(Aus dem physiologischen Institut in Bonn.)

Widerlegung
der Einwände des Herrn H. J. Hamburger gegen das
Prinzip der von L. Bleibtreu und mir begründeten
Methode der Blutkörperchenvolumbestimmung.

Von

Dr. **Max Bleibtreu.**

In einem der letzten Hefte des „Centralblattes für Physiologie“ (17. Juni 1893, Heft 6) hat H. J. H a m b u r g e r unter dem Titel „Die physiologische Kochsalzlösung und die Volumbestimmung der körperlichen Elemente im Blute“ prinzipielle Einwände gegen die im Jahre 1891 (51. Band dieses Archivs) von L. Bleibtreu und mir veröffentlichte und seitdem mehrfach erprobte Methode zur Bestimmung des Volums der körperlichen Elemente im Blut erhoben; die vollständige Grundlosigkeit dieser Einwände beabsichtige ich in den folgenden Zeilen darzulegen.

Unsere Methode beruht darauf, dass mehrere Mischungen von Blut mit 0,6procentiger Kochsalzlösung in verschiedenen bekannten Volumverhältnissen angefertigt und nach dem Absetzen der Blutkörperchen der Stickstoffgehalt der mit der Pipette abgehobenen körperchenfreien Flüssigkeit bestimmt wird; durch Vergleichung je zweier dieser Stickstoffgehalte untereinander oder mit dem Stickstoffgehalt des unvermischten Serums erhält man je einen Ausdruck für das Volum des Serums bzw. des der körperlichen Elemente in einem Volum Blut. Wegen der einfachen analytischen Ausdrücke, welche zu dieser Berechnung führen, verweise ich auf unsere früheren Aufsätze in diesem Archiv (Band 51, S. 151, Band 54, S. 1).

Grundlage dieser Berechnung war die Annahme, dass bei der Vermischung des Blutes mit 0,6procentiger Kochsalzlösung sich die zugesetzte Salzlösung nur mit dem in dem Blut vorhandenen Serum vermische (also die Flüssigkeit mit der Flüssigkeit) und dass die Blut-

körperchen dabei unverändert bleiben. Wenn diese Voraussetzung zutreffend war, so musste die Methode, welche den Vorzug hat, sich selbst zu controliren, indem sie, sobald mehr als eine Mischung angewandt wird, mehrere Werthe für die gesuchte Grösse gibt, untereinander genau übereinstimmende Werthe geben und diese Werthe müssen der richtige Ausdruck für das Volum der körperlichen Elemente sein.

Der thatsächliche Erfolg war nun bei den Mischungsverhältnissen, wie wir sie anzuwenden pflegten, eine ausgezeichnete Uebereinstimmung. Sobald aber statt der 0,6procentigen Kochsalzlösung eine Salzlösung benutzt wurde, von der es bekannt war, dass sie die Blutkörperchen in ihrem Volum nicht unverändert lässt, — Magnesiumsulfatlösung —, hörte diese Uebereinstimmung auf. Bei den Mischungen mit 0,6procentiger Kochsalzlösung aber ging der Grad der Uebereinstimmung so weit, dass man im Stande war, nachdem man durch zwei Mischungen das Volum der Körperchen bestimmt hatte, nun den Stickstoffwerth des Serums rückwärts zu berechnen und denselben dadurch ebenso genau zu finden, als wenn man das Serum direkt analysirt hätte.

Man vergleiche in dieser Beziehung nur die in unseren früheren Veröffentlichungen vorgerechneten Beispiele (54. Bd. dieses Arch. S. 5, 51. Bd. S. 173) und versuche, das aus den Mischungen berechnete Volum der Körperchen auch nur um ein Geringses zu vergrössern oder zu verkleinern, und man wird sich davon überzeugen, dass dann diese Uebereinstimmung nicht mehr stattfindet.

Wenn darin auch schon die zweifellose Gewähr für die Richtigkeit der mit unserer Methode gefundenen Zahlen für das Volum der körperlichen Elemente lag und damit auch die Unbedenklichkeit der der Methode zu Grunde liegenden Voraussetzung vom Intaktbleiben der rothen Blutkörperchen bei den angewandten Mischungen mit 0,6procentiger Kochsalzlösung sicher gestellt war, so hatte ich es doch für zweckmässig gehalten in meiner letzten Abhandlung („Ueber die Wasseraufnahmefähigkeit der rothen Blutkörperchen etc.“ 54. Bd. S. 1 dieses Archivs) auch noch von einer ganz anderen Seite her die Richtigkeit unserer Methode zu prüfen und zu diesem Zweck eine vergleichende Controlbestimmung nach der Hoppe-Seyler'schen Decantationsmethode ausgeführt, welche auf ganz anderen Prinzipien beruht, und war dabei zu fast absolut übereinstimmenden Werthen gelangt.

Meinen Ausführungen in der erwähnten Abhandlung habe ich nichts hinzuzufügen; ich glaube, dass Niemand, der dieselbe mit Aufmerksamkeit durchgelesen hat, daran zweifeln wird, dass die Voraussetzung, auf der unsere Methode beruht, richtig ist; diese Voraussetzung besteht aber darin, dass bei den Mischungsverhältnissen, wie wir sie angewandt haben, eine Veränderung des Volumens und des Stickstoffgehaltes der rothen Blutkörperchen in einem nachweisbaren Maassstabe nicht stattfindet. Die Indifferenz der rothen Blutkörperchen gegen physiologische Kochsalzlösung haben wir nur in diesem Maassstabe behauptet und nicht bloss behauptet, sondern auch in aller Strenge bewiesen. Wenn Hamburger in seinen Bemerkungen sagt, dass unsere Voraussetzung nicht zutreffend sei, so übersieht er dabei, dass es uns durchaus nicht eingefallen ist, zu behaupten, dass die 0,6procentige Kochsalzlösung, in jedem Verhältniss beigemischt, absolut indifferent gegen die rothen Blutkörperchen sich verhalte. Lange ehe Hamburger seine Bemerkungen über unsere Methode veröffentlichte, habe ich mich darüber in dem erwähnten Aufsatz „Ueber die Wasseraufnahmefähigkeit der rothen Blutkörperchen etc.“ mit folgenden Worten ganz deutlich ausgesprochen: „Die Concentration der physiologischen Kochsalzlösung stellt also die Grenze dar, bei welcher das Diffusionsgleichgewicht für Gewebeelemente und umgebende Flüssigkeit hergestellt ist. Dass dieses Gleichgewicht natürlich kein absolutes ist und dass doch ein kleiner Austausch von colloiden oder krystalloiden Substanzen gegen Wasser herüber oder hinüber stattfinden kann, dass auch nicht immer 0,6% Kochsalz der richtige Concentrationsgehalt für „physiologische“ Kochsalzlösung ist, mag zugegeben werden; jedenfalls treten nachweisbare Veränderungen bei Zusatz von nicht allzu grossen Mengen 0,6procentiger Kochsalzlösung nicht ein.“ Wir haben ausserdem ausdrücklich eine Grenze für den Maassstab der Verdünnung vorgeschrieben, nämlich die Verdünnung von Blut und 0,6procentiger Kochsalzlösung zu gleichen Theilen. Ich glaube zwar, dass man mit der Verdünnung noch weiter gehen könnte, ohne dass die Richtigkeit unserer Voraussetzung gefährdet würde. Indessen haben wir es, nachdem wir einmal bei bedeutend stärkerer Verdünnung abweichende Resultate erhalten hatten, der Vorsicht halber für richtiger gehalten, sich mit dieser Grenze der Verdünnungsverhältnisse zu begnügen. Die gute Uebereinstimmung unserer

Resultate glaubt nun H a m b u r g e r damit erklären zu können, dass wir „gewöhnlich weit unter dieser Grenze geblieben“ seien. Das ist ein Irrthum. Sowohl in unserer ersten Veröffentlichung¹⁾, als auch in den nach unserer Methode ausgeführten Versuchen von L a n g e²⁾, von Wendelstadt und Bleibtreu³⁾, sowie in einer grösseren Anzahl noch unveröffentlichter Versuche von mir selbst ist das Verdünnungsverhältniss 1:1 sehr häufig, ja (wegen einer kleinen Vereinfachung der Berechnung) sogar mit Vorliebe benutzt worden. Ich habe bei allen Versuchen die Erfahrung gemacht, dass die Genauigkeit der erzielten Resultate ausschliesslich davon abhängt, dass die Abmessungen sehr genau ausgeführt und die Stickstoffanalysen richtig gemacht werden, nicht aber davon, ob man mit den Mischungsverhältnissen mehr oder weniger nah an die von uns gezogene Grenze herangeht. Die Abmessungen wird man aber bei Aufmerksamkeit und einiger Uebung sehr leicht mit der nöthigen Genauigkeit ausführen können und die überaus grosse Schärfe der Kjeldahl'schen Analyse sichert davor, dass die zulässige Fehlergrenze in der Stickstoffanalyse nicht überschritten wird. Wer sich aber vor der Weite der von uns gezogenen Grenze scheut, mag immerhin die Grenze enger ziehen, etwa bis zum Verhältniss 2 Kochsalzlösung : 3 Blut, ohne dass das der Genauigkeit der Resultate den geringsten Eintrag thut. Ich hebe das ausdrücklich hervor, um eine Bemerkung Hamburgers richtig zu stellen. Er sagt: „Sie bleiben dann auch gewöhnlich weit unter dieser Grenze und dem wird man es wohl zuschreiben müssen, dass ihre Controlversuche befriedigend ausfallen. Indessen darf man nicht vergessen, dass — die Autoren heben es selbst hervor — bei der Anwendung von relativ geringen Mengen Salzlösung kleine Versuchsfehler einen grossen Einfluss auf die Resultate ausüben müssen.“ Auch dieses ist ein Irrthum. Wir haben lediglich davon gesprochen, S. 172, dass die Fehler bei unserer Methode wachsen, je näher die Concentrationsgrade der Mischungen beieinander liegen, und dass im Allgemeinen die aus Vergleichung je einer Mischung mit dem Serum erhaltenen Resultate aus diesem Grund genauer ausfallen, als die aus Vergleichung der Mischungen

1) Dieses Arch. Bd. 51.

2) Dieses Arch. Bd. 52.

3) Dieses Arch. Bd. 52.

untereinander. Man wird z. B. nicht zweckmässig die Mischung 4:5 und 5:6 miteinander vergleichen. Aber der Spielraum, den man vom unverdünnten Serum bis zum Mischungsverhältniss 1:1 oder, wenn man lieber will, 2:3 hat, genügt vollauf, um die genauesten Resultate zu erhalten. Dass die sehr nahe aneinanderliegenden Concentrationsgrade bei ihrer Vergleichung untereinander von grösseren Fehlern bedroht werden, ist eine so selbstverständliche Folge der Form der benutzten analytischen Ausdrücke, dass ich mir ein näheres Eingehen darauf ersparen kann.

Ich habe also bezüglich der Einwände Hamburger's bisher festgestellt, erstens, dass hinsichtlich der prinzipiellen Frage, ob die 0,6procentige Kochsalzlösung eine absolut indifferente Flüssigkeit für rothe Blutkörperchen sei, eine Meinungsverschiedenheit zwischen uns nicht besteht, indem ich das, was Hamburger anführt, schon lange, ehe er seine Bemerkungen veröffentlicht hat, zugegeben habe, zweitens aber, dass in der von uns für die Mischungsverhältnisse gezogenen Grenze eine verändernde Einwirkung der 0,6procentigen Kochsalzlösung auf die rothen Blutkörperchen weder hinsichtlich ihres Volums, noch hinsichtlich ihres Stickstoffgehaltes nachgewiesen werden kann. Es findet weder eine Wasseraufnahme von 115% statt, wie sie von Lackschewitz behauptet worden ist, noch auch eine solche von 11%, wie Hamburger sie behauptet. Im letzteren Punkt besteht die Differenz zwischen Hamburger und uns, indem Hamburger durch einen „einfachen Versuch“ bewiesen zu haben meint, dass bei der Vermischung von Pferdeblut mit 0,6procentiger Kochsalzlösung zu gleichen Theilen das Volum der Blutkörperchen um 11% zugenommen und der Eiweissgehalt des Serums durch Eiweissaustritt aus den Blutkörperchen um 3,5% sich vermehrt habe.

Dieser ganze Versuch Hamburger's beweist nichts, weil er sich auf eine allerdings sehr einfache, aber trotzdem **grundfalsche** Methode der Bestimmung des Volums der Blutkörperchen stützt.

Ich lasse hier die Beschreibung des Versuchs wörtlich folgen:

„Es werden viermal 40 ccm defibrinirtes Pferdeblut abgemessen; die erste Portion (1) wird versetzt mit 40 ccm des dazu-

„gehörigen Serums, die zweite (2) mit 40 cem einer 0,6procentigen „NaCl-Lösung, die dritte (3) mit 40 cem einer 1procentigen NaCl-Lösung, und die vierte (4) mit 40 cem einer Mischung von 30 cem „Serum + 10 cem Wasser.

„Alle vier werden in calibrirten Gläschen centrifugirt, so lange „bis die Blutkörperchenmasse keine Volumsabnahme mehr zeigt. „In jedem Reservoir wird nun das Volum der körperlichen Elemente abgelesen; dann wird die klare, absolut nicht röthliche „Flüssigkeit abgehoben und analysirt.

Versuch.	Volum der körperlichen Elemente in 40 cem Blut.	gr Eiweiss im Serum von 40cem Blut(berechnet mit Hilfe der vorigen Spalte).
	cem	
„1. 40 cm ³ Blut + 40 cm ³		
„Serum	13,5 (Normal)	1,142
„2. 40 cm ³ Blut + 40 cm ³		
„NaCl-Lösung von 0,6%	15	1,188
„3. 40 cm ³ Blut + 40 cm ³		
„NaCl-Lösung von 1 %	13,1	1,105
„4. 40 cm ³ Blut + (30 cm ³		
„Serum + 10 cm ³ Wasser)	14,1	1,176“

Ich kann die Bemerkung nicht unterdrücken, dass ich im höchsten Grade erstaunt war, dass Hamburger die zweite Colonne dieser Tabelle „Volum der körperlichen Elemente in 40 cem Blut“ überschrieben hat.

Was hat denn überhaupt das Volum des Bodensatzes, welchen man beim Centrifugiren erhält, mit dem Volum der Blutkörperchen zu thun?!

Doch nichts, und weiter gar nichts, als dass man sicher weiss, dass das Volum der Blutkörperchen kleiner ist als dieses Volum. Um wieviel kleiner, ist vollständig unbekannt. In seiner Abhandlung „Ueber die Wasseraufnahmefähigkeit der rothen Blutkörperchen etc.“¹⁾ führt Lack-schewitz (S. 22) einen Versuch am Hund an, dem er 10 % seiner präsumptiven Blutmenge an physiologischer Kochsalzlösung eingespritzt hatte. In der alsdann entnommenen Blutprobe gelang

1) Inaug. Diss. Dorpat 1892.

es ihm trotz zweistündigen Centrifugirens nicht, überhaupt Serum zu erhalten. Daraus zog er den Schluss, die rothen Blutkörperchen hätten soviel Wasser aufgenommen, dass das Serum gerade noch ausgereicht hätte, die Intercellularräume auszufüllen. Ganz dieselbe Art der Schlussfolgerung befolgt Hamburger! Ja noch mehr, nach Hamburger hätte Lackschewitz aus diesem Versuch den Schluss ziehen müssen, das Volum der Blutkörperchen sei 100 % geworden, Serum sei überhaupt nicht mehr vorhanden gewesen.

Schon aus diesen ganz widersinnigen Consequenzen, zu denen die Annahme führt, dass man durch Centrifugiren des Blutes in der Grösse des Bodensatzes ein auch nur einigermaassen zuverlässiges Maass für das Körperchenvolum gewinnen könne, zeigt deutlich, dass diese Annahme falsch sein muss.

So viel ist zunächst von vornherein ganz klar, dass zwischen den Blutkörperchen immer noch Zwischenräume bleiben, die mit Flüssigkeit angefüllt sind, dass das Volum der Körperchen in jedem Falle kleiner ist, als das Volum des Bodensatzes. Selbst diese ganz selbstverständliche Sache wird von Hamburger ausser Acht gelassen. Nun ist aber die weitere Frage: Hat man irgend einen Grund anzunehmen, dass das wirkliche Volum um einen gewissen festen Procentsatz kleiner sei als der kleinste Bodensatz, den man durch Centrifugiren erreichen kann? Gibt es überhaupt irgend eine sichere Beziehung zwischen der Grösse der Senkungsschicht und dem Volum der Blutkörperchen?

Diejenigen, welche ohne Weiteres derartige Methoden der Bestimmung des Blutkörperchenvolums für zulässig halten, haben diese Frage gar nicht geprüft, sondern einfach angenommen, es sei der Bodensatz, wenn auch nicht geradezu gleich (wie Hamburger es thut!), so doch mindestens proportional dem Volum der Blutkörperchen, so dass man in der Senkungsschicht wenigstens ein relatives Maass für das Körperchenvolum hätte. Die älteren Forscher, die sich mit der Zusammensetzung des Blutes beschäftigt haben, wie Carl Schmidt und Weleker, haben sich die grösste Mühe gegeben, die Grösse des Volums der Körperchen zu ermitteln; hinsichtlich der Grösse der Senkungsschicht haben sie sich aber stets sehr bescheiden dahin ausgesprochen, dass deren Grösse insofern in Betracht zu ziehen sei, als sie eine obere Grenze für die Grösse des Körperchenvolums darstelle. Auch

nachdem von Bunge die Centrifuge zur Beschleunigung der Bildung der Senkungsschicht empfohlen worden war, haben die Physiologen dieses Mittel nur dazu benutzt, auf schnellere und bessere Weise Serum zu erhalten. Dass man ohne weiteres die Grösse der Senkungsschicht als Blutkörperchenvolum bezeichnen könne, ist erst eine Entdeckung der Neuzeit.

Dass die Senkungsschicht der Blutkörperchen nicht in einem bei allen Thierarten gleichen festen Verhältniss zum wirklichen Volum der Körperchen steht, geht schon aus der ungemein grossen Verschiedenheit hervor, mit welcher sich der Senkungsprocess bei dem Blut der verschiedenen Thierarten vollzieht. Beim Pferdeblut sehen wir diesen Prozess sich vor unsern Augen schon oft innerhalb von Minuten vollziehen und meist in 24 Stunden vollständig zu Ende laufen, so dass eine weitere Verkleinerung der Bodensatzschicht nicht mehr eintritt; beim Schweineblut aber kann man oft mehrere Tage lang warten, bis das sich selbst überlassene Blut sich soweit abgesetzt hat, dass man beträchtlichere Mengen Serum abheben kann. Noch viel langsamer verläuft der Vorgang beim Rinderblut. Schweineblut und Rinderblut mag man noch so lange stehen lassen, man wird niemals beobachten, dass sich die Körperchen auch nur annähernd so vollständig absetzen wie bei einem Pferdeblut von gleichem Körperchengehalt.

Wie ist diese Erscheinung zu erklären? Jedenfalls nicht durch eine Verschiedenheit des specifischen Gewichtes, indem man für die Pferdeblutkörperchen ein bedeutend höheres specifisches Gewicht annimmt, als für Schweineblutkörperchen. Denn das specifische Gewicht der letzteren ist nur unbedeutend niedriger als das der ersteren. Das specifische Gewicht der Blutkörperchen des Pferdes hatte in 7, theils von L. Bleibtreu und mir¹⁾, theils von mir allein²⁾ untersuchten Fällen Werthe, die zwischen 1113,53 und 1121,1 betrugen, wobei es keineswegs aufgefallen war, dass der Absetzungsprocess sich in den Fällen mit dem höhern specifischen Gewichte schneller oder vollständiger vollzogen hätte als in den andern Fällen. Derselbe Werth für Schweineblut betrug in 5 von Dr. O. Lange³⁾ untersuchten Fällen 1109,4 bis 1114,3, in einem von mir selbst

1) M. u. L. Bleibtreu a. a. O. 51. Bd. dieses Archivs.

2) In noch unveröffentlichten Versuchen.

3) O. Lange 52. Bd. dieses Archivs.

untersuchten Falle 1109,8. Der Mittelwerth der beobachteten specifischen Gewichte für das Pferdeblut beträgt 1116,54, für das Schweineblut 1111,5, also eine deutliche aber keineswegs beträchtliche Differenz, wobei aber noch wohl zu bemerken ist, dass die Spielräume der beobachteten specifischen Gewichte sich zum Theil decken, so dass der höchste Schweineblutwerth über dem niedrigsten Pferdeblutwerth lag. Das specifische Gewicht des Serums war in denselben Fällen beim Pferd im Mittel 1027,8, beim Schwein im Mittel 1028,5. Abgesehen davon, dass solch kleine Unterschiede im specifischen Gewicht nicht das so ungemein verschiedene Verhalten beim Senkungsprocess erklären können, ist noch besonders zu erwähnen, dass in einem bestimmten Falle, wo das specifische Gewicht der Körperchen beim Pferd 1113,9, das specifische Gewicht des Serums 1028,6 betrug und in einem Falle, wo das specifische Gewicht der Körperchen beim Schwein 1114,3, das des Serums 1028,04 betrug, so dass also die specifischen Gewichtsverhältnisse entschieden für das Absetzen des Schweineblutes günstiger lagen als für das Pferdeblut, trotzdem dieses Pferdeblut sich hinsichtlich des Absetzens ganz so verhielt, wie Pferdeblut, so nämlich, dass es sich in wenigen Stunden vollständiger abgesetzt hatte, als das Schweineblut in ebenso vielen Tagen!

Daraus geht hervor, dass es nicht die Differenz des specifischen Gewichtes der Körperchen und des Serums allein ist, was die Schnelligkeit und die Vollständigkeit des Absetzens der Körperchen beeinflusst, sondern dass hier noch andere Einflüsse im Spiele sind, welche der Neigung der Körperchen, ihrem höheren Eigengewicht folgend, sich zu Boden zu senken, entgegen wirken, und welche dadurch die Senkungsgeschwindigkeit der Körperchen, in dem einen Blut mehr, in dem anderen weniger, vermindern und bald früher bald später der sinkenden Bewegung der Körperchen überhaupt ein Ziel setzen.

Nun kann man allerdings durch Centrifugiren des Blutes, besonders wenn es in einem engen Röhrchen geschieht, den Senkungsprocess sehr beschleunigen; Pferdeblut setzt sich meistens in 24 Stunden so vollständig ab, dass es nun auch durch anhaltendes Centrifugiren oft nicht mehr gelingt, das Volum der Senkungsschicht noch mehr zu verkleinern. Es verhält sich aber bei der Anwendung der Centrifuge nicht anders, als wenn man die Schwerkraft um einen gewissen grossen Zuwachs vermehrte. Man erhält

dadurch die Senkungsschicht schneller und bei denjenigen Blutarten, die sich schwer absetzen, auch vollständiger, als wenn man das Blut durch den Einfluss der Schwerkraft allein sich absetzen liesse. Aber es ist gar kein Grund einzusehen, weshalb nicht die entgegenwirkenden Kräfte hier ebenso gut wirksam sein sollten, als bei dem der Einwirkung der Schwerkraft allein überlassenen Blute.

Welches alle die Umstände sind, die den Senkungsprocess der Körperchen compliciren, ist nicht bekannt; jedenfalls kommen Oberflächenwirkungen, die von der Grösse und Gestalt und Oberflächenbeschaffenheit der Körperchen sowohl als von den physikalischen Eigenschaften des Serums abhängig sind, in Betracht; auch ist die Wand des Gefässes, in welchem sich das Blut absetzt, besonders wenn es sich um ein enges Rohr handelt, wahrscheinlich von Einfluss auf den Vorgang, so dass das Volum der Senkungsschicht auch von der Natur des Glases und dem Durchmesser des Glasrohres nicht unabhängig ist. Bei der ungeheuren Oberflächenentwicklung der Körperchen kommen jedenfalls Capillarwirkungen der mannigfaltigsten und verwickeltsten Art in Betracht.

Unzweifelhaft hat die Beschaffenheit der Zwischenflüssigkeit grossen Einfluss auf den Senkungsvorgang. Als wir unsere ersten Versuche über das Volum der Blutkörperchen anstellten, haben wir auch der Grösse der Senkungsschichten Beachtung geschenkt und dieselben öfter gemessen, weil wir glaubten, dadurch Anhaltspunkte für das wirkliche Volum finden zu können. Nachdem wir uns aber davon überzeugt hatten, dass auch nicht die Spur von einer festen Beziehung zwischen diesen Grössen festzustellen war und dass mit der Grösse der Senkungsschicht eben weiter nichts anzufangen war, als dass sie ein — weit über dem wirklichen Werthe liegendes — Maximum für das gesuchte Volum abgeben konnte, haben wir diese Messungen in späteren Versuchen aufgegeben. Durch unsere ersten Beobachtungen aber konnten wir Folgendes feststellen: Wenn Blut einmal für sich untersucht und ausserdem mit Magnesiumsulfatlösung vermischt wurde, letztere von solcher Concentration, dass eine bedeutende Schrumpfung der Blutkörperchen (auch mikroskopisch) nachzuweisen war, und beide Blutproben in hohen Standeylindern zum Absetzen hingestellt wurden, so kam es gar nicht selten vor, dass die Senkungsschicht in dem mit Magnesium-

sulfatlösung vermischten Blute grösser war als die im unvermischten Blut (natürlich auf gleiche Blutmengen bezogen). Ein anderweitiges Beispiel dafür, dass in Folge einer Veränderung der Zwischenflüssigkeit trotz einer nachweisbaren Verkleinerung des Körperchenvolums selbst unter der Anwendung der Centrifuge die Senkungsschicht beträchtlich grösser bleiben kann, als in dem Blute mit normaler Zwischenflüssigkeit, werde ich später noch erwähnen.

Wenn also Hamburger in seinem Versuch findet, dass 40 ccm Blut, vermischt einmal mit 40 ccm Serum, einmal mit 40 ccm 0,6 % iger CNa-Lösung, einmal mit 40 ccm 1 % iger CNa-Lösung und endlich mit 40 ccm einer Mischung von 30 ccm Serum mit 10 ccm Wasser resp. die Senkungsschichten 13,5 ccm, 15 ccm, 13,1 ccm, 14,1 ccm gaben, so wird dadurch nur bestätigt, dass die Grösse der Senkungsschichten abhängig ist von der Beschaffenheit der Zwischenflüssigkeit, die eben in jedem der untersuchten Fälle eine andere war; über das Volum der Körperchen in den einzelnen Fällen, sowie auch über die „Gramm Eiweiss im Serum von 40 ccm Blut“, wofür er Angaben in der dritten Colonne anführt, weiss er nach diesem ganzen Versuch gerade so viel wie vor demselben.

So leichten Kaufes, wie durch einfaches Centrifugiren des Blutes ist nun einmal eine Bestimmung des Blutkörperchenvolums nicht zu erlangen, und wer sich auf derartige Methoden verlässt, wird nothwendig auf Irrwege gelangen. In den klinischen Zeitschriften hat neuerdings eine Methode zur Bestimmung des Volums der körperlichen Elemente viel von sich reden gemacht, welche auf demselben Verfahren des Centrifugirens in einem engen capillaren Glasröhrchen beruht. Der dazu dienende Apparat führt den Namen „Hämatokrit“. Der ursprünglich von Blix und Hedin¹⁾ eingeführte Apparat wurde später von Gärtner²⁾ in eine technisch verbesserte Form gebracht. Gärtner beurtheilte den Werth des Apparates vollkommen richtig, indem er über denselben sagte: „Ein Messapparat kann richtige und falsche Angaben machen. Auch in letzterm Falle wird er noch unter gewissen Umständen verwendbar sein können; dann nämlich, wenn die gefundenen fal-

1) Hedin, Skandin. Arch. f. Physiol. 1890 p. 134.

2) Gärtner, Berlin. klin. Wochenschr. 1892 Nr. 36.

schen Werthe zu dem richtigen in irgend einem gesetzmässigen Verhältniss stehen.“ Da es Herrn Professor Gärtner aufgefallen war, dass Wendelstadt und L. Bleibtreu¹⁾ in einer Arbeit, in der vergleichende Bestimmungen des Blutkörperchenvolums nach unserer Methode und Bestimmungen der Blutkörperchenzahl nach Thoma-Zeiss ausgeführt worden waren, Zahl und Gesamtvolumen der Blutkörperchen bei den untersuchten gesunden Thieren fast genau parallel gingen, so sprach er in der Veröffentlichung über seine Versuche mit dem Hämatokrit den Wunsch aus, es möchte durch Vergleichsversuche mit unserer Methode dieser Apparat auf seine Brauchbarkeit nachgeprüft werden. Dieser Aufforderung folgend hat L. Bleibtreu den Hämatokrit durch vergleichende Untersuchungen mit unserer Methode geprüft und das Ergebniss dieser im Laboratorium des Augustahospitals in Köln ausgeführten Versuche in der Berliner Klinischen Wochenschrift 1893 Nr. 30 unter dem Titel „Kritisches über den Hämatokrit“ veröffentlicht.

Dass der Apparat absolut richtige Zahlen liefern sollte, war von vornherein ausgeschlossen, da die Senkungsschicht trotz allen Centrifugirens niemals dem Körperchenvolum selbst gleich werden kann; ein gesetzmässiges Verhältniss zwischen Senkungsschicht und wirklichem Körperchenvolum war aber nach unseren früheren oben angeführten Beobachtungen ebenfalls höchst unwahrscheinlich. Gleichwohl wurden die vergleichenden Bestimmungen ausgeführt, um zu ermitteln, wie gross auch in den relativen Verhältnissen der falschen zu den richtigen Zahlen der Fehler ausfallen würde. Das Ergebniss war, dass dieser Fehler ein sehr grosser ist. Ich theile nachstehend die Tabelle mit den Resultaten von L. Bleibtreu mit:

	Volumbestimmung mit dem Hämatokrit	Wirkliches Volum	Differenz
	p. Ct.	p. Ct.	
Pferdeblut 1	37,5	25,4	12,1
„ 2	49,0	34,7	14,3
„ 3	52,0	42,69	9,31
Schweineblut	59,0	34,8	24,2
Menschenblut 1	37,25	25,79	11,46
Menschenblut 2	42,75	25,16	17,59

1) 52. Band dieses Archivs.

Zunächst ging daraus hervor, dass das durch Centrifugiren bis zum Aufhören der Verkleinerung des Sedimentvolums erhaltene Volum ganz beträchtlich grösser ist als das wirkliche Volum, und zwar in ganz unregelmässigen Verhältnissen grösser; z. B. zwei Menschenblutarten von annähernd gleichem Gehalt an Körperchenvolum nämlich rund 25 cem in 100 cem Blut, gaben eine diese Zahl das eine Mal um 11,46 cem, das andermal um 17,59 cem übertreffende Senkungsschicht! Schweineblut, das sich bekanntlich viel schlechter absetzt als Pferdeblut und auch als Menschenblut, hat diese Eigenschaft auch unter der Einwirkung der (sehr kräftig wirkenden)¹⁾ Centrifuge nicht verloren. Die Unregelmässigkeit der Abweichungen wird gekennzeichnet durch folgende Tabelle, welche angiebt, mit welchen Zahlen man die falschen Werthe multipliciren muss, um die richtigen zu erhalten:

beim Pferdeblut	in Versuch 1 mit	0,677
" "	" "	2 " 0,701
" "	" "	3 " 0,821
" Schweineblut	" "	" 0,590
" Menschenblut	" "	1 " 0,693
" "	" "	2 " 0,588

Es geht daraus hervor, dass, wenn man auch nur mit relativen Zahlen für das Volum der Blutkörperchen sich begnügen will, man bei Anwendung der Centrifuge vor Fehlern von einigen 30% nicht gesichert ist. Dass aber eine solche Methode schlechter ist als gar keine, wird wohl Niemand bestreiten.

Bei diesen Versuchen wurde das zu untersuchende Blut nach den von Gärtner für die Benutzung des Hämatokrits gegebenen Vorschriften mit 2,5procentiger Kaliumbichromatlösung verdünnt. Es wurde daher eingehend geprüft, welchen Einfluss diese Lösung auf das Blutkörperchenvolum hatte. Diese Prüfung hatte das Ergebniss, dass die Blutkörperchen des Pferdes in dieser Lösung nicht bedeutend, aber doch um einen immerhin nachweisbaren Betrag schrumpften. Dasselbe Pferdeblut (es ist der erste Versuch in der Tabelle) ergab als Senkungsschicht im Hämatokrit 37,5 cem auf 100 cem Blut berechnet (gegenüber einem wirklichen Volum von 25,4 cem). Durch einfaches Sedimentiren in einem Reagenscy-

1) Die Gärtner'sche Kreiselcentrifuge ist ein zu Sedimentirungszwecken sehr brauchbarer Apparat.

linder ohne Anwendung der Centrifuge ergab aber dasselbe Blut 32,55 ccm Senkungsschicht auf 100 ccm Blut berechnet.

Also trotzdem das Volum der Körperchen durch die Vermischung mit der Kaliumbichromatlösung um einen nachweisbaren Betrag kleiner geworden war, ergab das vermischte Blut eine um c. 15% grössere Senkungsschicht als das unvermischte Blut, trotzdem bei jenem die Bildung der Senkungsschicht durch die kräftige Centrifuge begünstigt, bei diesem das Sedimentiren der Schwerkraft allein überlassen wurde!

Im zweiten Pferdeblutversuch fand dasselbe statt, indem im vermischten Blut eine um c. $7\frac{1}{2}\%$ grössere Senkungsschicht beobachtet wurde, als im sich selbst überlassenen unvermischten Blut. Im dritten Pferdeblutversuch war umgekehrt die Senkungsschicht im vermischten Blut um c. 5% kleiner, als im unvermischten (also auch in dieser Beziehung ein ganz regelloses Verhalten).

Nachdem also durch diese Versuche nachgewiesen worden ist, dass die durch Centrifugiren erhaltene Senkungsschicht

1. stets beträchtlich grösser ist als das wirkliche Körperchenvolum,
 2. in einem durchaus regellosen Verhältniss grösser ist als das wirkliche Volum und
 3. dass sogar ein verkleinertes Volum eine bedeutend vergrösserte Senkungsschicht geben kann,
- brauche ich über die Schlüsse, die Hamburger in seinem Versuche aus der Senkungsschicht auf das Körperchenvolum gezogen hat, wohl kein Wort mehr hinzuzufügen.

Dass man auf Grund der Versuche mit einer solchen Methode vollends nicht im Stande ist, über die quantitativen Verhältnisse des Eiweisses im Serum einer gegebenen Volummenge Blutes irgend welche Aussagen zu machen, versteht sich von selbst.

Mit dem erwähnten Versuche Hamburger's fällt aber auch Alles, was er an Schlussfolgerungen über Veränderung des Volums und des Eiweissgehaltes der Körperchen daraus gezogen hat, weg, überhaupt jede experimentelle Unterlage für seine Angriffe auf das Prinzip unserer Methode.

Was aber unsere Methode selbst betrifft, so hebe ich zum Schlusse nochmals hervor, dass, da die Resultate derselben einander selbst controliren, man bei jedem Versuch entscheiden kann,

ob die zugesetzte 0,6 procentige Kochsalzlösung einen verändernden Einfluss auf das Volum und den Eiweissgehalt der Körperchen gehabt hat. Ich will nicht behaupten — und damit wiederhole ich bloss, was ich in meiner früheren Abhandlung schon ausgesprochen habe — dass gerade für jedes Blut 0,6% Kochsalz für die Verdünnungsflüssigkeit der zweckmässigste Gehalt sei; möglicherweise giebt es Fälle, wo man vortheilhafter einen etwas anderen Concentrationsgrad nimmt. Darüber wird aber immer der Grad der Uebereinstimmung der Resultate entscheiden. Ich habe bei 0,6% Kochsalzgehalt stets Resultate gehabt, die in ihrer guten Uebereinstimmung die Gewähr für ihre Richtigkeit trugen, und ich möchte daher Allen, die die Methode benutzen wollen, nur empfehlen, sich genau an die von uns gegebenen Vorschriften zu halten, sich vor der von uns gezogenen Verdünnungsgrenze (Verhältniss 1:1 für Blut und Kochsalzlösung) nicht zu scheuen und auch getrost die 0,6procentige Kochsalzlösung anzuwenden, ohne sich den Kopf darüber zu zerbrechen, ob dieselbe „isotonisch“, „hypisotonisch“ oder „hyperisotonisch“ sei.