

XVII.

**Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen
Instituts zu Berlin.**

I.

**Das Vorkommen und die Ausscheidung des Hämoglobins
aus dem Blute.**

Von Dr. W. Kühne.

In dem Folgenden soll ein Gegenstand behandelt werden, der für die rein chemische Kenntniss des Hämoglobins nur von sehr untergeordnetem Werthe sein mag, der jedoch für die physiologische Chemie nicht ganz ohne Bedeutung ist, weil er die Frage nach dem Vorkommen des Hämoglobins im kreisenden Blute betrifft. Wer der Entwicklung der Physiologie gefolgt ist, seit sie begonnen, Erfahrungen der Chemie zu verwerthen, wird reichlich Gelegenheit gehabt haben, die verschiedene Auffassung chemischer Vorgänge in den Organismen zu bemerken, welche beide Wissenschaften so oft von einander entfremdet hat. Man sollte meinen der Gedanke, ob eine nach vielleicht sehr zweckmässigen chemischen Methoden aus organisirtem Material dargestellte Substanz, auch in demselben ursprünglich enthalten gewesen sei, liege so sehr auf der Hand, dass er gar nicht zu übersehen sei: denn für die Physiologie kommt der dargestellte Körper erst in Betracht, wenn sie weiss, ob er in lebenden Organismen schon existirte. So lange noch Zweifel in der Beantwortung dieser ersten Frage walten, kann keine erfolgreiche Untersuchung über die physiologische Function, d. i. die Wandlungen und Zersetzung der die Organismen aufbauenden Stoffe während der sogenannten lebenden Existenz gedacht werden. Es wäre leicht, eine beträchtliche Zahl von Beispielen anzuführen, welche darthun würden, wie selbst

die besten chemischen Untersuchungen, solche, die dem Chemiker häufig die reichste Ausbeute an interessanten chemischen Körpern geliefert haben, nur deshalb für die Physiologie unfruchtbar blieben, weil die Chemie bei ihren völlig anderen Zwecken, die genannte nur der Physiologie bedeutungsvolle Frage unberührt lassen musste. In unserer Zeit, wo die Chemie nie in Verlegenheit ist wegen der Bezugsquellen ihres Materials, mag es freilich dem Chemiker wenig verlockend und lohnend erscheinen, besonders thierische Theile auf neue Körper abzusuchen. Um so reicher wird Derjenige sich belohnt fühlen, der vom physiologischen Interesse geleitet mit den bekannten Stoffen vor der Hand vorlieb nimmt, um erst ihrer Function im Organismus nachzuspüren.

Es ist bekannt, dass der Farbstoff der rothen Blutkörperchen sich in krystallinischer Gestalt aus dem Blute ausscheiden kann, ohne dass eine Veränderung im Wassergehalte einzutreten braucht, oder ohne dass wir eine Flüssigkeit zuzusetzen brauchen, welche das Lösungsvermögen der Blutflüssigkeiten für die Krystalle verändert. Das Blut enthält also scheinbar mehr Hämoglobin, als es zu lösen vermag, und doch sehen wir niemals im normalen Blute während des Lebens festes Hämoglobin in den Blutkörperchen auftreten. Da die meisten Methoden zur Darstellung des Hämoglobins auf einer im Blute nicht präexistirenden, vorläufigen Vermischung des Plasma oder Serum mit dem Inhalte der rothen Körperchen beruhen, so muss die Frage entstehen, ob nicht die Trennung der Substanz von den übrigen Bestandtheilen der rothen Körperchen, besonders ihres Stroma, die erste Bedingung sei für die Ausscheidung. Wir werden fast zu dieser Annahme gedrängt, weil man das Blut sogar verdünnen kann, ohne die Krystallausscheidung zu beeinträchtigen, man müsste denn die widersinnige Annahme machen, dass das Blut eine weit übersättigte Lösung des Hämoglobins enthalte. So abhängig auch die Löslichkeit des Hämoglobins sein mag von den Temperaturen der Blutflüssigkeiten, so lehrt doch ein einfacher Versuch, dass einmal krystallisiertes Blut häufig viel mehr Krystalle enthält, als es beim Wiedererwärmen auf die Körpertemperatur aufzulösen vermag.

Wir wollen nun zunächst untersuchen, ob die Trennung des

Blutkörperchen-Stroma von seinem Farbstoffe eine nothwendige Bedingung für die Ausscheidung des krystallinischen Hämoglobins ist. Lassen wir unverändertes Blut rasch an der Luft bei Zimmertemperatur verdunsten, so treten bekanntlich nie Blutkrystalle auf. Ich muss entweder das Blut so langsam eindunsten lassen, dass es Zeit hat durch Zersetzung Blutkörperchen zu verlieren, oder durch irgend ein Verfahren rothe Substanz aus den Körperchen in das Serum zu bringen wissen, um beim nachherigen Verdunsten Krystalle zu gewinnen. Dennoch kann unter Umständen eine Krystallisation eintreten, die gewichtig für ihre Unabhängigkeit von der Ablösung des Farbstoffs vom Stroma zu reden scheint: es können sich Krystalle ausscheiden in den Blutkörperchen. So sind die Krystalle, wie man jetzt, seit das Hämoglobin besser bekannt ist, wohl zugeben kann, sogar zuerst von Leydig und von Kölliker gesehen und beschrieben worden. Ein Verfahren, das schon von Böttcher veröffentlicht worden ist, liefert z. B. aus dem Hundeblute mit Sicherheit eine ungeheure Zahl von in Blutkörperchen eingeschlossenen kleinen Hämoglobin-krystallen. Geschlagenes Hundeblut wird in einer nicht zu schmalen Flasche bei nicht zu niederer Temperatur gefrieren gelassen, und langsam wieder aufgetaut. Man findet dann am Boden der Flüssigkeit ein hellrothes Sediment, das aus rascher gesunkenen Blutkörperchen besteht, von denen jedes einen oder selbst mehrere Krystalle enthält. Diese Krystalle sind begreiflicher Weise sehr klein, doch lässt sich ihre mit den grössten erzielbaren Krystallen übereinstimmende, vierseitig prismatische Form bei starken Vergrösserungen recht gut ermitteln, und durch die Untersuchung zwischen gekreuzten Nicols die Doppelbrechung wie die Pleochroasie feststellen. Die kleinsten Krystalle liegen einfach in den Blutkörperchen drin, ohne deren Gestalt zu verändern, bisweilen am Rande als Sehnen im Kreise, bisweilen in der Mitte; wo mehrere in einem Körperchen liegen, nimmt dieses gewöhnlich eine eckige Gestalt an. Andere Krystalle übertreffen den Diameter der Blutkörperchen um das 3 — 4fache, und dennoch liegen sie darin. Man muss diese flachen Prismen mit der grössten Aufmerksamkeit betrachten, um sich die Contouren und das immer deutlich sicht-

bare, fast farblos gewordene Stroma des Blutkörperchens nicht entgehen zu lassen, denn diese liegen nur wie ein flacher Bogen dem Krystalle auf zwei Seiten seiner Mitte an. Liegt der Krystall auf seiner breiteren Fläche, so ist die Erkennung am schwersten, so wie er aber im Drehen die schmale Seite des Prisma zuwendet, erscheint das in die Länge gespannte Blutkörperchen ganz deutlich. Es gibt nun ein Verfahren, aus diesen von Krystallen veränderten und verzerrten Blutkörperchen wieder ganz normale zu machen. Setzt man denselben nämlich Serum zu, so lösen sich die Krystalle wieder auf, und die schönsten offenbar in Nichts veränderten Blutkörperchen kommen wieder zum Vorschein. Dabei sieht man ganz deutlich, wie die Krystalle von den Enden her eis schmelzen, und wie das vorher gespannte Blutkörperchen sich auf seine ursprüngliche, eingedrückte Scheibenform wieder zurückzieht. Hätte man sich nicht vorher auf das Bestimmteste überzeugt, dass die kleinen Hämoglobinkrystalle wirklich sämmtlich noch in rothen Blutkörperchen lagen, so würde man glauben, aus Krystallen Körperchen fabricirt zu haben.

Wenn wir im Stande sind jeder Zeit nach Belieben intraglobuläres, krystallinisches Hämoglobin darzustellen, so sollte man denken, diess sei ein Beweis, dass das Stroma kein Hinderniss für das Auskrystallisiren sei. Allein wenn wir auch zugeben wollen, dass das Stroma erblassen muss, wenn sich der Farbstoff in fester Form ausscheidet, und dass diese Ausscheidung selbstverständlich ohne Trennung nicht denkbar ist, so zeigt doch die Methode der Erzeugung dieses Phänomens, dass höchst wahrscheinlich die Trennung der Farbstofflösung vom Stroma das Primäre ist, auf welche die krystallinische Ausscheidung erst als etwas secundäres folgt. Es ist nämlich unmöglich diesen Versuch anzustellen, ohne dass nicht zugleich der Farbstoff in beträchtlicher Menge in's Serum übertritt. Man sieht deutlich, dass einmal in der angegebenen Weise gefrorenes Blut ein Serum enthält, das selbst in den dünnen Schichten mikroskopischer Präparate dunkler, röther aussieht, als bei unverändertem Blut, und wenn man es stehen lässt, bildet sich an der Oberfläche eine körperchenfreie, schön rothe, lackfarbene Schicht. Da sich von den ein-

mal in den Körperchen gebildeten Krystallen ohne Zusatz keine Wiederauflösung nachweisen lässt, so kann die rothe Farbe des Serums nur entstanden sein, weil vor der Krystallisation gelöster Farbstoff die Körperchen verlassen hatte. In unberührtem Blute geschieht diess bekanntlich ohne cadaveröse Zersetzung nie, folglich muss die Farbstofflösung durch das Gefrieren disponirt werden, das Stroma, das davon imbibirt war, zu verlassen. Ich gestehe, dass die Fixirung von Farbstofflösungen in festen Substanzen in den meisten Fällen ein dunkler Vorgang ist; diess kann uns jedoch nicht abhalten, die Färbung des Blutkörperchenstroma uns etwa so zu denken, wie die Färbung von Leinenfasern z. B. in Fuchsinslösungen etc.

Ein anderes freilich weniger sicheres Verfahren, das Hämoglobin in den rothen Blutkörperchen auskrystallisiren zu lassen, besteht in der Behandlung mit CO_2 unter gleichzeitiger Wasserdunstung, worauf ich später wieder zurückkommen werde.

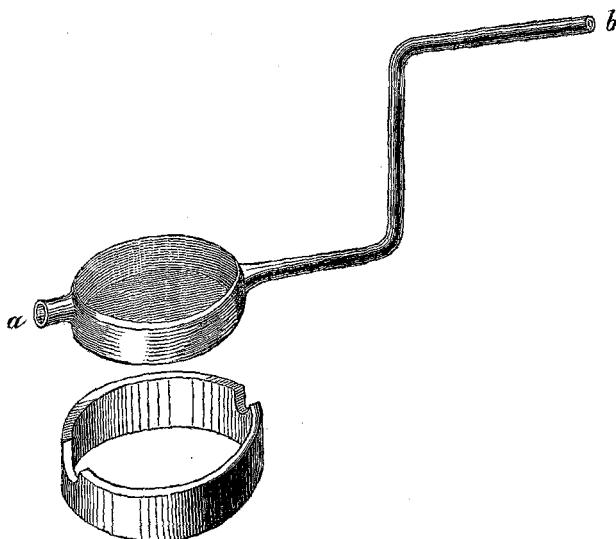
Ist das Hämoglobin ohne Verbindung mit Gasen ein kristallinischer Körper?

Schon bei den ersten Beobachtungen über sogenannte Blutkrystallisation von Kunde, Funke und Lehmann wurde bemerkt, dass nach der Herstellung rothen Serums ein zweiter Umstand sehr günstig auf die Abscheidung der Hämoglobinkristalle wirke, nämlich der Zutritt von Sauerstoff. Lehmann gelangte hierdurch zu der jetzt freilich verlassenen Methode, für die Darstellung grösserer Mengen O einzuleiten.

Ich habe über diese Frage Aufschluss zu erlangen versucht, indem ich Hämoglobin darzustellen suchte mit völligem Ausschluss des O, in einer Atmosphäre von Wasserstoff oder Kohlensäure. Dazu benutzte ich den hier abgebildeten Apparat. Derselbe besteht aus einem von Herrn Ch. Geissler *) mit grosser Kunst geblasenen Glasgefasse, dessen obere Fläche dünn und eben genug ist, um die Beobachtung an die innere dem Lumen der feuchten

*) Herr Ch. Geissler, Albrechtstrasse 14, liefert diese feuchten Kammern mit dem Bleifusse für 15 Sgr.

Kammer zugekehrte Fläche gehesteter Objecte, selbst mit dem Hartnack'schen Immersionssystem 10 zu gestatten. Auf den



unteren Boden werden von der weiten Oeffnung a her mittelst einer capillar ausgezogenen Glasröhre einige Wassertropfen zur Herstellung des feuchten Raumes gebracht, während das Object, in unserem Falle kleine Blutstropfen, ebenso unter die oberen Platte befördert und je nach Bedürfniss ausgebreitet werden. Zieht man nun über a und b passende Kautschukschläuche, so kann man die Kammer luftdicht verschliessen oder auch jedes beliebige Gas während der mikroskopischen Untersuchung über das Object leiten *). Zur festen Aufstellung auf den Tisch des Mikroskopes, dessen Blendung fortgenommen und dessen Spiegel etwas gehoben werden muss, dient der abgebildete aus Blei gegossene Ring, in welchem die Kammer durch 2 Tropfen Kitt fixirt wird. Für meine speciellen Zwecke wurde häufig kein Wasser auf den Boden der

*) Ohne Schwierigkeiten kann man auch mit einer Präparirnadel oder mit feinen Pincetten feste mikroskopische Objecte, dünne Schnitte u. dgl. unter das Deckglas der Kammer bringen und im feuchten Raume oder in beliebigen Gasen beobachten.

Kammer gethan, sondern ein ziemlich langer Streifen aus Deckglas, dessen Gebrauch später erwähnt werden soll.

Bekanntlich darf man zur Gewinnung sogenannter schwer kry stallisirender Körper, oder zur Gewinnung von Krystallen aus Flüssigkeiten, die der Krystallisation ungünstig sind, die Verdunstung nicht zu schnell vor sich gehen lassen: Körper, die bei langsamer Verdunstung sehr schön krystallisiren, scheiden sich beim schnellen Verdunsten häufig amorph aus. Ich habe desshalb meine Gas zuleitungsapparate so eingerichtet, dass ich nach Willkür jeden Augenblick, ohne den Gasstrom zu unterbrechen, mit Wasserdämpfen gesättigte oder durch Schwefelsäure getrocknete Gase über das Blut leiten konnte. Die hierzu nöthigen Röhrenverzweigungen, Hähne und Flüssigkeitsventile wird Jedermann leicht selbst zu construiren wissen, so dass ich mich der Beschreibung enthalten kann. Zu allen Versuchen wurde Hundeblut verwendet.

Versuche mit Wasserstoff. Das Gas wurde aus unreinem Zink in sehr raschem Strome entwickelt und durch mehrere Waschflaschen und Perlenröhren mit Sublimat, Silbernitrat und Kali gewaschen, bevor es in die mikroskopische Gaskammer gelangte. Jenseits derselben wurde es durch vorgelegte Silbernitratlösung auf seine Reinheit geprüft.

Die Blutkörperchen scheinen in feuchtem Wasserstoff keine Veränderung der Form zu erfahren, dagegen ist ihre Farbenveränderung, der Uebergang des hellrothen, monochromatischen, geschlagenen Blutes in die dichroitische, aus grün und violett gemischte Farbe deutlich an jedem einzelnen Blutkörperchen zu bemerken. Unter fortwährendem Ueberleiten des H habe ich das dünn ausgebreitete Blut zunächst auf die Abwesenheit alles Sauerstoffs untersucht, indem ich den Körper des Mikroskops abschrob, und einen Spectralapparat mit dem Spalte nach unten darüber befestigte. Man überzeugt sich so, dass das Verschwinden der Absorptionsstreifen des O-haltigen Blutes wenigstens in unserem Apparate erst nach ziemlich langer Einwirkung des H erfolgt, worauf der Streifen des O-freien Hämoglobins erscheint. Die fehlende Bewegung und der Mangel neuer Oberflächen erklären diese Langsamkeit. Aus dem O-frei gewordenen Blute scheiden sich nun keine Häm-

globinkristalle aus, selbst wenn man es durch trockenen H langsam eintrocknen lässt. Um die Trennung der Hämoglobinlösung vom Blutkörperchenstroma zu bewirken, habe ich mich der ausgezeichneten Methode von Rollett bedient, indem ich die ganze Gaskammer, ohne Unterbrechung des H-Stromes rasch in eine Kältemischung aus Eis und Kochsalz versenkte. Es kommt offenbar, wie Rollett diess schon richtig angegeben hat, hauptsächlich auf ein sehr rasches Gefrieren in dünnen Schichten, Wiederaufthauen, und abermaliges Gefrieren an, wenn man die vollständige Entfärbung der Blutkörperchen und das schliessliche Verschwinden der farblos gewordenen Stromata erzielen will. Alles dieses tritt auch im ganz O-freien Blute (stets durch das Spectrum geprüft) genau so ein, wie es Rollett beschrieben hat. Die Gegenwart oder der Mangel des O haben mit dem Lackfarbenwerden des Blutes beim Gefrieren und Wiederaufthauen Nichts zu thun. Das in H lackfarben gewordene Blut liess ich jetzt im trockenen H-Strome verdunsten; allein das Maximum der Krystallauusscheidung zu erzielen, reichte einfache Verdunstung in vielen Fällen nicht aus. Es ist ein bekannter Kunstgriff, die Krystallisation des Blutes zu befördern, indem man einen Tropfen lackfarbenen Blutes sich erst durch Verdunstung am Rande mit einem Ringe amorphen Hämoglobins umziehen lässt, und diesen durch Auflegen des Deckgläschens wieder vertheilt und theilweise auflöst. Dasselbe habe ich in der Gaskammer gethan, indem ich den vorhin erwähnten Streifen von dünnem Glas durch Umdrehen des Apparates auf die Bluttropfen fallen liess. Besonders mit Hülfe dieses Verfahrens gelingt es durch H O-frei gewordenes Blut zum Krystallisiren zu bringen. Indessen ist die Menge des so sich ausscheidenden O-freien Hämoglobins meist eine ziemlich geringe, und wenn auch manche grosse schön ausgebildete Krystalle vorkommen, so müssen bei der Wiederholung des Versuches doch ziemlich starke Vergrösserungen empfohlen werden, um die vielen häufig sehr kleinen Krystalle wahrzunehmen. Endlich bemerkt man, dass die Krystalle erst angesiessen, wenn das Blut schon sehr concentrirt ist.

Aus diesen Versuchen geht unzweifelhaft hervor, dass O-freies, und, da die geringe Absorption des H nicht in Betracht kommen

kann, dass gasfreies Hämoglobin ein krystallinischer Körper ist, der, so weit ich diess feststellen konnte, nicht anders krystallisiert als die Verbindung mit dem O. Es sei hier noch besonders bemerkt, dass die Versuche fortwährend mittelst der Spectralanalyse überwacht wurden, und dass die in jeder Beziehung wohl geformten Krystalle schliesslich auch auf die Abwesenheit des O geprüft wurden. Wir haben es folglich in dem krystallisierten Hämoglobin nicht etwa ausschliesslich mit einer O-Verbindung, oder mit einer Hyperoxydationsstufe des im Blute enthaltenen zu thun, sondern mit einem an sich ohne Verbindung mit Gasen krystallisirbaren Körper, der im Blute gewöhnlich mit O verbunden vorkommt. Die Versuche von F. Hoppe-Seyler *) über das optische Verhalten des Blutes und des Hämoglobins konnten über das Letztere schon keinen Zweifel aufkommen lassen.

Welches kann die Ursache sein, dass das O-freie Hämoglobin erst aus sehr concentrirtem, lackfarbenen Blute krystallisiert?

Der Ursachen sind zwei: Das O-freie Hämoglobin ist erstens viel leichter löslich als das O-haltige, und dem O-freien Blute fehlt eine Substanz, die sonst den grössten Theil des Hämoglobins ausscheiden pflegt.

Aus einer sehr concentrirten Hämoglobinlösung, bereitet durch Filtriren eines Gemisches von überschüssigem reinen Hämoglobin in verdünntem Ammoniak, scheiden sich beim Verdunsten des NH_3 an der Luft sehr leicht die Krystalle wieder aus. Ich habe dieselbe Lösung in der mikroskopischen Gaskammer im feuchten H-Strome erst O-frei werden lassen und dann durch Ueberleiten von trocknem H, wie vorhin angegeben, krystallisiren lassen. Dabei entweicht alles NH_3 und man erhält eine fast vollständige, viel vollkommenere Ausscheidung des Hämoglobins, als wenn man lackfarbenes Blut nimmt. Die leichtere Löslichkeit des gasfreien Hämoglobins verhindert also nicht seine vollkommene Ausscheidung bei hinreichender Verdunstung. Man kann den Versuch auch so

*) Centralblatt f. d. med. Wissensch. 1864. S. 817—821.

anstellen, dass man einen Brei von hellrothen O-haltigen Hämoglobinkristallen mit HO in die Kammer bringt und gleich trocknen H überleitet. Obgleich hierbei der Wassergehalt vermindert wird, sieht man doch, besonders im Anfange, die Krystalle an den Rändern der Tropfen, nachdem sie violettblau geworden, sich mit ebenso gefärbten Höfen umziehen und sich eher auflösen als die übrigen. Indem man hierauf von Zeit zu Zeit feuchten H über das Object leitet, lösen sich die Krystalle zuletzt vollkommen, um beim Wiederdurchleiten von trockenem H zum zweiten Male auszukristallisiren.

Ein Versuch, welcher beweist, wie sehr der Zutritt des O auf die Ausscheidung des Hämoglobins besonders aus lackfarbenem Blute von Einfluss ist, besteht in Folgendem. Man lasse O-frei gewordene Blutstropfen in der Kammer lackfarben werden, und concentriere sie ein wenig durch trockenen H. So wie man jetzt den Apparat öffnet und etwas Luft durchsaugt, überzieht sich plötzlich das ganze Sehfeld mit einem dichten Filz von Krystallen. Der nämliche Versuch kann auch mit concentrirten wässrigen oder amoniakalischen Hämoglobinlösungen angestellt werden.

Hat man ferner den Blutstropfen so lange trockenem H ausgesetzt, bis keine bemerkbare Krystallausscheidung mehr erfolgt, so tritt diese ganz plötzlich in dem Reste der dunklen Mutterlauge ein, wenn O zutritt. Augenscheinlich erklären diese Versuche einige Angaben von Böttcher *), der die vollständigere Ausscheidung des Hämoglobins auch ohne Verdunstung bei hinreichendem O Zutritt richtig beobachtet und beschrieben hat.

Versuche mit CO₂. Ein Strom feuchter CO₂ bringt an den Blutkörperchen nur Veränderungen der Farbe, nicht der Form her vor. Anders verhalten sich die Körperchen, wenn zugleich eine geringe Verdunstung gestattet wird. In diesem Falle sieht man sehr bald in den O-frei gewordenen Körperchen kleine Hämoglobin-kristalle auftreten, während das Serum eine schwach röthliche Farbe annimmt. Die Blutkörperchen zeigen zu dieser Zeit eine besondere Neigung zu grösseren Schollen und Kuchen zusammen-

*) Virchow's Archiv Bd. XXXII. S. 372—383.

zukleben, und wenn wenige Körperchen im Serum zerstreut liegen, verkleben häufig nur einzelne miteinander, die dann beim Bewegen des Apparates sich spindelförmig ausdehnen und an beliebigen Stellen mit Hinterlassung kleiner rother Kugeln reißen können. Die CO_2 bringt folglich unter gewissen Umständen dasselbe Phänomen hervor, das man beim langsamem Gefrieren des Blutes in dicken Schichten beobachtet. Jedoch sind hier die intraglobulären Krystalle O-frei. Versenkt man die feuchte Kammer später wiederholt in eine Kältemischung, so lösen sich zuletzt gerade, wie im H alle Stromata auf, und nach dem Eintrocknen krystallisiert eine beträchtliche Menge des O-freien Hämoglobins aus. Luftzutritt veranlasst auch hier das Auskristallisiren des letzten Restes der Substanz.

Wir haben durch Max Schultze ein neues Verfahren der Lösung der Blutkörperchen kennen gelernt, das in der Schmelzung der Stromata bei 60°C . besteht. Diese Schmelzung erfahren die Blutkörperchen, wie es scheint, unabhängig vom Serum, denn sie findet statt auch wenn man das Blut mit noch so grossen Mengen von verdünnten Salzlösungen verdünnt, oder wenn man z. B. gesenkte Blutkörperchen vom Pferde, oder die ausgedrückte, serumarme Flüssigkeit aus gewaschenem Blutkuchen vom Hunde für sich oder mit schwachen Salzlösungen auf 60°C . erhitzt. Auch für diese Lösungsweise der Stromata ist der O nicht erforderlich. In folgender Weise lässt sich das Letztere durch den Versuch zeigen. Man zieht die Glasröhren der neuen Recklinghausen'schen feuchten Kammer an beiden Enden capillar aus, füllt die Kammer mit etwas Blut, und leitet H oder CO_2 durch, während die Röhren senkrecht stehen. Nach diesem von L. Hermann angegebenen Verfahren, gewinnt man durch das fortwährende Zerpeitschen des Blutes in den Gasen in wenigen Minuten ein ganz O-freies Blut. Hierauf werden die capillaren Röhren ohne Unterbrechung des Gasstromes zugeschmolzen. Nach einigem Verweilen der Kammern im Wasserbade von 60° erkennt man mit dem Mikroskope kein einziges Blutkörperchen mehr.

Hat man Blut in einem Reagensgläschen bei 60°C . vollkommen lackfarben gemacht, wobei es bekanntlich zugleich O-frei wird,

so scheiden sich höchstens an der Oberfläche einige Krystalle aus. Böttcher beobachtete etwas ganz ähnliches am gefaulten Blute. Ein Tropfen dieses Blutes an der Luft ausgebreitet bedeckt sich ferner sehr rasch mit einem dichten Filz von Krystallen. Geschieht diess nur weil das Hämoglobin durch Aufnahme von O schwerlöslicher wurde? Wir müssen zur Beantwortung der Frage zunächst erwägen, ob ohne Concentrationsveränderungen, ohne Zersetzung und ohne Veränderungen des Gasgehaltes überhaupt die Krystallausscheidung möglich ist. Diess ist der Fall, aber nur wenn das Hämoglobin in den Blutkörperchen krystallisiren kann. Sobald das Blut lackfarben geworden ist durch zu tiefe Temperaturgrade oder durch zu rasches Gefrieren in dünnen Schichten, scheidet sich ohne O-zutritt und ohne Verdunstung keine Spur von Krystallen aus. Der Grund hiervon kann nur darin liegen, dass das stark alkalische Serum sich mit dem Inhalte der viel weniger alkalischen Blutkörperchen gemischt hat, und so ist es auch in dem Schultze'schen Versuche, bei dem zunächst das unveränderte Serum hinreicht, alles Hämoglobin in Lösung zu erhalten. Wir können erwarten eine fast vollständige Ausscheidung der Krystalle zu erhalten, wenn wir die alkalische Reaction des Serums beseitigen durch Zusatz einer Säure, oder wenn wir die Menge des Serums vor dem Versuche im Verhältnisse zu den Blutkörperchen verringern. In beiden Fällen bewährt der Versuch die Voraussetzung vollkommen. Lassen wir das serumarme Blut, das aus einem gut abgetropften Blutkuchen ausgepresst worden, im geschlossenen Raume schnell gefrieren und wieder aufthauen oder erwärmen wir es auf 60° C., so bekommt es ein Krystallsediment, und setzen wir zu gewöhnlichem geschlagenen und dann lackfarben gewordenen Blute sehr wenig Essigsäure zu, gerade hinreichend um keine saure Reaction zu erzeugen, so verwandelt sich das Blut fast augenblicklich in einen dicken Krystallbrei, besonders wenn der normale O-Gehalt erhalten blieb, so dass das auszuscheidende Hämoglobin schwerlöslich war.

Wenn meine Voraussetzung richtig war, dass nur der Gehalt an alkalischem Serum die Schuld trägt, dass das lackfarbene Blut im O-freien Zustande selbst bei ausreichender Verdunstung immer

noch einen gar nicht krystallisirenden stark gefärbten Antheil hinterlässt, so musste dieser ebenfalls zur Krystallisation gebracht werden können, wenn ich eine Spur Säure zusetzte. Diess ist in der That so, wie folgender Versuch zeigt: ich liess in der Gas-kammer durch H gasfrei gewordenes Blut erst durch Gefrieren lackfarben werden und brachte es durch abwechselndes Zuleiten von feuchtem und trockenem H auf eine Concentration, bei welcher keine Krystalle mehr anschossen, sondern bereits rissige Ringe eingetrockneter rother, amorpher, Substanz zwischen dem krystallisierten Rande des Tropfens und seinem Centrum auftraten. In eine der zuleitenden Kautschukröhren hatte ich zuvor eine luftleere, nur mit Essigsäure gefüllte Capillarröhre gebracht, die ich jetzt durch Drücken auf den Schlauch zerbrach. So konnte ich den Dampf der Essigsäure in sehr kleinen Antheilen mit dem H zuströmen lassen. Der Erfolg war, dass der ganze Blutstropfen sich in ein dichtes Krystallnetz verwandelte, dessen Lücken kaum gefärbt erschienen. Alle diese Krystalle waren, wie ein Blick durch den Spectralapparat lehrte, O-frei. Also auch ganz ohne O hatte ich nur durch Neutralisation und ausreichende Concentration eine vollständige Krystallisation erzielt.

Wie ist es nun denkbar, dass ohne alle Concentration nur durch den O-Zutritt doch eine so mächtige Krystallausscheidung im lackfarbenen Blute eintritt? Uebersättigung des Gesammtblutes mit Hämoglobin können wir nicht annehmen, selbst wenn wir voraussetzen, dass das Hämoglobin das Maximum seines O-Gehaltes und das Minimum seiner Löslichkeit besitze. Wir können diess um so weniger annehmen, als wir wissen, dass das Blut sehr bald durch Schütteln mit Luft auf das Maximum seines O-Gehalts gebracht werden kann, und doch nicht krystallisiert, wenn es lackfarben gemacht und vor weiterem O-Zutritt geschützt wird. Der Grund muss darin liegen, dass der O die alkalische Reaction des Serums abschwächt. Diess kann er an und für sich nicht, aber er wird es können, wenn er zu inneren Oxydationen organischer Körper verwendet wird, wenn er aus neutralen oder alkalischen Körpern saure bildet. Die neuesten Versuche von Pflüger über das Entweichen der CO_2 aus dem Blute, über die Umwandlung

gebundener CO_2 in freie, so wie die wichtige von Preyer ermittelte Thatsache, dass der O eine wesentliche Rolle bei dem Freiwerden der vorher gebundenen CO_2 spielt, drängen zu der Hypothese, dass der O durch das Hämoglobin, welches ihn ozo-nisiert, befähigt werde, im Blute Säuren zu bilden.

Aus dem Mitgetheilten geht für die Frage nach den Eigen-schaften und dem Vorkommen des Hämoglobins im Blute hervor:

1) Das Hämoglobin ist auch ohne Verbindung mit Gasen ein im rhombischen Systeme krystallisirender Körper, der leichter löslich ist als O-haltiges Hämoglobin.

2) Das Hämoglobin ist in den Blutkörperchen als solches, frei, nicht in alkalischer Lösung enthalten.

3) Im lackfarbenen Blute ist es in einem anderen Zustande als in den Körperchen, durch alkalische Flüssigkeit gelöst, enthalten.

4) Das Hämoglobin scheidet sich intraglobulär in Krystallen aus, wenn die Fixirung seiner Lösung im Blutkörperchenstroma aufgehoben wird.

5) Es wird aus lackfarbenem Blute durch Neutralisation des alkalischen Serums ausgeschieden.

6) Der O kann indirect diese Neutralisation hervorrufen.

II.

Zur quantitativen Analyse des Blutes.

Von J. Masia aus Russland.

Von allen Methoden der quantitativen Blutanalyse ist die von Hoppe im Princepe die richtigste und gestattet eine genauere Be-stimmung der feuchten Blutkörperchen. Sie setzt aber voraus, als unumgängliche Bedingung, eine Senkung der Blutkörperchen, bevor noch die Gerinnung eingetreten ist und die Bildung einer, wenigstens einige Millimeter hohen, Schicht klaren, von Blutkörperchen freien Plasmas. Diese klare Plasmaschicht, dieser Ausgangspunkt der Analyse nach Hoppe, war aber die Ursache davon, dass diese