

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Kiel

WEITERE UNTERSUCHUNGEN ZUR TEMPERATUR-
ADAPTATION DER SAUERSTOFFBINDUNG DES BLUTES
VON *RANA ESCULENTA* L.

Von

MAGDALENA STRAUB*

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 19. November 1956)

	Seite
Einleitung	507
I. Der Adaptationseffekt	510
a) Die Sauerstoffbindungskurve des Blutes unterschiedlich adaptierter Frösche	510
b) Der Hämoglobingehalt des Froschblutes	512
c) Zahl, Größe und Volumen der Erythrocyten	514
II. Die Eigenschaften des Blutplasmas	516
a) Alkalireserve	516
b) Wasserstoffionen-Konzentration des Plasmas	517
c) Natrium- und Chlorgehalt des Plasmas	518
III. Hat das Blutplasma einen Einfluß auf den Adaptationseffekt?	519
Zusammenfassung	521
Literatur	521

Einleitung

Die Anpassung der biologischen Leistung des Blutes an veränderliche Umweltfaktoren (Temperatur, Jahreszeit, Sauerstoffgehalt des umgebenden Mediums u. dgl.) ist Gegenstand sehr zahlreicher Untersuchungen gewesen. Besonders die Veränderungen, die der Organismus durch langsame oder rasche Überführung in ein Milieu niederer Sauerstoffpartialdrucke der umgebenden Atmungsluft (Höhenklima) erfährt, sind eingehend untersucht worden.

Prinzipiell lassen sich die bei Hypoxie beobachteten Akklimatisationsprozesse des Organismus als Funktionen von Zeit und effektiver Höhe darstellen. Erfolgt der Aufstieg rasch (Höhenflüge) oder werden plötzlich sauerstoffarme Gasgemische verabfolgt, so treten durch die momentane Belastung des Kreislaufes akute Reaktionen auf (Atemvolumsteigerung, Erhöhung der Herzfrequenz, des Herzminutenvolumens), die bei sehr großer Beanspruchung zu schweren gesundheitlichen Schädigungen führen können. Bei langsamem Aufstieg jedoch (Höhenexpeditionen) zeigen sich unter dem Einfluß einer mehr oder weniger starken Hypoxie Akklimatisationserscheinungen.

Beim Menschen setzt die bekannte Höhenpolyglobulie durch Entleerung der Blutspeicher (Milzkontraktion) ein und wird bei längerem Aufenthalt durch die

* Dissertation bei der Philosophischen Fakultät der Universität Kiel (Anregung und Anleitung: Prof. Dr. H. FRECHT). Einige der benutzten Apparate stellte die Deutsche Forschungsgemeinschaft zur Verfügung.

vermehrte Produktion von Erythrocyten im Knochenmark aufrechterhalten. Gleichzeitig erhöhen sich die Werte für den Hämoglobingehalt, für das Erythrocytenvolumen und auch für die Gesamtmenge des zirkulierenden Blutes. Da das Plasmavolumen absinkt, dürfte die Steigerung des Blutvolumens vor allem durch die stark vermehrte Zellmasse bedingt sein (MERINO 1950; GRANT und ROOT 1952). Die prozentuale Vermehrung der Erythrocytenzahl steht in keinem unmittelbaren Verhältnis zu der Vergrößerung des Hämoglobingehaltes und des Zellvolumens (Hämatokrit); sie übertrifft vielmehr letztere bei weitem. MERINO (1950) glaubt, diese Differenz zwischen Zahl und Volumen mit der in der Höhe einsetzenden Mikrocytose erklären zu können: das Korpuskularvolumen (Menschenblut) beträgt nach ihm in 4500 m Höhe im Mittel $87,4 \mu^3$, in Meereshöhe dagegen $95,4 \mu^3$. Seine Ergebnisse werden von HURTADO und Mitarbeiter (1945) bestätigt, stehen aber im Gegensatz zu Befunden von TALBOTT (1936), SCHÖNHOLZER und LÜTHI (1944) und TERZIOGLU (1952); diese Autoren konnten eine Vergrößerung des Volumens und der Oberfläche des einzelnen Erythrocyten im Menschenblut messen. Der plötzlich einsetzenden Polycythämie und dem damit verbundenem Eisenbedarf zur Farbstoffsynthese scheint der Organismus nicht gewachsen zu sein (Abfall des Färbeindex), weshalb auch der prozentuale Anstieg des Gesamthämoglobins dem der Erythrocytenvermehrung nachhinkt. VANNOTTI (1939) wies während der Anpassung einen Abfall des Bluteisens nach. Demzufolge ist ebenfalls die Sauerstoffkapazität des einzelnen Erythrocyten unter dem Einfluß der Hypoxie nicht so stark erhöht, wie es auf Grund der vermehrten Erythrocytenzahl zu erwarten wäre (KRUPSKI und ALMASY 1937).

Auch im Tierversuch bewirkt die Verabfolgung sauerstoffärmerer Luftgemische prinzipiell die gleichen Veränderungen des Blutes: Vermehrung des Hämoglobingehaltes bei Ratten (FRYERS 1952), beim Hund (REISSMANN 1951), bei Mäusen (HALL und BARKER 1954), beim Meerschweinchen (DELACHAUX und TISSIÈRES 1946), verbunden mit einer Zunahme von Zell- und Blutvolumen, während die Menge des Blutplasmas reduziert wird (FRYERS 1952, ADOLPH 1956).

Obwohl die Sauerstoffkapazität des Blutes gesteigert ist, verschiebt sich, entgegen den älteren Befunden BARCROFTS (1922), bei der Höhenanpassung die Sauerstoff-Dissoziationskurve menschlichen Blutes nach rechts (KEYS und Mitarbeiter 1936, VERZÁR 1947, OPITZ 1948, HOUSSAY 1955, RAHN und FENN 1955). Nach TERZIOGLU und TUNA (1954) sinkt die Sauerstoffsättigung menschlichen Blutes in 1800 m Höhe (wo beim Menschen die ersten Akklimatisationsprozesse deutlich werden, vgl. BÜHLMANN 1951 u. a.) bei beginnendem Aufenthalt um 3,3% des Ausgangswertes und steigt dann während des Adaptationsprozesses wieder bis zu einem Wert an, der um 0,5% unter dem normalen Sättigungspunkt liegt. Im Kaninchenblut ist nach WANG und Mitarbeiter (1951) in gleicher Höhe die arterielle Sättigung bereits anfangs um 9% verschlechtert und liegt nach entsprechender Akklimatisation um 4,8% unter der Norm. HALL (1936) teilte mit, daß Hypoxie einen nur geringen oder ganz fehlenden Einfluß auf die Lage der Sauerstoff-Dissoziationskurve einer hämolysierten, verdünnten Hämoglobininlösung (Mensch) hat.

Während der Höhenanpassung sinkt die Alkalireserve und hält damit das p_{H} im arteriellen Blut weitgehend auf seinem normalen Wert, obgleich die CO_2 -Spannungen erniedrigt sind. Nach DIENST und VAN BEBBER (1943) soll die Alkalireserve schon unter geringer Hypoxydose beim arbeitenden Menschen gesenkt sein. Sowohl bei chronischer als auch bei akuter Hypoxie steigt der Milchsäuregehalt des Blutes nur wenig (OPITZ 1948, TERZIOGLU und TUNA 1954). Die rasch normalisierte Pufferung des Blutes kann wohl mit der Hyperventilation und der Hämoglobinvermehrung in ursächlichen Zusammenhang gebracht werden.

Von gleichlaufenden krankhaften Veränderungen des Blutbildes unterscheidet sich die Höhenpolycythämie dadurch, daß das Leukocytenbild unverändert bleibt

(MERINO 1950). Die Vermutung, daß — trotz des Einschwemmens hämoglobinarmer Reticulocyten — die Lebensdauer der Erythrocyten während des Höhengaufenthaltes verlängert und damit deren hoher zahlenmäßiger Anstieg zu erklären sei, ließ sich nicht bestätigen. Sowohl im Rattenblut (FRYERS und BERLIN 1952) als auch im Menschenblut (REYNAFARJE und Mitarbeiter 1954) ist die Lebensdauer der roten Blutkörperchen normal. Durch die Neubildung junger Erythrocyten mit vergrößertem Zellvolumen wird wohl die Resistenzsteigerung gegen osmotische Hämolyse erreicht (WILBRANDT und HERRMANN 1944), wie sie von CHALFIN (1956) auch für die Reticulocyten normalen Rattenblutes nachgewiesen werden konnte. Nach MERINO (1950) und VERZÁR (1947) wird während der Höhenadaptation mit dem Ansteigen der Hämoglobinmenge auch mehr Hämoglobin zerstört, weshalb der Bilirubingehalt des Serums ansteigt und parallel damit eine vermehrte Urobilinogen-Ausscheidung stattfindet. Wie bei normalen Verhältnissen haben Bilirubin und angesammeltes Serum-eisen eine stark hämopoetische Wirkung; zusätzlich wird noch in der Leber Bilirubin produziert (vgl. auch HOUSSAY 1955).

Es soll auf viele weitere Erscheinungen der Höhenanpassung, die in keinem unmittelbaren Zusammenhang mit unseren Untersuchungen der Temperaturanpassung stehen, nicht eingegangen werden.

Fetaler Hypoxie wird durch Erythrocyten-Vermehrung entgegengewirkt; zusätzlich ist das Hämoglobin von Wirbeltier-Embryonen gegenüber jenem adulter Tiere bereits bei niedrigeren Sauerstoffspannungen halbgesättigt (BARCROFT 1946, 1934). Eine größere Sauerstoffaffinität fetalen Hämoglobins, die sich in einer steileren Dissoziationskurve ausdrückt, finden ebenso ROSTORFER und RIGDON (1947) in Versuchen mit Jungvögeln, RIGGS (1951) mit Kaulquappen und HALL (1934) nach Studien mit Blut des sich entwickelnden Hühnchens. Es wird diskutiert, ob innerhalb einer Tierart oder gar im gleichen Individuum verschiedene Hämoglobin-Formen mit unterschiedlicher Sauerstoffaffinität auftreten.

Nach FOX und PHEAR (1953) ist der Hämoglobingehalt bei *Daphnia* umgekehrt proportional dem Sauerstoffgehalt des Aufbewahrungswassers. Extra-Hämoglobin synthetisieren außerdem andere Crustaceen (*Estheria*, *Apus*, *Artemia* und viele andere Phyllopoden), *Chironomus*-Larven und junge Planorben, wenn die gelöste Sauerstoffmenge des Wassers erniedrigt wird (FOX 1954, 1955; GILCHRIST 1954); kein Einfluß der äußeren Sauerstoffkonzentration ist jedoch bei Anneliden und adulten Planorben festzustellen. Steigender Eisengehalt und zunehmende Temperaturen des Wassers haben außerdem — bei gleichbleibender O_2 -Konzentration — direkten Einfluß auf die Mehrbildung von Hämoglobin im Daphnienblut (FOX und Mitarbeiter 1953). Nach CHANDLER (1954/55) besteht jedoch in der Natur keine Korrelation zwischen Eisengehalt und Hämoglobinmenge. Bei *Daphnia* wurde außerdem in den Wintermonaten mehr Blutfarbstoff gefunden als im Sommer. Man weiß noch nicht, wie bei diesen einfacheren Tierformen der Auf- und Abbau des Extra-Hämoglobins vor sich geht; vgl. auch KRÜGER (1956).

Ganz entsprechende Probleme ergeben sich bei der von uns untersuchten Anpassung der Organismen an veränderte Temperaturbedingungen (vgl. PRECHT 1949, 1955). Beim häufigsten und hier allein interessierenden Adaptationstyp 3 bewirkt die Anpassung eine gewisse Unabhängigkeit des Stoffwechsels von der Außentemperatur. So ist bei manchen Arten der Sauerstoffverbrauch von Individuen aus höheren Anpassungstemperaturen bei gleichen Versuchsbedingungen geringer als der von kaltadaptierten Exemplaren. Eine besondere Regulierung zeigt nach KIRBERGER (1953) die Sauerstoffbindung des

Blutes von *Rana esculenta*. Wurden Frösche, die an mittlere Temperaturen angepaßt waren, in höhere überführt und dort belassen, so verschob sich die durch die plötzliche Temperatursteigerung zunächst stark nach rechts verlagerte Dissoziationskurve teilweise wieder nach links. Dieser Adaptationseffekt konnte bisher nur für eine Sauerstoffspannung nachgewiesen werden; deshalb sollte nun die gesamte Sauerstoffbindungskurve aufgenommen werden. Außerdem blieb zu untersuchen, mit welchen Mitteln die Tiere die gerade für den raschen Stoffwechsel bei höheren Temperaturen so schädliche Rechtsverschiebung der Dissoziationskurve z. T. wieder rückgängig machen. Es sei noch erwähnt, daß der Sauerstoffverbrauch der Wasserfrösche nach STANGENBERG (1955) eine Temperaturadaptation nach Typ 3 aufweist, ein Effekt, der ausschließlich durch die Lungenatmung und nicht durch die Hautatmung bedingt wird.

I. Der Adaptationseffekt

a) Die Sauerstoffbindungskurve des Blutes unterschiedlich adaptierter Frösche

Zu allen vorliegenden Untersuchungen dienten Wasserfrösche (*Rana esculenta*) als Versuchsobjekte, die — soweit nichts anderes erwähnt ist — aus der näheren

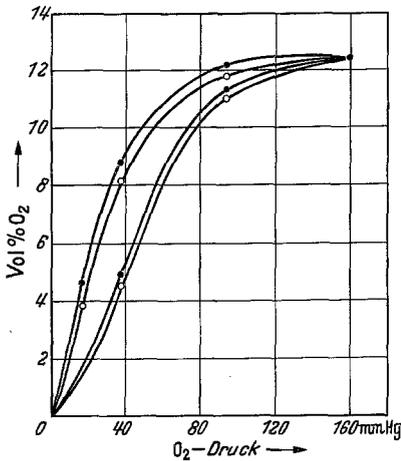


Abb. 1. Sauerstoffgehalt (in Vol. %) verschieden adaptierter Frösche, bezogen auf gleiche Hb-Mengen, bei verschiedenen O_2 -Partialdrücken. Adaptationstemperatur bei ●—● 25° C, bei ○—○ 15° und 4° (Mittelwerte). Versuchstemperatur der beiden linken Kurven 15° C, der rechten 25° C. Graphisch dargestellt nach den Werten der Tabelle 1

Umgebung Kiels stammten. Die Anpassung der Tiere an 25° bzw. 15° C dauerte 8—14 Tage, die an 3° C mehrere Wochen. Zur manometrischen Bestimmung des Blutsauerstoffgehaltes im van Slyke-Apparat ist Mischblut von 2—4 Tieren nötig, um Parallelbestimmungen mit 0,5 cm³-Proben auszuführen; für die Analyse nach der Mikromethode genügt meist das Blut eines Tieres. Eine jeweils vor der Messung der Sauerstoffbindung vorgenommene Blutprobenentnahme diente der Bestimmung des Hämoglobingehaltes, der als Bezugswert zugrunde gelegt wird. Das von LAUÉ (1951) entwickelte Kugelsonometer eignete sich gut zur Äquilibrierung kleiner Blutproben mit Luft und Gasgemischen, welche jeweils 12,4, 5,1, 2,4% (bzw. 94, 39 und 18 mm Hg) Sauerstoff enthielten; der CO₂-Gehalt betrug in jedem Gemisch 1,2% bzw. 9 mm Hg. Da nach CAMPBELL (1926) im Blutgefäßsystem des Frosches keine höheren Kohlensäurespannungen als 14 mm Hg vorkommen, dürfte der CO₂-Gehalt wohl im normalen biologischen Bereich liegen. Die von KIRBERGER

(S. 155) beschriebenen Schwierigkeiten in der Blutgasanalyse konnten vermieden werden; deshalb verlief die Versuchsausführung entsprechend der Vorschrift von VAN SLIKE und NEILL (in ABDEHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden). Alle entgasten Reagentien hielten sich, in Hempelpipetten unter Quecksilber aufbewahrt, mehrere Tage luftfrei.

Zunächst wurde die ganze Sauerstoffbindungskurve des Froschblutes nach unterschiedlicher Temperatur-Vorbehandlung der Tiere aufgenommen. In Tabelle 1 ist der auf 12 g Hb bezogene Gesamtsauerstoffgehalt in Volumprozent für die einzelnen O₂-Partialdrucke angegeben (vgl. auch Abb. 1).

Man sieht deutlich, daß die Temperaturadaptation, wie sie KIRBERGER (1953) bereits bei einem Sauerstoffpartialdruck feststellte, sich über den ganzen Kurvenbereich erstreckt, bis schließlich bei normaler Luftsättigung alle Werte zusammenfallen. Der Adaptationseffekt

Tabelle 1. *Sauerstoffgehalt im Blut unterschiedlich adaptierter Frösche (in Vol. %) bezogen auf 12 g Hb/100 cm³, bei 2 Versuchstemperaturen und verschiedenen Sauerstoffpartialdrucken*

In Klammern hinter den Meßwerten: Anzahl der untersuchten Tiere/Anzahl der Messungen. Angegeben sind die mittleren Fehler der Mittelwerte; Bestimmung der P-Werte nach PÄTAU (1943).

Adap- tations- tem- peratur in °C	Versuchs- temperatur 25° C	Stat. Sicherung der Differenz P	Versuchs- temperatur 15° C	Stat. Sicherung der Differenz P	Versuchszeit
Sauerstoffpartialdruck = 20,9 Vol.-% = 159 mm Hg					
A 25	12,52 ± 0,05 (27/7)		12,53 ± 0,04 (19/6)		Juli bis Oktober
B 15	12,51 ± 0,05 (25/8)		12,52 (16/4)		
C 4	12,48 ± 0,13 (12/4)		12,50 ± 0,06 (8/3)		
Sauerstoffpartialdruck = 12,4 Vol.-% = 94 mm Hg					
A 25	11,36 ± 0,02 (11/4)	A—B: <0,0002	12,16 ± 0,03 (10/4)	A—B: 0,00065	September bis Oktober
B 15	11,14 ± 0,01 (6/3)	A—C: 0,03	11,84 ± 0,035 (12/4)	A—C: 0,002	
C 4	11,15 ± 0,06 (16/6)		11,81 ± 0,05 (8/3)		März bis Juni
Sauerstoffpartialdruck = 5,1 Vol.-% = 39 mm Hg					
A 25	4,90 ± 0,02 (15/5)	A—B: 0,0018	8,72 (7/3)	A—B: <0,0002	Juni bis Juli
B 15	4,62 ± 0,06 (16/5)	A—C: <0,0002	8,21 ± 0,05 (14/5)	A—C: <0,0002	
C 4	4,64 ± 0,01 (10/3)		8,20 ± 0,04 (11/4)		
Sauerstoffpartialdruck = 2,4 Vol.-% = 18 mm Hg					
A 25			4,61 ± 0,03 (9/6)	A—C: <0,0002	November bis Dezember
C 4			3,95 ± 0,01 (9/4)		

äußert sich darin, daß die bei plötzlicher Temperatursteigerung rechtsverlagerte Sauerstoffbindungskurve durch die Temperaturanpassung wieder teilweise links verschoben wird; er zeigt sich also nur bei einer Überführung der Frösche von mittleren in hohe Anpassungstemperaturen, nicht aber bei einer Überführung kaltadaptierter Tiere in mittlere Temperaturen. Darum konnten die Werte der 15°- und 4°-Tiere in Abb. 1 in einer Kurve zusammengefaßt werden.

Dieser Adaptationseffekt ist reversibel. Werden kaltadaptierte Tiere in höhere Temperaturen umgesetzt und dann nach 10 Tagen wieder in tiefe

Tabelle 2. *Adaptationsausmaß in Prozent, errechnet aus Tabelle 1.*

Die Werte der an 15° und 4° C angepaßten Tiere wurden gemittelt.

O ₂ -Partialdruck mm Hg	Adaptationsausmaß in %	
	Versuchstemperatur 25° C	Versuchstemperatur 15° C
94	1,89	2,76
39	5,51	5,91
18		14,3

Temperaturen überführt und dort belassen (4° C), so sinkt die zuerst gesteigerte Sauerstoffkapazität wieder auf den normalen Wert der kaltadaptierten Tiere, bezogen auf gleichen Hb-Gehalt des Blutes. Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung mit KIRBERGER (1953).

Das Adaptationsausmaß (Tabelle 2) nimmt dementsprechend

mit fallenden Sauerstoffpartialdrucken zu, was bedeutet, daß die Temperaturadaptation gerade im biologisch bedeutungsvollen Bereich besonders wirksam wird.

b) Der Hämoglobingehalt des Froschblutes

Methodisches. Die Ermittlung des Hämoglobingehaltes im Froschblut bereitet einige Schwierigkeiten, da von der meist angewandten Bestimmung als salzsaures Hämatin wegen der Ungenauigkeit der Methode, die außerdem abhängig von Zeit und Temperatur der Messung ist, möglichst abgesehen werden sollte. Als sehr geeignet erwies sich die stufenphotometrische Hämoglobin-Bestimmung mittels Cyanhämglobin, wie sie BETKE und SAVELSBERG (1950) für Menschenblut angeben. Die Eichung des Verfahrens mittels Kaliumferricyanidtitration des Hämoglobins nach HAVEMANN und JUNG (1939) aber kann mit Blut von *Rana esculenta* nicht durchgeführt werden, da bei der molaren Titration des Hämolylysats sofort Koagulationserscheinungen auftreten. (Erstaunlicherweise können hämolysierte Erythrocyten von *Rana temporaria* in entsprechender Verdünnung ohne Schwierigkeit titriert werden; der Äquivalenzpunkt ist genau festzustellen.) Die Eichung wurde deshalb als Cyanhämglobin in Anlehnung an die Methode von CRUZ (1951) ausgeführt. Eichwert 0,053 cm³ Froschblut je 4,0 cm³ Transformationslösung (BETKE und SAVELSBERG) für die Bestimmung im Pulfrich-Photometer, 1 cm³-Küvetten, Filter S 53.

KIRBERGER (1953) fand eine Zunahme des Hämoglobingehaltes bei Überführung der Tiere in mittlere Temperaturen, was auch als Adaptationseffekt anzusehen wäre. Nach KLIENEBERGER (1927) ist kein jahreszeitlich bedingter Unterschied im Hb-Gehalt von Sommer- und Winterfröschen vorhanden (63 bzw. 64% Sahli). Jedoch sinken nach

ZEPP (1923) die Hämoglobinwerte weiblicher Wasserfrösche bei beginnender Winterruhe, um bereits im Dezember wieder zur Norm anzusteigen; die Männchen zeigen im gleichen Zeitintervall einen geringen Abfall. Nach LANGE (1919) soll der Winterschlaf keinen Einfluß auf den Hämoglobingehalt haben. In der Regel liegen die Hb-Werte bei Männchen höher als bei Weibchen (ZEPP 1923, LANGE 1919).

KLIENEBERGERS Zahlen liegen im Vergleich zu anderen Autoren recht hoch. Neben ZEPP (Männchen 55,2%, Weibchen 45,8% Sahli) geben DRASTICH (1928) 9,84 bzw. 10,68 g Hb, HEESEN (1924) 50,5% Sahli, PROSSER und Mitarbeiter (1950) 9,5 g Hb je 100 cm³ Blut als Mittelwert für *Rana esculenta* an.

Eine gewisse Variabilität der Hämoglobinmengen ist also offensichtlich; sie geht auch aus unseren Ergebnissen hervor (vgl. Tabelle 3; absoluter Mittelwert aller Messungen: 9,7 ± 2,7 g Hb/100 cm³ Blut = 28% Abweichung). Die Unsicherheit einer Deutung wird noch dadurch erhöht, daß offenbar rassische Unterschiede mit hineinspielen können. Die Meßwerte von einigen Weibchen aus dem mitteldeutschen Raum lagen z. B. auffallend über jenen aus Kiels Umgebung (25⁰-Tiere: 10,63 ± 0,30 g Hb/100 cm³ — 6 Messungen; 4⁰-Tiere: 10,41 ± 0,49 g Hb je 100 cm³ — 4 Messungen; vgl. dazu Tabelle 3).

Faßt man alle an Männchen, Weibchen und Mischblut gewonnenen Hämoglobin-Werte zusammen, so erhält man bei den 15⁰- und 25⁰-Tieren im Winter ein deutliches Maximum und einen Anstieg der Werte,

Tabelle 3. Hämoglobingehalt (g/100 cm³) im Blut von *Rana esculenta* nach vorheriger Anpassung der Tiere an verschiedene Temperaturen

In Klammern: Zahl der Tiere/Zahl der Messungen.

Adaptations- temperatur in °C	Januar bis März	April bis Juni	Juli bis September	Oktober bis Dezember
Männchen				
25	9,27 ± 0,51 (12/3)	10,23 ± 1,19 (5/2)	10,07 ± 0,54 (23/6)	—
15	10,15 (3/1)	10,77 ± 0,62 (13/4)	9,17 ± 0,71 (18/4)	12,38 ± 0,3 (8/3)
4	11,21 ± 0,49 (5/2)	—	9,39 ± 0,02 (10/3)	9,85 ± 0,18 (4/2)
Weibchen				
25	9,96 ± 0,92 (6/3)	8,27 ± 0,72 (7/3)	8,84 ± 0,42 (13/4)	10,30 ± 0,39 (22/11)
15	10,15 ± 0,12 (4/2)	9,66 ± 0,56 (15/6)	10,22 ± 0,25 (6/2)	10,53 ± 0,75 (10/4)
4	8,32 ± 0,29 (9/4)	9,35 ± 0,86 (6/3)	8,46 ± 0,24 (14/5)	9,24 ± 0,34 (28/12)
Männchen und Weibchen gemischt				
25	—	8,97 ± 0,40 (6/2)	9,14 ± 0,47 (30/8)	10,34 ± 0,42 (20/6)
15	—	11,12 ± 0,71 (10/3)	9,38 ± 0,62 (24/7)	10,34 (3/1)
4	8,59 (4/1)	9,60 ± 0,79 (16/6)	9,64 ± 0,98 (10/4)	10,73 ± 0,45 (6/2)

wenn die kaltadaptierten Frösche in mittlere Temperaturen überführt werden, was auch KIRBERGER an einem kleineren Material fand (Abb. 2). Eine Aufteilung in Einzelwerte zu verschiedenen Jahreszeiten jedoch zeigt die große Variationsbreite des Hämoglobingehaltes (Tabelle 3), wodurch eine Aussage über gesetzmäßige Veränderungen beeinträchtigt wird.

Im Spätsommer gefangene Tiere zeigten nach längerer Aufbewahrung im Eisschrank eine zunehmende Rotfärbung an der Innenseite der Beine und fortschreitend krampfartige Zuckungen. Es mag eine Infektion vorgelegen haben. Bei einer Überführung dieser Tiere in höhere Temperaturen verschwanden äußerlich diese Symptome, blutphysiologisch reagierten sie jedoch anomal. Der Hb-Gehalt stieg bis zu 14g, trotzdem lag die Sauerstoffkapazität des sehr konzentrierten Blutes unter der Norm. Es mußten deshalb neue, bereits winterschlafende Tiere beschafft werden. In den Gewässern waren sie, wie auch ZEPF (1923) berichtet, einzeln im Schlamm eingegraben, äußerlich fast schwarz gefärbt und ziemlich unbeweglich. Diese Frösche wurden sofort 1—2 Wochen an 25° adaptiert bzw. bei 4° belassen; ihre Hb-Werte betragen: $10,84 \pm 0,17$ (vgl. die niedrigen Werte der Abb. 2).

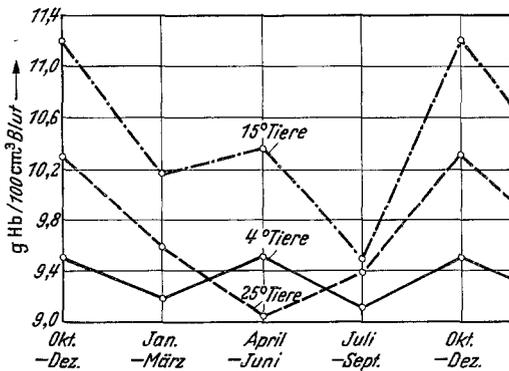


Abb. 2. Jahreszeitlicher Zyklus der Hämoglobinwerte im Blut von *Rana esculenta* (1954/55)

dem lag die Sauerstoffkapazität des sehr konzentrierten Blutes unter der Norm. Es mußten deshalb neue, bereits winterschlafende Tiere beschafft werden. In den Gewässern waren sie, wie auch ZEPF (1923) berichtet, einzeln im Schlamm eingegraben, äußerlich fast schwarz gefärbt und ziemlich unbeweglich. Diese Frösche wurden sofort 1—2 Wochen an 25° adaptiert bzw. bei 4° belassen; ihre Hb-Werte betragen: $10,84 \pm 0,17$ (vgl. die niedrigen Werte der Abb. 2).

c) Zahl, Größe und Volumen der Erythrocyten

Die Variabilität der roten Blutkörperchen hinsichtlich Zahl und Größe in Abhängigkeit von Temperatur und Jahreszeit ist bei Fröschen häufiger untersucht worden; leider fehlen jedoch auch hier neuere Angaben. Nach KLIENEGER (1927) unterscheiden sich Sommertiere (*Rana esc.*) durch ihre wesentlich höhere Erythrocytenzahl von Wintertieren; bei gleichem Hb-Gehalt von 60% Sahli findet er bei ersteren 506 000, bei Wintertieren nur 358 000 Erythrocyten je Kubikmillimeter Blut. HEESSEN (1924), SCHLICHER (1927) und ZEPF (1923) betonen, daß die Erythrocytenzahlen besonders vor der Laichzeit ansteigen und in den folgenden Monaten dann beträchtlich abfallen, um bis zur beginnenden Winterruhe wieder auf einen normalen Wert einreguliert zu werden. Nach SCHLICHER (1927) steht die Größe der Erythrocyten bei Teleostiern in unmittelbarem Zusammenhang mit der Temperatur und auch der Jahreszeit, indem mit zunehmender Adaptationstemperatur (ebenso im Sommer) das Volumen der einzelnen Blutkörperchen vermindert wird. Im allgemeinen sind nach seinen Ergebnissen auch die Erythrocytenzahlen

bei höheren Anpassungstemperaturen gesteigert. Dies bestätigt vor allem SPOOR (1951), der Goldfische bei verschiedenen Temperaturen adaptierte. HAAN (1927) findet eine Zunahme des gesamten Blutkörperchenvolumens, wenn er kaltadaptierte Frösche in höhere Temperaturen überführt.

Methodisches. Zur Untersuchung gelangte ausschließlich Blut junger Weibchen (Gewicht 18—20 g), welches, auf einen Objektträger gebracht, sofort in die Mischpipette aufgesogen bzw. zur Herstellung eines Blutausstreiches verwandt wurde. Auszählung der Erythrocyten in der Thoma-Zeiß-Kammer bei 100facher Verdünnung des Blutes mittels 0,7%iger NaCl-Lösung. Größenbestimmung durch Ausmessung von je 30 Blutkörperchen je Blutaustrich mit dem Mikro-Okular. Material: jeweils 10—12 an 4° bzw. 25° C adaptierte Weibchen; Versuchszeit: November und Dezember. Im gleichen Zeitraum sind von Blutproben, die zur Hämoglobin- und Sauerstoffmessung dienten, Hämatokritwerte bestimmt worden. Zentrifugierung 20 min bei 3500 Umdrehungen.

Die Zahl der roten Blutkörperchen nimmt mit dem Steigen der Anpassungstemperatur zu (Adaptationsausmaß: 36,5%, Tabelle 4).

Tabelle 4. Zahl, Größe und Einzelvolumen der Erythrocyten junger Weibchen (*Rana esculenta*)

Adaptations- temperatur in °C	Erythrocyten je mm ³ Blut	Länge in μ	Breite in μ	Volumen des Einzel- Erythrocyten in $\mu^3 \times 10^2$
25	433 000 \pm 29 000	23,6 \pm 0,47	15,8 \pm 0,12	30,87 \pm 0,84
4	275 000 \pm 13 000	24,35 \pm 0,36	16,6 \pm 0,16	35,24 \pm 0,93
Statistische Sicherung	$P=0,00035$	$P=0,22$	$P=0,0008$	$P=0,0023$

Im allgemeinen verändern sich der Hämoglobingehalt und die Erythrocytenzahl gleichsinnig, jedoch ist nicht immer (wie bei der einleitend erwähnten Höhenadaptation) eine strenge Korrelation zu finden (vgl. vor allem auch ZEPF). Aus Tabelle 3 geht auch ein leichter Anstieg des Hämoglobingehaltes bei einer Erhöhung der Adaptationstemperatur von 4° auf 25° hervor, doch läßt sich dieser im Gegensatz zur Änderung der Erythrocytenzahlen nicht absichern. Der geringe Unterschied in der Hämoglobin-Menge bei der großen Verschiedenheit in den Erythrocytenzahlen wird durch die Größenabnahme des einzelnen roten Blutkörperchens mit steigender Adaptationstemperatur verständlich (Tabelle 4; das Volumen des Einzelerythrocyten ist in der Tabelle willkürlich als Rotationsellipsoid berechnet). Demnach steigt mit fallender Anpassungstemperatur der Hämoglobingehalt des einzelnen roten Blutkörperchens.

Über das gesamte Volumen der Blutzellen geben die Hämatokritbestimmungen Aufschluß. Bezogen auf den jeweiligen Hb-Gehalt der

Blutprobe zeigt sich eine deutliche Steigerung des Gesamtvolumens bei erhöhter Adaptationstemperatur (Abb. 3).

Wenn man, wie bisweilen üblich, den Sauerstoffgehalt des Blutes auf gleiche Hämatokritwerte (hier 100% Zellvolumen) bezieht, so ergeben sich dennoch die durch die Temperaturadaptation bedingten Unterschiede (4°-Tiere: 14,2 Vol.-%; 25°-Tiere: 16,0 Vol.-% O₂; Sauerstoffpartialdruck 18 mm Hg).

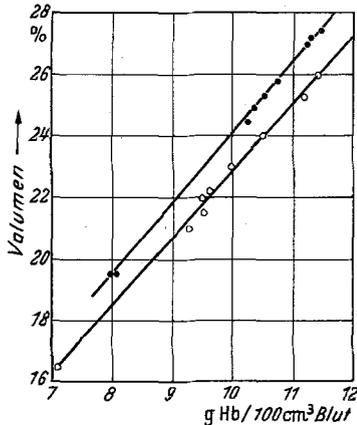


Abb. 3. Blutkörperchenvolumen (in %) von *Rana esculenta* (nach unterschiedlicher Temperaturvorbehandlung), jeweils auf den Hb-Gehalt des Blutes bezogen. ● = 25°-Tiere, ○ = 4°-Tiere

Daß dies nicht immer der Fall ist, zeigen die Versuche mit Süß- und Salzwasser-Lachsen von BENDITT und Mitarbeitern (1941).

Insgesamt erhalten wir also folgendes Bild: Mit einem Anstieg der Adaptationstemperatur nimmt der Hämoglobingehalt etwas zu (nicht abzusichern), die Erythrocytenzahl stark zu (36,5%), das aus der Größe berechnete Volumen des Einzelerythrocyten ab (12,4%) und das Gesamtvolumen der Zellen zu (etwa 5,5%). Durch diese Regulationen wird infolge Oberflächenvergrößerung und Abkürzung der Diffusionsstrecken der Gasaustausch in den Erythrocyten bei hohen Temperaturen erleichtert. Auf die Parallellität dieser Ergebnisse mit jenen bei der Höhenpolyglobulie sei hier wiederum verwiesen.

II. Die Eigenschaften des Blutplasmas

a) Alkalireserve

Da der in Abb. 1 dargestellte Adaptationseffekt im Vollblut wirksam wird, muß untersucht werden, inwieweit das Blutplasma an dieser Regulation beteiligt ist. Von Bedeutung erscheint vor allem die Frage, ob eine Verschiebung des Säure-Basen-Gleichgewichtes stattgefunden hat.

Zur Abtrennung des Plasmas wurde das aus der Vena abdominalis ausfließende Blut ohne Zusatz gerinnungshemmender Substanzen unmittelbar in eisgekühlten, paraffinierten Zentrifugenröhrchen im Kohlensäurestrom aufgefangen (vgl. WÖHLISCH 1948) und sofort zentrifugiert. Bestimmung der Alkalireserve im manometrischen van Slyke-Apparat nach Äquilibrierung (8—10 min) mit einem Gasgemisch von Luft und 5,3% CO₂ in 0,2 cm³ Plasmaproben.

Tabelle 5 zeigt den großen Einfluß der Adaptationstemperatur auf die Alkalireserve des Plasmas. Die bei warmangepaßten Tieren erhöhten CO₂-Werte besagen jedoch nicht, daß das Säure-Basen-Gleichgewicht

gestört sein muß, sondern eher, daß es den gegebenen Temperaturbedingungen angepaßt ist. Eine gewisse Schwankungsbreite ergibt sich bei allen Messungen der Alkalireserve und erklärt sich aus ihrer Funktion. Dennoch ist der Unterschied deutlich und mit den zahlreicheren Messungen bei der Versuchstemperatur von 15° auch abzusichern.

Tabelle 5. CO₂-Werte in Vol-% (Alkalireserve) des Plasmas bei 2 Versuchstemperaturen

Sättigung des Plasmas mit Luft und einem CO₂-Partialdruck von 40 mm Hg. In Klammern: Zahl der Messungen. Versuchszeit: November und Dezember.

Adaptationstemperatur ° C	Versuchstemperatur 15° C (CO ₂ -Werte)	Zahl der untersuchten Tiere	Statistische Sicherung der Differenz <i>P</i>	Versuchstemperatur 25° C (CO ₂ -Werte)	Zahl der untersuchten Tiere	Stat. Sicherung der Differenz <i>P</i>
25	67,0 ± 0,8 (6)	11	<0,0002	59,4 ± 1,2 (4)	6	0,02
4	56,0 ± 1,1 (9)	16		48,7 ± 3,0 (5)	6	

b) Wasserstoffionen-Konzentration des Plasmas

Der Einfluß der H⁺-Konzentration des Blutes auf die Lage der Sauerstoff-Dissoziationskurve ist bekannt, und man könnte annehmen, daß die bei der Temperaturadaptation auftretende Linksverlagerung der Sauerstoffbindungskurve des Blutes warm angepaßter Frösche hauptsächlich die Folge einer mehr oder weniger starken Alkalose ist. Welche Wirkung veränderliche H-Ionenkonzentrationen auf die Sauerstoffsättigung des Blutes erwachsener Frösche ausüben, geht zunächst aus den Untersuchungen McCUTCHEONS (1936) hervor. So erhöht sich z. B. bei einem O₂-Partialdruck von 20 mm Hg (Versuchstemperatur 25° C) die prozentuale Sauerstoffaufladung des Hämoglobins um rund 33%, wenn das p_H von 6,80 auf 7,38 ansteigt. Jedoch schwächt sich sein Einfluß ab, wenn im normalen biologischen Bereich untersucht wird [p_H-Werte im Blut von *Rana esculenta* nach HERTWIG-HONDRU (1927) im Mittel 7,46 (16 Bestimmungen); im Blut von *Rana catesbiana* nach WASTL und SELISKAR (1925) 7,48 und nach McCUTCHEON (1936) 7,38]. Diesen biologischen Bereich erfaßt RIGGS (1951) in seinen Untersuchungen, leider jedoch ist die p_H-Differenz recht groß. Immerhin läßt sich aus seinen Kurven ablesen, daß beim gleichen Sauerstoffpartialdruck (20 mm Hg) und einer Zunahme des p_H-Wertes von 7,22 auf 8,4 die prozentuale Sauerstoffsättigung des Hämoglobins erwachsener Frösche um ~ 25% ansteigt (Versuchstemperatur 20° C). Wir wollen unten darauf zurückkommen. Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß das Kaulquappen-Hb — im Vergleich zum Blutfarbstoff erwachsener Tiere — eine wesentlich größere Sauerstoffaffinität besitzt, jedoch — im Gegen-

satz dazu — fast unabhängig vom p_H im Hinblick auf die Sauerstoffbeladung ist. Dieses unterschiedliche Verhalten gegenüber Schwankungen der H^+ -Konzentration im Blut junger und erwachsener Tiere führt RIGGS (1951) zu der Schlußfolgerung, daß keine Beziehung zwischen der Wechselwirkung der Häm-Komponenten des jeweiligen Hämoglobinemoleküls und dem Bohr(p_H)-Effekt besteht; denn das Kaulquappen-Hämoglobin muß ebenso wie das Hb erwachsener Frösche mehr als eine Häm-Komponente besitzen, da das Molekulargewicht beider Blutfarbstoffe 68000 beträgt und die Sauerstoffbindungskurve des Kaulquappenblutes gleichfalls sigmoiden Charakter hat und nicht hyperbolisch verläuft (vgl. McCUTCHEON 1936). Nach BLACK und IRVING (1938) nimmt im Fischblut bei Säuerung das ErythrocytENVOLUMEN zu, während die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins absinkt. Es wird die Frage aufgeworfen, ob diese Abnahme auf die p_H -Verschiebung oder auf die Schwellung der Erythrocyten zurückzuführen ist.

p_H -Bestimmungen im Blutplasma. Die Entnahme von Blut und die Abtrennung des Plasmas erfolgte nach den im vorigen Abschnitt beschriebenen Vorsichtsmaßregeln; Luftabschluß der Flüssigkeiten durch Paraffin. Messung in Glaselektroden (in Anlehnung an SKOTNICKÝ 1942 für kleine Flüssigkeitsmengen konstruiert) mittels Röhrenvoltmeter und angeschlossenem Multiflex-Galvanometer. Die Temperatur des Versuchsraumes betrug stets 25° C. Zur Eichung der Elektroden dienten Pufferlösungen bekannter H^+ -Konzentrationen; es war nötig, die Eichung unmittelbar vor jeder Messung zu wiederholen. Vgl. zur Methodik: DALLEMAGNE (1937), SCHWABE (1935/37), McINNES und DOLE (1929), BRUJEWICZ und KARPORA (1932) u. a.

Es zeigte sich, daß das Blutplasma der an 4° adaptierten Frösche um 0,07 p_H -Einheiten saurer als das der warmadaptierten Tiere ist. Werte für 25°-Tiere: $7,49 \pm 0,01$ (6 Messungen); für 4°-Tiere: $7,42 \pm 0,005$ (8-Messungen). Statistische Sicherung: $P = 0,0002$; Zeitpunkt der Bestimmungen: September.

Auffallend an diesem Ergebnis ist die Konstanz der p_H -Werte bei den verschiedenen Adaptationstemperaturen. Auf Grund der obigen Literaturangaben ist es nicht wahrscheinlich, daß diese geringe Zunahme des p_H die Linksverlagerung der Sauerstoffbindungskurve bei warmadaptierten Fröschen allein bedingt (vgl. Abb. 1 und Tabelle 2).

c) Natrium- und Chlorgehalt des Plasmas

Plasma-Gewinnung wie vorher erwähnt. Na^+ -Bestimmung: Methode von ALBANESE und LEIN (1948) durch Fällung als Natriumzinkuranylacetat und kolorimetrische Bestimmung des aufgelösten Niederschlages im Pulfrich-Photometer mit Filter S 42 (1 cm³-Küvetten). Cl^- -Bestimmung: Titrimetrisch nach SCHALES und SCHALES (1941) mit Quecksilbernitratlösung und Diphenylcarbazon als Indikator. Von jeder Plasmaprobe wurden 3mal 0,2 cm³ für die Na^+ -Bestimmung abpipettiert und die Cl^- -Werte in 1,0 cm³-Portionen der 10fach verdünnten 0,5 cm³-Probe des gleichen Plasmas ermittelt.

Tabelle 6 zeigt, daß durch die Temperaturanpassung die Ionenkonzentration des Blutplasmas beeinflußt wird, und somit auch hier ein Adaptationseffekt nachzuweisen ist. Für Na⁺ beträgt das Adaptationsausmaß 21,5%, für Cl⁻ 11,3% und für Na⁺, auf 300 mg-% Cl⁻ bezogen, 12,3% (Vergleichsdaten von FENN 1936: Na⁺ 238,1 mg-%, Cl⁻ 264,4 mg-%).

Gleiche Bestimmungen im Vollblut lassen, trotz stärkerer Schwankungen der Meßwerte, keinen Unterschied im Ionengehalt des Blutes unterschiedlich adaptierter Tiere erkennen.

Besonders konstant blieb die jeweilige Cl⁻-Menge [25^o-Tiere: 233 ± 4 mg-% Cl⁻ (4 Messungen), 15^o-Tiere: 216 ± 4 mg-% Cl⁻ (4 Messungen), 4^o-Tiere: 227 ± 19 mg-% Cl⁻ (3 Messungen)]. Das Ergebnis deutet auf eine

Tabelle 6. Natrium- und Chlorgehalt des Blutplasmas von *Rana esculenta* nach Adaptation an 25^o bzw. 4^o C
Zeitpunkt der Messungen: August/September.
P stets < 0,0002.

Adaptations-temperatur ° C	Cl ⁻ -Gehalt mg-%	Na ⁺ -Gehalt mg-%	Na ⁺ -Gehalt (auf 300 mg-% Cl ⁻ bezogen)	Zahl der unter- suchten Tiere
25	274 ± 4 (6)	265 ± 6 (6)	292 ± 4 (6)	18
4	243 ± 0 (5)	208 ± 2 (5)	256 ± 2 (5)	12

verstärkt arbeitende Natriumpumpe bei den warm adaptierten Fröschen hin, die vielleicht auch die Größenabnahme der Blutkörperchen bedingt, doch sind diese Schlüsse nicht absolut bindend. — Die Aufarbeitung des Blutes (Trennung des Plasmas von den Körperchen) dauerte nach der Entnahme der Tiere aus den Anpassungstemperaturen etwa 15 min. In späteren Versuchen soll diese Zeit verlängert werden, um die Unterschiede ganz sicher auf den Einfluß der Adaptationstemperatur und nicht auf eine Nachwirkung unterschiedlicher Versuchsbedingungen zurückführen zu können. Ist das erste der Fall, so finden wir eine verstärkt arbeitende Natriumpumpe bei den Tieren mit dem relativ geringen Stoffwechsel [Adaptationstyp 3, vgl. STANGENBERG (1955), ferner NETTER (1951)].

III. Hat das Blutplasma einen Einfluß auf den Adaptationseffekt?

Da die gemessenen Eigenschaften des Blutplasmas eine deutliche Abhängigkeit von der Adaptationstemperatur erkennen lassen, drängt sich die Frage auf, ob diese Unterschiede den festgestellten Adaptationseffekt der Sauerstoffbindung verursachen oder nur Folge- und Begleiterscheinung sind. Zur Prüfung dieser Frage ist das Plasma beider Blutarten durch physiologische Kochsalzlösung bzw. Ringerlösung ersetzt worden.

Methodisches. Das Gasgemisch enthielt 18 mm Hg Sauerstoff; an diesem unteren Punkt der Kurve ist der Adaptationseffekt am größten. Das entnommene Blut wurde in 2 Portionen geteilt; eine diente zur Bestimmung der Sauerstoffbindung des Vollblutes, die andere zur Untersuchung der Blutkörperchensuspension

(jeweils 3 Parallelbestimmungen mit 0,2 cm³-Proben). Herstellung derselben durch 2—3maliges Auswaschen der abzentrifugierten Blutzellen mit Ringerlösung und Aufschwemmung im ursprünglichen Volumen (p_H 7,4). Es war nötig, möglichst rasch nach Herstellung der Suspensionen — besonders derjenigen mit Blutkörperchen von 25^o-Tieren — die Analyse zu beginnen, da sich etwa nach Ablauf 1 Std kleine Eiweißflocken bildeten, die durch fortschreitende Zusammenballung eine stetige Volumveränderung herbeiführten und bei Verzögerungen ein leichtes Ansteigen der Sauerstoffwerte verursachten. Vorherige Hämoglobinbestimmung wie bei allen Sauerstoffmessungen.

Die Tabelle 7 zeigt die völlige Übereinstimmung der beiden Meßreihen; der Ersatz des Blutplasmas durch gepufferte Ringerlösung (oder auch physiologische Kochsalzlösung) beeinträchtigt also in keiner Weise die Adaptation.

Tabelle 7. *Sauerstoffgehalt in Vollblut und Blutkörperchensuspensionen unterschiedlich adaptierter Frösche bei der Versuchstemperatur 15^o C nach Sättigung mit 18 mm O₂ und 9 mm CO₂*

In Klammern: Anzahl der untersuchten Tiere und Anzahl der Messungen. Versuchszeit: November bis Dezember.

Adap- tations- tempe- ratur	O ₂ -Gehalt des Vollblutes	Statistische Sicherung der Differenz	O ₂ -Gehalt der Blutkörperchen- suspensionen	Statistische Sicherung der Differenz
° C	Vol.-%	P	Vol.-%	P
25	4,61 ± 0,03 (9/6)	<0,0002	4,64 ± 0,08 (13/7)	0,0002
4	3,95 ± 0,01 (9/4)		3,97 ± 0,02 (10/4)	

Es bleibt noch die Frage zu klären, ob der Adaptationseffekt auf eine mit der Anpassungstemperatur veränderte Eigenschaft des Hämoglobins zurückzuführen ist (z. B. teilweise Inaktivierung der Häme u. a., vgl. WYMAN 1948), oder ob andere Faktoren entscheidend sind, z. B. ein unterschiedliches p_H in den roten Blutkörperchen, welches durch verschiedene Donnan-Gleichgewichte aufrechterhalten wird. Der große Unterschied im Gesamtvolumen der Blutkörperchen und der kleinere der Hämoglobinwerte deutet auf eine höhere Hämoglobin-Konzentration der einzelnen Erythrocyten bei den Kalttieren hin.

Wir bemühten uns, diese Fragen durch die Untersuchung von hämolysierten Blutkörperchen zu entscheiden, doch mußten diese Versuche wegen störender Koagulationserscheinungen im Hämolysat vorerst zurückgestellt werden. Wir versuchen z. Z., diese Schwierigkeiten zu beheben.

Sollte sich die Größe der Erythrocyten als entscheidend erweisen, so wäre deren Bildungsprozeß für die Regulation verantwortlich zu machen, allerdings mit deutlicher Rückwirkung auf die Funktion der Blutkörperchen.

Zusammenfassung

Die durch eine rasche Temperatursteigerung allgemein verschlechterte Sauerstoffbeladung des Blutes wird bei *Rana esculenta* durch eine Temperaturadaptation wieder gebessert. Dieser von KIRBERGER (1953) bereits bei *einem* Sauerstoffpartialdruck nachgewiesene Adaptationseffekt bewirkt, daß die durch die Temperaturerhöhung zunächst nach rechts verlagerte Sauerstoffbindungskurve des Froschblutes sich wieder teilweise nach links verschiebt. Dies könnte durch die festgestellte Zunahme von Erythrocytenzahl und Gesamtvolumen der Blutkörperchen und die Abnahme des aus der Größe berechneten Volumens des einzelnen Erythrocyten erklärt werden, alles Erscheinungen, die auftreten, wenn die Frösche in höhere Temperaturen überführt und dort belassen werden. Ob sich auch die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins mit der Adaptation ändert, konnte wegen störender Koagulationserscheinungen bei der Untersuchung von Hämolysaten noch nicht entschieden werden.

Nach der Überführung in höhere Anpassungstemperaturen steigen die Werte für die Alkalireserve, das p_H , den Natrium- und Chlorgehalt des Plasmas. Diese Erscheinungen haben jedoch keinen direkten Einfluß auf den genannten Adaptationseffekt, da im Vollblut und in Blutkörperchensuspensionen (in Kochsalz oder Ringerlösung) unterschiedlich adaptierter Tiere bei gleichem Sauerstoffpartialdruck hinsichtlich der Sauerstoffbindung das gleiche Adaptationsausmaß nachzuweisen ist.

Literatur

- ADOLPH, E. F.: General and specific characteristics of physiological adaptations. Amer. J. Physiol. **184**, 18 (1956). — ALBANESE, A. A., and M. LEIN: The microcolorimetric determination of sodium in human biologic fluids. J. Labor. a. Clin. Med. **33**, 246 (1948). — BARCROFT, J. (1922): Zit. in: Die Atmungsfunktion des Blutes. Teil I: Erfahrungen in großen Höhen. Berlin: Springer 1927. — Researches on prenatal life. Blood of embryos. Oxford: Blackwell 1946. — BARCROFT, J. u. Mitarb.: Conditions of foetal respiration in the goat. J. of Physiol. **83**, 192 (1934). — BENDITT, E. u. Mitarb.: The blood of the atlantic salmon during migration. Biol. Bull. **80**, 429 (1941). — BETKE, K., u. W. SAVELSBERG: Stufenphotometrische Hämoglobinbestimmung mittels Cyanhämioglobin. Biochem. Z. **320**, 431 (1950). — BLACK, E. C., and L. IRVING: The effect of hemolysis upon the affinity of fish blood for oxygen. J. Cellul. a. Comp. Physiol. **12**, 255 (1938). — BRUJEWICZ, S. W., u. N. KARPORA: Die Abhängigkeit des p_H von der Temperatur in Pufferlösungen. Biochem. Z. **251**, 60 (1932). — BÜHLMANN, A. u. Mitarb.: Die Erythrocytenzahl in mittleren Höhen. Schweiz. med. Wschr. **1951**, 80. — CAMPBELL, A.: The normal CO_2 - and O_2 -tensions in the tissues of various animals. J. of Physiol. **61**, 248 (1926). — CHALFIN, D.: Differences between young and mature rabbit erythrocytes. J. Cellul. a. Comp. Physiol. **47**, 215 (1956). — CHANDLER, A.: Causes of variations in the haemoglobin content of *Daphnia* (Crustacea: Cladocera) in nature. Proc. Zool. Soc. Lond. **124**, 625 (1954/55). — CRUZ, W. O.: Colorimetric determination of HbOH in normal animals. I. Mammals. Acta haematol. (Basel) **6**, 367 (1951). — DALLEMAGNE, M.: Betrachtungen über die p_H -Bestimmung mittels der Glaselektrode. Biochem. Z. **291**, 159 (1937). — DELACHAUX, A., u. A. TISSIÈRES: L'adap-

tation tissulaire à l'hypoxydase. Helvet. med. Acta **13**, 333 (1946). — DIENST, C., u. L. VAN BEBBER: Sauerstoffmangel und Säurebasengleichgewicht. II. Von morphologischen Regulationsvorgängen im Blute bei Drosselung der O₂-Zufuhr und ihrer Abhängigkeit vom Säurebasengleichgewicht. Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **202**, 326 (1943). — DRASTICH, L.: Sur la concentration de l'hémoglobine dans les hématies nucléées et au cours de l'anémie chez l'homme. C. r. Soc. Biol. Paris **99**, 991 (1928). — FENN, W. O.: Electrolytes in muscle. Physiologic. Rev. **16**, 450 (1936). — FOX, H. M.: Oxygen and haem in invertebrates. Nature (Lond.) **174**, 355 (1954). — The effect of oxygen on the concentration of haem in invertebrates. Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. B **143**, 203 (1955). — FOX, H. M. u. Mitarb.: Influence of temperature and iron on Hb synthesis by *Daphnia*. Nature (Lond.) **171**, 347 (1953). — FOX, H. M., and E. PHEAR: Factors influencing Hb synthesis by *Daphnia*. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **141**, 179 (1953). — FRYERS, G.: Effects of decreased atmospheric pressure on blood volume of rats. Amer. J. Physiol. **171**, 459 (1952). — FRYERS, G., and N. BERLIN: Mean red cell life of rats exposed to reduced barometric pressure. Amer. J. Physiol. **171**, 465 (1952). — GILCHRIST, B.: Haemoglobin in *Artemia*. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **143**, 136 (1954). — GRANT, W. C., and W. ROOT: Fundamental stimulus for erythropoiesis. Physiologic. Rev. **32**, 449 (1952). — HAAN, J. DE: Schwankungen in Blut- und Gewebeflüssigkeiten bei Sommer- und Winterfröschen. Biol. generalis (Wien) **3**, 1 (1927). — HALL, F. G.: Haemoglobin function in the developing chick. J. of Physiol. **83**, 222 (1934). — HALL, F. G.: The effect of altitude in the affinity of Hb for oxygen. J. of Biol. Chem. **115**, 485 (1936). — HALL, F. G., and J. BARKER: Performance of acclimatized mice at altitude. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **86**, 165 (1954). — HAVEMANN, R., u. F. JUNG: Die Bestimmung von Methämoglobin im Blut mit dem lichtelektrischen Kolorimeter. Biochem. Z. **301**, 116 (1939). — HEESSEN, W.: Über die Zahlenverhältnisse der roten und weißen Blutkörperchen der heimischen Amphibien im Wechsel der Jahreszeiten. Z. vergl. Physiol. **1**, 500 (1924). — HERTWIG-HONDRU, L.: Über das Verhalten der Blutreaktion beim Frosch. Pflügers Arch. **216**, 796 (1927). — HOUSSAY, B. u. Mitarb.: Human Physiology, 2. Aufl. New York 1955. — HURTADO, A. C. u. Mitarb.: Influence of anoxemia on hemopoietic activity. Arch. Int. Med. **75**, 284 (1945). — KEYS, A. u. Mitarb.: The position of the oxygen dissociation curve of human blood at high altitude. Amer. J. Physiol. **115**, 292 (1936). — KIRBERGER, C.: Temperaturadaptation der Sauerstoffbindung des Blutes von *Rana esculenta* L. Z. vergl. Physiol. **35**, 153 (1953). — KLIENEBERGER, C.: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere, 2. Aufl. Leipzig 1927. — KRÜGER, F.: Hämoglobinvorkommen bei Wirbellosen. Verh. der dtsh. Zool. Ges., Erlangen 1955. Zool. Anz. **19**, Suppl., 81 (1956). — KRUPSKI, A., u. F. ALMASY: Blutphysiologische Studien im Hochgebirge. Helvet. med. Acta **4**, 94 (1937). — LANGE, W.: Untersuchungen über den Hb-Gehalt, Zahl und Größe der Erythrocyten bei *Rana esculenta*. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. **36**, 657 (1919). — LAUÉ, D.: Ein neues Kugelsonometer zur raschen Äquilibration des Blutes mit verschiedenen Gasdrücken. Pflügers Arch. **254**, 142 (1951). — McCUTCHEON, F. H.: Hemoglobin function during life history of the bullfrog. J. Cellul. a. Comp. Physiol. **8**, 63 (1936). — McINNES, D., and M. DOLE: p_H-Messungen mit der Glaselektrode. J. Gen. Physiol. **12**, 805 (1929). — MERINO, C. F.: Studies on blood formation and destruction in the polycythemia of high altitude. Blood **5**, 1 (1950). — NETTER, H.: Biologische Physikochemie. Potsdam 1951. — OPITZ, E.: Physiologie der Blutgase. Naturforschung und Medizin in Deutschland 1939—1946 (Fiat-Berichte), Bd. 57, Physiologie, Teil 1, S. 25. 1948. — PÁTAU, K.: Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen. Biol. Zbl. **63**, 152 (1943). — PRECHT, H.: Die Temperaturabhängigkeit von Lebensprozessen. Z. Naturforsch. **4b**, 26 (1949). — PRECHT, H., J. CHRISTOPHERSEN u. H. HENSEL: Temperatur und Leben. Heidelberg

1955. — PROSSER, C. L. u. Mitarb.: Comparative Animal Physiology. Philadelphia 1950. — RAHN, H., and W. O. FENN: A graphical analysis of the respiratory gas exchange. The O₂-CO₂ Diagramm. Herausgeb.: The American Physiological Society, Washington D. C. 1955. — REISSMANN, K.: Blood volume in the dog during altitude acclimatization. Amer. J. Physiol. **167**, 52 (1951). — REYNAFARJE, C. u. Mitarb.: Red cell life span in acclimatization to altitude. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **87**, 101 (1954). — RIGGS, A.: The metamorphosis of Hb in the bullfrog. J. Gen. Physiol. **35**, 23 (1951). — ROSTORFER, H., and R. RIGDON: The relation of blood oxygen transport to resistance to anoxia in chicks and ducklings. Biol. Bull. **92**, 23 (1947). — SCHALES, O., and S. SCHALES: A simple and accurate method for the determination of chloride in biological fluids. J. of Biol. Chem. **140**, 879 (1941). — SCHLICHER, J.: Vergleichend physiologische Untersuchungen der Blutkörperchenzahlen bei Knochenfischen. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. **43**, 121 (1927). — SCHÖNHOLZER, G., u. K. LÜTHI: Das Erythrocytenvolumen im Hochgebirge. Klimaphysiologische Untersuchungen in der Schweiz, Teil 1, S. 81. Helvet. physiol. Acta Suppl. **3** (1944). — SCHWABE, K.: Die Glaselektrode für p_H-Messungen. Z. Elektrochem. **41**, 681 (1935). — Die Glaselektrode zur p_H-Kontrolle. Z. Elektrochem. **43**, 152 (1937). — SKOTNICKÝ, J.: Die p_H-Messung in biologischen Flüssigkeiten mit der Jenaer Blutelektrode. Pflügers Arch. **245**, 654 (1942). — SPOOR, W. A.: Temperature and the erythrocyte count of the goldfish. Federat. Proc. **10**, 131 (1951). — STANGENBERG, G.: Der Temperatureinfluß auf Lebensprozesse und den Cytochrom c-Gehalt beim Wasserfrosch. Pflügers Arch. **260**, 320 (1955). — TALBOTT, J. H.: Studies at high altitudes; morphology and oxygen combining capacity of the blood. Fol. haemat. (Lpz.) **55**, 23 (1936). — TERZIOGLU, M. u. Mitarb.: Studies in blood physiology at mid-altitude. I. Variations in blood morphology at Uludag (1850 m). II. The gaseous content and acid-base equilibrium of blood at Uludag (1850 m). Arch. internat. Physiol. **60**, 233 und 253 (1952). — TERZIOGLU, M., and N. TUNA: Variations in blood volume at 1,85 km altitude. J. Appl. Physiol. **6**, 417 (1954). — Variations in gaseous content and acid-base equilibrium of arterial blood at 1.85 km altitude. J. Appl. Physiol. **6**, 423 (1954). — VANNOTTI, A., u. H. MARKWALDER: Blutumsatz und Hochgebirge. Z. exper. Med. **105**, 1 (1939). — VERZÁR, F.: Die Regulation der Erythrocytenzahl in großen Höhen. Schweiz. med. Wschr. **1947**, 6. — WANG, S. u. Mitarb.: Die Sauerstoff-Sättigung des arteriellen Blutes bei Mensch und Kaninchen auf 1800 m ü. M. und ihr Zusammenhang mit der Erythrocytenzunahme. Schweiz. med. Wschr. **1951**, 82. — WASTL, H. A., u. A. SELI KAR: Observations on the combination of CO₂ in the blood of the bullfrog (*Rana catesbiana*). J. of Physiol. **60**, 264 (1925). — WILBRANDT, W., u. E. HERRMANN: Die osmotische Resistenz der Erythrocyten im Hochgebirge. Klimaphysiologische Untersuchungen in der Schweiz, Teil 1, S. 47. Helvet. physiol. Acta Suppl. **3** (1944). — WÖHLISCH, E.: Physiologie der Blutgerinnung. Naturforschung und Medizin in Deutschland 1939—1946 (Fiat-Berichte), Bd. 57, Physiologie, Teil 1, S. 43. 1948. — WYMAN, J.: Heme proteins. Adv. Protein Chem. **4**, 407 (1948). — ZEPP, P.: Beiträge zur vergleichenden Untersuchung der heimischen Froscharten. Z. Anat. **69**, 84 (1923).