33 Zylinder erhält, die in arithmetischer Reihe um 1,55 Proz. steigend 0 bis 50 Proz. des bezeichneten Hämoglobinquantums enthalten. War die Hämolyse so weit, daß der Hämoglobingehalt der Lösung den der 50prozent. Stammlösung überstieg, so wurde ein Teil der Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser vermischt, von dieser verdünnten Lösung

der Hämoglobingehalt bestimmt und daraus der der ursprünglichen Lösung berechnet. Die Bestimmung des Hämoglobins auf diesem kolorimetrischen Wege erfolgt mit einer ziemlich großen Genauigkeit. Ich habe wiederholt, um den subjektiven Fehler kennen zu lernen, meine Messungen von anderen Beobachtern kontrollieren lassen und zwar derart, daß beide Messungen unabhängig von einander erfolgten. Die Übereinstimmung war stets eine ausgezeichnete. Man kann besonders bei den verdünnteren Lösungen genau angeben, ob die Vergleichslösung mit einem der Skalenzyylinder übereinstimmt, ob sie zwischen zwei der Skalenzyylinder liegt und welchem näher. In meinen Protokollen wurde dies in der Weise notiert, daß, wenn der Hämoglobinhalt einer Lösung zwischen zwei Zylindern der Skala lag, die Ordnungszahl des Zylinders, welchem der Hämoglobingehalt der Lösung näher lag, ein- bzw. zweimal unterstrichen wurde. In den folgenden Tabellen ist stets unter a die Ordnungszahl des Zylinders angegeben, dem der Hämoglobingehalt der Lösung entsprach. Unter x sind sodann die Prozent Blut angegeben, deren Hämoglobin frei geworden ist und die aus der Zahl a nach der unten angegebenen Tabelle I berechnet sind.

Tabelle I.

a	x	a	x	a	x	a	x	a	x	a	x
1	0	12	17.2	23	34.3	34	51.6	45	68.7	56	85.9
2	1.6	13	18.7	24	35.9	35	53.1	46	70.3	57	87.5
3	3.1	14	20.3	25	37.5	36	54.7	47	71.8	58	89.0
4	4.7	15	21.8	26	39.0	37	56.2	48	73.4	59	90.6
5	6.2	16	23.4	27	40.6	38	57.8	49	75.0	60	92.2
6	7.8	17	25	28	42.2	39	59.3	50	76.6	61	93.7
7	9.3	18	26.6	29	43.7	40	60.9	51	78.1	62	95.3
8	10.9	19	28.1	30	45.3	41	62.5	52	79.7	63	96.8
9	12.5	20	29.7	31	46.8	42	64	53	81.2	64	98.4
10	14.0	21	31.2	32	48.4	43	65.6	54	82.8	65	100
11	15.6	22	32.8	33	50	44	67.2	55	84.3		

In den folgenden Tabellen ist ferner die Nummer des Protokolls angegeben. Dies geschieht zu dem Zwecke, um ersichtlich zu machen, welche Versuche zur gleichen Zeit mit dem Blute des gleichen Tieres angestellt wurden. Tabellen mit der gleichen Protokollzahl entsprechen sich in dieser Hinsicht. Die verschiedenen Versuchsreihen eines Protokolls sind durch einen Index kenntlich gemacht.

Von vielen Autoren, die sich mit dem Studium der Hämolyse beschäftigt haben, ist bemerkt worden, daß bisweilen Unregelmäßigkeiten bei den Versuchen auftraten, ohne daß eine Ursache dafür aufzufinden gewesen wäre. Anfangs hatte auch ich mit derartigen Schwierigkeiten zu kämpfen. Nachdem jedoch für die Herstellung und Zubereitung der Lösungen ausnahmslos Jenenser Glasgefäße und

außerdem Leitfähigkeitswasser verwendet wurden, habe ich unter etwa 450 Versuchsreihen mit über 5000 Einzelmessungen derartige unerklärbare Unregelmäßigkeiten nur in einem Falle zu verzeichnen gehabt.

Wieweit an diesem günstigen Resultat die im Laufe der Zeit verbesserte Versuchstechnik und Übung, wieweit das Jenenser Glas und das Leitfähigkeitswasser beteiligt sind, habe ich nicht durch besondere Versuche festgestellt, glaube aber dem Jenenser Glas die Hauptrolle zuschreiben zu dürfen, besonders da auch Deetjen¹⁾ für andere biologische Prozesse die schädlichen Wirkungen des gewöhnlichen Glases festgestellt hat.

Es sei hier noch ein Wort über die Konstanz der Werte gesagt, die unter denselben Bedingungen, aber mit dem Blute verschiedener Tiere erhalten wurden. Man darf hier natürlich nicht die gleiche Übereinstimmung erwarten, wie bei chemischen Reaktionen. Die Werte, die sich unter gleichen Versuchsbedingungen, aber mit dem Blute verschiedener Tiere ergeben, weichen oft erheblich voneinander ab. Aber es ist doch eine gewisse Übereinstimmung vorhanden. Wenn man nämlich die Wirkungsart mehrerer Schädlichkeiten auf das Blut studiert, so zeigt sich daß bei verschiedenem Blute die Wirkungen der gleichen Schädlichkeiten ungefähr im gleichen Verhältnisse stehen.

In den Fällen, wo Kontrollversuche mit dem gleichen Blut unter gleichen Bedingungen angestellt wurden, war die Übereinstimmung auch der absoluten Werte, wie die nachfolgende Tabelle — in der nur die a-Werte angegeben sind — zeigt, eine sehr gute.

Prot. 35 a, 7. und 8. Kaninchen, Blut aus der Carotis.

In beiden Versuchsreihen (7 und 8) je 2 ccm Blut zu 100 ccm einer 1,72prozentigen Kaliumsulfatlösung.

Tabelle II.

t (Minuten)	a(7)	a(8)
0	1—2	1—2
30	1—2	2
60	3—4	3
90	10	9—(10)
120	14—15	14—15
150	21—22	22
180	27	28
210	31	32—33
270	45—46	47

In der Tabelle bedeutet t die Zeit in Minuten angegeben, a7 und a8 geben an, mit welchem Zylinder der Vergleichsskala die zur Zeit t entnommenen Proben übereinstimmten.

1) Pflügers Archiv f. Physiologie 1906.

Kapitel I.

Versuche mit indifferenten Salzlösungen und serumhaltigem Blute bei 47,5, 50,0 und 52,5° C.

Zunächst studierte ich die Geschwindigkeit, mit der die Hämolyse erfolgt, wenn man defibriertes Kaninchenblut mit einer großen Menge einer indifferenten Salzlösung versetzt. „Indifferent“ werden diese Salzlösungen genannt, weil sie in einer Konzentration verwendet wurden, die dem Serum etwa isosmotisch ist. Hamburger u. a. haben gezeigt, daß unter diesen Umständen durch die verschiedenen Salze der Alkali- und Erdalkalimetalle scheinbar keine Schädigung der roten Blutzellen erfolgt. In der Tat kann man bei gewöhnlicher oder niedriger Temperatur Blut in derartigen Salzlösungen sehr lange aufbewahren, ohne daß Hämolyse eintritt. Aber es findet doch eine Schädigung der roten Blutzellen statt, und zwar durch die verschiedenen Salze in verschiedenem Grade. Man muß nur die Versuche genügend lange Zeit ausdehnen, um dies zu beobachten. Neuerdings — als meine Arbeit schon ihrer Beendigung nahe war — hat Hoeber¹⁾ Versuche über den Einfluß von Neutralsalzen auf die Hämolyse veröffentlicht; er hat mit schwach hypotonischen Lösungen und bei Temperaturen von 0°, Zimmertemperatur und 37° C gearbeitet. Nach ihm begünstigen die Anionen die Hämolyse in der Reihenfolge $\text{SO}_4 < \text{Cl} < \text{Br}, \text{NO}_3 < \text{J}$, die Kationen in der Reihenfolge $\text{Li}, \text{Na} < \text{Cs}, \text{Rb} < \text{K}$. Diese Ergebnisse stehen mit den von mir bei 47,5, 50 und 52,5° gefundenen nur teilweise im Einklang. Es mag dies eine Folge der verschiedenen Versuchstemperaturen sein, da, wie gezeigt werden wird, die Reihenfolge, in welcher die Salze die Hämolyse begünstigen, bei verschiedenen Temperaturen verschieden sein kann. Ferner hat sich gezeigt, daß die Geschwindigkeit der Hämolyse in den verschiedenen Salzlösungen eine Funktion der Zeit ist, so daß also, wenn die Hämolyse zu einer bestimmten Zeit in der einen Salzlösung weiter fortgeschritten ist als in der anderen, in einem späteren Zeitpunkte das Umgekehrte der Fall sein kann.

Die nachstehenden Untersuchungen sollen nun zahlenmäßige Angaben über die Wirkung der verschiedenen Salze liefern und uns einen Einblick in den Mechanismus der Reaktion verschaffen.

Die untersuchten Salze waren: Chlornatrium, Chlorkalium, Chlormagnesium, Chlorkalcium, Natriumsulfat, Kaliumsulfat, Magnesiumsulfat.

1) Biochemische Zeitschrift, Bd. 14, p. 209.

Versucht man sich eine Vorstellung zu machen von den Faktoren, die den Mechanismus der Hämolyse in derartigen dem Serum etwa isosmotischen Salzlösungen beeinflussen, so kommt folgendes in Betracht:

Die Hämolyse setzt sich offenbar zusammen aus mehreren Vorgängen. Man kann insbesondere zwei unterscheiden. Der erste ist das Absterben der roten Blutzellen und darauf folgt der zweite, die eigentliche Hämolyse, das Freiwerden des Hämoglobins. Wir können den ersten Vorgang für sich allein vermittels der bis jetzt üblichen Methoden nicht beobachten. Die kolorimetrische Untersuchung läßt uns nur den zweiten Prozeß messen, der aber offenbar als Folgeerscheinung des Absterbens der roten Blutzellen von dem Mechanismus dieser Reaktion beeinflußt wird.

Zum Verständnis der Hämolyse scheint es notwendig, zunächst beide Vorgänge für sich allein zu untersuchen.

Betrachten wir zunächst wie das Absterben der roten Blutkörperchen erfolgen würde, wenn man dieselben außerhalb des Körpers in einer Flüssigkeit beobachtet, die keinerlei schädlichen Einfluß auf diese Zellen ausübt und ferner bei Körpertemperatur, so ergibt sich folgendes.

Die roten Blutzellen haben eine nicht allzu große Lebensdauer. Sie werden im Organismus stetig gebildet. Eine Blutprobe wird also Blutkörperchen verschiedenen Alters enthalten. Falls das Tier, dem man das Blut entnommen hat, eine bestimmte Zeit vorher keinerlei Schädigungen erlitten hat, durch die die Widerstandskraft und die Lebensdauer der älteren Blutzellen herabgesetzt worden ist, so wird jedes Blutkörperchen die gleiche Lebensdauer besitzen, das Absterben wird also in umgekehrter Zeitfolge vor sich gehen wie die Bildung. Bei einem erwachsenen Tiere, bei dem die Gesamtzahl der roten Blutzellen konstant bleibt, wird die Zahl der Blutkörperchen in jeder Altersstufe etwa gleich sein.

Die Zeit, in der alle Blutkörperchen einer solchen Blutprobe absterben, wird sich zwischen zwei Grenzwerten bewegen, von denen der obere uns die Lebensdauer der jüngsten Blutzellen angibt, der untere, wie lange die ältesten Blutkörperchen noch unter diesen Bedingungen außerhalb des Organismus leben.

Dieser untere Grenzwert kann größer als Null sein oder gleich Null. Wir wissen, daß die roten Blutkörperchen im Organismus für gewöhnlich nicht in der Blutbahn selbst zerfallen. Bevor der Zerfall eintritt, werden sie von gewissen Organen aus dem Kreislaufe entfernt. Wir beobachten dementsprechend bei allen Hämolyseversuchen,

bei denen die experimentellen Eingriffe nicht so stark sind, daß die Geschwindigkeit ihrer Wirkung einen gewissen Grenzwert überschreitet, eine „Induktionszeit“, d. h. eine Zeit zwischen dem Beginn der Wirkung des Eingriffes und dem Beginn des Austritts des Hämoglobin aus den Stromata.

Ob nun auch das Absterben der roten Blutzellen unter den beschriebenen Verhältnissen eine Induktionszeit besitzt, läßt sich nicht sagen. Es hängt dies davon ab, ob die Organe, die die Erythrocyten aus dem Kreisläufe entfernen, dies erst tun, wenn diese Zellen abgestorben sind oder schon in einem früheren Zeitpunkte. Im ersteren Falle würden wir keine Induktionszeit für das Absterben haben und die Induktionszeit, die wir bei der Hämolyse beobachteten, würde lediglich a conto des Zerfalls der abgestorbenen Zellen zu setzen sein. Es würde also das Absterben sogleich beginnen und da die Blutprobe von jeder Altersstufe etwa gleichviel Blutkörperchen enthält, so würden in gleichen Zeiträumen gleich viel Blutkörperchen zugrunde gehen. Wenn wir also mit z bzw. z_1 die Zahl der Blutkörperchen bezeichnen, die zur Zeit t bzw. t_1 zugrunde gegangen sind, so muß $\frac{z_1 - z}{t_1 - t}$ konstant sein, gleichviel welche Werte für z und z_1 beziehungsweise die dazugehörigen t und t_1 eingesetzt werden.

Die Kurve, die uns das Absterben der Blutkörperchen veranschaulicht, würde also eine Gerade sein.

Diese einfachen Verhältnisse werden nun wohl stets nur innerhalb gewisser Grenzen verwirklicht sein, weil durch die Schädlichkeiten, die ein Tier intra vitam treffen, die Zahl der Blutkörperchen der einzelnen Altersstufen nicht mehr gleich, sondern wechselnd sein wird. Es werden sich also Abweichungen nach der einen und anderen Richtung geltend machen, die aber nicht allzu groß sein dürften.

Wenn die Blutkörperchen nicht unter so günstigen Bedingungen wie hier angenommen wurde, gehalten werden, wenn die Lösung, in die sie gebracht werden, nicht ganz indifferent ist, oder die Temperatur nicht mit der Körpertemperatur übereinstimmt, so werden auch die geschilderten Verhältnisse sich ändern. Es ist dann die Wirkung dieser Schädlichkeiten noch zu berücksichtigen. Man kann auch hier wiederum zwei Fälle annehmen. Nämlich

1. die Schädlichkeit bleibt während der Versuchsdauer konstant;
2. die Schädlichkeit ändert sich während der Versuchsdauer.

Der erstere Fall ist beispielsweise gegeben, wenn als Schädlichkeit eine höhere Temperatur wirkt, die konstant bleibt, oder ein Gift, dessen Konzentration sich praktisch nicht ändert.

Der zweite Fall tritt ein, wenn ein Gift einwirkt, das seine Konzentration ändert.

Betrachtet man die Beziehung $\frac{z_1 - z}{t_1 - t} = \text{Konstanz}$ als charakteristisch für den Verlauf des Absterbens der roten Blutkörperchen unter physiologischen Bedingungen, so wird die Änderung dieser Konstanten durch eine Schädlichkeit uns die Wirkung dieser Schädlichkeit erkennen lassen.

Für eine konstante Schädlichkeit ist es einmal möglich, daß $\frac{z_1 - z}{t_1 - t}$ konstant bleibt. Der Wert dieser Konstanten wird nur größer sein als der der physiologischen Konstanten. Es ist dies dann der Fall, wenn die Wirkung der Schädlichkeit proportional ist ihrer Wirkungsdauer.

Wenn die Wirkung einer Schädlichkeit schneller als die Zeit ihrer Dauer wächst, so wird $\frac{z_1 - z}{t_1 - t}$ nicht mehr konstant bleiben, sondern während des Versuches größer werden.

Im allgemeinen wirken nun konstante Schädlichkeiten auf biologische Objekte so, daß ihre Wirkung größer ist als es ihrer Zeitdauer entspricht, in dem vorliegenden Falle aber, wo wir es mit einzelnen Zellen zu tun haben, darf man wohl Proportionalität zwischen Wirkung und Wirkungsdauer annehmen.

Wenn der zweite Fall eintritt, also die Intensität einer Schädlichkeit während des Versuches abnimmt, so wird hierdurch ein Kleinerwerden der $\frac{z_1 - z}{t_1 - t}$ Werte verursacht werden.

Man sieht also, daß sich hier außerordentlich wechselnde Verhältnisse finden, die es nicht gestatten, Genaueres vorauszusagen. Noch weiter werden dieselben kompliziert, wenn man den Vorgang des Austretens von Hämoglobin aus den abgestorbenen Blutkörperchen berücksichtigt. Dieser beruht einmal auf einer Veränderung der Permeabilitätsverhältnisse der abgestorbenen Zellen. Im allgemeinen treten diese Veränderungen sehr schnell nach dem Tode ein und dürften wohl in den meisten Fällen auf chemischen Vorgängen beruhen.

In dem Falle, daß die abgestorbenen Blutkörperchen alle gleich sind, wird für alle Blutkörperchen zwischen der Zeit, wo sie ab-

gestorben sind und der Zeit, wo sie durchlässig für das Hämoglobin werden, der gleiche Zwischenraum liegen und auch die folgenden Prozesse werden sich bei allen Blutkörperchen gleichmäßig abspielen.

Diese Vorgänge bestehen darin, daß die Bindung des Hämoglobin in den Blutkörperchen aufgehoben wird und daß es nunmehr aus diesen diffundiert. Sie scheinen nicht sehr rasch zu verlaufen. Ihre Geschwindigkeit ist offenbar eine Funktion der Konzentration des Hämoglobin in den Blutkörperchen und mit dem Rechte der einfachsten Annahme darf man glauben, daß sie dieser proportional läuft.

Angesichts dieser komplizierten Verhältnisse erscheint es mir verfrüht, eine mathematische Formulierung jetzt schon aufzustellen. Es sei dies einer späteren Arbeit vorbehalten, welche im Gange ist. Hier soll nur der ungefähre Verlauf, den man für die durch die kolorimetrische Messung erhaltene Kurve erwarten darf, besprochen werden.

Nimmt man also an, daß unter den hier eingehaltenen Bedingungen die Sterbekurve eine Gerade ist, so wird infolge der besprochenen Vorgänge beim Austritt des Hämoglobins die kolorimetrische Kurve eine S-förmige Gestalt annehmen, an der wir bei der folgenden Besprechung drei Teile unterscheiden wollen, nämlich einen ersten, in dem die Geschwindigkeit allmählich zunimmt, einen zweiten, wo die Geschwindigkeit ungefähr konstant ist, und einen dritten mit absteigender Geschwindigkeit.

Bezeichnet man mit Δx die durch kolorimetrische Messung gefundene Zunahme der Lösungen an Hämoglobin in der Zeit Δt , so würden also die Werte $\frac{\Delta x}{\Delta t}$ anfangs zunehmen, dann annähernd konstant sein und am Schlusse wieder abnehmen.

Man kann nun folgende Grenzfälle unterscheiden. Wenn die Geschwindigkeit, mit der das Hämoglobin austritt, sehr groß im Vergleich zur Geschwindigkeit des Absterbens ist, so wird der erste und der dritte Teil der Kurve sehr klein werden, also die kolorimetrische Kurve sich der Sterbekurve, der Geraden nähern.

Wenn die Geschwindigkeit des Hämoglobinaustrittes klein ist, so wird der zweite Teil der kolorimetrischen Kurve sehr klein werden, also eine annähernde Konstanz der $\frac{\Delta x}{\Delta t}$ Werte überhaupt nicht eintreten.

Wenn die Geschwindigkeit des Absterbens sehr groß wird, so wird der erste Ast der S-Kurve sehr klein werden und im Grenzfalle, wenn alle Blutkörperchen sofort abgetötet werden, wird der

erste Ast nur der Zeit entsprechen, in welcher die Blutkörperchen durchlässig werden und ihm eine steil ansteigende logarithmische Kurve folgen.

Man kann also aus dem Verlauf der kolorimetrischen Kurve auch einige Schlüsse auf die Teilprozesse ziehen.

Es sei nun zunächst über einige Versuche berichtet.

Die folgenden 7 Versuche sind alle mit dem Blute des gleichen Tieres angestellt, also untereinander vergleichbar.

Die Bedeutung der Zeichen in den folgenden Tabellen ist folgende: t gibt die Zeit der Messung in Minuten, a bezeichnet den Zylinder der Vergleichsskala, dem der Versuchszylinder am nächsten kam, x die hieraus nach Tabelle I berechnete freigewordene Hämoglobinmenge in Prozenten der Gesamtmenge.

Tabelle III.

Prot. 36,1, 2 cem Blut zu 100 cem auf 47,5° vorgewärmter 0,9 proz. NaCl-Lösung.

t	a	x	$\frac{\Delta x}{\Delta t}$
0	1—2	0.8	—
120	2—3	2.0	0.010
180	3—4	3.9	0.032
240	4—5	5.5	0.027
300	5—6	7.0	0.025
360	7—8	10.1	0.052
420	10	14.0	0.065
480	17—18	25.8	0.193
540	23—24	35.1	0.155
600	36	54.7	0.327
660	46	70.3	0.260
720	55?	84.3	0.233

Der letzte Wert dieser Tabelle ist mit einem Fragezeichen versehen, weil die Bildung von Methämoglobin hier schon beträchtlich war, sodaß diese Messung wahrscheinlich mit einem größeren Fehler behaftet ist als die vorhergehenden.

Betrachtet man nun die $\frac{\Delta x}{\Delta t}$ Werte, so ist es unverkennbar, daß dieselben eine steigende Tendenz besitzen, bis zur Zeit $t = 600$, von hier an werden sie wieder kleiner. Man findet allerdings Schwankungen. Diese können einmal verursacht sein durch die Versuchsfehler, die bei den $\frac{\Delta x}{\Delta t}$ Werten, die aus je zwei Einzelmessungen gewonnen werden, ja besonders stark zur Geltung kommen, und ferner aus Schwankungen in der Zusammensetzung des Blutes.

In diesem letzteren Falle müssen sie sich in entsprechender Weise bei den betreffenden Werten in allen Versuchen mit derselben Blutprobe geltend machen.

Prot. 36,2, 2 cem Blut zu 100 cem auf 47,5° vorgewärmter 1,15 proz. Kaliumchloridlösung.

Tabelle IV.

t	a	x	$\frac{\Delta x}{\Delta t}$
0	2-3	0.4	—
120	2-3	2.7	0.02
180	4-5	5.5	0.047
240	7-8	9.7	0.070
300	14	20.3	0.177
360	26-27	39.8	0.325
420	43	65.6	0.430
480	55-56	85.1	0.325

Die $\frac{\Delta x}{\Delta t}$ Werte steigen bis $t = 420$ an.

Prot. 36,3, 2 cem Blut zu 100 cem auf 47,5° vorgewärmter 0,95 proz. $MgCl_2$ -Lösung.

Tabelle V.

t	a	x	$\frac{\Delta x}{\Delta t}$
0	1-2	0.4	—
120	2-3	2.4	0.017
180	3-4	3.9	0.025
240	4	4.7	0.013
300	5-6	7.0	0.039
360	8	10.9	0.065
420	11-12	16.4	0.092
480	17-18 (MH)	25.8	0.157
540	22-23	33.6	0.130
600	36	54.7	0.352
660	46	70.3	0.260
720	57-58	88.3	0.300

Auch hier zeigen die $\frac{\Delta x}{\Delta t}$ Werte steigende Tendenz. Die Schwankungen sind größer, als bei den vorhergehenden Versuchen. Es kommt dies daher, daß bei Magnesiumchlorid und Magnesiumsulfat einmal die Bildung des Methämoglobin viel schneller erfolgt, als bei den anderen untersuchten Salzen, sodaß in diesem Versuche schon nach 480', wie in der Tabelle durch M.H. angegeben, die Messungen gestört wurden. Ferner reagieren die Magnesiumsalze aber auch mit den Eiweißstoffen anders als die übrigen untersuchten Salze. Es tritt nämlich die Bildung eines sehr feinen Niederschlages auf, der auch durch langes Zentrifugieren nicht ganz aus der Lösung entfernt werden kann. Auch hierdurch werden die Fehler bei den Magnesiumsalzen größer als bei den anderen Salzen.

Prot. 36,4, 2 cem Blut zu 100 cem 1,11 proz. Calciumchloridlösung.

Tabelle VI.

t	a	x	$\frac{\Delta x}{\Delta t}$
0	1—2	0.4	—
60	3	3.1	0.045
90	4	4.7	0.053
120	6	7.8	0.103
150	10	14.0	0.207
180	15	21.8	0.260
210	20—21	30.5	0.290
240	29—30	44.5	0.467
270	37	56.2	0.390
300	45	68.7	0.382
330	50—51	75.8	0.237

Die $\frac{\Delta x}{\Delta t}$ Werte steigen bis $t = 210$.

Prot. 36,5, 2 cem Blut zu 100 cem 1,42 proz. Natriumsulfat.

Tabelle VII.

t	a	x	$\frac{\Delta x}{\Delta t}$
0	1—2	0.4	—
60	2—3	2.7	0.038
90	3—4	3.9	0.040
120	4—5	5.5	0.053
150	6—7	8.6	0.103
180	7—8	10.1	0.050
210	8—9	11.7	0.053
240	11—12	16.4	0.157
270	14—15	21.1	0.157
300	17—18	25.8	0.157
330	22	32.8	0.233
360	26—27	39.8	0.233
390	30—31	46.0	0.207
420	38	57.8	0.393

In diesem Versuche sind die höchsten $\frac{\Delta x}{\Delta t}$ Werte offenbar nicht erreicht worden, die Werte steigen bis zur Beendigung des Versuches.

Prot. 36,6, 2 cem Blut zu 100 cem 1,74 proz. Kaliumsulfatlösung.

Tabelle VIII.

t	a	x	$\frac{\Delta x}{\Delta t}$
0	1—2	0.4	—
60	4—5	5.5	0.092
90	9—10	13.3	0.260
120	15—16	22.6	0.310
150	27—28	41.4	0.627
180	36	54.7	0.443
210	42—43	64.8	0.330
240	49—50	75.8	0.367
270	55	84.3	0.283

Die höchsten $\frac{\Delta x}{\Delta t}$ Werte sind hier nach 150' erreicht.

Prot. 36,7, 2 cem Blut zu 100 cem Magnesiumsulfatlösung (3,7 Proz. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).

Tabelle IX.

t	a	x	$\frac{\Delta x}{\Delta t}$
0	1—2	0.4	—
60	3	3.1	0.045
90	3—4	3.9	0.027
120	4—5	5.5	0.053
150	7—8	10.1	0.153
180	8—9	11.7	0.053
210	10—11	14.8	0.103
240	13—14	19.5	0.157
270	15	21.8	0.077
300	19—20	28.9	0.237
330	21—22	32.0	0.103
360	25—26	38.3	0.210
390	27—28 (M.H.)	41.4	0.103
420	31	46.8	0.180

Die $\frac{\Delta x}{\Delta t}$ Werte zeigen hier wohl aus den bei dem Versuche mit Magnesiumchlorid erwähnten Ursachen so große Schwankungen, daß es nicht möglich ist, den Zeitpunkt zu bestimmen, in welchem sie ihren größten Wert erreicht haben.

In Fig. 1 und 2 sind die hier gefundenen Resultate graphisch dargestellt. Auf der Abszisse ist die Zeit, auf der Ordinate x aufgetragen. Man erkennt an den Kurven, bei denen die Messungen genügend lange fortgesetzt sind, daß sie in der Tat eine S-Form besitzen.

Ich habe nun versucht, eine zahlenmäßige Beziehung für die Wirkung der verschiedenen Salze zu finden.

Vergleicht man die Hämoglobinmengen, die nach gleichen Zeiten aus den Blutkörperchen ausgetreten sind, so erhält man verschiedene Werte je nach dem Zeitpunkte, in welchem man den Vergleich anstellt.

So findet man z. B. für $t = 180'$

$$\text{NaCl} : \text{KCl} : \text{MgCl}_2 : \text{CaCl}_2 : \text{Na}_2\text{SO}_4 : \text{K}_2\text{SO}_4 : \text{MgSO}_4 \\ = 1 : 1.4 : 1 : 5.6 : 2.6 : 14.0 : 3.0$$

und für $t = 300'$

$$\text{NaCl} : \text{KCl} : \text{MgCl}_2 : \text{CaCl}_2 : \text{Na}_2\text{SO}_4 : \text{K}_2\text{SO}_4 : \text{MgSO}_4 \\ = 1 : 2.9 : 1 : 9.8 : 3.7 : — : 4.1$$

Es zeigt dieses Beispiel, daß diese Berechnungsart unzulässig ist.

Eine andere Rechnung führt jedoch in gewissen Fällen zu Konstanten. Wenn man nämlich aus den gefundenen Werten die Zeiten

Figur 1.

Figur 2.

berechnet, nach welchen bei den verschiedenen Salzen gleiche Mengen Hämoglobin frei geworden sind, so zeigt sich, da bei den meisten Salzen das Verhältnis dieser Zeiten konstant ist, gleichgültig, für welche Hämoglobinmenge es berechnet wird. Aus den vorstehenden Versuchen lassen sich beispielsweise für die Werte $x = 10, 20, 30$ u. s. f. folgende Zeiten bei den verschiedenen Salzen berechnen.

Tabelle X.

x	NaCl	KCl	MgCl ₂	CaCl ₂	Na ₂ SO ₄	K ₂ SO ₄	MgSO ₄	CaCl ₂
10	360	242	346	130	175	76	148	130
20	451	298	445	172	263	112	247	172
30	527	330	512	208	317	133	310	208
40	554	361	560	240	361	148	373	240
50	586	384	587	254	400	170	440	254
60	620	406	620	280	425	196		280
70	659	435	659	305		225		305
80	702	465	692			255		

Der Quotient der Zeiten der verschiedenen Salze für den gleichen Wert für x ergibt sodann:

Tabelle XI.

x	$\frac{\text{NaCl}}{\text{KCl}}$	$\frac{\text{NaCl}}{\text{MgCl}}$	$\frac{\text{NaCl}}{\text{CaCl}_2}$	$\frac{\text{NaCl}}{\text{Na}_2\text{SO}_4}$	$\frac{\text{NaCl}}{\text{K}_2\text{SO}_4}$	$\frac{\text{NaCl}}{\text{MgSO}_4}$
10	1.48	1.04	2.77	2.06	4.75	2.43
20	1.52	1.01	2.63	1.72	4.04	1.82
30	1.59	1.03	2.53	1.66	3.96	1.70
40	1.53	0.99	2.30	1.53	3.72	1.48
50	1.53	1.00	2.31	1.46	3.45	1.33
60	1.53	1.00	2.22	1.46	3.21	
70	1.51	1.01	2.18		2.92	
80	1.51				2.75	

Die Werte NaCl : KCl und NaCl : MgCl₂ zeigen eine sehr gute Übereinstimmung, die Abweichungen von den Mittelwerten liegen innerhalb der Versuchsfehler. Bei den folgenden Werten zeigt sich aber ein Gang, sie nehmen mit steigendem x ab.

Berechnet man nun von diesen Salzen die Quotienten mit Natriumsulfat, so findet man hier, wie die folgende Tabelle zeigt, konstante Werte.

Tabelle XII.

x	$\frac{\text{Na}_2\text{SO}_4}{\text{K}_2\text{SO}_4}$	$\frac{\text{Na}_2\text{SO}_4}{\text{MgSO}_4}$	$\frac{\text{Na}_2\text{SO}_4}{\text{CaCl}_2}$
10	2.31	1.18	1.34
20	2.35	1.06	1.53
30	2.38	1.02	1.52
40	2.44	0.97	1.50
50	2.35	0.91	1.57
60	2.17		1.52

Auch hier liegen die Abweichungen vom Mittelwert innerhalb der Versuchsfehler.

Es hat sich also ergeben, daß für die Chloride des Natrium, Kalium und Magnesium einerseits, sowie für Calciumchlorid und die Sulfate die Zeiten, in welchen gleiche Mengen von Hämoglobin frei geworden sind, in einem konstanten Verhältnisse stehen.

Es ist dies ein Zeichen, daß die Vorgänge bei den Salzen, die sich zu einer Gruppe zusammenfassen lassen, gleichartiger Natur sind.

Die Reihenfolge, in welcher die Salze bezw. ihre Ionen die Hämolyse begünstigen, ist nach diesen Versuchen:

Während also bei 47,5° die Reihenfolge der Kationen mit der von Hoeber¹⁾ für 0°, Zimmertemperatur und 37° C aufgestellten übereinstimmt, ist die der Anionen die umgekehrte als die von Hoeber angegebene.

Diese Tatsache sowie diese Gruppierung der Salze ist in mehreren Versuchen bestätigt worden.

Ich habe nun zunächst untersucht, ob diese Verhältnisse sich auch bei anderen Temperaturen als 47,5° finden und deshalb Versuche bei 50 und 52,5° C angestellt. Da der Gang der $\frac{\Delta x}{\Delta t}$ Werte sich aus den Kurven genau erkennen läßt, so sollen hier der Raumerparnis wegen, nur die α und x Werte in den folgenden Tabellen angegeben werden.

1. Versuche bei 50° C.

Alle diese Versuche sowie die bei 52,5° sind mit dem Blute des gleichen Tieres angestellt, also vergleichbar. Die Versuchsanordnung ist wie früher; es wurden 2 cem Blut zu 100 cem der vorgewärmten Lösung gegeben.

Tabelle XIII.

NaCl			KCl			MgCl ₂		
x	α	x	α	x	α	α	x	x
0	1—2	0.4	1—2	0.4	1—2	0.4		0.4
30	3	3.1	3—4	3.9	3	3.1		3.1
60	4—5	5.1	8	10.9	4—5	5.8		5.8
75	5—6	6.6	16	23.4	6	7.8		7.8
90	8	10.9	25—26	38.3	8—9	11.3		11.3
108	11—12	16.4	38	57.8	9—10	13.3		13.3
120	14—15	21.1	44—45	68.0	12—13	18.0		18.0
135	19—20	28.9	57—58	88.3	18—19	27.0		27.0
150	29—30	44.5	60	92.2	22—23	33.6		33.6
165	36	54.7			30—31	46.1		46.1
210	51—52	78.9			50—51	77.4		77.4

1) loc. cit.

Tabelle XIV.

t	CaCl ₂		Na ₂ SO ₄		K ₂ SO ₄	
	a	x	a	x	a	x
0	1—2	0.4	1—2	0.4	1—2	0.4
30	9	12.5	3—4	4.3	5—6	6.6
45	19—20	28.9	5—6	7.0	8—9	11.7
60	33—34	50.8	10—11	14.8	16—17	24.2
75	45—46	69.1	18—19	27.4	28—29	43.0
90	52—53	80.5	27	40.6	39	59.3
108	59—60	91.4	38	57.8	48—49	73.8
120			40—41	61.7	53—54	82.0
135			51—52	78.9	62	95.3
150			55	84.3

Figur 3.

wiederum die Zeiten, nach denen 10, 20 Proz. usw. Hämoglobin frei geworden sind, so ergibt sich folgendes.

Tabelle XVI.

x	NaCl	KCl	MgCl ₂	CaCl ₂	Na ₂ SO ₄	K ₂ SO ₄	MgSO ₄
10	87	57	84	28	47.5	41	69
20	118	71.5	123	37	61.5	55	97
30	136	81	142	46	78.5	65	121
40	146	91.5	158	53	89	72.5	147.5
50	159	100	171	59	99.5	81	163
60	175	111	185	68	110.5	91.5	183
70	194	121	200	77	124	103	205
80	213	129	215	89	139	117.5	228

Tabelle XV.

t	MgSO ₄	
	a	x
0	1—2	0.4
30	3	3.1
45	4	4.7
60	5—6	7.2
75	9	12.5
90	12—13	18.0
108	16	23.4
120	18—19	27.4
135	22—23	33.6
150	27—28	41.4
165	34	51.6
210	48	73.4
255	58—59	89.8

Fig. 3 und 4 geben diese Resultate graphisch wieder. Man sieht auch hier den Charakter der S-Form bei den einzelnen Kurven.

Berechnet man nun aus diesen Versuchen

Hieraus lassen sich folgende Quotienten berechnen.

Tabelle XVII.

x	NaCl	NaCl	NaCl	NaCl	NaCl	NaCl	Na ₂ SO ₄	Na ₂ SO ₄	Na ₂ SO ₄
	KCl	MgCl ₂	CaCl ₂	Na ₂ SO ₄	K ₂ SO ₄	Mg ₂ SO ₄	K ₂ SO ₄	MgSO ₄	CaCl ₂
10	1.53	1.04	3.11	1.83	2.12	1.26	1.16	0.69	1.69
20	1.65	0.96	3.19	1.92	2.15	1.22	1.12	0.63	1.66
30	1.68	0.96	2.96	1.73	2.09	1.12	1.21	0.65	1.71
40	1.60	0.93	2.76	1.64	2.02	0.99	1.23	0.60	1.68
50	1.59	0.93	2.70	1.60	1.96	0.98	1.23	0.61	1.69
60	1.58	0.95	2.57	1.58	1.91	0.96	1.21	0.60	1.62
70	1.60	0.97	2.52	1.57	1.89	0.95	1.20	0.61	1.61
80	1.65	0.99	2.39	1.52	1.80	0.93	1.18	0.61	1.56

Figur 4.

Die Tabelle zeigt, daß sich bei 50 ° genau die gleichen Gesetzmäßigkeiten finden wie bei 47,5 °. Die Quotienten NaCl:KCl: MgCl₂ und Na₂SO₄:K₂SO₄:MgSO₄:CaCl₂ sind annähernd konstant.

2. Versuche bei 52,5 ° C.

Mit dem gleichen Blute wurden nun auch die folgenden Versuche bei 52,5 ° C. angestellt.

Tabelle XVIII.

t	NaCl		KCl		MgCl ₂	
	a	x	a	x	a	x
0	1—2	0.4	1—2	0.4	1—2	0.4
10	5	6.2	5—6	7.2	3	3.1
20	9	12.5	11—12	16.8	5	6.2
30	15—16	22.6	21—22	32.0	8	10.9
40	28—29	42.6	39—40	60.1	10—11	15.2
50	40—(41)	61.3	48—49	74.2	14—15	21.1
60	48	73.4	56	85.9	19—20	28.9
70	56	85.9	60—61	93.0	34	51.6
80	—	—	—	—	42	64.0
90	—	—	—	—	50	76.6
100	—	—	—	—	60—61	93.0

Figur 5.

Figur 6.

Tabelle XIX.

t	CaCl ₂		Na ₂ SO ₄		MgSO ₄	
	a	x	a	x	a	x
0	1—2	0.4	1—2	0.4	1—2	0.4
10	7—8	10.1	6—7	8.9	3—4	4.3
20	21	31.2	11—12	16.8	5	6.2
30	47—48	72.6	22	32.8	7	9.3
40	58—59	89.8	36	54.7	10	14.0
50	—	—	42—43	64.8	11—12	16.4
60	—	—	48—49	74.2	16	23.4
70	—	—	53—54	82.0	24	35.9
80	—	—	—	—	34	51.6
90	—	—	—	—	42	64.0
100	—	—	—	—	54—55	83.6

Diese Versuche sind in den Figuren 5 und 6 graphisch dargestellt; der allgemeine Charakter der Kurven ist der gleiche wie bei den niedrigen Temperaturen. Die Geschwindigkeit ist hier natürlich viel größer als bei 47,5 und 50°. Es ist deshalb, ebenso wie bei den Figuren, die die Resultate der Versuche bei 50° geben, ein anderes Verhältnis für die Einheit von x und t gewählt worden als bei den niedrigen Temperaturen. Während die Einheit in der graphischen Darstellung für x bei allen Figuren die gleiche ist, ist sie für t in Fig. 3 und 4 zweimal so groß und in Fig. 5 und 6 dreimal so groß, wie in Fig. 1 und 2.

Aus den Versuchen bei 52,5° lassen sich nun folgende Zeiten für entsprechende x -Werte berechnen.

Tabelle XX.

x	NaCl	KCl	MgCl ₂	CaCl ₂	Na ₂ SO ₄	MgSO ₄
10	17.5	13	28	10	12	31.8
20	27.5	22	48	14.5	22	55.5
30	34	28.5	60.5	19.3	28	65.5
40	39	33	65	22	33.5	73
50	44.5	36.5	69.5	24.5	38	79
60	49.5	40	77	27	45.5	87
70	57	47	84.5	29.5	56	93
80	65	55	92	34	67.5	98

Aus diesen Zahlen ergeben sich die folgenden Quotienten.

Tabelle XXI.

x	$\frac{\text{NaCl}}{\text{KCl}}$	$\frac{\text{NaCl}}{\text{MgCl}_2}$	$\frac{\text{NaCl}}{\text{CaCl}_2}$	$\frac{\text{NaCl}}{\text{Na}_2\text{SO}_4}$	$\frac{\text{NaCl}}{\text{MgSO}_4}$
10	1.35	0.635	1.75	1.46	0.55
20	1.25	0.573	1.89	1.25	0.50
30	1.17	0.562	1.81	1.21	0.52
40	1.18	0.599	1.77	1.16	0.54
50	1.22	0.642	1.82	1.17	0.56
60	1.24	0.643	1.83	1.09	0.56
70	1.21	0.675	1.93	1.02	0.61
80	1.18	0.706	1.91	0.97	0.66

Bei 52,5° sind wie die vorstehenden Zahlen zeigen die Quotienten $\frac{\text{NaCl}}{\text{KCl}}$, $\frac{\text{NaCl}}{\text{MgCl}_2}$, $\frac{\text{NaCl}}{\text{CaCl}_2}$ und $\frac{\text{NaCl}}{\text{MgSO}_4}$ gut konstant. Nur $\frac{\text{NaCl}}{\text{Na}_2\text{SO}_4}$ zeigt keine Konstanz. Natürlich würden hier auch die Verhältnisse $\text{Na}_2\text{SO}_4 : \text{CaCl}_2 : \text{MgSO}_4$ nicht mehr konstant sein.

Dieses Verhalten der Quotienten zeigt, daß die bei 47,5 und 50° C. beachtete Inkonzanz der Verhältnisse $\text{NaCl} : \text{CaCl}_2 : \text{MgCl}_2 : \text{MgSO}_4$ durch einen Faktor hervorgerufen war, der bei höherer Temperatur entweder nur sehr kurz oder nur noch sehr schwach in Betracht kommt.

Ein Vergleich der Kurven der Salze bei den verschiedenen Temperaturen zeigt ferner, daß dieser Faktor besonders im Anfangs-

teile der Kurven zur Geltung kommt. Der erste Teil der S-Kurve ist bei den Chloriden des Natrium, Kalium und Magnesium viel länger und weniger gegen die Abszisse geneigt als bei den Sulfaten und Chlorcalcium. Im mittleren Teil ist der Unterschied bei weitem nicht so bedeutend. Dies tritt besonders hervor bei 47,5 °, ist noch zu erkennen bei 50 °. Bei 52,5 ° nehmen die Magnesiumsalze eine Ausnahmestelle ein, die anderen Salze zeigen sehr ähnliche Kurven. Bei der letztgenannten Temperatur zeigen aber auch die Quotienten nicht mehr die gleiche Gruppierung wie bei 47,5 ° und 50 ° C, der Faktor, der dieselbe verursacht, ist also nicht mehr, oder nicht mehr so stark wirksam.

Die absolute Größe der Quotienten zweier Salze ist für die verschiedenen Temperaturen nicht gleich. Es zeigt dies, daß die Hämolyse in den verschiedenen Salzen einen verschiedenen Temperaturkoeffizienten hat, der relativ am kleinsten ist bei Magnesiumsulfat und Magnesiumchlorid. Der Temperaturkoeffizient der kolorimetrischen Messung setzt sich zusammen aus den Temperaturkoeffizienten der Teilvorgänge. Für gleichartige Vorgänge wird er etwa gleich groß sein und die große Verschiedenheit der Temperaturkoeffizienten, die die kolorimetrische Messung, besonders für die Magnesiumsalze ergibt, läßt erkennen, daß bei den hier untersuchten Salzen verschiedene Prozesse bei der Hämolyse wirksam sind. Infolge dieser Differenz der Temperaturkoeffizienten tritt bei den höheren Temperaturen eine Änderung der Reihenfolge ein, in welcher die Hämolyse durch die Ionen begünstigt wird.

In den Magnesiumlösungen verläuft die Hämolyse nunmehr am langsamsten und zwar in der Lösung des Sulfates langsamer als in der des Chlorids.

Kapitel II.

Die Wirkung von Serum auf den Verlauf der Hämolyse in Neutralsalzlösungen.

Zum Schlusse des ersten Kapitels habe ich darauf hingewiesen, daß der von den Kurven der anderen Salze abweichende Verlauf des Anfangsteiles der Kurven der Chloride des Natrium, Kalium und Magnesium bei 47,5 und 50 ° C. durch einen Faktor hervorgerufen sein könne, der bei diesen Salzen mehr zur Geltung kommt als bei den anderen. Es lag nahe anzunehmen, daß das Serum einen hemmenden Einfluß auf die Wirkung der Salze ausübt und zwar bei den verschiedenen Salzen in verschiedenem Grade, da ja bekannt ist, daß die Wirkung vieler Gifte auf Blutkörperchen durch Serum abgeschwächt wird.

Ich habe deshalb eine Versuchsreihe angestellt, in der die Hämolyse in diesen Salzlösungen beobachtet wurde mit Blut, das durch wiederholtes Waschen mit 0,9 prozentiger Chlornatriumlösung von dem Serum möglichst befreit worden war.

Prot. 36. Kaninchenblut wird mehrmals mit 0,9 prozentiger NaCl-Lösung gewaschen, nach dem letzten Zentrifugieren mit 0,9 prozentiger NaCl-Lösung auf das ursprüngliche Volumen des Blutes gebracht und von dieser Lösung je 2 cem zu 100 cem der auf 47,5 ° C vorgewärmten Salzlösung gegeben.

Tabelle XXII.

t	NaCl		KCl		MgCl ₂	
	a	x	a	x	a	x
0	1—2	1.2	1—2	1.2	1—2	1.2
120	3—4	3.9	4—5	5.8	4	4.7
180	5—6	7.0	7—8	10.1	6—7	8.6
240	8—9	11.7	15	21.8	11	15.6
300	12—13	18.0	29—30	44.5	15—16	22.6
360	20	29.7	49—50	75.8	23—24	35.1
420	30	45.3	60—61	93.0	35	53.1
480	48	73.4			44	67.2
540	53—54	82.0			55?MH	84.3
600	60	92.2				

Tabelle XXIII.

t	CaCl ₂		Na ₂ SO ₄		K ₂ SO ₄		MgSO ₄	
	a	x	a	x	a	a	a	x
0	1—2	0.4	1—2	1.2	1—2	0.4	1—2	0.4
60	4—5	5.5	3—4	3.9	3—4	3.9	4	4.7
90	8	10.9	4—5	5.8	8	10.9	8—9	10.1
120	11—12	16.4	(6)—7	8.9	19	28.1	11—12	16.4
150	20	29.7	11—12	16.4	35	53.1	16	23.4
180	28	42.2	15	21.8	44	67.2	18—19	27.4
210	38	57.8	20—21	30.5	50—51	77.4	21—22	32.0
240	45—46	69.5	24—25	40.6	55	84.3	26—27	39.8
270	52	79.7	39—40	60.1	60	92.2	30—31	46.1
300	58—59	89.8	46	70.3	63	96.8	40	60.9
330	62—63	95.8	55	84.3			44—45	68.0
360	—	—	60	92.2				

In der Figur 7 und 8 sind diese Versuche aufgezeichnet und gleichzeitig, um die Wirkung des Serum zu veranschaulichen aus den Fig. 1 und 2 die Kurven des Chlornatrium und Kaliumsulfat wiederholt. Man sieht, daß das Serum einen stark hemmenden Einfluß, besonders zu Beginn der Reaktion ausübt und zwar ist dieser bei den verschiedenen Salzen verschieden stark.

Aus diesen Versuchen lassen sich nun folgende Zeiten für entsprechende Werte von x berechnen.

Figur 7.

Figur 8.

Tabelle XXIV.

x	CaCl	KCl	MgCl ₂	CaCl ₂	Na ₂ SO ₄	K ₂ SO ₄	MgSO ₄
10	216	180	190	87	125	86	90
20	312	233	278	128	168	107	136
30	362	267	336	151	209	123	196
40	399	290	376	176	238	135	241
50	430	312	407	195	254	147	277
60	451	331	449	213	270	167	299
70	473	350	491	242	299	186	337
80	526	375	525	271	321	222	
90	586	405		300	355	265	

Hieraus ergeben sich die Quotienten:

Tabelle XXV.

x	NaCl	NaCl	NaCl	NaCl	NaCl	NaCl	Na ₂ SO ₄
	KCl	MgCl ₂	CaCl ₂	Na ₂ SO ₄	K ₂ SO ₄	MgSO ₄	K ₂ SO ₄
10	1.20	1.15	2.48	1.73	2.51	2.40	1.46
20	1.34	1.12	2.44	1.86	2.92	2.30	1.57
30	1.36	1.08	2.40	1.73	2.94	1.84	1.70
40	1.38	1.06	2.26	1.68	2.96	1.65	1.76
50	1.38	1.06	2.20	1.67	2.92	1.55	1.73
60	1.36	1.00	2.12	1.67	2.70	1.51	1.62
70	1.35	0.96	1.95	1.58	2.54	1.40	1.61
80	1.40	1.00	1.94	1.64	2.31		1.45
90	1.45		1.95	1.65	2.21		1.34

Bei diesen Versuchen sind die Quotienten NaCl:KCl:Na₂SO₄ innerhalb der Versuchsfehler konstant. NaCl:K₂SO₄ zeigt ziemlich große Schwankungen, da diese aber keinen Gang zeigen und ferner Na₂SO₄:K₂SO₄ ähnliche Schwankungen aufweist, so darf man dieselben auf Versuchsfehler zurückführen. NaCl:CaCl₂ und NaCl:MgSO₄ zeigen hingegen einen Gang. Es scheint hier eine Reaktion mitzuspielen, die bei den anderen Salzen nicht in der gleichen Weise zur Geltung kommt.

Es hat sich also gezeigt, daß das Serum zum Teil die Ursache ist, daß bei manchen Salzen die Quotienten der Zeiten, nach welchen gleiche Mengen Blut in den verschiedenen Salzlösungen hämolysiert sind, nicht konstant sind. Das Serum hemmt in den Salzlösungen die Hämolyse in verschiedenem Grade, in serumfreien Lösungen sind die Quotienten NaCl:KCl:MgCl₂:Na₂SO₄:K₂SO₄ konstant. Die Reihenfolge, in welcher die Salze bzw. deren Ionen die Hämolyse begünstigen ist hier die gleiche wie bei den Versuchen mit serumhaltigen Lösungen bei 47,5°, nämlich Na<Mg<K<Ca< und Cl<SO₄.

In den folgenden Versuchen ist die hemmende Wirkung des Serums näher studiert worden und zwar folgende Fragen:

1. der Einfluß der Konzentration des Serums
2. der Einfluß von Seren verschiedener Tiere der gleichen Art und artfremder Tiere und
3. die Hitzebeständigkeit dieser Serumwirkung.

Die Versuche sind alle mit 0,9 prozentiger Kochsalzlösung angestellt worden.

Tabelle XXVI.
Prot. 39. T. 47,5° C.

1. Serumfrei			2. 2/20 ccm S.		3. 2/2 ccm S.		4. 5/2 ccm S.	
t	a	x	a	x	a	x	a	x
0	1—2	1.2	1—2	1.2	1—2	1.2	1—2	1.2
60	2—3	2.7	3	3.1	3	3.1	3	3.1
120	4—5	5.1	3—4	4.3	4	4.7	4	4.7
180	6—7	8.6	5—6	7.4	5—6	7.4	6	7.8
240	—	—	8	10.9	8—9	11.7	9—10	13.3
310	17—18	25.8	14—15	21.1	12—13	18.0	14—15	21.1
360	30—31	46.0	28	42.2	18	26.6	20—21	30.5
420	41—42	63.2	39—40	60.1	25	37.5	29	43.7
450	46—47	71.1	—	—	31	46.8	42—43	64.8
480	55 MH	84.3	52	79.7	41—42	63.3	46	70.3
540	ca. 60 MH	92.2	—	—	53	81.2	57 MH	87.5

5. 2/2 ccm S. inakt.			6. 5/2 ccm S. inakt.		7. 2/2 ccm S. Kan. B.		8. 2/2 S. Kan. C.	
t	a	x	a	x	a	x	a	x
0	1—2	1.2	1—2	1.2	1—2	1.2	1—2	1.2
60	3	3.1	3	3.1	3	3.1	3	3.1
120	4	4.7	4—5	5.1	4	4.7	3—4	3.5
180	5—6	7.0	6—7	8.2	6	7.8	5	6.2
240	8	10.9	10	14.0	8—9	11.3	7	9.3
310	12	17.2	15—16	22.6	12—13	18.0	10	14.0
360	16—17	24.2	20—21	30.5	16—17	24.2	14—15	20.7
420	24	35.9	30	45.3	23—24	35.1	20	29.7
450	—	—	35	53.1	27	40.6	23—24	34.7
480	39	59.3	44	67.2	42	64.0	36—37	55.5
540	50—51	77.4	55—56	85.1	50	76.6	45	68.7

Tabelle XXVII.
Prot. 45. T. 47,5° C.

1. S-frei			2. 2/2 S.	
t	a	x	a	x
0	1—2	1.2	1—2	1.2
120	3	3.1	2—3	2.4
180	4	4.7	3	3.1
240	5	6.2	4	4.7
300	7	9.3	5—6	7.0
360	9	12.5	7	9.3
420	13	18.7	9	12.5
460	16—17	24.2	11	15.6
490	20—21	30.5	13	18.7
530	28—29	43.0	17—18	25.8
570	37—38	58.5	23—24	35.1

3. 2/2 Ph.-S. ¹⁾			4. 2/2 Sch.-S. ²⁾		5. 2/2 H. S. ³⁾	
t	a	x	a	x	a	x
0	1—2	1.2	1—2	1.2	1—2	1.2
120	3	3.1	2—3	2.7	2—3	2.7
180	4	4.7	3—4	3.5	3—4	3.5
240	5—6	6.6	5	6.2	4—5	5.8
300	7	9.3	6—7	8.9	6—7	8.6
360	9	12.5	8—9	11.7	8	10.9
420	12—13	17.6	12	17.2	11	15.6
460	15—16	22.2	15	21.8	13—14	19.5
490	18	26.6	17	25.0	16—17	24.2
530	24	35.9	21—22	32.0	20—21	30.5
570	35	53.1	31—32	47.6	31—32	47.6

Figur 9.

Die vorstehenden Tabellen zeigen den Einfluß dieser Faktoren.

In der Tabelle XXVI ist unter 1 das Ergebnis eines Versuches verzeichnet, in welchem 100 cem 0,9 prozentiger Chlornatriumlösung 2 cem Blutkörperchen in 0,9 prozentiger NaCl Lösung enthalten, die in der gleichen Weise wie bei dem Versuch der Tabellen XXII und XXIII von Serum befreit worden waren. Bei dem Versuch der Tabelle XXVI, 2 sind zu 98 cem NaCl-Lösung 2 cem eines mit

- 1) Pferde-Serum.
- 2) Schweine-Serum.
- 3) Hammel-Serum.

NaCl-Lösung auf das Zwanzigfache verdünnten Serums gegeben worden, bei XXVI, 3 und XXVI, 4 zu 98 bzw. 95 cem Kochsalzlösung, 2 bzw. 5 cem zur Hälfte mit 0,9 prozentiger NaCl-Lösung verdünntes Serum.

In Fig. 9 sind diese Versuche aufgezeichnet.

Das Serum hemmt schon in relativ geringen Konzentrationen die Hämolyse; der Einfluß von 0,1 cem Serum zu 100 Kochsalzlösung, also von 1‰ Serum ist deutlich zu erkennen. Steigt die Konzentration des Serums, so wird zunächst auch die verzögernde Wirkung stärker, die Hämolyse geht in der 1 prozentigen Lösung langsamer vor sich als in der 0,1 prozentigen. Erhöht man nun die Konzentration des Serums weiter, so zeigt der Versuch XXVI, 4, daß die hemmende Wirkung des Serums wieder abnimmt, die Hämolyse verläuft hier in der 2,5 prozentigen Serumlösung etwas rascher als in der 1 prozentigen Serumlösung. Ein Kontrollversuch ergab ungefähr das gleiche Resultat. Die Geschwindigkeit der Hämolyse nahm entsprechend der Konzentration des Serums ab, bis diese 1 Proz. erreichte. In der 2½ prozentigen Lösung verlief sie mit gleicher Geschwindigkeit, wie in der 1 prozentigen Serumlösung.

Diese Versuche zeigen also, daß die hemmende Wirkung des Serums anfangs mit steigender Konzentration desselben zunimmt, dann aber ein Maximum erreicht.

Versuch XXVI, 2 bzw. XXVII, 2 ist mit einer 1 prozentigen Lösung des Serums des Tieres angestellt, dessen Blutkörperchen in den Versuchen der Tabelle XXVI bzw. XXVII verwendet wurden. Versuch XXVI, 7 und XXVI, 8 wurde angestellt mit einer 1 prozentigen Lösung von Serum, das zwei Kaninchen aus der Ohrarterie entnommen war. Das Kaninchen des Versuches XXVI, 8 hatte acht Tage vorher einen größeren Blutverlust erlitten. Der Versuch 7 der Tabelle XXVI stimmt innerhalb der Versuchsfehler sehr gut mit dem Versuch XXVI, 2 überein, dagegen verläuft die Hämolyse in Versuch XXVI, 8 etwas langsamer als bei XXVI, 2. Es ist also für die hemmende Wirkung des Serums gleichgültig, ob es demselben Tiere entstammt wie die Blutkörperchen, deren Hämolyse es beeinflußt. Das Serum von Kaninchen, die vorher einen starken Blutverlust erlitten, scheint stärker zu hemmen als das normaler Tiere.

Diesen letzteren Punkt habe ich mehrmals geprüft mit dem Serum von Tieren, denen 8, 14 und 21 Tage vorher größere Mengen Blut entzogen worden waren. Es ist mir aber nicht gelungen, einen zweiten Fall aufzufinden, in dem der Unterschied zwischen normalem Serum und dem dieser Kaninchen so groß gewesen wäre, wie in

dem beschriebenen Beispiele. Die Frage, ob durch einen vorausgegangenen Blutverlust die Stoffe vermehrt werden, die die Geschwindigkeit der Hämolyse verringern, muß ich deshalb unentschieden lassen.

Die Versuche 1, 2, 3, 4 und 5 der Tabelle XXVII zeigen, daß auch Pferde-, Schwein- und Hammelserum in 1 prozentiger Lösung die Hämolyse von Kaninchenblutkörperchen hemmen, wiewohl nicht so stark wie Kaninchenserum. Es war hier in den Versuchen 3, 4 und 5 zu 98 cem 0,9 prozentiger NaCl-Lösung 2 cem zur Hälfte verdünntes Pferde-, Schweine- bzw. Hammelserum zugesetzt worden. Die Hämolyse verläuft hier etwa mit der gleichen Geschwindigkeit wie im Versuch XXVII, 2, wo die Lösung die gleiche Menge Kaninchenserum enthält.

In den in der Tabelle XXVI unter 5 und 6 berichteten Fällen war das Kaninchenserum, das zur Bereitung der 1- bzw. 2,5 prozentigen Lösung diente, eine Stunde lang bei 52,5° C gehalten worden. Diese Versuche zeigen den gleichen Verlauf wie die, bei denen das Serum nicht erhitzt worden war. Das gleiche Resultat wurde erhalten, als die Serumlösung 30' lang auf 65° erhitzt worden war.

Die Stoffe, die die Hämolyse in Kochsalzlösung hemmen, sind also in den angewandten Temperaturintervallen hitzebeständig.

Kapitel III.

Die Wirkung des Ammoniak als starken Blutgiftes.

In den vorhergehenden Kapiteln war die Wirkung von schwachen Giften auf die roten Blutzellen studiert worden. Die Giftwirkung ist bei den untersuchten Salzen so schwach, daß zur praktischen Durchführung der Versuche eine relativ hohe Temperatur gewählt werden mußte. Da die hohe Temperatur selbst schädigend auf die Blutzellen wirkt, so kommt die Giftwirkung bei diesen Versuchen nicht so rein zur Darstellung. Die folgenden Versuche sind bei 37,5° C, also etwa bei Körpertemperatur angestellt, es ist demnach im wesentlichen die Wirkung des Giftes, die hier beobachtet wird.

Für das Studium der Gifte gibt es zwei Gesichtspunkte.

Man kann versuchen, einen Einblick in den Mechanismus der Giftwirkung zu erhalten. Hier muß man aber berücksichtigen, daß die Hämolyse ein außerordentlich komplexer Vorgang ist, sodaß uns die kolorimetrische Messung allein keinen Einblick geben kann, wie die Einzelvorgänge, beispielsweise das Absterben der roten Blutkörperchen erfolgen. Denn das Gift kann alle Teilvorgänge, als

deren Endresultat das Lackfarbenwerden eintritt, beeinflussen — gleichartig oder ungleichartig — oder auch nur einzelne derselben. Infolgedessen sind auch die Formeln, die wir für den Verlauf chemischer Reaktionen besitzen, hier nicht ohne weiteres anwendbar.

Man kann ferner die Hämolyse nur als Reagenz betrachten für die quantitative Bestimmung der Wirkung eines Giftes. So ist beispielsweise die Hämolyse vielfach benutzt worden, um aus ihrem Eintreten oder Verlauf Schlüsse zu ziehen, auf die Anwesenheit oder Menge von Toxinen, die auf anderem Wege nicht oder nur schwer bestimmbar sind. Für diesen Zweck ist es natürlich gleichgültig, welche Momente für den Verlauf der Hämolyse bestimmend sind ob beispielsweise das Toxin nur das Absterben der roten Blutzellen beschleunigt oder auch die Folgereaktionen. Es ist nur nötig, mit gut definierten Giftmengen den Reaktionsverlauf, seine Abhängigkeit von der Giftmenge, Blutkonzentration sowie die Reproduzierbarkeit zu studieren. Aus diesen Daten läßt sich dann die einfachste Methode zur quantitativen Bestimmung des Giftes konstruieren.

Ich habe mehrere Gifte unter diesen Gesichtspunkten untersucht, Von diesen Versuchen sollen hier nur die Versuche mit Ammoniak ausführlicher besprochen werden, einmal weil die Ammoniakhämolyse besonders einfache Verhältnisse zeigt und dann, weil sie bereits von Arrhenius und Madsen genauer studiert worden ist, und gewissermaßen den Ausgangspunkt einer quantitativen, physikalisch-chemischen Betrachtung für bestimmte Fragen der Immunitätsforschung gebildet hat.

Die Versuche wurden folgendermaßen ausgeführt: Als Stammlösung diente eine 0,1 normale Ammoniaklösung in 0,9 prozentiger Kochsalzlösung. Von dieser Stammlösung stellte ich die Konzentration, die bei den Versuchen gebraucht wurde, in der Weise her, daß zunächst die Menge 0,9 prozentiger Kochsalzlösung abgemessen wurde, die zur Herstellung von 100 ccm der gewünschten Ammoniaklösung nötig war. Diese Kochsalzlösung wurde in zwei etwa gleiche Portionen geteilt, die beide auf 37,5° C vorgewärmt wurden. Nun wurde in die eine Portion die erforderliche Menge von 0,1 n-Ammoniak gegeben, in die andere 2 ccm Blut. Kurze Zeit darauf wurden beide Lösungen vermischt. Dieser Zeitpunkt wird als Beginn der Reaktion betrachtet. Man erreicht so die Vermischung der Blutlösung und der Giftlösung in sehr kurzer Zeit, auch ist die Konzentration der Giftlösung in der einen Portion nicht zu sehr verschieden von der Konzentration nach dem Vermischen, sodaß Störungen durch ungleichmäßige Einwirkung des Giftes vermieden

werden. Ich habe mich durch wiederholte Versuche überzeugt, daß unter diesen Umständen es gleichgültig ist, ob man die Gifflösung der Blutkörperchen enthaltenden Lösung zusetzt oder in umgekehrter Weise arbeitet.

Zu diesen Versuchen habe ich stets ungewaschenes Blut verwendet, wiewohl nach den Angaben von Arrhenius das Serum einen hemmenden Einfluß auf die Ammoniakhämolyse ausübt. Aber einmal ist die Konzentration des Serum in der Lösung unter den von mir eingehaltenen Arbeitsbedingungen so klein, daß es nach den Angaben von Arrhenius keinen Einfluß mehr ausübt. Ferner habe ich beobachtet, daß durch das Zentrifugieren beim Waschen der Blutkörperchen diese geschädigt werden, sodaß bei Versuchen mit starken Giften mit gewaschenem Blute nicht mehr die gute Übereinstimmung der Versuche beobachtet wurde, wie mit ungewaschenem Blute.

Es trat dies besonders hervor bei Versuchen mit Ichtyotoxin, die sich mit dem Studium der Bildung der Antitoxine und anderen Fragen der Immunitätslehre beschäftigten, über die ich später anderen Ortes zu berichten beabsichtige.

Die Versuche der Tabellen XXVIII, XXIX und XXX sind mit dem Blute desselben Tieres gemacht, die Versuche der Tabelle XXXII und XXXIII mit dem Blute eines anderen Tieres.

Tabelle XXVIII, 1.

85 ccm NaCl 0,9 Proz., 15 ccm NH_3 0,1 n, 2 ccm Blut.

$J=3$			
t	a	x	K
0	2—3	2.0	—
5	6—7	8.6	4.3
10	19—20	28.9	4.1
15	35—36	53.9	4.5
20	46—47	71.1	4.2
25	55	84.3	3.8
30	60—61	93.0	(3.5)
35	—	—	—
40	—	—	—

 $K = 4.2$

Tabelle XXVIII, 2.

90 ccm NaCl 0,9 Proz., 10 ccm NH_3 0,1 n, 2 ccm Blut.

$J=5.0$					
t	a	x	K	K_1	K_2
0	1—2	1.2	—	—	—
5	3	3.1	—	0.0026	1.48
10	9	12.5	2.5	0.0059	1.67
15	19—20	28.9	2.9	0.0100	1.86
20	30—31	46.4	3.1	0.0134	1.97
25	42	64.0	3.2	0.0177	2.21
30	49—50	75.8	3.0	0.0207	2.38
35	56	85.9	2.9	0.0244	2.64
40	60	92.2	(2.6)	0.0255	2.62

 $K = 2.9$

Tabelle XXIX.

95 ccm NaCl 0,9 proz., 5 ccm NH₃ 0.1 n., 2 ccm Blut

J = 10					
t	a	x	K	K ₁	K ₂
0	1—2	0.8	—	—	—
5	2	1.2	—	0.0008	0.73
10	(2)—3	3.1	—	0.0013	0.74
15	6	7.8	1.56	0.0024	0.86
20	11	15.6	1.56	0.0038	0.96
25	16—17	24.6	1.64	0.0050	1.01
30	22—23	33.6	1.68	0.0060	1.03
35	28—29	43.0	1.72	0.0070	1.07
40	35—36	53.9	1.80	0.0084	1.14
45	40—41	61.7	1.76	0.0093	1.19
50	45—46	69.5	1.74	0.0103	1.24
55	48	73.4	1.63	0.0104	1.22
60	52	79.7	1.60	0.0116	1.30

K = 1.64

Tabelle XXX.

1. 70 ccm NaCl 0,9 proz., 30 ccm NH₃ 0.01 n., 2 ccm Blut2. 80 ccm NaCl 0,9 proz., 20 ccm NH₃ 0.01 n., 2 ccm Blut

J = 18				J = 25		
t	a	x	K	a	x	K
0	1—2	0.4	—	1—2	0.4	—
10	1—2	0.8	—	1—2	0.8	—
20	3—4	3.9	(1.95)	2	1.6	—
30	8	10.9	0.91	3—4	3.9	(0.78)
40	15—16	22.6	1.03	6—7	8.6	0.57
50	20	29.7	0.93	9—10	12.9	0.52
60	26—27	39.8	0.95	13	18.7	0.54
70	31—32	47.6	0.92	16	23.4	0.52
80	38—39	58.6	0.94	19—20	28.9	0.52
90	(43)—44	66.8	0.92	23—24	35.1	0.54
100	48—49	74.2	0.90	27	40.6	0.54
110	—	—	—	30—31	46.0	0.54

K = 0.94

K = 0.54

In den vorstehenden Tabellen ist die Bedeutung von t, a, x die gleiche wie früher. Die Bedeutung der unter J und K bzw. K₁ und K₂ verzeichneten Werte soll im folgenden erläutert werden.

Die Fig. 10 bringt die in den Tabellen verzeichneten Versuche in graphischer Darstellung. Man sieht, daß der S-Charakter der Kurven erhalten geblieben ist. Aber der erste und der dritte Teil der S-Kurve ist sehr klein geworden. Nach den im ersten Kapitel angestellten Erwägungen bedeutet dies, daß die Geschwindigkeit, mit der die abgestorbenen Blutkörperchen unter dem Einflusse des Ammoniak ihr Hämoglobin abgeben, ziemlich groß ist. Die kolorimetrische Kurve nähert sich also der Sterbekurve der Geraden.

Für die Gerade gilt die Beziehung

$$\frac{x}{t} = \text{Konstanz.}$$

Diese Formel läßt sich aber auf die hier berichteten Versuche nicht ohne weiteres anwenden. Denn sie vernachlässigt einmal die Induktionszeit und ferner den ersten Teil der S-Kurve. Diesen Faktoren trägt man nun Rechnung, wenn man an den Werten von t eine Korrektur anbringt.

Da nämlich der Beginn der Reaktion nicht genau mit dem Zeitpunkt zusammenfällt, der in den Versuchen als t_0 angenommen wurde, wo also das Vermischen der Giftlösung und der Blutkörperchen geschah, so werden die in der Tabelle verzeichneten t -Werte um einen Betrag zu groß sein, der im wesentlichen der Induktionszeit entspricht.

Dieser Betrag, der in den Tabellen mit J bezeichnet ist, läßt sich berechnen.

Figur 10.

Da die Kurve ziemlich geradlinig ist, so werden die Zeiten, in denen je 10 Proz. der Blutkörperchen abgestorben sind und ihr Hämoglobin abgegeben haben, konstant sein. Wenn man also feststellt, nach welcher Zeit 10 Proz. Hämoglobin ausgetreten sind und ferner, nach welcher Zeit beispielsweise 70 oder 80 Proz., so wird

$$\frac{t(80 \text{ Proz.}) - t(10 \text{ Proz.})}{7} = M$$

den Mittelwert (M) ergeben für die Zeit, in welcher zwischen 10 Proz. und 80 Proz. je 10 Proz. Blutkörperchen ihr Hämoglobin abgegeben haben.

Dieser Mittelwert M ist nun kleiner als der Wert, den man für die ersten 10 Proz. findet. Denn dieser letztere setzt sich zusammen aus der Induktionszeit und aus M. Es ergibt also

$$t \text{ (10 Proz.)} - M = J.$$

Man erhält so den Wert J, um welchen man die in den Tabellen verzeichneten Zeitwerte verkürzen muß, um die Induktionszeit auszuschalten. Es muß also dann

$$\frac{x}{t-J} = \text{Konstanz} \quad \text{sein.}$$

Nach dieser Formel sind die in den Tabellen unter K stehenden Werte berechnet. Ihre Konstanz ist in allen Fällen eine sehr gute.

Man muß natürlich berücksichtigen, daß diese Berechnungsart nur für den mittleren Teil der S-Kurve zulässig ist. Deshalb kann der erste Wert und, falls x 90 Proz. überschreitet, auch die letzten Werte von K größere Abweichungen zeigen.

Für die Mittelwerte dieser Konstanten, sowie für die Induktionszeiten ergeben sich folgende Beziehungen zur Konzentration des Ammoniak.

Tabelle XXXI.

$C(\text{NH}_3)$	J	K	$C > J$	K : C
15	3	4.2	45	0.28
10	5	2.9	50	0.29
5	10	1.64	50	0.33
3	18	0.94	54	0.31
2	25	0.54	50	0.27

Diese Tabelle besagt, daß innerhalb der untersuchten Konzentrationen die Induktionszeiten umgekehrt proportional sind der Konzentration des Ammoniak; die Konstanten sind direkt proportional der Ammoniakkonzentration.

Bei den bis jetzt berichteten Versuchen war die Konzentration des Blutes überall gleich.

Die folgenden Tabellen sollen nun zeigen, welchen Einfluß eine verschiedene Konzentration des Blutes auf die Geschwindigkeit der Hämolyse bei gleichbleibender Konzentration des Ammoniak ausübt.

Tabelle XXXII.

1. 70 ccm NaCl 0,9 Proz. 30 ccm NH₃ 0,01 n 2 ccm Blut
 2. 70 ccm NaCl 0,9 Proz. 30 ccm NH₃ 0,01 n 3 ccm Blut

1. J = 15.5

2. J = 21

t	a	x	K	a	x	K
0	1—2	0.8	—	1—2	0.4	—
15	2—3	2.4	—	1—2	1.2	—
30	9—10	13.6	0.94	5	6.2	0.69
45	20—21	30.5	1.03	11	15.6	0.65
60	34	51.6	1.16	17—18	25.8	0.66
75	43—44	66.4	1.11	26—27	39.4	0.75
90	50—51	77.4	1.04	32	48.8	0.71
105	56—57	86.7	0.97	38—39	58.6	0.70
120	59	90.6	(0.87)	44	67.2	0.68
135	—	—	—	50—51	77.4	0.68
150	—	—	—	53—54	82.0	0.64

Tabelle XXXIII.

70 ccm NaCl 0,9 Proz. 30 ccm NH₃ 0,01 n, 4 ccm Blut.

J = 28

t	a	x	K
0	1—2	0.4	—
15	1—2	0.4	—
30	3	3.1	(1.6)
45	6—7	8.2	0.48
60	10—11	14.4	0.45
90	20	29.7	0.48
105	23—24	35.5	0.46
120	29—(30)	44	0.48
135	32—33	49	0.46
150	38	57.8	0.47
165	40	60.9	0.44
180	44—45	68.0	0.45

Auch in diesen drei Versuchen zeigen die K-Werte eine sehr gute Konstanz. Die Hämolyse verläuft um so langsamer, je konzentrierter die Blutlösung ist. Eine Zusammenstellung der J.- und K.-Werte dieser Versuche zeigt, daß die J-Werte der Konzentration des Blutes proportional, die K-Werte derselben umgekehrt proportional sind. Es muß also $J : C$ (Blut) und $J \propto C$ (Blut) konstant sein.

Dies zeigt die folgende Tabelle:

Tabelle XXXIV.

Konz. des Blutes	J	K	$\frac{J}{C}$	$K \propto C$
2	15.5	1.04	7.8	2.08
3	21	0.68	7.0	2.04
4	28	0.46	7.0	1.84

Das Ergebnis dieser Versuche gestattet nun, sich folgendes Bild über die Ammoniakhämolyse zu machen.

Durch das Ammoniak werden die Vorgänge beim Freiwerden des Hämoglobins stark beschleunigt, sodaß sie mit relativ großer Geschwindigkeit verlaufen.

Unter diesen Umständen nähert sich aber, wie im ersten Kapitel besprochen wurde, die kolorimetrische Kurve der Sterbekurve.

Da diese hier einer Geraden entspricht — denn die unter dieser Voraussetzung berechneten K-Werte zeigen eine sehr gute Konstanz —, so zeigt dies, daß die Wirkung des Ammoniak während der Reaktionsdauer konstant bleibt.

Wenn sie während der Reaktion abnähme, so müßten die berechneten Werte von K kleiner werden.

Da die Geschwindigkeit der Hämolyse proportional ist der Anfangskonzentration des Ammoniak, und umgekehrt proportional der Konzentration des Blutes, so muß man annehmen, daß das zugesetzte Ammoniak sofort unter alle Blutkörperchen gleichmäßig verteilt wird. Die kolorimetrische Messung gibt uns dann nur das Endresultat der Vorgänge, die sich in den einzelnen Blutkörperchen abspielen. Hierbei können natürlich innerhalb der einzelnen Blutkörperchen Änderungen der Ammoniakkonzentration erfolgen, die sich aber der Wahrnehmung entziehen.

Im Verlaufe der Hämolyse, soweit sie durch die kolorimetrische Beobachtung gemessen werden kann, kommt aber jedenfalls eine Änderung der Ammoniakkonzentration in keiner Weise zum Ausdruck und es erscheint die Annahme gerechtfertigt, daß das Ammoniak während der Reaktion innerhalb der Blutkörperchen unwirksam gemacht wird.

Arrhenius hat die Geschwindigkeit der Hämolyse unter der Voraussetzung zu berechnen versucht, daß sie bei konstanter Konzentration des Ammoniak proportional sei dem Betrage der vorhandenen Blutkörperchen. Es müßte dann die Gleichung

$$\log \frac{100 - x_0}{100 - x_1} = K(t_1 - t_0)$$

Geltung haben. Es ergab sich, daß diese Formel auf seine Versuchsdaten angewandt, nicht zu konstanten Werten führte. Er erhielt aber solche, wenn er die nach der ersten Formel erhaltenen K-Werte durch die Quadratwurzel des dazugehörigen x dividierte.

Ich habe in der Tabelle XXVIII, 2 und XXIX die Werte K_1 nach der Formel $K_1 = \frac{1}{(t_1 - t_0)} \log \frac{100 - x_0}{100 - x_1}$ berechnet.

Sie zeigen ebenso wie bei Arrhenius, keine Konstanz.

Unter K_2 sind dann die Werte verzeichnet, die man erhält, wenn man K_1 mit der Quadratwurzel des dazugehörigen x dividiert. Man sieht, daß auch diese Werte keine Konstanz zeigen, wiewohl sie nach der Angabe von Arrhenius konstant sein sollten.

Es zeigt dies, daß die Voraussetzungen von Arrhenius nicht den Tatsachen entsprechen. Noch einleuchtender wird dies durch die Versuche der Tabellen XXXII und XXXIII. Wenn die Geschwindigkeit der Hämolyse der Zahl der Blutkörperchen proportional wäre, so müßte sie in den Lösungen, die mehr Blut enthalten, größer sein, als in den Lösungen mit weniger Blut. Gerade das Gegenteil ist aber der Fall, wie es auch vom biologischen Standpunkte aus als selbstverständlich erscheint.

Die Auffassung von Arrhenius, nach welcher bei der Hämolyse die einzelnen Blutkörperchen ähnlichen Gesetzen folgen sollen, wie chemische Moleküle, vermag also eine den Tatsachen entsprechende Erklärung der Vorgänge nicht zu geben.

Faßt man dagegen die Hämolyse auf als die Summe von Teilvorgängen, bei welchen jedes Blutkörperchen seine eigene, individuelle Rolle spielt und wobei der Gang der Hämolyse wesentlich und gesetzmäßig beeinflußt wird durch die aus ihrem verschiedenen Alter erklärbare Verschiedenheit der Blutkörperchen, so stößt man auf keinen Widerspruch der experimentellen Befunde mit den gemachten Voraussetzungen.

Zusammenfassung und Schluß.

Der Inhalt der vorstehenden Arbeit läßt sich in folgende Sätze zusammenfassen:

1. Die Hämolyse setzt sich zusammen aus einer Reihe von Teilvorgängen. Von diesen sind die wesentlichsten

- a. das Absterben der roten Blutzellen,
- b. die physikalisch-chemischen Vorgänge, die den Austritt des Hämoglobins aus den Blutkörperchen bedingen.

2. Es wurde besprochen, in welcher Weise diese Teilvorgänge sich im Gange der Hämolyse bemerkbar machen können. Der einfachste Fall tritt ein, wenn der zweite Teil der die Hämolyse bewirkenden Vorgänge sehr rasch verläuft. Dann wird die Hämolyse bei Verwendung von Blut eines normalen, erwachsenen Tieres mit konstanter Geschwindigkeit verlaufen.

3. Dieser Fall wurde annähernd realisiert gefunden bei der Hämolyse durch Ammoniak.

4. Die Geschwindigkeit der Ammoniakhämolyse ist innerhalb gewisser Grenzen proportional der Konzentration des Ammoniaks und umgekehrt proportional der Konzentration des Blutes.

5. Die Induktionszeit ist bei der Ammoniakhämolyse umgekehrt proportional der Konzentration des Ammoniak und proportional der Konzentration des Blutes.

6. Es wurde die Hämolyse in Neutralsalzlösungen bei 47,5, 50 und 52,5° C untersucht.

7. Die Geschwindigkeit der Hämolyse in Neutralsalzlösungen steigt anfangs und nimmt später wieder ab. Dieses Verhalten entspricht etwa dem, welches man auf Grund der Teilvorgänge der Hämolyse erwarten durfte.

8. Bei den meisten der untersuchten Salze findet sich die Beziehung, daß die Zeiten, nach welchen gleiche Mengen Blut in den verschiedenen Salzlösungen hämolysiert sind, in einem konstanten Verhältnis stehen.

9. Die Reihenfolge, in welcher die Ionen die Hämolyse begünstigen, ist für 47,5° C

für 50° C

für 52,5° ist sie die gleiche wie für 50° C, nur ist für die Magnesiumsalze die Beziehung $\text{Cl} < \text{SO}_4$ umgekehrt. Die Magnesiumsalze nehmen auch außerdem eine Ausnahmestellung ein, es scheinen in ihren Lösungen besondere Reaktionen stattzufinden.

10. Das Serum hemmt die Hämolyse in Neutralsalzlösungen. Diese hemmende Wirkung ist bei den verschiedenen Salzen verschieden stark.

11. Diese hemmende Wirkung kommt auch dem Serum anderer Tiere der gleichen Art, sowie fremdartigem Serum zu.

12. Die hemmende Wirkung des Serums wird durch Erhitzen auf 52,5° und 65° C nicht zerstört.