

Aus dem Physiologischen Institut der Christian-Albrechts-Universität Kiel

Untersuchung der Sauerstoffaufnahme und -abgabe sehr dünner Blutlamellen* **

Von
GERHARD THEWS

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 15. September 1958)

Seit den grundlegenden Untersuchungen ROUGHTONS^{2-6,15,19} ist bekannt, daß dem Erythrocyten beim Gasaustausch in der Lunge und im Gewebe eine zentrale Stellung zukommt. Diese Aussage gilt sowohl für die Kohlensäure als auch insbesondere für den Sauerstoff^{21,22}. Das Hauptinteresse beim Studium der O₂-Austauschvorgänge mußte sich also der Frage nach den zeitlichen Verhältnissen bei der Sauerstoffaufnahme und -abgabe des einzelnen Erythrocyten zuwenden. In einer Reihe von Untersuchungen gelang es mit speziell hierfür entwickelten Methoden, die Gesetzmäßigkeiten dieser Vorgänge in wichtigen Punkten aufzuklären. Die in solchen Modellversuchen gefundenen Daten lassen sich aber nicht ohne weiteres auf die Austauschprozesse im Organismus übertragen, weil die außerhalb des Erythrocyten liegenden Diffusionsstrecken (Blutplasma, Membranen) den O₂-Austausch in zunächst unbekanntem Ausmaß verzögern.

Das Ziel unserer Untersuchung war es, den Einfluß einer äußeren Diffusionsstrecke am Beispiel des Blutplasmas zu studieren, also speziell die O₂-Aufsättigungs und -Entsättigungszeiten für den Erythrocyten mit einer Plasmarandschicht, wie sie normalerweise im Organismus vorliegt, zu bestimmen. A. MÜLLER u. Mitarb. haben bereits die Sauerstoffdiffusion in Erythrocytensuspensionen in Ringer- und Eiweißlösung, allerdings an Schichten mit einer Dicke von 50 μ und mehr, untersucht^{7-14,17,18}. Es ergab sich dabei die Schwierigkeit, die Ergebnisse der Messung auf die andersartigen Verhältnisse im Organismus zu übertragen, da die theoretischen Grundlagen dafür fehlten.

Aus diesem Grunde mußten bei der Planung unserer Versuchsanordnung zwei Forderungen berücksichtigt werden:

1. Die Versuche sollten an (defibriniertem) Vollblut durchgeführt werden.

* Herrn Prof. Dr. H. LULLIES zum 60. Geburtstag gewidmet.

** Ausgeführt mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

2. Die Diffusionsschichtdicken sollten kleiner als 5μ sein. Beide Bedingungen lassen sich dadurch erfüllen, daß man unter Ausnutzung der Oberflächenspannung des Blutes Lamellen von so kleiner Schichtdicke aufspannt, daß in ihnen die Erythrocyten in einfacher Schicht nebeneinanderliegen. Setzt man diese Lamellen wechselnden O_2 -Partialdrucken aus, dann ändert sich nach Maßgabe der O_2 -Diffusion das Absorptionsspektrum des Hämoglobins, so daß der Diffusionsvorgang spektralphotometrisch verfolgt werden kann.

Die bei der Oxygenierung bzw. Desoxygenierung des Hämoglobins auftretenden Absorptionsänderungen sind bei so dünnen Schichten außerordentlich klein. Außerdem handelt es sich dabei um Austauschzeiten von der Größenordnung $1/100$ bis zu 1 sec. Messungen unter den genannten Bedingungen lassen sich also nur dann durchführen, wenn ein Spektralphotometer von hoher Empfindlichkeit und Genauigkeit und großem zeitlichen Auflösungsvermögen zur Verfügung steht. Da es Geräte, die diese Anforderungen erfüllen, bisher kommerziell nicht gab, entwickelten wir ein schnellregistrierendes Spektralphotometer, das bei ausreichender Empfindlichkeit und Genauigkeit die Aufnahme von 300 Meßpunkten in der Sekunde gestattet (THEWS u. LÜBBERS, 1955). Mit Hilfe dieses Photometers wurden die Gesetzmäßigkeiten für die Sauerstoffaufnahme und -abgabe der Blutlamellen untersucht. Es zeigte sich, daß diese Prozesse als reine Diffusionsvorgänge gedeutet werden können. Speziell wurden die Diffusionszeiten für verschiedene äußere Partialdrücke und nach einer mathematischen Analyse auch die Diffusionskoeffizienten bestimmt.

Methodik

1. Präparation des Blutes

Das Blut wurde durch Punktion der V. cubitalis gesunder junger Männer gewonnen und anschließend durch Rühren mit einem Holzstäbchen defibriniert. Es wurde entweder sofort oder nach einer Aufbewahrung bis zu 8 Std bei $10^\circ C$ im Kühlschrank für die Messung benutzt. Ein Unterschied in den Meßwerten zwischen frischem und einige Stunden altem Blut war dabei nicht festzustellen. Der pH -Wert lag nach Äquilibrierung mit der Zimmerluft zwischen 7,8 und 8,0.

2. Vorrichtung zur Aufspannung der Blutlamellen

Die Oberflächenspannung des Blutes ermöglicht das Ausziehen sehr dünner Lamellen nach Art der Seifenblasen nach verschiedenen Verfahren und in mannigfachen Formen. Nach einer Reihe von Vorversuchen erwies sich das folgende Vorgehen als besonders zweckmäßig: Zwei Ringe aus Messingdraht vom Durchmesser 6 mm werden vollständig mit einer bestimmten Blutmenge benetzt, zusammengeführt und dann schnell auf eine vorgegebene Entfernung auseinandergezogen. Dabei spannt sich eine Blutmembran in Form einer Minimalfläche der Dicke $5-6 \mu$ zwischen den Ringen auf. (Die Differentialgeometrie lehrt, daß es sich bei diesen Minimalflächen um sogenannte Rotationskatenoide handelt.) Wir wählten diese Form, weil bei der gewünschten kleinen Diffusionsschichtdicke so die optische Schichtdicke bei seitlicher Durchstrahlung um den Faktor 2,6 gegenüber einer

gleichdicken ebenen Schicht vergrößert ist. Man erkennt die Notwendigkeit dieser Anordnung, wenn man berücksichtigt, daß bei einer hier vorliegenden monerythrocytären Schicht die Lichtabsorption sehr gering ist und die zu messenden Absorptionsänderungen bei der Oxygenierung bzw. Desoxygenierung des Hämoglobins wiederum nur einen Bruchteil der Grundabsorption ausmachen. Da die Diffusion in die Schicht von beiden Seiten her erfolgt, ist die Diffusionsschichtdicke gleich der halben Lamellendicke, also $2-3\ \mu$.

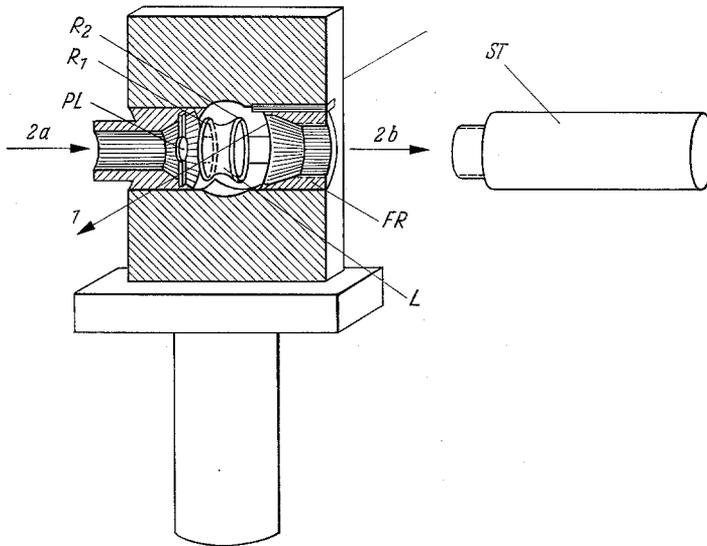


Abb. 1. Meßkammer mit der Aufspannvorrichtung für Blutlamellen. (Der vordere Teil der Kammer ist nicht eingezeichnet, so daß die Aufspannvorrichtung frei zu übersehen ist.)

1 Richtung des Photometer-Lichtstrahls, 2 Richtung des Gasstroms (2a Einstrom, 2b Ausstrom), R_1 an der Kammer befestigter Messingring, R_2 mit dem beweglichen Führungsrohr FR verbundener Messingring, L Blutlamelle, PL Metallplättchen für gleichmäßige Verteilung des Gasstromes, St Metallstab, der zum Ausziehen der Lamelle in das Führungsrohr eingeschraubt wird

Abb. 1 zeigt die Meßkammer mit der Aufspannvorrichtung für die Blutlamelle (L). Sie besteht aus einem kleinen Messingblock, der in Richtung des Lichtstrahls (1) und senkrecht dazu (2) durchbohrt ist (Durchmesser der Bohrungen $8,5\text{ mm}$). Senkrecht zur Strahlrichtung sind die beiden Messingringe angeordnet, der eine (R_1) ist mit 2 Abstandstücken an der Kammer befestigt, der andere (R_2) ebenfalls über Abstandstücke mit einem beweglichen Führungsrohr verbunden, das sich in der Bohrung verschieben läßt. Das Führungsrohr enthält ein Gewinde, in das ein Stab (St) eingeschraubt werden kann, mit dem bei der Herstellung der Membran der bewegliche Ring an den festen herangeführt und von ihm zurückgezogen wird. Danach muß der Stab herausgeschraubt werden, um die Ausstromöffnung (2b) für das auf der gegenüberliegenden Seite (bei 2a) einströmende Gas freizugeben. Ein in der Mitte der Eintrittsöffnung angebrachtes Metallplättchen (PL) sorgt für eine gleichmäßige Verteilung des Gasstromes auf die Innenseite und Außenseite der Lamelle. Die Meßkammer ist in der Lichtstrahlrichtung (1) durch Glasplättchen abgeschlossen.

Nach der Aufspannung der Lamelle muß vor jedem Versuch unter dem Mikroskop kontrolliert werden, ob die Erythrocyten in einfacher Schicht nebeneinanderliegen.

Nur in diesem Fall sind die Ergebnisse der Messung der theoretischen Interpretation zugänglich. Danach wird die Meßkammer in den Strahlengang des Photometers eingesetzt, wobei gleichzeitig eine gasdichte Verbindung zu einem unmittelbar neben der Kammer befestigten Dreiweghahn, aus dem der Gaseinstrom erfolgt, hergestellt wird. Eine Lamelle bleibt bis zu einer Stunde stabil.

3. Wechsel des O_2 -Partialdruckes in der Meßkammer

Durch die Meßkammer strömt ein Stickstoff-Sauerstoff-Gemisch mit einer Geschwindigkeit von etwa 10 cm^3 pro Sekunde. Die benötigten Gase werden in einer Stahlflasche gemischt und die Zusammensetzung der Gemische im gasanalytischen Verfahren nach HALDANE bestimmt. Besondere Maßnahmen sind lediglich für die Herstellung reinen Stickstoffs notwendig. Technischer Stickstoff (mit etwa 3% O_2) wird zunächst durch eine Frittenflasche mit 1 n Kalilauge geleitet. Dann strömt er durch ein mit blanken Kupferspänen gefülltes Rohr aus schwerschmelzbarem Glas vom Durchmesser 15 mm und der Länge 60 cm. Glasrohr und Kupferspäne werden im Rohröfen auf einer Temperatur von 450°C gehalten. Dabei wird der Sauerstoffanteil des technischen Stickstoffs praktisch quantitativ an das Kupfer gebunden. Das durchgeleitete Gas enthält so wenig Sauerstoff, daß er mit den üblichen gasanalytischen Verfahren nicht mehr nachgewiesen werden kann. Sämtliche Gasgemische werden vor der Durchleitung durch die Meßkammer in einer mit Aqua dest. gefüllten Frittenflasche mit Wasserdampf gesättigt.

Unmittelbar vor der Kammer befindet sich ein Dreiweghahn, der die kurzzeitige Umschaltung auf die Durchströmung mit einem Gasgemisch anderer Zusammensetzung ermöglicht. Die entscheidende Frage dabei ist, ob die Zeit des Gaswechsels in der Meßkammer klein ist gegenüber den zu messenden Diffusionszeiten, d. h. ob wir während des Diffusionsvorganges mit einem konstanten äußeren Partialdruck rechnen können. Auf folgendem Wege konnte diese Frage entschieden werden: Zunächst wird, wie beschrieben, eine Blutlamelle aufgespannt und bei einer Temperatur von 20°C ein Gaswechsel von reinem Stickstoff auf ein Gemisch mit dem O_2 -Partialdruck 150 mm Hg vorgenommen. Dabei wird der Umschaltzeitpunkt über einen Kontakt, der mit dem Dreiweghahn gekoppelt ist, zusammen mit der Kurve der Absorptionsänderung registriert. Danach führt man bei der gleichen Temperatur den umgekehrten Gaswechsel durch (O_2 -Partialdruck: 150 mm Hg \rightarrow 0 mm Hg). Wiederum wird neben der Absorptionsänderung der Umschaltzeitpunkt registriert. Mißt man nun jeweils die Zeiten vom Kontaktschluß bis zum Beginn der Absorptionsänderung, dann findet man im ersteren Fall (Aufsättigung) eine kürzere Zeit, als im letzteren (Entsättigung). Die Zeitdifferenz beträgt etwa $8 \cdot 10^{-3}$ sec. Sie erklärt sich daraus, daß die Absorptionsänderung bei der Aufsättigung sofort beginnt, wenn sich der O_2 -Partialdruck in der Meßkammer erhöht, während im Entsättigungsversuch der Partialdruck zunächst von 150 mm Hg auf etwa 10 mm Hg abfallen muß, damit nach Maßgabe der Dissoziationskurve (20°C , $p_H = 7,9$) eine Sättigungsänderung des Hämoglobins und damit eine Absorptionsänderung beginnen kann. Wir dürfen also aus diesem Testversuch schließen, daß im Außenraum der Schicht der Gaswechsel so schnell abläuft, daß sich in $8 \cdot 10^{-3}$ sec der O_2 -Partialdruck dem neuen Wert auf mehr als 90% genähert hat.

4. Absorptionsmessung mit dem schnellregistrierenden Spektralphotometer

Das schnellregistrierende Spektralphotometer²⁰ erfüllt folgende meßtechnischen Bedingungen:

a) Der Meßbereich umfaßt das infrarote, sichtbare und ultraviolette Spektralgebiet.

b) Das Wellenlängenaufösungsvermögen gestattet im Sichtbaren die Trennung von Linien mit einer Wellenlängendifferenz von $1 \text{ m}\mu$.

c) Absorptionsänderungen bis zu $0,5\%$ des Meßwertes können noch erfaßt werden.

d) In der Sekunde werden 300 Meßpunkte registriert.

Das Photometer arbeitet nach einem Zweistrahl-Verfahren und ist im Prinzip folgendermaßen aufgebaut (siehe Abb. 2): Als Lichtquelle (Li) dient eine Xenonhochdrucklampe, deren Brennfleck auf den Eintrittsspalt (E_M) eines Doppelmono-

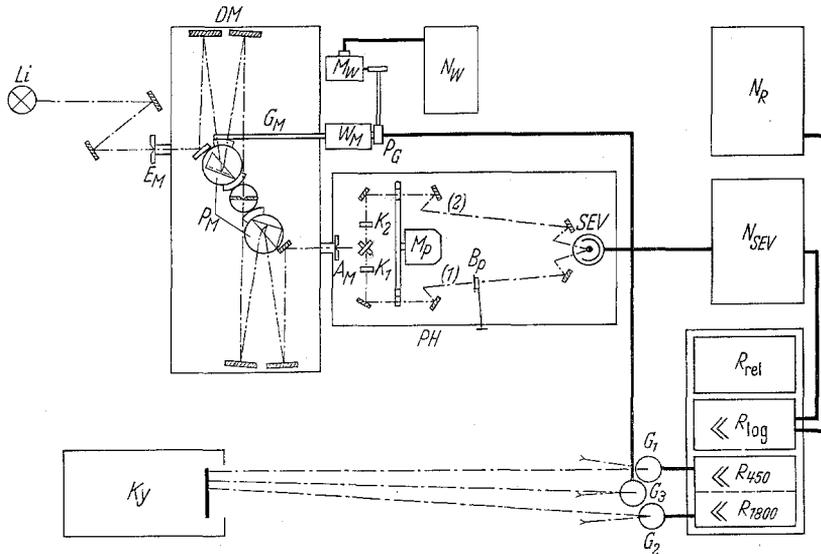


Abb. 2. Gesamtanordnung des schnellregistrierenden Spektralphotometers.

Li Lichtquelle, DM Doppelmonochromator, E_M Eintrittsspalt von DM , A_M Austrittsspalt von DM , P_M Prismen des DM , W_M Antriebsvorrichtung für die Prismendrehung in DM , G_M Antriebswelle, M_W Antriebsmotor für W_M , N_W Netzgerät für M_W und Relaisystem zur automatischen Rücksteuerung, P_G Potentiometer zur Wellenlängenanzeige, PH Photometerzusatz, (1) Vergleichsstrahl zur Nullpunktkontrolle, (2) Meßstrahl, K_2 Meßkammer, M_P Antriebsmotor mit Sektorenscheibe, B_P Blende im Vergleichsstrahl, SEV Sekundärelektronen-Vervielfacher, N_{SEV} Netzgerät für SEV , R_{450} Meßverstärker (450 Hz), R_{1800} Meßverstärker (1800 Hz), R_{100} Verstärker für den gesamten Aussteuerbereich des SEV , R_{rel} Relaisystem zur automatischen Empfindlichkeitsumschaltung, N_R Netzgerät für die Verstärker, G_1 , G_2 , G_3 Galvanometer, K_Y Photokymographion

chromators (DM) abgebildet wird. Der aus dem Austrittsspalt (A_M) austretende monochromatische Lichtstrahl wird in zwei Anteile (1, 2) zerlegt. Der Vergleichsstrahl (1), der der Nullpunktkontrolle dient, wird mit Hilfe einer Spiegeloptik auf die Photokathode eines Sekundärelektronen-Vervielfachers (SEV) abgebildet. Der Meßstrahl 2 gelangt nach Durchgang durch die Meßkammer (K_2) auf dieselbe Photokathode. Eine Blende (B_P) erlaubt den Abgleich der Lichtintensität des Strahls 1 auf die des Strahls 2. Eine rotierende Sektorenscheibe, angetrieben von einem Synchronmotor (M_P), unterbricht den Vergleichsstrahl (1) mit einer Frequenz von 450 Hz, den Meßstrahl (2) mit einer Frequenz von 1800 Hz. Die beiden über dem Arbeitswiderstand des Vervielfachers entstehenden Wechselspannungen werden durch zwei selektive Verstärker (R_{450} , R_{1800}) getrennt, linear verstärkt und gleichgerichtet. Die Registrierung erfolgt entweder mit Hilfe zweier Drehbügel-

galvanometer hoher Eigenfrequenz (G_1 , G_2) mit einem Photokymographion (K_y) oder durch einen Lichtpunkt-Linienschreiber, der ebenfalls mit schnellschwingenden Galvanometern ausgerüstet ist. Der den gesamten Aussteuerbereich erfassende und den beiden Meßverstärkern parallelliegende Verstärker R_{10g} schaltet in Verbindung mit einem Relaisystem (R_{rel}) automatisch die Eingangsempfindlichkeit der Meßverstärker so um, daß sie der jeweiligen spektralen Empfindlichkeit des Sekundärelektronen-Vervielfachers angepaßt ist. Die für den kontinuierlichen Durchlauf des Spektrums notwendige Prismendrehung im Monochromator (Wellenlängeneinstellung) wird von einem Gleichstrommotor (M_w) mit automatischer

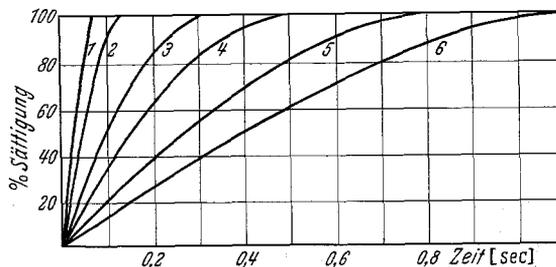


Abb. 3. Zeitlicher Verlauf der O_2 -Aufsättigung für eine 5–6 μ dicke Lamelle aus defibriniertem Blut bei einem O_2 -Partialdruckwechsel von 0 mm Hg auf (1) 150 mm Hg, (2) 100 mm Hg, (3) 80 mm Hg, (4) 60 mm Hg, (5) 25 mm Hg, (6) 8 mm Hg. Die eingezeichneten Aufsättigungskurven wurden aus 40 Meßkurven ermittelt. (Temperatur 20° C, p_H 7,9)

Rücksteuerung durchgeführt, die jeweilige Stellung des Prismas über ein mit Gleichspannung gespeistes Ringpotentiometer (P_G) durch ein drittes Galvanometer (G_3) angezeigt.

Bei unseren Versuchen beschränkten wir uns auf die Registrierung der Absorptionsänderung bei einer geeigneten Wellenlänge, bei der sich das Absorptionsspektrum des Hämoglobins möglichst stark von dem des Oxyhämoglobins unterscheidet. Als geeignet erwiesen sich die Wellenlängen 610 $m\mu$, 580 $m\mu$ und 460 $m\mu$.

Wie bereits ausgeführt, kann mit dem schnellregistrierenden Spektralphotometer neben dem Meßwert jederzeit die Konstanz der Lichtintensität und der Photozellenempfindlichkeit über den Vergleichswert kontrolliert werden. Bei einigen Versuchen wurden Meßspannung und Vergleichsspannung auf den Eingang eines Differentialverstärkers nach TÖNNIES gegeben und dann die Differenz der beiden Werte, die jetzt unabhängig ist von zufälligen Schwankungen, direkt registriert.

Der Papiervorschub des Lichtpunkt-Linienschreibers betrug 5 mm pro Sekunde oder 31 mm pro Sekunde. Zeitmarken im Abstand von jeweils 1 sec wurden auf dem Registrierpapier mit aufgezeichnet und ermöglichten die exakte Ablesung der Aufsättigungs- und Entsättigungszeiten.

Ergebnisse

Nach der angegebenen Methode wurde die O_2 -Aufnahme und -Abgabe monoerythrocytärer Lamellen quantitativ untersucht. Sämtliche Versuche wurden bei einer Temperatur von 20° C durchgeführt. Der p_H-Wert des Blutes betrug 7,8–8,0.

Abb. 3 zeigt den zeitlichen Verlauf der Aufsättigung bei verschiedenen Gaswechseln, wie er sich nach der Auswertung von 40 Versuchen im

Mittel darstellt. Es wurden die Gaswechsel vom O₂-Partialdruck 0 mm Hg auf die O₂-Partialdrucke 150, 100, 80, 60, 25 und 8 mm Hg untersucht. Tab.1a enthält die hieraus ermittelten Halbsättigungszeiten

Tabelle 1

a) Aufsättigungszeiten einer beidseitig offenen monoerythrocytären Lamelle und zugehörige mittlere quadratische Fehler nach einem O₂-Partialdruckwechsel von 0 mm Hg auf P_A mm Hg. b) Entsättigungszeiten einer beidseitig offenen monoerythrocytären Lamelle und zugehörige mittlere quadratische Fehler nach einem O₂-Partialdruckwechsel von P_A mm Hg auf 0 mm Hg. n Anzahl der Messungen, Δt mittlerer quadratischer Fehler

	P _A [mm Hg]	t _{1/2} [sec]	Δt _{1/2} [sec]	t _V [sec]	Δt _V [sec]	n
a) Aufsättigung:						
O ₂ -Partialdruckwechsel	8	0,4	0,02	1,1	0,1	7
von 0 mm Hg	25	0,27	0,02	0,75	0,04	4
auf P _A mm Hg	60	0,15	0,015	0,47	0,04	9
	80	0,10	0,008	0,30	0,03	8
	100	0,04	0,003	0,13	0,01	7
	150	0,025	0,002	0,07	0,01	5
b) Entsättigung:						
O ₂ -Partialdruckwechsel	25	0,4	0,02	0,95	0,1	8
von P _A mm Hg	80	0,4	0,02	0,95	0,1	3
auf 0 mm Hg						

(t_{1/2}) und „Vollsättigungszeiten“ (t_V). Das sind diejenigen Zeiten, bei denen das Hämoglobin der Erythrocyten zur Hälfte bzw. 95% mit Sauerstoff gesättigt ist. Diese Zeiten hängen außer von den Diffusions-

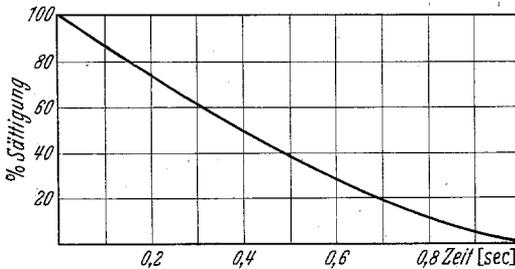


Abb. 4. Zeitlicher Verlauf der O₂-Entsättigung für eine 5—6 μ dicke Lamelle aus defibriniertem Blut bei O₂-Partialdruckwechseln von 80 und 25 mm Hg auf 0 mm Hg. Die eingezeichnete Entsättigungskurve wurde aus 11 Meßkurven ermittelt (Temperatur 20° C, p_H = 7,9)

eigenschaften der Lamelle auch von dem Verlauf der Dissoziationskurve ab. Tab.1 enthält ferner Angaben über die Anzahl der Versuche und die mittleren quadratischen Fehler für t_{1/2} und t_V.

Die O₂-Abgabe der Lamelle wurde für die O₂-Partialdruckwechsel 80 mm Hg auf 0 mm Hg und 25 mm Hg auf 0 mm Hg untersucht.

Abb. 4 zeigt den zeitlichen Verlauf der Entsättigung als gemittelte Kurve aus 11 Meßergebnissen. In diesem Fall ist der Verlauf der Entsättigung praktisch unabhängig vom anfänglichen O₂-Partialdruck in der Lamelle. In Tab.1b sind die

Halbsättigungszeiten ($t_{1/2}$) und die Zeiten für die vollständige Entsättigung (t_v) nebst den zugehörigen mittleren quadratischen Fehlern angegeben.

Diskussion

Vergleicht man die Aufsättigungskurven des im Erythrocyten befindlichen Hämoglobins mit dem Kurvenverlauf der Entsättigung, dann fällt zunächst auf, daß die Zeiten für die O_2 -Aufnahme wesentlich vom äußeren O_2 -Partialdruck abhängen, während bei der O_2 -Abgabe der anfängliche O_2 -Partialdruck in der Schicht keinen Einfluß auf die Diffusionszeiten zu haben scheint. Das heißt aber: Gleiche anfängliche Partialdruckdifferenzen führen im allgemeinen zu *verschiedenen* Diffusionszeiten, je nachdem ob es sich um einen Aufsättigungsvorgang oder um eine Entsättigung handelt. Lediglich bei dem O_2 -Partialdruckwechsel von 0 auf 8 mm Hg stimmen die Diffusionszeiten mit denen der O_2 -Abgabe etwa überein.

Diese Befunde werden verständlich, wenn man berücksichtigt, daß wir von dem Diffusionsvorgang durch die Messung nur den Teil erfassen, der mit einer Sättigungsänderung des Hämoglobins verbunden ist. Diese hängt aber neben den Diffusionsbedingungen von der jeweiligen Form der O_2 -Dissoziationskurve des Hämoglobins ab. Wir arbeiteten bei einer Temperatur von 20° C und dem p_H -Wert von etwa 7,9. In diesem Fall ist die Dissoziationskurve so weit nach links verschoben, daß bereits bei 9–10 mm Hg eine fast vollständige Sättigung besteht. Betrachten wir nun die Sauerstoffabgabe, dann muß, von welchem anfänglichen Partialdruck in der Schicht wir auch immer ausgehen, der Partialdruck zunächst auf 10 mm Hg abfallen, bevor wir eine Sättigungsänderung registrieren. Wie wir zeigen konnten (THEWS 1957b), läuft diese Abdiffusion des physikalisch gelösten Sauerstoffes um eine Größenordnung schneller ab, als die Abgabe des chemisch gebundenen Sauerstoffes. Bei allen Entsättigungsversuchen, bei denen der anfängliche Partialdruck höher als 10 mm Hg ist, wird also dieser Wert durch Abdiffusion des physikalisch gelösten Sauerstoffes in kürzester Zeit erreicht. Danach lagen also bei den Entsättigungsversuchen stets die gleichen Ausgangsbedingungen vor, so daß ein Unterschied in den Entsättigungszeiten nicht zu erwarten ist. Anders bei der O_2 -Aufnahme: Hierbei findet eine Sättigungsänderung des Hämoglobins bereits vom ersten Augenblick des Diffusionsvorganges an statt. Dann muß sich, wie die Meßkurven der Abb. 3 zeigen, die anfängliche Partialdruckdifferenz in der Diffusionszeit voll auswirken.

Qualitativ lassen sich also unsere gefundenen Diffusionszeiten leicht interpretieren. Die quantitative Analyse erfordert dagegen einen erheblichen Aufwand an mathematischen Hilfsmitteln, so daß hierfür eine gesonderte Untersuchung (THEWS u. NIESEL, 1959) notwendig wurde.

Die Ergebnisse, soweit sie für die Deutung der Meßwerte wesentlich sind, sollen jedoch an dieser Stelle kurz angeführt werden:

1. Die O_2 -Aufnahme bzw. -Abgabe einer Erythrocytenschicht mit anschließender Plasmaschicht kann als Diffusionsvorgang gedeutet werden, wenn man für die beiden Schichten Diffusionskoeffizienten von

$$D_1 = 1,6 \cdot 10^{-5} \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{sec}} \right] \text{ (Plasma für } 20^\circ\text{C)}$$

bzw.

$$D_2 = 0,8 \cdot 10^{-5} \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{sec}} \right] \text{ (Erythrocyt für } 20^\circ\text{C)}$$

zugrunde legt.

2. Die Erythrocytenmembran scheint für den Sauerstoff kein merkliches diffusionsverzögerndes Hindernis zu sein.

3. Vergleicht man die Diffusionszeiten einer einfachen Erythrocytenschicht mit denen einer Erythrocytenschicht mit einer anschließenden gleichdicken Plasmaschicht, dann findet man im letzteren Fall eine Verzögerung, die vom jeweiligen Sättigungsgrad und bei der Aufsättigung auch vom äußeren O_2 -Partialdruck abhängt. Bei der O_2 -Abgabe und der O_2 -Aufnahme mit niederen äußeren Partialdrucken ergibt sich für die Halbsättigung eine Verzögerung um etwa den Faktor 1,6 für die Vollsättigung hat die Plasmaschicht keinen merklichen diffusionsverzögernden Einfluß. Bei der O_2 -Aufnahme mit höheren äußeren Partialdrucken ist die Diffusionszeit durch die Plasmaschicht für die Halbsättigung um etwa den Faktor 3, für die Vollsättigung um den Faktor 2 verlängert.

4. Die von uns gewählte, spezielle Versuchsanordnung bedingt, daß der Sauerstoff im wesentlichen nur in einer Dimension, nämlich senkrecht zur Flächenrichtung, in die Schicht hinein- oder herausdiffundiert. Bei den Austauschvorgängen im Organismus findet dagegen die Diffusion im Erythrocyten als räumlichem Gebilde in drei Dimensionen statt. Der Vergleich mit anderen Messungen (NIESEL, THEWS u. LÜBBERS 1959) und die Rechnung zeigen, daß hierbei die Diffusionszeiten gegenüber unseren Werten etwa um die Hälfte kleiner sind.

Zusammenfassung

Zur Bestimmung der Zeiten für die O_2 -Aufnahme und -Abgabe des Erythrocyten sowie zur Klärung der Frage nach dem Einfluß einer dem Erythrocyten vorgeschalteten Plasmaschicht auf die Diffusionszeiten wurden Diffusionsversuche an Blutlamellen der Dicke $5-6 \mu$ durchgeführt. Solche Lamellen, die sich in einer geeigneten Aufspanvorrichtung unter Ausnutzung der Oberflächenspannung des Blutes herstellen und bis zu einer Stunde stabil halten lassen, werden wechselnden O_2 -Partialdrucken ausgesetzt. Dabei ändert sich nach Maßgabe der O_2 -Diffusion der Partialdruck in der Schicht und damit das Absorptionsspektrum des

Hämoglobins. Die in Bruchteilen von Sekunden ablaufenden spektralen Veränderungen werden mit Hilfe eines schnellregistrierenden Spektralphotometers gemessen, das die Aufnahme von 300 Meßpunkten pro Sekunde gestattet.

Diese Versuche in Verbindung mit einer gesonderten mathematischen Analyse (THEWS u. NIESEL) führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Die Erythrocytenmembran scheint auf den Sauerstoff keinen merklichen diffusionsverzögernden Einfluß auszuüben.

2. Die O_2 -Aufnahmezeit der Schicht ist wesentlich abhängig von dem jeweiligen äußeren O_2 -Partialdruck, während die O_2 -Abgabezeit vom anfänglichen O_2 -Partialdruck in der Schicht weitgehend unabhängig ist. Dieses Verhalten läßt sich auf Grund der Dissoziationskurve des Hämoglobins erklären.

3. Die dem Erythrocyten im Vollblut vorgeschaltete Plasmaschicht hat einen wechselnden Einfluß auf die Diffusionszeiten, je nach der Größe des äußeren O_2 -Partialdruckes und dem jeweils erreichten Sättigungsgrad. Hierfür werden einige numerische Werte angegeben.

Literatur

- ¹ GIBSON, Q. H., F. KREUZER, E. MEDA and F. J. W. ROUGHTON: J. Physiol. (Lond.) **129**, 65 (1955). — ² HARTRIDGE, H., and F. J. W. ROUGHTON: Proc. roy. Soc. Lond. A **104**, 376 (1923). — ³ HARTRIDGE, H., and F. J. W. ROUGHTON: Proc. roy. Soc. Lond. A **107**, 654 (1925). — ⁴ HARTRIDGE, H., and F. J. W. ROUGHTON: J. Physiol. (Lond.) **62**, 232 (1927). — ⁵ KLUG, A., F. KREUZER and F. J. W. ROUGHTON: Helv. physiol. pharmacol. Acta **14**, 121 (1956). — ⁶ KLUG, A., F. KREUZER and F. J. W. ROUGHTON: Proc. roy. Soc. Edinb. B **145**, 452 (1956). — ⁷ KREUZER, F.: Dissertation Zürich-Fribourg 1950. — ⁸ KREUZER, F.: Helv. physiol. pharmacol. Acta **9**, 185 (1951). — ⁹ KREUZER, F.: Helv. physiol. pharmacol. Acta **9**, 379 (1951). — ¹⁰ KREUZER, F., u. A. BETTICHER: Helv. physiol. pharmacol. Acta **9**, 244 (1951). — ¹¹ KREUZER, F.: Helv. physiol. pharmacol. Acta **11**, Suppl. IX (1953). — ¹² LASZT, L.: Helv. physiol. pharmacol. Acta **3**, 291 (1945). — ¹³ MÜLLER, A.: Helv. physiol. pharmacol. Acta **6**, 21 (1948). — ¹⁴ MÜLLER, A.: Helv. physiol. pharmacol. Acta **6**, 21 (1948). — ¹⁵ NICOLSON, P., and F. J. W. ROUGHTON: Proc. roy. Soc. Edinb. B **138**, 241 (1951). — ¹⁶ NIESEL, W., G. THEWS u. D. LÜBBERS: Pflügers Arch. ges. Physiol. **268**, 296 (1959). — ¹⁷ PIRCHER, L.: Dissertation Fribourg 1951. — ¹⁸ PIRCHER, L.: Helv. physiol. pharmacol. Acta **10**, 110 (1952). — ¹⁹ ROUGHTON, F. J. W., and J. C. KENDREW: Haemoglobin, London 1949. — ²⁰ THEWS, G., u. D. LÜBBERS: Z. angew. Physik **7**, 325 (1955). — ²¹ THEWS, G.: Pflügers Arch. ges. Physiol. **265**, 138 (1957a). — ²² THEWS, G.: Pflügers Arch. ges. Physiol. **265**, 154 (1957b). — ²³ THEWS, G., u. W. NIESEL: Pflügers Arch. ges. Physiol. **268**, 318 (1959).

Dr. Dr. GERHARD THEWS, Physiologisches Institut der Universität, Kiel,
Neue Universität