(Aus dem Institut für Pathologie zu Batavia, Director Dr. C. Eykman.)

Ueber den Einfluss gelöster Stoffe auf die rothen Blutzellen, in Verbindung mit den Erscheinungen der Osmose und Diffusion.

Von

Dr. G. Gryns.

Mit 1 Textfigur.

Als ich vor wenigen Jahren meine Untersuchungen über das specifische Gewicht von Blut und Plasma der Tropenbewohner begann¹⁾, stellte ich mir als weiteres Ziel, auch das Volumen der rothen Blutkörperchen nach der Centrifugirmethode zu bestimmen.

Weil keiner der Forscher, die mit dem Haematokrit arbeiteten, meiner Meinung nach, bei der Wahl der Mischflüssigkeit genügend berücksichtigten, dass dieselbe eine gleiche wasseranziehende Kraft (osmotischen Druck) wie das Plasma haben muss, so beschloss ich in erster Linie zu untersuchen, wie weit der Einfluss sich erstreckt, den verschiedene Lösungen mit ungleichem osmotischen Druck auf das Volumen des Bodensatzes haben.

Die bei diesen Versuchen erlangten Resultate ermunterten mich, in der einmal eingeschlagenen Richtung weiter fort zu schreiten, als ich anfangs beabsichtigte.

Bevor ich jedoch zu einer Besprechung der wahrgenommenen Erscheinungen übergehe, wird eine kurze Uebersicht über Osmose erwünscht erscheinen. (Vgl. Ostwald, Lehrbuch der allgem. Chemie, Bd. I. S. 651 ff.)

Wenn zwei Lösungen mit einander in Berührung stehen, so kann Uebergang von Molecülen von der einen zur anderen, bezw. Austausch von Molecülen zwischen den beiden stattfinden. Indem

1) Virchow's Archiv. Bd. 139.

wir nur die Fälle berücksichtigen, wobei das nämliche Lösungsmittel gebraucht wurde, giebt es dabei Folgendes zu unterscheiden:

1. Die beiden Flüssigkeiten sind durch keine Zwischenwand von einander getrennt oder nur durch eine solche, die Menstruum und gelösten Stoff mit gleicher Leichtigkeit durchtreten lässt. — Diffusion.
2. Es ist eine poröse Zwischenwand vorhanden, die zwar das Lösungsmittel, nicht aber den gelösten Stoff durchlässt. — Osmose in engerem Sinn (Pfeffer).
3. Die Zwischenwand ist für Lösungsmittel und gelösten Stoff beide permeabel, für letzteren aber in geringerem Maasse. — Diosmose; Endosmose und Exosmose (Graham).

Ueber den ersten Fall, die Diffusion, herrscht keine Meinungsverschiedenheit. Die gelösten Stoffe verbreiten sich mit einer Geschwindigkeit, die ihrer Concentration proportional ist und weiter bedingt wird durch die Reibung, welche sich den bewegenden Moleculen entgegensetzt.

Zur Entwicklung eines hydrostatischen Druckunterschiedes, wie er sich in den beiden anderen Fällen zeigt, bietet sich hier nicht die Gelegenheit.

Der zweite Fall ist zuerst von Pfeffer einer eingehenderen Untersuchung unterworfen: Er bezieht sich auf die einfachste aus der ganzen Gruppe der unter Osmose zusammengefassten Erscheinungen und ist deshalb am meisten für ein genaueres Studium geeignet.

Nehmen wir ein Gefäss, dessen Wand den zu untersuchenden Körper nicht durchlässt, wohl aber das Menstruum (Pfeffer'sche Thonzelle) und setzen dies mit einer Steigröhre oder einem geschlossenen Manometer in Verbindung — letzteres verdient den Vorzug, weil alsdann die Lösung im Gefässe während des Versuchs weniger verdünnt wird — so sehen wir, wenn die Lösung sich innerhalb des Gefässes, das Menstruum dagegen sich ausserhalb desselben befindet, dass letzteres solange durch die Wand ins Innere des Gefässes dringt, bis ein bestimmter Druck erreicht ist.

Van t' Hoff kam zu dem Schluss, dass die Ursache des osmotischen Druckes im gelösten Stoffe liege und unabhängig sei von der Natur der Membran. Derselbe ist proportional der Zahl

der aufgelösten Molecüle (resp. Molecüle und „Jonen“ — worüber später) und der absoluten Temperatur.

Gelöste Stoffe üben also denselben Druck aus wie sie unter gleichen Umständen von Temperatur und Volumen in Gasform offenbaren würden. Dieser Druck ist gegen die gesammte Oberfläche der Flüssigkeit gerichtet und muss als ein Anprallen der Molecüle gegen dieselbe, bezw. gegen die Wand, welche die Flüssigkeit begrenzt, angesehen werden, wie solches ebenso bei der Theorie über die Gase der Fall ist.

Der osmotische Druck ist bereits bei mässiger Concentration ein sehr bedeutender; für eine wässrige Lösung von 17% Ammoniak beträgt sie schon 224 Atmosphären. Dass durch diesen hohen Druck die Gefässe, in denen die Lösungen aufbewahrt werden, nicht springen, hat seinen Grund darin, dass die Spannung der Flüssigkeitsoberfläche, der sogenannte normale Binnendruck, in umgekehrter Richtung thätig und weit grösser ist.

Ist jedoch eine Lösung durch eine Zwischenwand vom Lösungsmittel geschieden und lässt diese Wand wohl das Menstruum, nicht aber den gelösten Stoff durch, dann wird, sobald das Menstruum durch die Scheidewand gedrungen und mit der Lösung in Berührung gekommen ist, an diesen Stellen die freie Flüssigkeitsoberfläche und mit ihr der normale Binnendruck wegfallen.

Angenommen, A wäre gefüllt mit dem Lösungsmittel, B mit der Lösung und C stelle die für den gelösten Stoff impermeable Zwischenwand vor; Wände und Zwischenwand betrachten wir als vollkommen fest. Für's Menstruum haben wir dann zwei freie und bewegliche Oberflächen aa und bb. Auf jeder dieser beiden Flächen wirkt der normale Binnendruck, und weil der Druck sich gleichmässig über die ganze Flüssigkeit fortpflanzt (Gesetz von Pascal), ist die Bedingung des Gleichgewichts unabhängig von der relativen Grösse dieser beiden Oberflächen. Das System wird also, was den Binnendruck betrifft, im Gleichgewichte stehen, wenn die Höhen aa und bb umgekehrt proportional den specifischen Gewichten sind. Nun aber befindet sich im Gefäss B noch der gelöste Stoff, dessen Molecüle sich in der Flüssigkeit frei bewegen und durch ihren Anprall einen Druck auf alle Wände aus-

üben. Dieser Druck wird an allen übrigen Stellen durch den grossen normalen Binnendruck überwunden, nur bei C, woselbst, soweit die beiden Flüssigkeiten einander berühren, der Binnendruck wegfällt, wird der osmotische Druck getragen durch die Zwischenwand, welche die Molecüle des gelösten Stoffes nicht durchdringen lässt. Der Druck des gelösten Stoffes kann sich also zum Gefässe A nicht fortpflanzen. Im Gefässe B herrscht ein Druck, welcher gleich ist dem normalen Binnendruck, vermindert um den des gelösten Stoffes; im Gefässe A herrscht nur der normale Binnendruck. Durch die Zwischenwand wird also die Flüssigkeit aus A nach B getrieben und zwar solange bis bei offenen Gefässen der hydrostatische (bei geschlossenem Gefässe B, mit dem Manometer verbunden, der manometrische) Druck dem osmotischen Druck das Gleichgewicht hält.

Geht dagegen der gelöste Stoff ohne Widerstand durch die Zwischenwand, dann wird auch sein osmotischer Druck ungehindert zum andern Gefässe sich fortpflanzen, und in diesem Falle nehmen wir keine durch diesen Druck verursachte Flüssigkeitsbewegung wahr: Der Zustand des Gleichgewichts wird lediglich durch die hydrostatischen Gesetze bedingt.

Sind im Gefässe eine Anzahl von nicht durchdringenden Stoffen in Lösung begriffen, deren Molecüle chemisch nicht aufeinander einwirken, dann ist der resultirende osmotische Druck gleich der Summe der Partiardrucke, welche die Stoffe jeder für sich ausüben: also auch hier wieder dasselbe Gesetz wie bei den Gasen.

Sind jedoch in der Lösung auch Stoffe vorhanden, welche durch die Poren der Scheidewand dringen, ist der resultirende osmotische Druck derselbe, als wären diese Stoffe nicht da.

Wir gelangen jetzt zur Besprechung des dritten Falles: die Zwischenwand lässt den gelösten Stoff und das Lösungsmittel beide, doch nicht in gleichem Maasse, durch.

Passirt ersterer leichter, so hat dies keinen Einfluss auf die Erscheinungen, da in diesem Falle die Gesetze der Diffusion Anwendung finden können; im entgegengesetzten Falle aber, wenn also der gelöste Stoff bei seinem Durchtritt einen gewissen Widerstand zu überwinden hat, wird er einen diesem Widerstand entsprechenden Druck auf die Scheidewand ausüben. Da sich der Widerstand allen Molecülen entgegenstellt, die bei ihrer Bewe-

gung die Wand zu passiren suchen, wird derselbe, bezw. der osmotische Druck mit der Zahl der gelösten Moleküle zunehmen müssen.

Bei einer unvollkommen permeablen Membran entwickelt sich mithin gleichfalls ein Druck, der sich gleich, wie der osmotische Druck im zweiten Falle, erklären lässt; auch jener steigt mit der Concentration der Lösung, erreicht jedoch niemals die Höhe, welche bei impermeablen Membranen zu Stande kommt. Der gelöste Stoff geht durch die Wand mit einer Geschwindigkeit, die bedingt wird durch den der Lösung als solcher eigenen osmotischen Druck und den Widerstand der Membran. Der Durchgang ist langsamer als bei einfacher Diffusion.

Dieser Fall zog anfänglich die meiste Aufmerksamkeit auf sich. Das Durchtreten des Salzes wurde von Graham als *Diosmose* bezeichnet, wogegen andere Forscher es *Exosmose* nannten. Der Uebergang von Wasser wurde durch Graham mit *Osmose*, von anderer Seite mit *Endosmose* bezeichnet.

Anfänglich war man der Meinung, dass die Wassermenge, welche mit einem bestimmten Quantum gelösten Stoffes wechselte, eine für jeden Stoff constante wäre, und man hat daher den gelösten Stoffen ein „osmotisches Aequivalent“ zuerkannt, welches ausdrücken sollte, durch wieviel Wasser die Einheit des gelösten Stoffes ersetzt wurde.

Jolly's Untersuchungen (1849) schienen dies zu bestätigen, und obwohl C. Ludwig noch in demselben Jahre bewies, dass diese Meinung eine irrige war, und dass sowohl die Membran als die Concentration von Einfluss auf dieses Verhältniss sind, huldigten mehrere Physiologen trotzdem noch lange dem osmotischen Aequivalent.

In inniger Beziehung zu den Erscheinungen des osmotischen Druckes steht das Sinken des Gefrierpunktes und die Verminderung des Dampfdruckes durch den in Lösung begriffenen Stoff. Unterziehen wir ersteres einer näheren Betrachtung.

Wird in einer Flüssigkeit der eine oder andere Stoff gelöst, so ist der Gefrierpunkt der Lösung stets niedriger als der des Lösungsmittels. Auch hier besteht wieder eine einfache Beziehung zwischen der Menge des gelösten Stoffes und dem Sinken des Gefrierpunktes. Für nicht zu hohe Concentrationen ist nämlich das

Sinken des Gefrierpunktes ebenso wie der osmotische Druck proportional der Zahl der gelösten Moleküle.

Wir können nicht umhin, in kurzen Worten noch die Theorie von Arrhenius zu erwähnen, bevor wir zu dem physiologischen Theil unserer Arbeit übergehen.

Eine Anzahl von Salzen zeigt in wässriger Lösung eine beträchtlichere Gefrierpunktserniedrigung bezw. einen höheren osmotischen Druck, als van t' Hoff's Theorie zu erfordern scheint. Der genannte Forscher erklärt diese Abweichung, indem er Bezug nimmt auf eine Hypothese, zu der Arrhenius bereits früher gelangt war, nämlich, dass in Wasser gelöste Salze eine totale oder partielle Zersetzung erleiden, darin bestehend, dass das Metall sich vom Säureradical trennt. Die Spaltungsproducte nennt A. Jonen, weil sie seiner Vorstellung nach mit positiver, resp. negativer Elektrizität behaftet sind, und die Erscheinung hydrolytische Dissociation.

Mit Bezug auf den osmotischen Druck wird dieselbe den gleichen Effect haben, als wäre eine grössere Zahl von Molekülen in der Lösung vorhanden [„doppelt bombardirende Moleküle“ — van t' Hoff]; der osmotische Druck wird demgemäss höher, die Gefrierpunktserniedrigung und die Dampfdruckverminderung werden beträchtlicher sein, als der ursprünglichen Anzahl von Molekülen entspricht, und so sind denn auch in Wirklichkeit die Abweichungen dieser drei Grössen einander proportional.

Die hydrolytische Dissociation nimmt mit dem Grade der Verdünnung zu, jedoch bei verschiedenen Salzen nicht im gleichen Maasse. In den zu physiologischen Zwecken gebräuchlichen Concentrationen sind Salze vom Typus des Chlornatriums und des Chlorcalciums in wässriger Lösung als fast vollständig dissociirt anzusehen. Nicht so weitgehend ist die Dissociation bei Magnesiumsulfat und dergleichen Salzen, die aus einem zweiwerthigen Metall und einer zweibasischen Säure zusammengesetzt sind.

Metallfreie organische Verbindungen sind der hydrolytischen Dissociation meistens nicht oder nur in geringem Maasse unterworfen.

I.

Nach den ersten Entdeckungen auf dem Gebiete der Osmose und Diosmose hat man sofort versucht, diese auf den Austausch

der Flüssigkeiten in Organen und Zellen anzuwenden. Eine Uebersicht dieser Bestrebungen zu geben, würde mich zu weit führen, und ich beschränke mich daher auf die späteren Untersuchungen, soweit diese in mehr directer Beziehung zu meinem Thema stehen.

Bringen wir eine lebende Zelle in eine beliebige wässerige Lösung, so sind, wenn man in Anrechnung zieht, dass Zellen für Wasser permeabel sind, wieder drei Möglichkeiten gegeben, nämlich: 1. der gelöste Stoff geht ebenso leicht, wie Wasser, durch die Scheidewand (Diffusion), 2. er vermag dieselbe gar nicht zu passiren (Osmose), und 3. er geht durch die Scheidewand, aber nicht so leicht wie Wasser (Endosmose). Wollen wir nun das Verhalten der Zelle gegenüber verschiedenen Lösungen näher studiren, so ist vor allen Dingen nöthig festzustellen, mit welchem der drei angeführten Fälle wir es jedesmal zu thun haben.

Einer der ersten, der sich damit beschäftigte, war H. de Vries¹⁾. Er untersuchte das Verhalten gewisser Pflanzenzellen in verschiedenen Lösungen und fand, dass sie viele Stoffe nicht eindringen lassen, während auch umgekehrt viele der im Zellsaft gelösten Stoffe, solange die Zelle lebt, nicht aus dieser heraustreten. Bei seinen weiteren Studien über diesen Gegenstand²⁾ ging de Vries aus von der schon bekannten Thatsache, dass, wenn man Lösungen unschädlicher Stoffe auf lebendige Pflanzenzellen einwirken lässt, das Protoplasma sich von der Zellwand zurückzieht. Diese Erscheinung, Plasmolyse genannt, beruht darauf, dass die Lösung dem Zellinhalt Wasser entzieht. Sucht man nun für dieselben Zellen diejenige Concentration der Lösungen verschiedener Stoffe aus, welche grade den Anfang der Plasmolyse hervorrufen, so entziehen diese den Zellen offenbar mit derselben Kraft Wasser, d. h. sie sind isotonisch. Er fand nun, dass diese Concentrationen, wenn man sie nicht nach Gewichtsprocenten, sondern nach Moleculen berechnet, sich zu einander nahezu verhalten wie ganze Zahlen, seine sogenannten „isotonischen Coefficienten“. Für die Glieder einer nämlichen chemischen Gruppe haben diese nahezu denselben Werth.

1) Sur l'imperméabilité du protoplasma des betteraves rouges, Archives Néerlandaises 1871, Tme 6, p. 121.

2) Ueber die Anziehung zwischen gelösten Stoffen und Wasser in verdünnten Lösungen, Berichte und Mittheilungen der königl. Academie der Wissensch. in Amsterdam, II 9, S. 312.

Weitere Untersuchungen über das Durchdringen gelöster Stoffe durch die Plasmamembran (Hyaloplasma) und die Vacuolenwand unternahm Janse¹⁾. Er fand nicht allein, dass manche Stoffe das Hyaloplasma passiren und in die Vacuolen gelangen können, sondern auch, dass deren einige, solange die Zelle am Leben bleibt, nicht wieder herausgehen.

So war z. B. bei Zellen von *Spirogyra nitida*, nach einem Aufenthalt von 24 Stunden in einer verdünnten Salpeterlösung, eine deutlich wahrnehmbare Quantität dieses Salzes in die Vacuolen eingedrungen. Wurden jedoch darnach die Zellen während einer Zeitdauer von 70–78 Tagen in eine isotonische Kochsalzlösung gebracht, so war in der Vacuole der Salpeter noch gleich deutlich nachzuweisen wie am ersten Tage. Deshalb spricht Janse von Intra- und Extra-Permeabilität.

Ueber die Permeabilität thierischer Zellen fand ich bis jetzt nur spärliche Aufzeichnungen. Schon lange ist bekannt, dass mehrere Salze sehr schnell aufgenommen werden können und in die Secrete übergehen, wie z. B. für Jodkalium bewiesen wurde. Hierbei blieb es jedoch zweifelhaft, ob wir es mit einer einfachen Diffusion oder mit einem Resorptions- (resp. Secretions-) Vorgang, an dem die Zellen einen thätigen Antheil nehmen, zu thun hatten.

Hamburger's²⁾ Untersuchungen über die Permeabilität der rothen Blutkörperchen haben für mich wenig Ueberzeugendes.

Er vermischte eine bestimmte Quantität Blut mit einer gewissen Menge einer mit dem Serum isotonischen Salpeterlösung und bestimmte alsdann den Chlorgehalt 1. der durch Centrifugiren erhaltenen serösen Flüssigkeit, 2. des unverdünnten Blutserums. Aus den auf diese Weise erhaltenen Werthen berechnete er, wieviel Chlor(-Natrium?) durch die Blutkörperchen an die Lösung abgegeben war, wobei er annahm, dass das Volumverhältniss der Blutkörperchen zum Plasma beim Pferde wie 40 : 60 sei, eine Annahme, aus früheren Bestimmungen abgeleitet, bei denen aber der

1) Die Permeabilität des Protoplasma, Ber. und Mitth. der königl. Academie der Wissensch. in Amsterdam. III 4. S. 332.

2) Hamburger, Over de permeabiliteit der roode bloedlichaampjes in verband met de isotonische coefficienten. Berichte und Mittheilungen der Kön. Acad. d. Wissensch. in Amsterdam, 1890.

Thatsache, dass starke Salzlösungen das Volumen der rothen Blutzellen vermindern, keine Rechnung getragen war.

Dass man wirklich Grund hat, an der Richtigkeit der Untersuchungen von Hamburger zu zweifeln, wird deutlich erscheinen, sobald man seine Angaben ein wenig umrechnet.

So finden wir in Versuch 2 (S. 19):

20 ccm Kalbsblut werden vermischt mit 40 ccm einer NaNO_3 -Lösung von $1\frac{1}{2}\%$ (isotonisch).

Vom unvermischem Serum fordern:

12 ccm 12,46 ccm $\frac{1}{10}$ norm. Silbernitratlösung.

Von dem mit Salpeterlösung verdünnten Serum entsprechen 20 ccm 8,62 ccm $\frac{1}{10}$ norm. Silbernitratlösung. 20 ccm Blut fassen 12 ccm Serum. Im Ganzen haben wir also 52 ccm seröser Flüssigkeit und 8 ccm rother Blutkörperchen.

52 ccm seröser Flüssigkeit fordern $\frac{52}{20} \times 8,62 =$

22,41 ccm $\frac{1}{10}$ norm. Silberlösung.

12 ccm Serum fordern 12,46 " " " "

8 ccm Blutkörperchen geben also eine Quantität Chlor ab, welche übereinkommt mit 9,95 " " " "

8 ccm Serum aber enthalten eine Quantität Chlor, welche übereinstimmt mit

$\frac{8}{12} \times 12,46 =$ 8,32 " " " "

Die Blutzellen hätten demnach eine Quantität Chlor abgegeben, die grösser ist als der Chlorgehalt des Serums! Dem ist entgegenzuhalten, dass der Chlorgehalt der rothen Blutzellen geringer ist als der des Serums.

Versuch 5.

20 ccm Pferdeblut werden gemischt mit 40 ccm Serum und 10 ccm einer isotonischen Kochsalzlösung.

12 ccm Serum erfordern . . . 12,24 ccm einer $\frac{1}{10}$ norm. Silbernitratlösung.

10 " NaCl-Lösung erfordern 18,57 " " " " "

20 " des verdünnten Serums 16,77 " " " " "

Wir haben 12 ccm Serum vom Blut, dazu 40 ccm Serum, zusammen 52 ccm Serum;

diese erfordern $\frac{52}{12} \times 12,24 \text{ ccm} = 53,04 \text{ ccm}$ $\frac{1}{10}$ norm. Silbernitratlösung.

10 ccm NaCl-Lösung verlangen 18,57 " " " "

Summe 71,61 ccm $\frac{1}{10}$ norm. Silbernitratlösung.

Die Menge des verdünnten Serums

beträgt 62 ccm und erfordert so-

mit $\frac{62}{20} \times 16,77 \text{ ccm} = \dots\dots\dots 51,99 \text{ ccm } \frac{1}{10} \text{ norm. Silbernitratlösung.}$

Die von 8 ccm Blutkörperchen auf-

genommene Chlormenge entspricht

mithin: $\dots\dots\dots 19,62 \text{ ccm } \frac{1}{10} \text{ norm. Silbernitratlösung.}$

Das gleiche Volum einer isotonischen

NaCl-Lösung entspricht aber

$\frac{8}{10} \times 18,57 \text{ ccm} = \dots\dots\dots 14,86 \text{ „ „ „ „}$

Die Blutkörperchen müssten folglich mehr Chlor aufgenommen haben, als dem Chlorgehalt einer isotonischen Kochsalzlösung entspricht!

Nach diesen Berechnungen halte ich es für überflüssig, noch näher auf Hamburger's Schlussfolgerungen einzugehen.

Uebrigens war es, nach Hamburger's eigener Beobachtung, dass eine Kochsalzlösung der wasseranziehenden Kraft der Blutkörperchen das Gleichgewicht zu halten vermag¹⁾, von vornherein recht unwahrscheinlich, dass dieses Salz leicht in dieselben eindringen könnte. Denn naturgemäss vermögen nur solche Stoffe eine isotonische Lösung zu geben, für welche die Blutzellen nicht permeabel sind.

Weiterhin wurde von Hamburger die osmotische Wirkung verschiedener Lösungen auf rothe Blutzellen in zweierlei Weise untersucht, indem er erstens bestimmte, bis zu welcher Concentration ein Stoff gelöst vorhanden sein muss, um den Farbstoff nicht aus den Zellen austreten zu lassen²⁾; zweitens mikroskopisch untersuchte, welchen Veränderungen die rothen Blutzellen in verschieden starken Lösungen unterworfen sind³⁾.

Letztere Methode erscheint mir weniger gut, und die Interpretation der durch Hamburger wahrgenommenen Erscheinungen ist sicherlich nicht richtig.

Wenn in einer Kochsalzlösung von 0,64 % die Blutkörperchen des Frosches unverändert bleiben, so kann, bringt man diese in eine

1) Untersuch. a. d. physiol. Laboratorium in Utrecht, 3^e Folge, T. 9, Seite 22.

2) Hamburger, Ebendasselbst Theil 10, Seite 35.

3) Hamburger, Archiv für Anatomie u. Physiologie. 1888.

Lösung von nur 0,21 ‰, schwerlich von Plasmolyse die Rede sein. Dieser Vorgang kann nur in einer hyperisotonischen Flüssigkeit stattfinden, jedoch nicht in hypisotonischen Flüssigkeiten, weil in diesen das Protoplasma durch Wasseraufnahme nur noch stärker gegen die Zellwand gedrückt würde.

Da wir übrigens bei den rothen Blutzellen kaum eine Zelhülle, auf keinen Fall aber eine wenig biegsame Zellwand annehmen dürfen, so werden Erscheinungen von Plasmolyse ¹⁾ hierbei wohl stets problematisch bleiben.

Mehr Anspruch auf Anerkennung kann die andere Methode erheben, obwohl auch sie nicht ganz einwandfrei erscheint.

Sie besteht im Folgenden: Vom Serum des zu untersuchenden Blutes macht man mehrere Verdünnungen in bekanntem Mischungsverhältniss, stellt daneben eine Reihe von Lösungen in verschiedener Stärke des zu untersuchenden Salzes, und bringt in jede dieser Flüssigkeiten eine kleine Menge Blut oder rothe Blutzellen. Nach einiger Zeit — H a m b u r g e r giebt 24—48 Stunden an — kann man wahrnehmen, bei welchen Verdünnungen des Serums und bei welcher Concentration der Salzlösung die Blutkörperchen zu Boden gesunken sind, ohne Farbstoff an die Flüssigkeit abzugeben, und in welchen Lösungen letzteres wohl der Fall ist.

Aus der Grenzconcentration der Salzlösung und der Grenzverdünnung des Serums berechnen wir dann die isotonische Salzlösung, indem wir erstere multiplizieren mit der Zahl, welche das Mischungsverhältniss des Serums angiebt.

Z. B. Pferdeblut ¹⁾: Der Austritt des Farbstoffes macht den Anfang in einer Lösung von 0,65 ‰ NaCl; ebenso in einer Mischung von 5 cem Serum und 2,6 cem Wasser. Die isotonische Kochsalzlösung beträgt also $\frac{2,6 + 5,0}{5,0} \times 0,65 \text{ ‰} = 0,99 \text{ ‰}$.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen stehen in Einklang mit den Resultaten und Ziffern, welche de Vries bei seinen plasmolytischen Studien erhielt, weshalb denselben ein nicht geringer Werth beigelegt werden muss. Dies darf uns jedoch nicht davon abhalten, uns nähere Rechenschaft zu geben über dasjenige, was wir eigentlich bestimmen.

1) Recueil d. travaux chim. d. Pays-Bas, T. 13, No. 2.

Das Austreten von Hämoglobin aus den Blutzellen ist eine noch nicht genügend erklärte Erscheinung. Indess, die verschiedenen Ursachen, die es hervorrufen (hohe Temperaturen, wiederholtes Erfrieren und Aufthauen, Protoplasmagifte, starke Inductionsschläge u. s. w.), weisen mit Bestimmtheit darauf hin, dass es, wenn nicht immer eine Erscheinung des Absterbens, dann zum mindesten ein Zeichen tiefgehender Veränderungen der Blutkörperchen ist. Einen pathologischen Vorgang als Basis für physiologische Untersuchungen zu nehmen, scheint mir aber stets einigermaassen bedenklich, vorzüglich wo es sich um quantitative Bestimmungen handelt.

Meine Erfahrung über die Brauchbarkeit der Hamburger'schen Methode ist wenig zufriedenstellend; namentlich erwiesen sich die Resultate abhängig von der Zeitdauer, nach welcher die Beobachtungen über den Austritt des Blutfarbstoffes angestellt wurden. Ich möchte mir das folgendermaassen erklären: werden Blutkörperchen in ein fremdes Medium übertragen, so ist es mindestens zweifelhaft, ob sie darin ebenso lange intact sich erhalten werden, als in ihrem natürlichen Element (Bakterienwirkung ausgeschlossen). Die Voraussetzung, auf welcher die gesagte Methode beruht, dass nämlich jene verdünnte Salzlösung, in welcher die Blutzellen nach längerer Zeit eben im Begriff sind ihren Farbstoff abzugeben, mit dem entsprechend verdünnten Serum isotonisch sei, erscheint demnach nicht unanfechtbar. Vielmehr wäre anzunehmen, dass der Hämoglobinaustritt in die Lösung bei einer weniger erniedrigten, osmotischen Spannung, als in das Serum, stattfinden, und dass auch die Dauer des Versuchs auf diese Differenz von Einfluss sein wird.

Benutzen wir bei den in Rede stehenden Versuchen vergleichsweise Lösungen verschiedener Stoffe, die für die Blutzellen gleich indifferent sind, so finden wir Werthe, die allein durch die physikalischen Eigenschaften dieser Stoffe bedingt werden und folglich genügend unter einander und mit den Ergebnissen von nach anderen Methoden angestellten Untersuchungen übereinstimmen können, ohne jedoch die physikalische Constante des Serums auszudrücken.

Noch weniger einverstanden muss ich mich erklären mit der Weise, in welcher Hamburger in seiner Arbeit „Ueber die Regulirung der Blutbestandtheile bei künstlicher Plethora, Hy-

drämie und Anämie“ ¹⁾ die osmotische Spannung (bezw. Wasseranziehungskraft) der Blutkörperchen untersucht.

Wird, durch Einspritzung einer hyperisotonischen Salzlösung in die Blutbahn irgend eines Thieres, den Blutkörperchen Wasser entzogen und ihre osmotische Spannung demgemäss erhöht, so ist das kein Grund, warum, bei Prüfung nach Hamburger's Methode, ihr Verhalten gegenüber verdünnten, stark hypisotonischen Lösungen sich merklich geändert zu haben braucht. Wenn also Blutkörperchen, aus verschiedenen, dem Thiere vor und nach der Einspritzung entnommenen, Blutproben stammend, nach Uebertragung in verdünnte Salzlösungen den Farbstoff bei gleich niedrigem osmotischen Druck abzugeben beginnen, so beweist das nicht, wie Hamburger annimmt, dass sie gleiche Wasseranziehungskraft besaßen. Dessen Schlussfolgerung, dass unter verschiedenen Umständen die Blutkörperchen bestrebt sind, ihre Wasseranziehungskraft constant zu erhalten, ist demnach durch seine Untersuchungen nicht genügend motivirt.

Auf Hamburger's spätere Veröffentlichungen werde ich gelegentlich noch zurückkommen und mich jetzt beschränken auf die Bemerkung, dass mir dessen Standpunkt in Anbetracht der osmotischen Eigenschaften der rothen Blutkörperchen niemals vollständig klar geworden ist, da er letzteren in einem Falle leichtes Aufnehmen und Abgeben von Wasser zumuthet ²⁾, im anderen Falle behauptet, ihre Wasseranziehungskraft sei eine constante.

In der übrigen, mir zur Verfügung stehenden Litteratur habe ich wenig über die Permeabilität der rothen Blutzellen gefunden, weshalb ich jetzt zur Besprechung meiner eigenen Beobachtungen über diesen Gegenstand übergehen werde.

Einige Autoren sprechen von einer „schützenden Thätigkeit“, die das Kochsalz (sowie einzelne andere Stoffe) auf die Zellen ausüben soll, indem es viele jener Stoffe, die in destillirtem Wasser gelöst, die Blutkörperchen und andere Zellen vernichten, daran verhindert, ihren nachtheiligen Einfluss auszuüben.

Der Ausdruck „schützende Thätigkeit“ ist jedoch nur eine

1) Berichte u. Mittheilungen der Königl. Acad. d. Wissensch. in Amsterdam. 3. Folge, VII. S. 413.

2) Ueber die durch Salz- und Rohrzuckerlösungen bewirkten Veränderungen der Blutkörperchen. Archiv f. Anat. und Physiol. 1887.

Umschreibung, keine Erklärung einer wahrgenommenen Thatsache, weshalb ich mich zuerst hiermit beschäftigt habe.

Es schien mir logisch, die destruirende Wirkung des destillirten Wassers zum Ausgangspunkt zu wählen. Da wir nicht annehmen dürfen, dass Wasser, welches den grössten Bestandtheil aller lebenden Wesen ausmacht, als chemisches Agens einen nachtheiligen Einfluss auf die Zellen ausübt, müssen wir die Wirkung des destillirten Wassers als eine rein physikalische betrachten. Bringen wir eine lebende Zelle in destillirtes Wasser, so haben wir, weil die gelösten Stoffe des Zelleninhaltes nicht leicht oder überhaupt nicht durch die Plasmamembran¹⁾ dringen, Wasser dagegen wohl, eine Lösung, welche durch eine für das Menstruum leicht, für den gelösten Stoff beinahe oder überhaupt nicht durchdringbare Wand vom Lösungsmittel geschieden ist. Innerhalb der Zelle wird sich demnach ein osmotischer Druck offenbaren, der abhängig ist von der molecularen Menge des gelösten Stoffes, in Verbindung mit seiner Theilung in Ionen. Dieser Druck wird bestrebt sein, die Zelle durch Wasseraufnahme auszudehnen. Die Kraft, mit welcher solches geschieht, ist eine bedeutende²⁾. Die Ausdehnung der Zellenwand wird fort dauern, bis ihre elastische Spannung mit dem osmotischen Drucke im Gleichgewichte steht³⁾, oder bis die Wand, sei es durch starke Spannung oder durch Zerreißen, für die gelösten Stoffe durchgängig geworden ist. An Beispielen, dass durch die Wirkung des Wassers Zellen zerstört sind, fehlt es denn auch nicht.

An den rothen Blutzellen ist die destruirende Wirkung des destillirten Wassers daraus ersichtlich, dass sie den Farbstoff verlieren und zu Kügelchen, deren Brechungsexponent von dem des Wassers nur wenig verschieden ist, anschwellen.

Bringen wir hingegen die Blutkörperchen in eine geeignete Salzlösung, so sehen wir jene Veränderungen nicht auftreten; der

1) Unter Plasmamembran verstehe ich hier im Allgemeinen die Grenzschicht, gleichgültig ob diese dieselbe oder eine andere Structur als das übrige Protoplasma zeigt, weil dies für die osmotischen Erscheinungen nicht von Wichtigkeit ist.

2) Eine Salpeterlösung von 1 % besitzt z. B. bereits einen osmotischen Druck von mehr als 2 Atmosphären (Pfeffer).

3) Welcher natürlich durch Verdünnung des Zellinhalts abnimmt.

osmotische Druck des Zellensaftes und jener der Lösung halten einander das Gleichgewicht: die Lösung ist isotonisch.

Von einigen Stoffen aber, wie Harnstoff, Chlorammonium u. s. w., kommt keine Lösung in Wasser zu Stande, worin das Verhalten der Blutkörperchen das gleiche ist wie in einer isotonischen Kochsalzlösung. Wie concentrirt eine Harnstofflösung auch sein mag, immer findet darin eine Quellung der rothen Blutkörperchen unter Hämoglobinaustritt statt.

Setzen wir aber zu der Harnstofflösung soviel Kochsalz hinzu, dass der Salzgehalt mit dem der oben erwähnten isotonischen Lösung übereinstimmt, so bleiben die Blutkörperchen unverändert. Werden weiter von einer isotonischen Kochsalzlösung zwei Reihen von Verdünnungen gemacht, die eine mit destillirtem Wasser, die andere mit einer Harnstofflösung, so sehen wir, wie der Farbstoff des Blutes in beiden Reihen bei demselben Grade der Verdünnung auszutreten beginnt.

Bei diesen Untersuchungen kann das Kochsalz durch andere Stoffe (andere Metallsalze, Zucker u. s. w.), ohne dass eine Veränderung des Resultates eintritt, ersetzt werden. Wir werden also zu der Annahme gezwungen, dass dem Kochsalze keine specifische schützende Thätigkeit zukommt, und dass in Lösungen der Harnstoff den rothen Blutzellen gegenüber sich verhält, als wäre er nicht vorhanden. Der Harnstoff übt somit nicht als ein chemisches Agens etwa eine specifische Giftwirkung auf die rothen Blutzellen aus, sondern die schädliche Einwirkung einer reinen Harnstofflösung entspricht der des destillirten Wassers. Diese Thatsache lässt sich physikalisch leicht erklären. Wenn der Harnstoff ungehindert durch die Zellwand diffundirt, wird seine Lösung der Zelle gegenüber keinen osmotischen Druck entwickeln. Die Harnstofflösung kann also dem osmotischen Druck des Zellinhaltes niemals das Gleichgewicht halten, und letzterer wird einer Harnstofflösung gegenüber genau dieselbe deletere Wirkung auf die Zelle ausüben wie beim destillirten Wasser.

Das Eindringen des Harnstoffs in die rothen Blutkörperchen wurde von mir auf chemischem Wege nachgewiesen. Defibrinirtes Hühnerblut wurde centrifugirt, das Serum abgehoben und durch eine Lösung von 10 % Harnstoff und 0,88 bis 0,9 % NaCl in Wasser ersetzt. Hierauf wurde die Senkungsschicht in die Flüssigkeit vertheilt und nach kurzer Zeit wieder centrifugirt. Der Harnstoff-

gehalt der serösen Flüssigkeit sowie des Sediments (das aus rothen Blutkörperchen und einer kleinen Quantität seröser Zwischenflüssigkeit besteht) wurde jetzt mittelst Bromlauge bestimmt und für beide nahezu gleich gefunden ¹⁾. Da nun keine Gründe vorhanden sind, welche uns zu der Annahme berechtigen, dass die seröse Flüssigkeit zwischen den Erythrocyten bedeutend mehr Harnstoff enthalte als die obenstehende Flüssigkeit, müssen wir schliessen, dass der Harnstoff sich gleichmässig über Blutkörperchen und seröse Flüssigkeit vertheilt hat ²⁾.

Auf dieselbe Weise wurde das Eindringen von Ammoniumchlorid in die Blutkörperchen constatirt; jedoch dürfen hiervon nur geringe Mengen Verwendung finden, weil bereits bei einem Concentrationsgrade von 1,5 % die Blutkörperchen zu einer schleimigen Masse — auch wenn Kochsalz in erforderlicher Menge vorhanden ist — zusammenfliessen.

Da verhältnissmässig nur wenige Stoffe quantitativ sich leicht im Blut bestimmen lassen, habe ich für die übrigen Stoffe nicht, wie für Harnstoff und Chlorammonium, die gleichmässige Vertheilung über flüssige und körperliche Blutbestandtheile nachzuweisen versucht, sondern habe angenommen, dass ein Stoff durchdringt, wenn er in wässriger Lösung die Blutkörperchen schnell auflöst, während er in einer isotonischen Kochsalzlösung nicht oder erst nach längerer Zeit den Farbstoff austreten lässt.

Tritt in der etwa isotonischen wässrigen Lösung eines Stoffes der Blutfarbstoff nicht unverweilt aus, sondern gar nicht oder erst

1) Da bei diesen Bestimmungen des Stickstoffes, ausgeführt mit dem kleinen Apparat von J. F. Eykman, nur kleine Mengen der zu untersuchenden Mischungen Verwendung fanden, ist die Genauigkeit der Resultate nicht so gross, dass der Einfluss des nicht als aufgelöst zu betrachtenden Theiles der rothen Blutkörperchen sich deutlich geltend machen kann (vgl. S. 111).

Genauere Untersuchungen nach der Kjeldahl'schen Methode der Stickstoffbestimmung habe ich aus Mangel an Zeit einstellen müssen.

2) Die bekannte Langsamkeit der Diffusion im Gegensatz zu dem schnellen Reagiren der Blutkörperchen auf destillirtes Wasser und auf Lösungen durchdringender Salze bildet keine Schwierigkeit mit Bezug auf die hier oben gegebene Erklärung, weil die Dimensionen der Zellen sehr klein sind und der von allen Seiten eindringende Stoff nur die Hälfte der kleinsten Dimension zurückzulegen hat.

nach längerer Zeit und hat Zusatz einer äquivalenten Kochsalzmenge auf diese Zeitdauer keinen merklichen Einfluss, so ist anzunehmen, dass der Stoff nicht in die rothen Blutzellen diffundirt.

Soweit unsere Untersuchungen sich erstrecken, sind die rothen Blutkörperchen permeabel befunden für nachfolgende chemische Verbindungen:

Ammoniumfluorid . . .	NH_4F ,
„ chlorid . . .	NH_4Cl ,
„ jodid . . .	NH_4J ,
„ borat . . .	NH_4BO_3 ,
„ acetat . . .	$\text{NH}_4\text{OOC} \cdot \text{CH}_3$,
„ propionat . . .	$\text{NH}_4\text{OOC} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_3$,
„ butylat . . .	$\text{NH}_4\text{OOC} \cdot (\text{CH}_2)_2 \cdot \text{CH}_3$,
„ capronat . . .	$\text{NH}_4\text{OOC} \cdot (\text{CH}_2)_3 \cdot \text{CH}_3$,
„ oxalat . . .	$(\text{NH}_4\text{OOC})_2$,
„ malonat . . .	$(\text{NH}_4\text{OOC})_2 \cdot \text{CH}_2$,
„ benzoat . . .	$\text{NH}_4\text{OOC} \cdot \text{C}_6\text{H}_5$,
„ phenylacetat . . .	$\text{NH}_4\text{OOC} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5$,
„ hydrocinnamat . . .	$\text{NH}_4\text{OOC} \cdot \text{C}_2\text{H}_4 \cdot \text{C}_6\text{H}_5$,
„ hippurat . . .	$\text{NH}_4\text{OOC} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{NH} \cdot \text{CO} \cdot \text{C}_6\text{H}_5$,
„ salicylat . . .	$\text{NH}_4\text{OOC} \cdot \text{OH} \cdot \text{C}_6\text{H}_5^{(1,2)}$,
„ acrylat . . .	$\text{NH}_4\text{OOC} : \text{C}_2\text{H}_4$,
Methylalkohol . . .	CH_3OH ,
Aethylalkohol . . .	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$,
Glycerin . . .	$\text{C}_3\text{H}_5(\text{OH})_3$,
Aethyläther . . .	$(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$,
Propyl-methyläther . . .	$\text{C}_3\text{H}_7\text{O} \cdot \text{CH}_3$,
Butyl- „ . . .	$\text{C}_4\text{H}_9\text{O} \cdot \text{CH}_3$,
Aethylacetat . . .	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OOC} \cdot \text{CH}_3$,
Acetamid . . .	$\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$,
Propionylamid . . .	$\text{C}_2\text{H}_5 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$,
Harnstoff . . .	$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$,
Biuret . . .	$\text{NH}(\text{CONH}_2)_2$,
Pyridin . . .	$\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$.

Nicht durchtretende Verbindungen sind:

Ammoniumnitrat . . .	NH_4NO_3 ,
„ sulfat . . .	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$,
„ thiocyanat . . .	NH_4CyS ,
„ phosphat . . .	$(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$,

Lithiumchlorid	LiCl ,
Natrium „	NaCl ,
„ bromid	NaBr ,
„ fluorid	NaF ,
„ sulfat	Na_2SO_4 ,
„ nitrat	NaNO_3 ,
Kaliumchlorid	KCl ,
„ bromid	KBr ,
„ jodid	KJ ,
Calciumchlorid	CaCl_2 ,
Strontium „	SrCl_2 ,
Bariumchlorid	BaCl_2 ,
Magnesiumchlorid . .	MgCl_2 ,
Ammoniumferrocyanid .	$(\text{NH}_4)_4\text{FeCy}_6$,
„ ferri „	$(\text{NH}_4)_6\text{Fe}_2\text{Cy}_{12}$,
„ lactat	$\text{CH}_3 \cdot \text{CHOH} \cdot \text{COONH}_4$,
„ tartrat	$(\text{CHOH})_2 \cdot (\text{COONH}_4)_2$,
„ succinat	$(\text{CH}_2 \cdot \text{COONH}_4)_2$,
„ citrat	$(\text{CH}_2 \cdot \text{COH} \cdot \text{CH}_2)(\text{COONH}_4)_2$,
„ malat	$\text{CHOH} \cdot \text{CH}_2 \cdot (\text{COONH}_4)_2$,
Glycocoll	$\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$,
Asparagin (Amidobernsteinsäure)	$\text{CONH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} \cdot \text{NH}_2 \cdot \text{COOH}$,
„ ammoniak	$\text{CONH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CHNH}_2 \cdot \text{COONH}_4$,
Natriumacetat	$\text{CH}_3 \cdot \text{COONa}$,
„ propionat	$\text{C}_2\text{H}_5 \cdot \text{COONa}$,
„ malonat	$\text{CH}_2(\text{COONa})_2$,
„ phenylacetat	$\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COONa}$,
„ oxalat	$(\text{COONa})_2$,
„ hippurat	$\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COONa}$,
Dextrose	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$,
Mannit	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$,
Inosit	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$,
Saccharose	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$,
Lactose	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$.

Aus Obenstehendem ergeben sich zunächst folgende Regeln:

1. Salze mit einem Metall-Jon treten nicht durch.
2. Weil die Ammoniumsalze der Halogene und einiger Säuren wohl, die von anderen Säuren dahingegen nicht durchgehen, und andererseits keine Verbindungen von Metallen mit Halogenen

oder durchtretenden Säuren die Blutkörperchen durchdringen können, so müssen wir schliessen, dass eine Verbindung nicht durchdringt, wenn auch nur eins ihrer Ionen nicht durchdringen kann.

Der Umstand, dass ein durchdringendes Ion durch ein nicht durchdringendes am Eindringen in die Blutkörperchen gehindert wird, ist ein neuer Beweis für die innige Wechselbeziehung zwischen den Ionen einer chemischen Verbindung.

Stoffe, welche irgendwie schädigend auf die Blutkörperchen einwirken, eignen sich zu diesen Versuchen nicht.

Soll das Verhalten einer Säure untersucht werden, so bindet man sie, und zwar mit Ammoniak, nicht mit einem Metall, weil letzteres schon an und für sich das Durchdringen hindert. Basen müssen mit einem Halogen oder einer durchdringenden Säure verbunden werden.

Die zu einer Gruppe gehörenden organischen Verbindungen zeigen meistens das gleiche Verhalten. So sind z. B. die einwertigen Alkohole, die Fettsäuren, die Aether permeante, die (löslichen) Kohlenhydrate, und überhaupt viele optisch active organische Verbindungen, nichtpermeante Stoffe.

In eine Fettsäure substituiert, hebt der Benzolkern die Durchdringungsfähigkeit nicht auf (vergl. Benzoësäure und Hippursäure).

Die Amide der durchdringenden Säuren gehen durch, die Amidosäuren, wenigstens Amido-Essigsäure (das abweichende Verhalten der Amido-Bernsteinsäure beweist nichts, weil die Säure selbst nichtpermeant ist) nicht. Der permeante Harnstoff würde auch danach vielmehr als Carbonyldiamid, denn, wie Einige wollen, als Amidoformamid aufzufassen sein.

Ich erachte es von Wichtigkeit, auch von anderen Zellen die Permeabilität für verschiedene Stoffe zu untersuchen, weil hier, in Anbetracht der oben vorgetragenen Anschauungen über Osmose, ein neuer Standpunkt einzunehmen wäre gegenüber unterschiedlichen physiologischen und pharmacodynamischen Erklärungen.

So würde z. B. die Thatsache, dass Salze, wie Glaubersalz, englisches Salz, Magnesiumcitrat, eine purgirende Wirkung entfalten, Kochsalz, Chlorkalium u. s. w. dagegen nicht, leicht zu erklären sein, wenn erstere überhaupt nicht oder nur mühevoll, die letzteren leicht durch das Darmepithelium diffundiren, ein Sachverhalt, der sehr annehmbar erscheint, weil wir von den erst-

genannten Salzen den grösseren Theil im Stuhlgang wiederfinden, wohingegen die anderen durch die Nieren ausgeschieden werden.

Auch unsere Auffassungen über Darmresorption, Nierensecretion, Lymphbildung u. s. w. würden vielleicht eine bedeutende Umgestaltung erfahren müssen.

Wenn z. B. ein Salz nur einen geringen Widerstand findet im Darmepithelium, durch welches es vom Gewebesaft geschieden ist, wird seine Lösung letzterem gegenüber nicht den osmotischen Druck entwickeln, der deren Gefrierpunktserniedrigung entspricht. Der Druck wird um so kleiner sein, je leichter das Salz durch die Epithelschicht dringt. So wäre erklärlich, dass eine Lösung, die nach unserer Meinung hyperisotonisch sein müsste, dennoch im Darm nicht wasseranziehend wirkt, sondern sich durch das Epithelium zum Saftstrom begiebt.

Gifte, welche die Permeabilität des Darmepitheliums verändern, ändern auch den zur Entwicklung gelangenden osmotischen Druck und damit die wasseranziehende Kraft der Lösung.

Heidenhain¹⁾, der bei seinen jüngsten Untersuchungen über Resorption diesen Ueberlegungen keine Rechnung trug, kam zu der Annahme resorbirender Kräfte, wo solches vielleicht nicht nöthig war. Den Begriff: „osmotisches Aequivalent“ hat er jedoch noch nicht fahren lassen, und wo er zur Bestimmung der wirkenden osmotischen Kräfte die Gefrierpunktserniedrigung gebraucht, bedenkt er nicht, dass die Proportionalität zwischen dieser und dem osmotischen Druck allein für den Fall Geltung hat, dass der gelöste Stoff nicht durchdringt.

Auch bei der Muskelcontraction würden osmotische Verhältnisse eine bedeutende Rolle spielen können.

Wenn in den anisotropen Schichten resp. in den Sarcous elements zusammengesetzte Moleküle unter dem Einfluss des Reizes in mehrere zerfallen und die Grenzschicht zwischen iso- und anisotropischer Substanz auch für letztere nicht permeabel ist, so wird der osmotische Druck demzufolge in den doppelbrechenden Schichten ansteigen, sodass diese Wasser aufnehmen auf Kosten der isotropen Substanz. Erleiden jetzt die Zerfallsprodukte eine noch weitergehende Veränderung, in Folge deren die Grenz-

1) R. Heidenhain, Neue Versuche über die Aufsaugung im Dünndarm. Pflüger's Arch. Bd. 56, S. 579 ff.

schicht ihnen den Durchgang gestattet, so verliert sich der osmotische Druckunterschied.

Die glatten Muskelzellen würden das Wasser aus dem sie umgebenden Nahrungssaft aufnehmen müssen, und die soviel schneller vor sich gehende Contraction der quergestreiften Muskelfasern würde ihre Erklärung finden in der relativ soviel grösseren Oberfläche der Grenzschicht, woselbst der Ausgleich der osmotischen Spannungen und die Diffusion stattfinden¹⁾.

Wir wollen uns jedoch nicht weiter in speculative Betrachtungen vertiefen, sondern vielmehr zu unseren Untersuchungen zurückkehren.

Ausser den angeführten Stoffen untersuchte ich viele, bei denen die Permeabilität nicht mit Sicherheit festzustellen war. Hierzu gehören natürlich in erster Linie die, welche eine Fällung des Blutfarbstoffes oder des Protoplasmas der Blutkörperchen erzielen, wie Chromsäure und chromsaure Salze, Sublimat, Kupfersulfat, Silbernitrat u. A.

Weiter giebt es Stoffe, z. B. Erythrit, die zwar keine Fällung bewirken, aber auch nicht einer der beiden obigen Gruppen zugezählt werden können. In einer reinen Erythritlösung senken sich rothe Blutzellen anfänglich ohne Abgabe des Farbstoffes; bei längerem Stehen jedoch tritt letzterer aus. In der Kochsalz enthaltenden Erythritlösung ist noch kein Farbstoff ausgetreten, wenn die reine Erythritlösung bereits deutlich roth ist. Wir hätten es hier also mit einem Stoffe zu thun, für welchen die Blutkörperchen zwar permeabel sind, der aber im Vergleich mit Wasser einen grossen Widerstand zu überwinden hat.

Endlich besitzen verschiedene Stoffe eine so starke Giftwirkung, dass sowohl in wässerigen als in Kochsalz enthaltenden Lösungen derselben sofort Blutfarbstoff austritt, wie Amylnitrit, Ammoniumeinnamylat u. A.

Noch bleibt uns übrig, Inosit anzuführen als einen Stoff, der, wie die wahren Zuckerarten, in die intacten Blutkörperchen nicht eindringt, sich aber von ihnen dadurch unterscheidet, dass er für diese

1) Ich will hier absolut nicht die Bedeutung der Engelmann'schen Untersuchungen über die Wärme als Ursache der Muskelcontraction unterschätzen (Pflüger's Archiv); was hindert uns aber, eine Zusammenwirkung verschiedener Factoren anzunehmen?

Zellen nicht indifferent ist, sondern wie ein Gift auf dieselben einwirkt. Es sinken anfänglich in einer isotonischen Inositolösung die Blutkörperchen ohne weiteres zu Boden, doch nach einiger Zeit schwellen sie auf und lassen den Farbstoff los. Dasselbe geschieht, wenn das Inosit in einer isotonischen Salzlösung aufgelöst ist.

II.

Jetzt, da wir die Permeabilität der rothen Blutzellen für verschiedene Stoffe untersucht haben, können wir einige Untersuchungen über den osmotischen Druck von Blutkörperchen und Serum besprechen.

Die Methoden von Hamburger wurden schon besprochen.

Zu einer anderen Untersuchungsweise kam ich an der Hand der neueren klinischen Methode, das Volumen der rothen Blutkörperchen durch Centrifugiren zu bestimmen. Hedin¹⁾, Daland²⁾ und Gaertner³⁾ haben hauptsächlich diese Methode ausgearbeitet. Sie kommt im Princip auf das Folgende hinaus: ein gewisses Quantum Blut wird mit einer Lösung gemischt, in welcher das Blut nicht gerinnt und der Blutfarbstoff nicht austritt; diese Mischung wird in einem calibrirten Röhrechen centrifugirt, und schliesslich hat man nur das Volum des Bodensatzes abzulesen. (Auf diese Methode komme ich später zurück.)

Wenn der durch Centrifugiren erhaltene Bodensatz ein Maass für die Volumsumme der roten Blutzellen ist, so muss er mit diesen Zellen an Grösse zunehmen, wenn eine Verdünnungsflüssigkeit benutzt wird, worin die Blutkörperchen Wasser aufnehmen; dagegen abnehmen, wenn die Zellen an das verdünnende Medium Wasser abgeben. Beim Suchen nach einer geeigneten Verdünnungsflüssigkeit, wobei u. A. Kaliumbichromatlösungen von verschiedener Stärke (10—1,25 %) erprobt wurden, fand Daland denn auch, dass das gefundene Volumen grösser ist bei den verdünnten, dagegen kleiner bei den stärkeren Lösungen. Hieraus zog er jedoch keine weiteren Schlüsse.

Um dies einer näheren Untersuchung zu unterziehen, ver-

1) Hedin, Skand. Archiv für Physiologie. 1890.

2) Daland, Fortschritte der Medizin. IX, 20 (1891).

3) Gaertner, Berliner klin. Wochenschrift. XXIX, 36 (1892).

fertigte ich ziemlich enge Röhren, deren geschlossenes Ende sich kugelförmig erweiterte und die ungefähr 4 cem Inhalt hatten. Ueber der Kugel war die Röhre mit einer Skala versehen, die das Volum des Bodensatzes zu messen gestattete.

Defibrinirtes Blut — vielfach machte ich von Hühnerblut Gebrauch, weil solches mir täglich in grosser Menge frisch zur Verfügung stand — wird in diesen Röhren solange centrifugirt, bis der Bodensatz nicht mehr abnimmt. Jetzt wird das Serum sorgfältig abgehoben und durch die zu untersuchende Lösung ersetzt, die Blutkörperchen in die Flüssigkeit vertheilt und aufs Neue centrifugirt, bis das Volumen der Senkungsschicht sich gleich bleibt. Die mittlere Zeitdauer hierfür betrug $1\frac{1}{2}$ — $1\frac{3}{4}$ Stunde. Die Umdrehungsgeschwindigkeit wurde nach den Bewegungen eines Pendels regulirt und aus naheliegenden Gründen möglichst gross genommen (ca. 2400 Umdrehungen pro Minute der Muencke'schen Centrifuge).

Schon bei den ersten Versuchen war ersichtlich, dass das Volumen des erhaltenen Niederschlages um so grösser war, je mehr die Concentration der Verdünnungsflüssigkeit abnahm, bis endlich beim Austreten des Blutfarbstoffes die Abweichungen unregelmässiger wurden.

Nimmt man defibrinirtes Blut, schüttelt es durch und centrifugirt einige Proben davon, so ergiebt sich, dass in den verschiedenen Röhrchen die Volumina des Sediments den benutzten Blutmengen proportional sind. Bei gleicher Umdrehungsgeschwindigkeit ist somit das relative Sedimentvolum eine constante Grösse gleichwie das Volum der körperlichen Blutbestandtheile selbst.

Ein ganz ähnliches Resultat erhält man, wenn das Serum mehr oder weniger vollständig durch eine geeignete Salzlösung ersetzt worden ist.

Wird einer Kochsalzlösung ein gewisses Quantum Harnstoff oder Alkohol zugefügt, von letzterem jedoch nur so wenig, dass die Wirkung des Giftes nicht in den Vordergrund tritt, so hat dies auf das erhaltene Sedimentvolumen keinen merkbaren Einfluss.

In vier Röhren wird defibrinirtes Hühnerblut centrifugirt, das Serum ersetzt durch ungefähr isotonische Kochsalzlösung, welcher resp. 0,1, 1,1 und 1,2 % Harnstoff hinzugefügt ist, und von neuem centrifugirt bis ein constantes Volum des Bodensatzes erreicht ist.

Setzen wir das nach einmaligem Centrifugiren erhaltene Sedimentvolum = 1, so finden wir die folgenden Verhältnisszahlen:

1. Röhre (reine Salzlösung)	Sedimentvolum 1,003
2. „ (Salzlösung + 1 % $\frac{+}{U}$)	„ 1,009
3. „ („ + 1,1 „)	„ 1,003
4. „ („ + 1,2 „)	„ 1,006

Der Harnstoff wirkt also sicherlich nicht wasserentziehend.

Jetzt war es von Wichtigkeit, zu untersuchen, ob wirklich die Lösung eines nicht durchdringenden Salzes, in der dasselbe Sediment-Volumen wie im Serum erhalten wurde, auch mit dem Serum isotonisch sei. Zu diesem Zwecke wurden sowohl vom Serum als von der untersuchten Salzlösung die Gefrierpunktserniedrigung bestimmt, wobei ich von Beckmann's¹⁾ Apparat Gebrauch machte.

1) Heidenhain (Neue Versuche über die Aufsaugung im Dünndarm l. c. S. 587) missbilligt diese Methode in ziemlich hohem Grade, dem ich allerdings nicht beistimmen kann. Dass der Nullpunkt des dort beschriebenen Thermometers veränderlich ist, ist nach meiner Meinung auf die Zuverlässigkeit der Bestimmungen nicht von grossem Einfluss, wenn man vor und nach jeder nicht zu langen Reihe von Wahrnehmungen den Nullpunkt feststellt. Selbst bei Thermometern mit constantem Nullpunkt muss solches ab und zu geschehen, sowohl für die Controle des für die Lösungen gebrauchten destillirten Wassers, als des Umstandes halber, dass bei allen Thermometern der Nullpunkt sich auf die Dauer verändert.

Bei Serienbestimmungen, die 1—2 Stunden dauerten, fand ich jedoch selten grössere Unterschiede als 0,002—0,003° C.

Die von Heidenhain gerügte Unbeständigkeit der Resultate konnte ich ebensowenig constatiren. Ich finde im Gegentheil eine sehr gute Uebereinstimmung zwischen verschiedenen Bestimmungen derselben Constanten, so z. B. für:

Kaliumchlorid 1,30 % am 10. 4. 94: 0,626, am 18. 8. 94: 0,626.

Natriumchlorid 0,90 % am 31. 3. 94: 0,554, am 6. 6. 94: 0,561, am 14. 6. 94: 0,551.

Dass verschiedene Beobachter verschiedene Resultate erzielen, liegt nach meiner Meinung vielmehr an einem Nichtcontroliren des Thermometers als an einem Mangel in der Methode selbst, obwohl ich gerne zugebe, dass kleine, persönliche Abweichungen vorkommen müssen, abhängig vom Eisquantum, welches man auskrystallisiren lässt. Da ich jedoch jederzeit Gefrierpunktsbestimmungen verschiedener Lösungen vergleiche, fällt der persönliche Fehler fast vollständig weg.

Bei diesen Untersuchungen erlangte ich sehr gut übereinstimmende Ziffern, z. B.

9. 6. 94. Pferdeblut.

0,92 % NaCl-Lösung giebt eine Zusammenziehung von beinahe 1 (Skalentheil).

0,88 % NaCl-Lösung giebt eine Ausdehnung von 1.

Die isotonische Lösung ist also ungefähr 0,90 %.

Gefrierpunktserniedrigung des Serums = 0,549 ° C.

Gefrierpunktserniedrigung der 0,90 % NaCl-Lösung = 0,561 ° C. Iso-

$$\text{tonische Lösung} = \frac{549}{561} \times 0,90 = 0,88 \text{ \%}.$$

14. 6. 94. Pferdeblut.

0,90 % NaCl giebt ein Einschrumpfen von $\frac{1}{4}$.

Gefrierpunktserniedrigung des Serums = 0,549 ° C.

Gefrierpunktserniedrigung der Salzlösung = 0,550 ° C.

15. 6. 94. Hühnerblut.

0,98 % NaCl giebt ein Einschrumpfen von $\frac{1}{4}$.

0,96 % NaCl giebt eine Ausdehnung von $\frac{1}{4}$.

Gefrierpunktserniedrigung des Serums 0,619 ° C.

Gefrierpunktserniedrigung der 0,98 % NaCl-Lösung 0,602 ° C.

18. 8. 94.

1,35 % KCl giebt ein Einschrumpfen von 1.

1,30 % KCl giebt keine Veränderung des Volumens.

1,25 % KCl giebt eine Ausdehnung von 1.

Gefrierpunktserniedrigung des Serums = 0,624 ° C.

Gefrierpunktserniedrigung von 1,30 % KCl = 0,626 ° C.

13. 9. 94.

10,2 % Milhzuckerlösung giebt eine Schrumpfung von noch nicht $\frac{1}{4}$.

Gefrierpunktserniedrigung des Serums 0,617 ° C.

Gefrierpunktserniedrigung der Milhzuckerlösung (aus der einer verdünnteren Lösung berechnet) 0,600 ° C.

Diese Beispiele würde ich leicht mit mehreren, auch für andere Stoffe als NaCl, bereichern können; weil jedoch kürzlich eine grosse Zahl dergleichen Untersuchungen durch Hedin¹⁾ publicirt wurden, sehe ich von diesem Vorhaben ab.

Hat die Theorie mit den bis jetzt besprochenen Thatsachen sich leicht in Uebereinstimmung bringen lassen, dass nämlich die rothen Blutkörperchen für Wasser leicht permeabel sind, nicht oder

1) Dieses Archiv. Bd. 60.

nur schwer für viele andere Stoffe, und dass sie in den Lösungen dieser Stoffe, je nachdem diese hyp- oder hyperisotonisch sind, Wasser aufnehmen oder abgeben, sodass ihr Volumen durch den osmotischen Druck der sie umgebenden Lösung bedingt wird, so müssen wir jetzt einen scheinbar hiermit im Widerspruch stehenden Versuch besprechen.

Wenn wir Blut oder, was besser ist, den durch Centrifugiren erlangten Bodensatz, der hauptsächlich aus rothen Blutkörperchen besteht, mit Wasser verdünnen und von der Mischung, in welche das Hämoglobin ausgetreten ist, die Gefrierpunktserniedrigung bestimmen, so gelangen wir zu einem niedrigeren Werth, als dem des in gleichem Maasse verdünnten Serums.

Hamburger¹⁾, der diese Erscheinung zuerst bemerkte, zog daraus den, bei oberflächlicher Betrachtung richtig scheinenden, Schluss, dass in den Blutkörperchen ein geringerer osmotischer Druck, als im Serum herrsche. Dies ist jedoch bei freiem Wasseraustausch auf die Dauer natürlich unmöglich. Die Ursache dieser Erscheinung, welche also anderswo gesucht werden muss, lässt sich durch folgende Ueberlegung finden.

Die Blutkörperchen, welche doch ohne Zweifel als Zellen aufgefasst werden müssen, bestehen nicht aus einer äusserst dünnen Wand mit einem flüssigen Inhalt, sondern sie müssen vielmehr als eine lebende Substanz, in der Nahrungssaft vorhanden ist, betrachtet werden. Soweit mir bekannt, ist eine derartige Struktur für die Blutkörperchen noch nicht erwiesen; doch die Analogie mit andern Zellen, bei welchen eine solche Differentiation mit Hülfe des Mikroskopes nachgewiesen werden kann, nöthigt uns zu dieser Annahme.

Nun bleibt bei der Behandlung der Blutzellen mit Wasser ein Theil übrig, der nicht in Auflösung übergeht (Oikoid, Stroma: Rollet, Brucke).

Wir haben demnach in der lebenden rothen Blutzelle sowohl als in der Mischung, in welche das Hämoglobin ausgetreten ist, einen für den osmotischen Druck nicht in Betracht kommenden Theil. Wenn wir also ein bestimmtes Volumen rother Blutzellen (a) mit einem bestimmten Volumen Wasser (b) mengen, müssen

1) Hamburger, Recueil des travaux chimiques des Pays-bas. XIII, 2, p. 76.

wir für die Berechnung des osmotischen Druckes nicht die Verdünnung $\frac{a}{a+b}$, sondern $\frac{a-p}{a-p+b}$ annehmen, worin p den nicht aufgelösten Theil der Blutzellen angiebt. Versäumen wir dies, so fällt unsere Ziffer kleiner aus, als mit der Berechnung übereinstimmt.

Ist diese Betrachtung richtig und dürfen wir ebenfalls annehmen, dass dabei nicht ein bemerkenswerthes Quantum Wassers oder lösbarer Stoffe freikommt oder gebunden wird, so wird, wenn wir die rothen Blutzellen in ihrem eigenen Serum auflösen, die Gefrierpunktserniedrigung unverändert bleiben. Es stellte sich heraus, dass dies auch wirklich der Fall ist.

So fand ich für Hühnerblut:

Serum $\Delta^1) = 0,61^\circ \text{C}$;

Blut, nach wiederholtem Gefrieren und Aufthauen $\Delta = 0,61^\circ \text{C}^2)$.

Wir sind demnach zu der Annahme berechtigt, dass der in den rothen Blutzellen enthaltene Saft den gleichen osmotischen Druck hat, wie das Serum, während der Rest des Blutkörperchens als organisirte, nicht gelöste Substanz betrachtet werden muss.

Wir können sogar berechnen, in welchem Volumverhältniss beide zu einander stehen, vorausgesetzt, dass das Verhältniss des Serumvolums zum Blutvolum bekannt sei.

Letzteres können wir nach der Methode von Bleibtren³⁾ oder dergleichen bestimmen, wobei wir darauf achten müssen, mit isotonischer Mischflüssigkeit zu arbeiten⁴⁾.

Ist auf diese Weise das relative Serumvolum x bekannt, so haben wir weiter, wenn eine Quantität Blut a mit einer Quantität destillirten Wassers b gemengt wird, und p das Volumverhältniss

1) Bezeichnung für Gefrierpunktsdepression.

2) Da in der dunkelrothen, fast undurchsichtigen Blutflüssigkeit schwerlich zu beobachten ist, ob viel oder wenig Eis gebildet, wurde hier nur bis auf $\frac{1}{100}^\circ$ genau bestimmt.

Dass in der That in Folge des wiederholten Gefrierens und Aufthauens die Blutkörperchen ihren Farbstoff abgegeben hatten, geht daraus hervor, dass bei entsprechender Verdünnung der Blutflüssigkeit mit isotonischer Kochsalzlösung eine durchsichtige, intensiv rothgefärbte Flüssigkeit erhalten wurde, in welcher sich entfärbte Blutkörperchen zu Boden senkten.

3) M. Bleibtren, dieses Archiv Bd. 57 u. 58.

4) C. Eykman, ebendasselbst Bd. 60.

des gelösten Theils der Blutzelle zur ganzen Zelle darstellt: ax Serum und $a(1-x)$ Blutzellen; von letzteren ist $a(1-x)p$ aufgelöst; im Ganzen ist also $ax + a(1-x)p$ Lösung im Blut vorhanden; diese wird mit destillirtem Wasser (b) vermischt.

Ist die Gefrierpunktserniedrigung des Serums A_1 , die des verdünnten Blutes A_2 , so gilt das Verhältniss:

$$A_1 : A_2 = b + ax + (1-x)p : ax + a(1-x)p,$$

$$\text{oder } p = \frac{A_2(ax + b) - A_1 ax}{(A_1 - A_2)(a - ax)} \quad . \quad . \quad . \quad (1)$$

Als Beispiel führen wir einige Bestimmungen an.

20. 1. 95. Pferdeblut.

12½ ccm Blut werden durch Vermischung mit dem gleichen Volum destillirten Wassers lackfarbig gemacht.

Gefrierpunktserniedrigung des Serums $A_1 = 0,561$.

Gefrierpunktserniedrigung der Mischung $A_2 = 0,240$.

s. G. des Blutes = 1,055.

s. G. des Serums = 1,0272.

s. G. einer 0,9 % NaCl-Lösung = 1,0063.

25 ccm Blut centrifugirt, hiervon 10 ccm Serum abgehoben und durch 10 ccm 0,9 % NaCl-Lösung ersetzt, umgerührt und wieder centrifugirt.

s. G. der jetzt erhaltenen Serumflüssigkeit $S = 1,014,1$.

Setzen wir das Serumquantum in 25 ccm Blut = y , so ist:

$$(y-10) 1,0272 + 10 \times 1,0063 = 1,0141 y$$

$$y = 16.$$

Wir haben also $x = \frac{16}{25}$ oder 64 % Serum.

In Formel 1 substituierend, bekommt man also, weil $a = b$:

$$p = \frac{A_2(x+1) - A_1 x}{(A_1 - A_2)(1-x)} = \frac{0,240(\frac{16}{25} + 1) - 0,561(\frac{16}{25})}{(0,561 - 0,240)(1 - \frac{16}{25})} = 0,33.$$

22. 1. 95. Hühnerblut.

s. G. Blut = 1,0498. Serum $A_1 = 0,620$.

s. G. Serum = 1,0206. Mischung (gleicher Volumina Blut und

s. G. 0,97 % NaCl = 1,0070. Wasser) $A_2 = 0,291$.

25 ccm centrifugirtes Blut und hiervon 10 ccm Serum abgehoben und durch 10 ccm 0,97 % NaCl-Lösung ersetzt, gemischt und wieder centrifugirt; s. G. der auf diese Weise erhaltenen Flüssigkeit = 1,0127.

Hierbei finden wir für y , in gleicher Weise wie oben berechnet,

$$y = 17, \text{ also } x = 0,68,$$

$$\text{und } p = 0,64.$$

23. 1. 95. Hühnerblut.

s. G. 0,968 % NaCl-Lösung = 1,0069.

s. G. Serum = 1,0193.

A. 12 $\frac{1}{2}$ ccm Blut gemischt mit 13 ccm NaCl-Lösung (0,968 %) (erste Verdünnung) centrifugirt; s. G. obenstehender Flüssigkeit = 1,0118.

B. 15 ccm Blut mit 10 ccm 0,968 % NaCl verdünnt, centrifugirt (zweite Verdünnung); s. G. obenstehender Flüssigkeit = 1,0131.

Gefrierpunktserniedrigung des Serums $A_1 = 0,600^\circ \text{C}$.Gefrierpunktserniedrigung einer Mischung von 12 $\frac{1}{2}$ ccm Blut und 12 $\frac{1}{2}$ ccm Wasser $A_2 = 0,278^\circ \text{C}$.

Für die erste Verdünnung (A) finden wir:

$$x = 0,68,$$

$$p = 0,58.$$

Für die zweite Verdünnung (B):

$$x = 0,67,$$

$$p = 0,585.$$

18. 2. 95. Pferdeblut.

s. G. Blut = 1,0553. $A_1 = 0,520^\circ \text{C}$.s. G. Serum = 1,0266. $A_2 = 0,226^\circ \text{C}$.

s. G. Salzlösung = 1,0063.

25 ccm Blut mit 25 ccm 0,9 % NaCl-Lösung vermischt und centrifugirt; obenstehende Flüssigkeit hat ein s. G. = 1014,5. Hieraus finden wir:

$$x = 0,67,$$

$$p = 0,35.$$

Der als Lösung zu betrachtende Theil der Blutkörperchen des Pferdeblutes beträgt 0,33—0,35 ihres Volumens. Für Hühnerblut ergeben sich höhere Ziffern, nämlich 0,585—0,64.

III.

Nachdem wir jetzt gesehen, dass nicht allein die Blutkörperchen selbst, sondern auch der durch Centrifugiren erhaltene Bodensatz ihre Grösse wechseln mit der osmotischen Spannung der Zwischenflüssigkeit, so können wir zu der Frage übergehen, die auch Hedin sich jüngsthin stellte: Können wir die Centrifugirmethode zum Messen des gemeinschaftlichen Volumens der rothen Blutkörperchen gebrauchen, und ist sie klinisch brauchbar? Dass das Volumen der Senkungsschicht eine einfache Function von Anzahl und Volumen der Blutzellen ist, wird nach dem Vorhergehenden wohl Niemand bezweifeln; jedoch muss man dafür Sorge tragen, dass durch die eventuell zu brauchenden Verdünnungs-

flüssigkeiten keine Veränderungen im Volumen der rothen Blutkörperchen zuwege gebracht werden.

Wollen wir das Volumen der körperlichen Bestandtheile im circulirenden Blute kennen lernen, so muss das Defibriniren umgangen werden, weil wir nicht wissen, wieviel Blutzellen durch diese Operation entfernt werden

Frühere Forscher suchten die Gerinnung durch Beimischung von Sublimat- oder Bichromatlösung hintanzuhalten. Indess, weil diese Stoffe Eiweiss aus dem Blute niederschlagen und schädigend auf die Blutkörperchen einwirken, sind sie für unseren Zweck nicht geeignet.

Die Volumina des Bodensatzes, die erzielt wurden, falls Probchen von demselben Blut mit der gleichen Sublimat- oder Bichromatlösung gemischt und centrifugirt waren, erwiesen sich als sehr verschieden von einander.

Bei mikroskopischer Betrachtung stellte sich zudem heraus, dass die rothen Blutzellen ziemlich weitgehende Veränderungen erlitten hatten.

Hieraus erhellt, dass die von Hedin, Daland, Gaertner u. A. angegebenen Verdünnungsflüssigkeiten nicht zweckdienlich sind, und wir uns deshalb nach einer anderen umsehen müssen.

Meine Versuche haben nun ergeben, dass man sich zu dem erwähnten Zweck mit Vortheil einer isotonischen Kochsalzlösung bedienen kann, der behufs Hintanhaltung der Gerinnung des Blutes eine kleine Menge Oxalat beigemischt ist. Weil Ammoniumoxalat in die rothen Blutzellen eindringt und somit nicht wasserentziehend auf dieselben einwirkt, kann es in Substanz zugesetzt werden. Will man, wie wir es meistens gethan, Natriumoxalat benutzen, so muss davon eine isotonische Lösung bereitet und der Kochsalzlösung hinzugesetzt werden.

Mit defibrinirtem Blute angestellte Controlversuche ergaben, bezüglich der Brauchbarkeit der Oxalatkochsalzlösung als Mischflüssigkeit, sehr zufriedenstellende Resultate. Was die durch das Oxalat gefällte Kalkmenge anbetrifft, so ist dieselbe zu gering, als dass sie für die Genauigkeit der Versuchsergebnisse in Betracht kommen dürfte.

Es war zunächst die mit dem Menschenblut isotonische Lösung zu ermitteln. Ich ging dabei folgendermaassen zu Werke: Mehrere Blutprobchen, durch Einstich in die Fingerbeere erhalten,

werden je mit einer kleinen Menge einer für jedes Proböchen verschiedenen starken Salzoalatlösung gemischt. Alsdann wird centrifugirt, bis der Bodensatz nicht mehr an Volum abnimmt, die obenstehende Flüssigkeit abgehoben und durch ein Uebermaass der ursprünglich zugesetzten Lösung ersetzt; darauf wird der Bodensatz in der Flüssigkeit vertheilt und aufs Neue centrifugirt. Jetzt hat man darauf zu achten, bei welcher Concentration der Verdünnungsflüssigkeit das Volum des Bodensatzes sich nicht oder am wenigsten geändert zeigt.

Es sei der wirksame osmotische Druck der Verdünnungsflüssigkeit a , der des Blutplasma b , die ursprünglich vorhandene Quantität Blutplasma + dem gelösten Theile der rothen Blutzellen q , so hat man für die Mischung einen wirksamen osmotischen Druck $= \frac{a + bq}{1 + q}$.

Wurde nun beim zweitnächsten Centrifugiren das gleiche Volumen erzielt, wie das erste Mal, so musste die Verdünnungsflüssigkeit denselben Druck, wie die Mischung ausüben, also:

$$\frac{a + bq}{1 + q} = a \text{ sein.}$$

Dieses kann, weil $q > 0$, allein der Fall sein, wenn $a = b$, die Verdünnungsflüssigkeit also isotonisch mit dem Plasma war.

Solchermaassen wurde gefunden, dass Menschenblut ungefähr isotonisch ist mit 0,88—0,84 % NaCl-Lösung¹⁾.

Der Controle halber führte ich noch einige Gefrierpunktsbestimmungen an Menschenblut aus. Das Blut wurde durch Aderlass gewonnen und in einer abgewogenen Menge Natriumchlorid-Oxalatlösung aufgefangen.

Das Weitere ergibt sich aus den nachstehend beschriebenen Versuchen.

8. 2. 95.

s. G. der Natriumchlorid-Oxalatlösung = 1,0072.

Menge „ „ „ = 6,693 g oder 6,628 ccm.

„ „ „ = 0,335 ° C.

s. G. des Blutes (Tropfenmethode Hamerschlag) = 1,059.

1) Eykman, Virchow's Archiv, Bd. 143.

Menge des Blutes = 39,682 g oder 37,489 ccm.
 Δ der Salzlösung-Serummischung = 0,506 C.

Man hat jetzt, falls Δp die Gefrierpunktserniedrigung des Blutes ist:

$$6,628 \times 0,335 + 37,489 \times \Delta p = (6,628 + 37,489) 0,506,$$

woraus $\Delta p = 0,533$.

11. 2. 95.

s. G. der Natriumchlorid-Oxalatlösung = 1,0124.

Menge „ „ „ = 6,414 g oder 6,336 ccm.

Δ „ „ „ = 0,535.

s. G. des Blutes = 1,0585.

Menge „ „ = 30,644 g oder 29,301 ccm.

Δ der Salzlösung-Serummischung = 0,529.

Daraus berechnet man Δp :

$$6,336 \times 0,535 + \Delta p \times 29,304 = (6,336 + 29,304) 0,529$$

$$\Delta p = 0,528.$$

Wir finden demnach, dass die Gefrierpunktserniedrigung des Menschenblutes in den zwei Versuchen $0,528^{\circ}$ bis $0,533^{\circ}$ C. betrug. Die Versuchsergebnisse sind insofern mit einem Fehler behaftet, als bei der Berechnung das Blut im ganzen als Lösung betrachtet, der feste, organisirte Theil der Blutkörperchen somit vernachlässigt wurde. Eine entsprechende Correctur vorzunehmen wäre nur möglich, falls das relative Volum des letzteren bekannt wäre. Nehmen wir dies nach Analogie des für das Pferdeblut ermittelten Werthes auf 65% der Blutkörperchen oder 26% des Gesamtblutes an, so ergibt sich, dass im ersten Versuch $\Delta p = 0,547$ anstatt 0,533 betragen würde. Im zweiten Versuch ist die Correctur fast gleich Null.

Für Kochsalzlösungen von 0,8–0,9% fanden wir $\Delta = 0,510$ bis $0,550^{\circ}$ C.

Nach der Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung ist mithin das Menschenblut isotonisch mit Kochsalzlösung von 0,845 bis 0,892%.

Diese Werthe stimmen gut überein mit denjenigen, die nach der Centrifugirmethode erhalten wurden.

Noch bleibt uns zu untersuchen übrig, wie sich das Sedimentvolum zum wirklichen Volum der körperlichen Blutbestandtheile verhält.

Mehrere Wege führen hier zum Ziel.

Ich bestimmte das Porenvolum einer gegebenen Menge des Sediments, indem ich ermittelte, in welchem Verhältniss die die

Poren ausfüllende Zwischenflüssigkeit durch Beimischung eines bestimmten Quantums einer zweiten isotonischen Flüssigkeit verdünnt wurde. Die Versuchsanordnung ist, wie folgt.

Zuerst wird mit Zuhülfenahme der Centrifuge das Serum möglichst vollständig aus dem Blut entfernt und durch isotonische Kochsalzlösung ersetzt. Jetzt wird die Blutprobe solange centrifugirt, bis das Volum des Bodensatzes sich nicht mehr ändert. Die obenstehende Flüssigkeit wird alsdann sorgfältig bis auf die letzten Spuren abgehoben und zur Bestimmung ihres Chlorgehaltes aufbewahrt. Nun wird das Sediment tüchtig mit einer genau abgemessenen Menge einer isotonischen Milchzuckerlösung vermischt, nochmals centrifugirt, und danach die obenstehende Flüssigkeit auf ihren Chlorgehalt untersucht.

Sei a die Menge des Sediments, p das relative Porenvolum desselben, m der Chlorgehalt der obenstehenden Kochsalzlösung, n jener der obenstehenden Milchzuckerlösung und b die Menge, die von letzterer zugesetzt wurde. Es ergibt sich dann folgende Gleichung:

$$ap \times m = (b + ap)n,$$

woraus:

$$p = \frac{bn}{a(m-n)}.$$

Die Versuche wurden mit Hühnerblut angestellt.

2. 1. 94.

Hühnerblut in 4 calibrierten Röhren centrifugirt und weiterhin in der oben beschriebenen Weise behandelt.

Die vier Blutproben ergeben die nachstehenden Werthe für das relative Porenvolum:

$$\text{I. } 22,8 \text{ ‰, II. } 20,5 \text{ ‰, III. } 18,2 \text{ ‰, IV. } 19,5 \text{ ‰.}$$

$$\text{Mittel } 20,2 \text{ ‰.}$$

4. 1. 94. Versuchsanordnung wie oben.

Die Ergebnisse der Bestimmung des Porenvolums sind:

$$\text{I. } 22 \text{ ‰, II. } 21,8 \text{ ‰, III. } 23 \text{ ‰, IV. } 21,2 \text{ ‰.}$$

$$\text{Mittel } 22,0 \text{ ‰.}$$

5. 1. 94. Ausführung des Versuchs wie oben.

Das Porenvolum der vier Blutproben beträgt:

$$\text{I. } 15,1 \text{ ‰, II. } 16,7 \text{ ‰, III. } 15 \text{ ‰, IV. } 16,8 \text{ ‰.}$$

$$\text{Mittel } 15,9 \text{ ‰.}$$

In drei Versuchen beträgt somit das Porenvolum 20,2, 22 und 15,9 ‰ des Sedimentvolums.

Ich habe auch zwei Bestimmungen gemacht, wobei die Milch-

zuckerlösung anstatt der Kochsalzlösung und umgekehrt benutzt wurde. Der Milchzuckergehalt wurde in diesen Versuchen mittels Fehling'scher Lösung bestimmt. Für das Porenvolum fanden wir hier 18,5—19,5 %.

Als Mittel aller Beobachtungen haben wir demnach 19,2%. In Anbetracht der bei diesen Versuchen so mannichfachen Fehlerquellen sind die Abweichungen vom Mittelwerth ziemlich zufriedenstellend.

Man kann das Porenvolum auch ermitteln, indem man nach der Bleibtrenu'schen Methode das wirkliche Volum der körperlichen Blutbestandtheile bestimmt und vom Sedimentvolum abzieht. Aus Eykman's diesbezüglichen Untersuchungen¹⁾ ergeben sich folgende Werthe:

Für Hühnerblut . . .	15%	} des Sedimentvolums.
„ Schweineblut . . .	16 „	
„ Pferdeblut . . .	7 „	
„ Menschenblut . . .	10 „	

Wie der genannte Forscher mit Recht hervorhebt, ist das Porenvolum in den untersuchten Fällen zu gering, als dass sogar relativ starke Schwankungen desselben einen erheblichen Fehler in der Bestimmung des Sedimentvolums veranlassen könnten.

Nach Obigem möchte ich mein Urtheil über die Centrifugirmethode dahin zusammenfassen, dass sie sich bei der Untersuchung des Bluts in mancher Hinsicht sehr brauchbar erweist, und dass die weniger zufriedenstellenden Resultate, die von Andern damit erzielt wurden, nicht der Methode selbst, sondern einer nicht zweckentsprechenden Anwendung derselben zuzuschreiben sind.

1) Dieses Archiv Bd. 60 und Virchow's Archiv Bd. 143.