

## Wirkt ausgekochtes, völlig sauerstofffreies, Wasser zersetzend auf Oxyhämoglobin?

Von

G. Hüfner.

(Der Redaktion zugegangen am 12. Februar 1886.)

Die in dieser Ueberschrift aufgestellte Frage bezweckt Aufklärung darüber, ob sauerstoffhaltiger Blutfarbstoff schon an ausgekochtes Wasser seinen Sauerstoff abgibt. Wäre das der Fall, so dürfte eine Lösung von Oxyhämoglobin, die durch Verdünnen von 1 cbcm. sauerstoffgesättigten Blutes mit etwa 160 cbcm. luftfreien Wassers bewirkt worden, nicht mehr das Spectrum des reinen Oxyhämoglobins, sondern müsste sie dasjenige eines Gemenges von Hämoglobin und Oxyhämoglobin zeigen. Schon mehrfach ist mir von befreundeter Seite diese Möglichkeit als Einwand gegen die von mir vorgeschlagene Methode, den Sauerstoffgehalt des Blutes spectrophotometrisch zu bestimmen, entgegengehalten worden, und noch vor Kurzem hat Herr Zuntz in den Fortschritten der Medicin (Bd. 3, S. 558) dem nämlichen Bedenken Ausdruck gegeben.

In der That liegt nichts näher, als obige Vermuthung, da man weiss, dass die Tension des Sauerstoffs, bei welcher in Wasser gelöstes Oxyhämoglobin eine Dissociation zu erleiden beginnt, etwa zwischen 20—25 mm. Quecksilberdruck liegt, — wie ich ja selbst bei Versuchen mit Lösungen reinen Blutfarbstoffes, deren Gehalt im Maximum 6% betrug, gefunden habe.<sup>1)</sup> Da nun, wie Herr Zuntz sehr richtig an-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 6, S. 94—111.

giebt, eine Tension von 20 mm. erst dann erreicht ist, wenn 160 cbcm. Wasser bei ungefähr 20° C. 0,13 cbcm. Sauerstoff absorbiert enthalten, so sollte man allerdings erwarten, die Dissociation von in luftfreiem Wasser gelöstem Oxyhämoglobin werde auch dann erst stille stehen, wenn das letztere 0,13 cbcm. Sauerstoff an das Wasser abgegeben und sich eine entsprechende Menge reducirten Hämoglobins gebildet hätte. Nehmen wir einmal an, der Versuch sei mit Schweineblut ausgeführt und zwar so, dass 160 cbcm. der verdünnten Lösung genau 1 cbcm. Blut enthalten. Nach einer Reihe sorgfältiger, von Herrn Dr. Külz in meinem Laboratorium ausgeführter Bestimmungen nimmt 1 gr. Hämoglobin vom Schwein im Mittel 1,65 cbcm. Sauerstoff (bei 0° und 760 mm. Druck) auf. Wäre nun der Gehalt von 1 cbcm. Blut an arteriellem Farbstoff = 0,12 gr., so betrüge die Gesamtmenge des am Hämoglobin haftenden Sauerstoffs 0,198 cbcm. Wenn nun aber thatsächlich das ursprünglich luftfreie Wasser dem Oxyhämoglobin behufs Herstellung des Spannungsgleichgewichtes 0,13 cbcm. Sauerstoff entzöge, so blieben am Ende nur 0,068 cbcm. an den Farbstoff gebunden, d. h. von den ursprünglichen 0,12 gr. Farbstoff blieben nur 0,041 gr., also nur noch  $\frac{1}{3}$  der Gesamtmenge, als Oxyhämoglobin in Lösung. Das Spectrum dieser Lösung müsste daher deutlich erkennbar ein gemischtes sein, ähnlich dem eines stark venösen Blutes.

Diese Erwartung trifft indessen thatsächlich niemals zu. Die Farbe der Lösung bleibt auch bei sorgfältigster Ausführung des Versuchs vollkommen arteriell und namentlich die photometrische Untersuchung beweist völlige Abwesenheit jeglichen reducirten Farbstoffs.

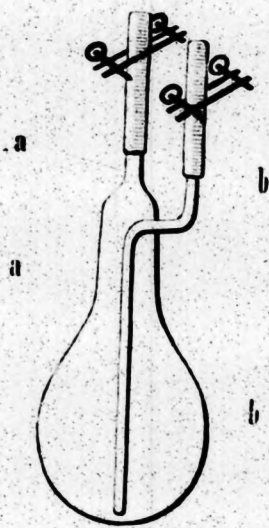
Ehe ich eine Hypothese zur Erklärung der allerdings unerwarteten Thatsache wage, gebe ich im Folgenden die Resultate einer Reihe von Beobachtungen, die ich theils schon früher gelegentlich gemacht, theils in letzter Zeit absichtlich wiederholt habe.

In allen Fällen kam frisches defibrinirtes Schweineblut zur Verwendung, das etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde vor dem Verdünnen



noch einmal mit atmosphärischer Luft geschüttelt worden war. Da sowohl der Apparat, wie das ganze Versuchsvorhaben schon früher genügend beschrieben sind, so könnte ich mich hier wohl auf die einfache Mittheilung der Versuchsergebnisse beschränken. Indessen sind auch darüber Zweifel geäußert worden (siehe Zuntz, a. a. O.), ob wohl das angewandte Verdünnungswasser in unseren Versuchen immer genügend ausgekocht und sauerstofffrei gewesen. Dies veranlasst mich, noch etwas über das Gefäß mitzutheilen, worin das Wasser jedesmal ausgekocht, sowie über die Art, wie es bis zum Erkalten aufbewahrt und später in den Verdünnungsapparat aufgesaugt wird.

Nach einer ersten, vor etwa 7 Jahren von mir gegebenen Mittheilung<sup>1)</sup> geschah das Auskochen des Wassers damals in grösseren, etwa  $\frac{1}{2}$  Liter fassenden Ballons, die auf entgegengesetzten Seiten in Spitzen ausgezogen waren, deren eine zugeschmolzen, während die andere mit einem Kautschukverschlusse versehen ward. Da solche Ballons sehr bald unbrauchbar wurden, so haben wir später andere Gefässe eingeführt, welche sich beliebig oft zu derartigen Versuchen benutzen und auch leichter handhaben lassen; es sind dieselben, die Herr Dr. Bücheler bereits vor einigen Jahren in seiner Inaugural-Dissertation<sup>2)</sup> beschrieben hat.



Es sind Literkolben von beistehender Figur. In den Hals derselben ist das 2 Mal rechtwinklig gebogene Rohr *b* eingeschmolzen, das im Innern bis ziemlich auf den Boden des Kolbens reicht und über dessen äussere Mündung, ebenso wie über diejenige des oben verjüngten Halses *a*, ein festschliessendes Kautschukröhrchen gezogen ist, welches sich durch eine Klemme luftdicht verschliessen lässt. Während des Kochens wird die Klemme über *b* verschlossen und nur die über *a* be-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 3, S. 1—18.

<sup>2)</sup> Beiträge zur Kenntniss des Pferdeblutfarbstoffs. Tübingen 1883.

findliche offen gehalten, so dass der Wasserdampf durch a entweichen muss. Nur gegen Ende der etwa 2 Stunden dauernden Siedezeit wird die erstere auf einen Moment geöffnet und dafür der Schlauch über a ebenso lange mit den Fingern zugeklemmt, damit das Rohr b mit siedendem Wasser gefüllt und alle Luft aus ihm verdrängt werde. Nach abermaligem raschen Verschlusse von b und Wiederöffnung von a wird hierauf das Kochen noch einige Minuten fortgesetzt, dann auch a mit der Klemme geschlossen und die Flamme entfernt. Zur weiteren Sicherung des Schlusses wird sogleich oberhalb der Klemmen noch in jedes Röhrchen ein Glasstopfen gesetzt, der ganze Kolben rasch umgekehrt und mittelst eines eisernen Halters so tief in ein mit Quecksilber gefülltes Gefäss untergetaucht, dass Klemmen wie Kautschukröhrchen vollständig von Quecksilber bedeckt sind. In dieser Stellung lässt man die Flüssigkeit erkalten. Wählt man als Sperrflüssigkeit nicht Quecksilber, sondern nur heisses Wasser, so kann man sich an dem Aufsteigen der Blasen sehr bald überzeugen, wie wenig dieses als Sperrmittel zu brauchen ist.

Unterdess, d. h. während das Wasser im Kolben erkaltet, lässt man durch den Wasserbehälter des Verdünnungsapparates einen stundenlangen Strom von reinem Wasserstoff streichen und diesen unterbricht man erst dann, wenn die Füllung des Behälters mit dem ausgekochten Wasser erfolgen soll.

Die hierzu nöthigen Handgriffe und Proceduren setze ich als bekannt voraus und bemerke nur noch, dass in dem Maasse, als unter der Wirkung einer Saugpumpe das Wasser langsam aus dem Siedekolben und zwar durch das Rohr b in den Verdünnungsapparat in die Höhe steigt, Wasserstoffgas aus einem Wasserstoffentwickeler in den Kolben nachdringen muss.

Folgende kleine Tabelle enthält die Resultate meiner photometrischen Beobachtungen. Sie sind nach den bekannten Formeln <sup>1)</sup> berechnet:

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 3, S. 1—18.



$$h_0 = \frac{v}{m} \cdot \frac{A_0 A_0' (E A_r - E' A_r')}{A_0' A_r - A_0 A_r'}$$

$$h_r = \frac{v}{m} \cdot \frac{A_r A_r' (E' A_0' - E A_0)}{A_0' A_r - A_0 A_r'}$$

Versuchs- Nummer.	$h_r$	$h_0$	$\frac{h_r}{h_0}$
1.	- 0,00040	0,1135	- 0,35
2.	+ 0,00009	0,1166	+ 0,08
3.	- 0,00145	0,0877	- 1,66
4.	- 0,00162	0,0876	- 1,85
5.	- 0,00169	0,1751	- 0,97
6.	- 0,00105	0,0851	- 1,17
7.	+ 0,00007	0,1420	+ 0,04

Wie man sieht, sind die für reducirtes Hämoglobin berechneten Werthe in den meisten Fällen sogar negativ ausgefallen; in denjenigen Versuchen dagegen, wo sich positive Werthe ergaben, sind dieselben so gering, dass sie selbst weit innerhalb der Grenzen der Beobachtungsfehler liegen. Der mittlere Fehler bei Bestimmungen des Oxyhämoglobins mittelst meines alten Photometers, mit welchem auch die vorliegenden Beobachtungen angestellt wurden, beträgt aber nach früheren Versuchen ungefähr 1,23% <sup>1)</sup>.

Eine Zersetzung von Oxyhämoglobin durch ausgekochtes Wasser ist diesen Versuchen zufolge also ausgeschlossen. —

Freilich lässt sich gegen dieses, wie gegen ähnliche frühere Ergebnisse, immer noch der Verdacht geltend machen, dass, wenn auch die Auskochung des Wassers eine vollkommene gewesen, doch hinterher bei irgend einer Gelegenheit Luft zu dem Wasser gedrungen und dass gerade durch diese die erwartete Zersetzung verhindert bzw. compensirt worden sein könne. Durch einen Umstand ist dieser Fall

<sup>1)</sup> Kolbe's Journal, Bd. 16, S. 313; ferner diese Zeitschrift, Bd. 4, S. 29.

sogar vielleicht regelmässig bei allen meinen Versuchen herbeigeführt worden, und zwar durch das vorherige Schütteln des Blutes mit Luft. War nämlich das Schütteln bei 20° und bei 735 mm. Druck (dem mittleren Barometerstande Tübingens) erfolgt, so hatte 1 cbcm. Blut 0,0058 cbcm. Sauerstoff aufgenommen und das Gleichgewicht der Tension war folglich nach der Verdünnung schon erreicht, wenn das Wasser dem Oxyhämoglobin 0,1242 statt 0,13 cbcm. Sauerstoff entzogen hatte, — ein Werthunterschied, der indessen, wie die Rechnung zeigt, auf das zu erwartende Gesamtergebnis (siehe oben S. 219) so gut wie von gar keinem Einflusse ist.

Nun wird man weiter sagen: Die Luft kann auch noch auf anderen, schwer oder vielleicht ganz uncontrolierbaren Wegen, sei es während des Aufsaugens der Flüssigkeit, sei es während des Ueberleitens der Lösung in die Absorptionszelle, eingedrungen sein: allein woher kam dann sowohl in meinen früheren, wie später in Herrn Otto's Versuchen<sup>1)</sup>, die in Christiania angestellt worden sind, die regelmässige Wiederkehr immer des gleichen Befundes?

Die entweder durch unvollkommene Auskochung des Wassers oder durch nachträglich eingedrungene Luft bedingte Compensation würde gewiss der Natur der Sache nach in den einzelnen Versuchen verschieden gross, ja müsste eine regellos schwankende Grösse sein. Statt dessen finden sich in Herrn Otto's Beobachtungswerthen regelmässige Unterschiede, die sichtlich nicht durch die angewandte quantitative Methode, wohl aber durch die körperliche Beschaffenheit der Thiere bedingt waren, denen das untersuchte Blut entnommen war. So betrug z. B. in einer von Herrn Otto's Versuchsreihen<sup>2)</sup> die Menge des im Cruralarterienblute gefundenen reducirten Hämoglobins bei 2 verschiedenen Thieren vor dem Aderlass 1,044, bezw. 1,186 ‰, während nach demselben 0,536, bezw. 0,531 ‰, trotzdem die procentische Menge

<sup>1)</sup> Pflüger's Archiv, Bd. 36, S. 12--72.

<sup>2)</sup> A. a. O., S. 60.



des Gesamtfarbstoffes bei beiden Thieren nach dem Aderlasse nahezu ganz die gleiche war, wie vorher.

Wäre es ferner nicht gesucht, für die Uebereinstimmung der von Herrn Otto gefundenen Sauerstoffgehalte venösen Blutes mit denjenigen, welche frühere Forscher auf anderem Wege gefunden, abermals lauter mehr oder weniger glückliche Compensationen durch zufällige Fehler oder gar durch Nachlässigkeiten, die bei der Ausführung der einzelnen Versuche vorgekommen, verantwortlich zu machen?

Mir scheint es nach Allem, wie die Sache jetzt liegt, nicht statthaft zu sein, um gewisser Voraussetzungen und Anschauungen willen, die wir uns angewöhnt, die Richtigkeit thatsächlicher Beobachtungen in Zweifel zu ziehen; vielmehr glaube ich, dass wir uns auf Grund dieser Beobachtungen zu fragen haben, ob nicht umgekehrt jene Voraussetzungen irrig sind.

Weil experimentell bewiesen ist, dass Oxyhämoglobinslösungen, mit sauerstofffreier oder auch blos sauerstoffarmer Luft geschüttelt, sämmtlichen oder, je nach der Tension, einen Theil ihres Sauerstoffs an jene verlieren, so schliessen wir leichthin, dass sauerstofffreies Wasser schon ebenso wirken müsse, wie sauerstofffreie Luft oder das Vacuum. Wenn nun aber, wie in unserem Verdünnungsapparate, das Verdünnungswasser gar keine Atmosphäre über sich hat, wohin soll der vom Hämoglobin losgelöste Sauerstoff entweichen? — Er kann dem Hämoglobin gar nicht entrinnen; jeden Augenblick muss er ihm, weil noch in der Lösung enthalten, wieder begegnen; und was ist da wohl bei der Anziehung, die ja stets zwischen beiden herrscht, natürlicher, als dass die Sauerstoffverbindung sich zurückbildet, vorausgesetzt, dass sie sich unter dem Einflusse sauerstofffreien Wassers allein überhaupt zersetzt hatte? Dass aber eben die Sauerstoffverbindung wirklich noch da ist, und nur sie allein, das lehren ja meine oben angeführten Beobachtungen.

Wie schwierig es ist, sich von dem ganzen Dissociationsvorgange, dem das Oxyhämoglobin unterliegt, eine einiger-

massen befriedigende Vorstellung zu machen, habe ich schon bei früherer Gelegenheit <sup>1)</sup>, als ich meine Versuche über die Tension des Oxyhämoglobins beschrieb, selber empfunden und angedeutet. Ich machte darauf aufmerksam, dass die Dissociation in jenen Versuchen, wo die Lösung mit einer sauerstoffarmen Atmosphäre geschüttelt wurde, schon aufhörte, «wenn die Zahl der in einem gegebenen Momente in das Wasser der Lösung ein- oder, was dasselbe ist, aus ihm austretenden Sauerstoffmoleküle eine minimale» war «gegenüber der Menge derjenigen, welche sich im selben Momente noch in festerer Verbindung mit dem Hämoglobin der Lösung» befanden. Ich hätte bestimmter sagen können: «wenn die Menge des im Wasser gelösten (von ihm absorbirten) Sauerstoffs eine minimale war» etc.; denn berechnet man aus den Beobachtungsdaten jenes Versuchs, der dort (a. a. O., S. 99 ff.) als Beispiel meiner Tensionsexperimente ausführlicher mitgetheilt ist, gerade diese Menge, so ergiebt sie sich etwa 153 Mal geringer, wie die gebundene; das Verhältniss der beiden war thatsächlich wie 0,045 cbcm. : 6,91 cbcm., bei einer Temperatur von 35°. Dass aber, wie sich von vornherein erwarten lässt, auch die Menge des vorhandenen Oxyhämoglobins, bezw. die Concentration seiner Lösung, auf die Menge des abgegebenen Sauerstoffgases und damit auf die Tensionsgrenze von wesentlichem Einflusse ist, darauf ist in jener Abhandlung gleichfalls schon hingedeutet.

Der Thatsache, dass ausgekochtes Wasser nicht zersetzend auf Oxyhämoglobin einwirkt, steht die Placentarathmung durchaus nicht als unerklärliches Factum gegenüber; denn wir können uns vorstellen, dass in einer Oxyhämoglobinlösung bei Bluttemperatur schon ohnedies immer Zersetzung und Wiederbildung arteriellen Farbstoffs stattfindet, in der Art, dass in Folge lebhafterer Bewegung der Bestandtheile der grossen Moleküle sich hier und da Sauerstoffmoleküle losreissen, aber ebenso oft wieder, sei es von den näm-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 6, S. 94—111.



lichen Hämoglobinmolekülen, an denen sie gehangen, sei es vom Hämoglobin benachbarter, aber gleichfalls in Dissociation begriffener, Oxyhämoglobinmoleküle erfasst werden. Die Vorstellung dürfte eine ähnliche sein, wie diejenige, welche Clausius<sup>1)</sup> über den Zustand vorgetragen hat, welcher in electrolytischen Flüssigkeiten, auch wenn noch kein Strom durch dieselben hindurchgeht, herrschen mag.

Würde man zu einer Oxyhämoglobinlösung von solch' inneren Bewegungszuständen eine Lösung reducirten Hämoglobins hinzumischen, so würden die neu hinzukommenden Moleküle bald gleichfalls in dieses Spiel hineingerathen, und während sich in Folge davon allmählig ein Theil von ihnen mit Sauerstoff verbände, würde dafür ein ebenso grosser Theil früher mit Sauerstoff beladener Moleküle reducirt werden müssen. An diesem Spiele würde voraussichtlich auch eine zwischengeschaltete Membran nichts ändern, wenn dieselbe nur genügend dünn wäre und den Sauerstoffmolekülen mit hinlänglicher Leichtigkeit den Durchgang gestattete. Befände sich nun auf der einen Seite der Membran eine Oxyhämoglobinlösung, auf der andern eine Lösung von reducirtem Hämoglobin, so würden beide Hälften doch nach längerer oder kürzerer Zeit einen gleichen Procentgehalt an Hämoglobin und Oxyhämoglobin aufweisen, und zwar natürlich dann, wenn in der gleichen Zeit ebenso viele Sauerstoffmoleküle hinüber wie herüber kämen.

1) Abhandlungen über die mechanische Wärmetheorie. 2. Abth. Braunschweig 1867. S. 211 ff.