

Bestimmung der Blutmenge mit Hilfe der optischen Methode.

Von

Emil Abderhalden und Julius Schmid.

(Aus dem physiologischen Institut der tierärztlichen Hochschule. Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 25. März 1910.)

Bei der Ausarbeitung der unten beschriebenen Methode der Bestimmung der Blutmenge im lebenden Organismus gingen wir von dem folgenden Gedankengange aus. Wenn wir eine Lösung eines bestimmten optisch-aktiven Körpers, dessen Drehungsvermögen uns genau bekannt ist, mit dem gleichen Lösungsmittel verdünnen, dann sind wir im allgemeinen imstande, aus dem nunmehr resultierenden Drehungsvermögen den Grad der Verdünnung zu berechnen. Auf diesem Prinzip bauten wir unsere Methode auf. Wir bestimmten das Drehungsvermögen des Plasmas beim lebenden Tier, injizierten dann die Lösung einer stark drehenden Substanz, deren Drehungsvermögen genau bestimmt worden war, und stellten dann, nachdem vollständige Mischung eingetreten war, wiederum das Drehungsvermögen des Plasmas fest. Auf diesem Wege ließ sich direkt die Gesamtplasmamenge bestimmen. Die Gesamtblutmenge ergab sich ohne weiteres durch Feststellung des Verhältnisses von Plasma und Blutkörperchen mittelst des Hämatokriten.

Der zur Injektion zu verwendende Körper mußte folgende Bedingungen erfüllen:

1. Er mußte ein möglichst hohes Drehungsvermögen besitzen.

2. Er mußte in Wasser resp. isotonischer Kochsalzlösung leicht löslich sein, d. h. die Substanz mußte, um größere Verdünnungen des Blutes zu vermeiden, in möglichst konzentrierter Lösung einführbar sein.

3. Die zur Injektion benötigte Konzentration — sie mußte hoch gewählt werden, um möglichst große Ausschläge zu erreichen — durfte die Isotonie des Blutes nicht stören.

4. Endlich durfte die Substanz in keiner Weise toxisch wirken.

Es stehen uns eine ganze Reihe von Verbindungen zur Verfügung, die eine hohe spezifische Drehung besitzen. Fast alle fallen außer Betracht, weil sie entweder schwer löslich sind, giftig wirken oder aber in höheren Konzentrationen die Isotonie des Blutes stören würden. Am geeignetsten erschien uns Dextrin. Es löst sich bis 25% und mehr in physiologischer Kochsalzlösung. Es wird dabei der osmotische Druck der physiologischen Kochsalzlösung durch den Zusatz von 25% Dextrin kaum beeinflusst. Schließlich entfaltet Dextrin, soweit unsere Kenntnisse reichen, selbst in höheren Konzentrationen keine toxischen Eigenschaften.

Als eine vollkommen ideale Substanz für derartige Versuche möchten wir das Dextrin nicht bezeichnen. Einmal ist es keine einheitliche Verbindung. Es stellt vielmehr ein großes Gemisch von verschiedenartigen Abbaustufen dar. Es ist nicht jedes im Handel als Dextrin bezeichnete Präparat brauchbar. Manche enthalten größere Mengen von Traubenzucker. Dextrin wird ferner im Organismus rasch verändert. Man kann durch Verfolgung des Drehungsvermögens des Plasmas durch längere Zeit hindurch feststellen, wie das Dextrin das Plasma allmählich verläßt, sei es, daß es weiter abgebaut wird, sei es, daß eine Abgabe an Zellen oder eine Ausscheidung durch die Nieren erfolgt. Es läßt sich die «optische Methode» ganz allgemein zur Feststellung des Verhaltens optisch-aktiver Substanzen im Blute innerhalb gewisser Grenzen anwenden. Wir erhalten genaue Auskunft über die Dauer des Verweilens bestimmter Substanzen im Blute und unter Umständen können aus dem Verhalten des Drehungsvermögens auch Umwandlungen erschlossen werden. Schließlich ist es auch denkbar, daß bei enteraler Eingabe optisch-aktiver Stoffe und eventuell auch bei subcutaner Zufuhr der Zeitpunkt des Übergangs in das Blut festgestellt und verfolgt werden kann.

Auch hier eröffnet sich eine weite Perspektive für die Anwendbarkeit der optischen Methode.

Experimenteller Teil.

Bevor wir an die Ausführung der Blutmengebestimmungen gingen, suchten wir uns durch Versuche über die folgenden Fragen zu orientieren:

I. Wird Dextrin von den Formelementen des Blutes aufgenommen?

1. Von einer größeren Menge Hundeblood wird nach Zusatz von Ammonoxalat (0,2 %) durch Zentrifugieren Blutkörperchenbrei gewonnen. Damit wird folgende Versuchsreihe angestellt.

a) 5 ccm Blutkörperchenbrei
 + 4 » physiol. Kochsalzlösung
 + 1 » 5% Dextrin enthaltende physiol. Kochsalzlösung
 gut umgeschüttelt und dann zentrifugiert. Die Drehung der klaren überstehenden Lösung wird im $\frac{1}{2}$ -dm-Rohr bestimmt. Sie beträgt + 0,50°.

b) 5 ccm Blutkörperchenbrei
 + 3 » physiol. Kochsalzlösung
 + 2 » 5%ige Dextrinlösung (w. o.).
 Drehung: + 1,03°.

c) 5 ccm Blutkörperchenbrei
 + 2 » physiol. Kochsalzlösung
 + 3 » 5%ige Dextrinlösung (w. o.).
 Drehung: + 1,52°.

(d) 5 ccm Blutkörperchenbrei
 + 5 » physiol. Kochsalzlösung.
 Drehung: - 0,02°.

Anmerkung: Für jede Versuchsreihe wurde eine frisch hergestellte Dextrinlösung verwendet. Schon nach Stunden verändert sich mit der Zersetzung der Lösung deren Drehungswert. — Innerhalb derselben Versuchsreihe ist die Dextrinlösung natürlich dieselbe.

2. Analog dem vorhergehenden Versuch angestellt:

a)	5 ccm Blutkörperchenbrei	1 ccm 5%ige Dextrinlösung
	+ 4 » physiol. Kochsalzlösung	+ 9 » physiol. Kochsalzlösung.
	+ 1 » 5%ige Dextrinlösung.	
	Drehung: + 0,42°.	Drehung: + 0,39°.

b) 5 ccm Blutkörperchenbrei		2 ccm 5%ige Dextrinlösung
+ 3 » physiol. Kochsalzlösung		+ 8 » physiol. Kochsalzlösung.
+ 2 » 5%ige Dextrinlösung.		
Drehung: + 0,76°.		Drehung: + 0,76°.
c) 5 ccm Blutkörperchenbrei		3 ccm 5%ige Dextrinlösung
+ 2 » physiol. Kochsalzlösung		+ 7 » physiol. Kochsalzlösung.
+ 3 » 5%ige Dextrinlösung.		
Drehung: + 1,17°.		Drehung: + 1,12°.

Die geringen Differenzen zwischen den bestimmten und den berechneten Drehungswerten rühren von den fast unvermeidlichen Ungenauigkeiten bei der Pipettenfeststellung des Lösungsgemisches her.

Jedenfalls ergibt sich aus dem proportionalen Verhalten der Drehungswerte mit der Menge des zugesetzten Dextrins und aus dem Parallelversuch zu 2., daß eine Aufnahme von Dextrin durch die Blutkörperchen ausgeschlossen ist.

II. Wird die spezifische Drehung einer Dextrinlösung durch Blutplasma im Vergleich zu einer Lösung in Wasser resp. physiologischer Kochsalzlösung verändert?

Der folgende Versuch zeigt, daß dies nicht der Fall ist.

0,5 ccm 20% Dextrin enthaltende physiol. Kochsalzlösung	
+ 4,5 » physiol. Kochsalzlösung. — Drehung: + 1,29°.	
0,5 » 20%ige Dextrinlösung (w. o.)	
+ 4,5 » Plasma (aus Hundeblood). — Drehung: + 0,20°.	
0,5 » physiol. Kochsalzlösung	
+ 4,5 » Plasma (w. o.).	Drehung: — 1,04°.

III. Nach welcher Zeit ist die injizierte Dextrinlösung gleichmäßig im Blut verteilt, und nach welcher Zeit beginnt das Dextrin wieder aus dem Blut zu verschwinden?

Aus der Beantwortung dieser Frage, welche durch die nachfolgenden Versuche gegeben wird, erfahren wir, zu welchem Zeitpunkt nach der Injektion der Dextrinlösung die Blutentnahme zu erfolgen hat.

Versuchstechnik. Beim aufgebundenen und nötigenfalls

narkotisierten Tier (Hund: Äther) wird eine bzw. werden beide V. jugulares freigelegt. Aus einer V. jugularis wird mittels einer mit spitzer Kanüle armierten 10 ccm-Spritze Blut entnommen (bei Verwendung einer — von uns ausschließlich angewandten — 0,5 dm-Polarisationsröhre genügen 7—8 ccm) und alsbald in ein mit 0,01 g fein gepulvertem Ammonoxalat beschicktes Zentrifugierglas gebracht, welches zwecks Hämatokritbestimmung graduirt ist. (Die Verwendung von Hirudin zu diesen Versuchen wäre nur intravenös appliziert möglich, bei Beschickung des Zentrifugierglases mit Hirudin tritt Trübung des Plasmas ein, durch welche die Ablesung im Polarisationsrohr erschwert wird.) Nun erfolgt die Injektion der Dextrinlösung in eine V. jugularis wiederum durch Einstich der Kanüle in die Vene — am zweckmäßigsten mit einer Spritze, welche die gesamte zu injizierende Menge faßt. Die Injektion soll möglichst gleichmäßig und so rasch erfolgen, daß innerhalb von 2 maligem Kreislauf, d. h. innerhalb 30—40" die ganze Menge eingeflossen ist. Alsdann wird genau die bestimmte Zeit nach der Injektion zur 2. Blutentnahme abgewartet. Auch diese Manipulation darf nur möglichst wenig Zeit in Anspruch nehmen. Das entnommene Blut wird bis zum klar überstehenden Plasma zentrifugiert, letzteres abgegossen und möglichst unverdünnt polarisiert.

Bei den ersten Versuchen erfolgte die Entnahme des Blutes aus beiden V. jugulares gleichzeitig, außerdem wurde nochmals zu verschiedenen Zeiten Blut entnommen.

Nötig ist weiter eine im Anfang des Versuchs vorzunehmende Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Blutes (Hammerschlag).

Für das Gelingen der Versuche ist es nötig, daß Gerinnselbildungen ganz vermieden werden, ferner darf das Plasma nicht hämolytisch oder trübe sein. Zu vermeiden sind geölte oder eingefettete Spritzen zur Blutentnahme resp. zur Injektion. Man erhält sonst leicht trübes Plasma. Wir zentrifugierten durchschnittlich $\frac{3}{4}$ Stunden. Das Plasma muß ganz klar sein, weil sonst die Sicherheit der Ablesung des Drehungsvermögens stark beeinträchtigt wird.

Versuche an Hunden.

1. Versuch.

Körpergewicht des Hundes: 6870 g.

Spezifisches Gewicht des Blutes: 1055.

1. Blutentnahme: 9,5 ccm.

Hämatokritbestimmung: 4,1 ccm Blutkörperchen, 5,4 ccm Plasma.

Drehung des Plasmas: — 1,35° (0,5-dm-Rohr).

Injektion von 28 ccm 25%iger Dextrinlösung: Drehung + 13,7°. Dauer der Injektion 3 Minuten.

Blutentnahme eine Minute nach erfolgter Injektion aus beiden V. jugulares gleichzeitig. Menge: je ca. 7 ccm.

Drehung des Plasmas aus der rechten V. jugul.: — 0,50°

» » » » » linken » » : — 0,52°.

5 Minuten nach erfolgter Injektion erfolgte wieder eine Blutentnahme (3.) aus beiden V. jugulares. Menge: je ca. 7 ccm.

Drehung (rechte V. jugul.): — 0,72°

» (linke » »): — 0,76°.

Aus diesen Resultaten ergibt sich zunächst, daß bereits zur Zeit der 3. Blutentnahme ein Teil des Dextrins aus dem Blut verschwunden ist.

Legt man der Berechnung die bei der zweiten Blutentnahme erhaltenen Werte zugrunde, so erhält man:

$$\frac{28 \cdot 13,7}{0,85} \cdot \frac{9,5}{5,4} = 793 \text{ ccm Blut, entsprechend einem Gewicht von } 835 \text{ g.}$$

Die Gesamtblutmenge beträgt $\frac{1}{8}$ des Körpergewichts = 12,1°.

2. Versuch.

Körpergewicht des Hundes: 5090 g.

Spezifisches Gewicht des Blutes: 1055.

Hämatokritbestimmung: 8,8 ccm Blutsäule

4,0 » Blutkörperchen

4,8 ccm Plasma.

Dextrin: 25%ige Lösung: $\alpha = + 16,40^\circ$. α des Plasmas vor der Injektion: — 1,28°.

Injektion von 20 ccm Dextrin. Dauer der Injektion: 30''.

Blut- entnahme aus beiden V. jugulares	I. (links) $\alpha = - 0,29^\circ$	} 1 Minute nach erfolgter Injektion.
	II. (rechts) $\alpha = - 0,28^\circ$	
	III. (links) $\alpha = - 0,37^\circ$	} 1' 30''
	IV. (rechts) $\alpha = - 0,38^\circ$	
	V. (») $\alpha = - 0,50^\circ$	

Berechnung: $20 \cdot \frac{16,4}{1,0} \cdot \frac{8,8}{4,8} = 601 \text{ ccm Gesamtblut}$
 $\times 1055 \text{ (spez. Gew. des Blutes)}$
 $= 634 \text{ g Blut}$
 $= \frac{1}{8} \text{ des Körpergewichtes}$
 $= 12,4\%$

3. Versuch.

Körpergewicht des Hundes: 7630 g.

Spezifisches Gewicht des Blutes: 1060.

Hämatokritbestimmung: 10,4 ccm Blutsäule
 4,9 „ Blutkörperchen
 5,5 ccm Plasma.

α des Dextrins (25%) = + 15,72°.

α des Plasmas vor der Injektion: - 1,52°.

20 ccm Dextrinlösung innerhalb 40" injiziert.

Blutentnahme aus beiden V. jugulares:

I. (links)	$\alpha = -0,78^\circ$.	$\frac{3}{4}$ Minuten nach erfolgter Injektion.
II. (rechts)	$\alpha = -0,79^\circ$.	1 Minute „ „ „
III. (links)	$\alpha = -0,85^\circ$.	$2\frac{1}{4}$ Minuten „ „ „
IV. (rechts)	$\alpha = -0,92^\circ$.	4 „ „ „
V. (links)	$\alpha = -1,04^\circ$.	6 „ „ „
VI. („)	$\alpha = -1,33^\circ$.	14 „ „ „

Berechnung: $20 \cdot \frac{15,72 \cdot 10,4}{0,74 \cdot 5,5} = 817 \text{ ccm Blut}$
 $\times 1060 \text{ (spez. Gew. des Blutes)}$
 $= 866 \text{ g Blut}$
 $= \frac{1}{8,5} = \frac{1}{9} \text{ des Körpergewichtes} = 11,3\%$

Wir haben noch eine größere Anzahl von Bestimmungen an Kaninchen ausgeführt und auch hier die Anwendbarkeit der Methode festgestellt. Alle bisherigen Resultate führen zum Schlusse, daß es möglich ist, mit Hilfe der «optischen Methode» die Blutmenge am lebenden Tier und auch am Menschen festzustellen. Als Hauptbedingung ist aufzustellen, daß die Blutentnahme nicht später als innerhalb einer Minute nach erfolgter Injektion erfolgen darf. Die wesentlichste Fehlerquelle unserer Methode ist das Verschwinden des Dextrins aus der Blutbahn. Der letzte, oben angeführte Versuch zeigt, daß kein Unterschied im Drehungsvermögen des Plasma 45 und 60 Sekunden nach der Injektion des Dextrins wahrnehmbar war. Nach $2\frac{1}{4}$ Minuten jedoch war bereits ein beträchtlicher Teil

des Dextrins verschwunden. Nach 14 Minuten ist nur noch ein geringer Teil des injizierten Dextrins im Plasma vorhanden. Wir hoffen, durch Synthese Verbindungen aufbauen zu können, die ein hohes Molekulargewicht und ein hohes Drehungsvermögen besitzen und zugleich körperfremd sind. Wir denken hier speziell an hochmolekulare Polypeptide, an deren Aufbau Aminosäuren beteiligt sind, die in der Natur nicht vorkommen. Es ist zu erwarten, daß derartige Verbindungen während längerer Zeit unverändert im Blute kreisen. Die allgemeine Anwendbarkeit der «optischen Methode» zur Bestimmung der Blutmenge am lebenden Tiere müssen weitere Versuche ergeben. Wir haben auch die Absicht, Vergleiche mit anderen Methoden durchzuführen. So läßt sich z. B. die CO-Methode in den gleichen Blutproben zur Anwendung bringen, die auch für die Bestimmung des Drehungsvermögens des Plasmas dienen. Bei ganz exakten Versuchen muß natürlich die injizierte Flüssigkeitsmenge sowie die entnommene Blutmenge bei der Berechnung der gesamten Blutmenge genau berücksichtigt werden, endlich wäre auch eine exaktere Bestimmung des Verhältnisses von Plasma zu Formelementen nötig, als uns dies die uns zur Verfügung stehende Zentrifuge gestattete.