

Tabelle 2.

Ansatz	mm ³ O ₂ /Std./mg Trockengewicht Bakterien
Bakterien in Puffer	2,1
Bakterien in 5% natürl. Glycerin . . .	6,1
Bakterien in 5% synthet. Glycerin . .	6,1
Bakterien in 1% natürl. Glycerin . . .	5,1
Bakterien in 1% synthet. Glycerin . .	5,3

Auch in diesem empfindlichen Atmungstest bestätigen sich also die Wachstumsversuche, nach denen das reine, synthetische Glycerin für die Tuberkelbazillen ein dem natürlichen Glycerin gleichwertiges Substrat darstellt.

Die Atmungsversuche entsprechen im übrigen den Angaben anderer Autoren¹⁾, wonach Tuberkelbazillen sehr wohl im *Warburg*-Apparat Glycerin zu veratmen vermögen, und stehen im Gegensatz zu neuern Versuchen von *F. Bernheim*²⁾ u. a. Wir werden in einer späteren Mitteilung eingehender auf diese Verhältnisse zu sprechen kommen.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine Methode beschrieben, um im Laboratoriumsmassstab aus Isopropylalkohol Glycerin herzustellen.

2. Dieses synthetische Glycerin erweist sich im Wachstums- wie im Atmungsversuch als ein dem natürlichen gleichwertiges Substrat für Tuberkelbazillen.

Basel, Hygienisches Institut und Anstalt für
Anorganische Chemie der Universität.

49. Studien zur Messung des cellulären Faktors

von Ch. Wunderly.

(7. II. 44.)

Das Problem der Senkungsreaktion der roten Blutkörperchen wäre einseitig gesehen, wollte man nur die Plasmabestandteile für die Erklärung heranziehen. Der celluläre Faktor oder wie *Frimberger*³⁾ ihn benennt, die Ballungsbereitschaft der roten Blutkörperchen, stellt eine weitere Variable dar, deren zahlenmässige Erfassung bis heute nur unbefriedigend gelungen ist. Wie bedeutend der Einfluss sein kann, welchen der celluläre Faktor auf den Reaktionsablauf ausübt, lässt sich gut darstellen durch einen Vergleich des Blutes

¹⁾ R. O. Loebel, E. Shorr und H. B. Richardson, J. Bact. (Am.) **26**, 139 (1933).

²⁾ J. Bact. (Am.) **41**, 387 (1941).

³⁾ *Frimberger*, Z. exptl. Med. **103**, 539 (1938); Erg. inn. Med. **61**, 680 (1942).

vom normalen Mensch, Pferd und Rind. Dazu wird erst deren Plasma-zusammensetzung untersucht und anschliessend die Senkung der roten Blutkörperchen beobachtet in einer Standardflüssigkeit, welche geeignet ist, das Plasma zu ersetzen.

Aussalzungskurven des Blutplasmas von normalem Mensch, Pferd und Rind.

Die Methode stützt sich auf das Fällungsvermögen verschieden konzentrierter, äquimolekularer Gemische von primärem und sekundärem Kaliumphosphat bei konstantem p_H 6,5. Die molare Konzentration des Salzgemisches variiert zwischen 0,6 und 3,0. Aus demselben werden aliquote Mengen zu je 0,5 cm³ Blutplasma fliessen gelassen; diese Lösungen werden bei 25° im Wasserthermostat langsam rotiert, anschliessend filtriert und im Filtrat durch Mikro-Kjeldahl-Bestimmung der Stickstoff bestimmt; somit gelangt die in Lösung verbliebene Proteinmenge zur Messung. Weitere Einzelheiten s. bei *Wuhrmann und Wunderly*¹⁾. Zur graphischen Darstellung des Ergebnisses werden auf der Abszisse die Konzentrationen der Phosphorsäure, auf der Ordinate die gefundenen Stickstoffwerte in mg% eingetragen. Es ist notwendig, dass die Kurve durch 32 Punkte gesichert ist, denn nur durch eine hinreichend dichte Besetzung der Unstetigkeiten kann die Lage derselben mit wünschbarer Genauigkeit festgelegt werden. Da sich auf Grund der Unstetigkeiten die Grösse der Einzelfractionen ermessen lässt, sind diese für die Beurteilung der Plasmazusammensetzung massgebend. Wie gleichzeitig angestellte, gravimetrische Fibrinbestimmungen ergaben, fallen im PO_4''' -Konzentrationsbereich von 0,6—1,3 Mol/L nicht nur Fibrinogen aus, sondern auch grobdisperse Anteile des Euglobulins, weshalb dieser Abschnitt als Fibrinogen-Globuline bezeichnet wird. Eine Unterteilung der Globuline in Eu- und Pseudoglobulin konnten wir nur in einigen pathologisch veränderten Plasma-proben feststellen.

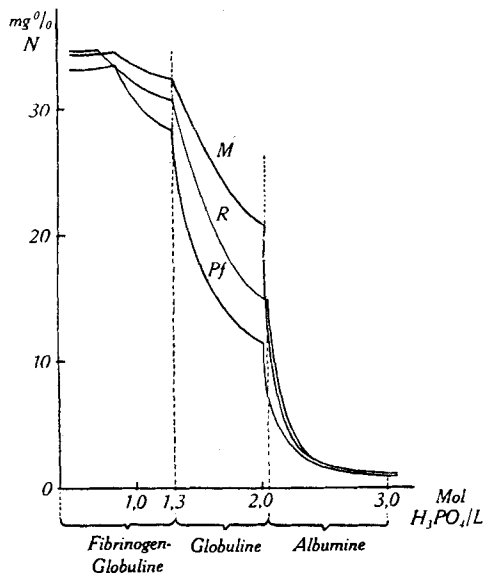


Fig. 1.

Aussalzungskurven von M = Mensch, R = Rind, Pf = Pferd.

¹⁾ *Wuhrmann und Wunderly*, Helv. med. acta, Suppl. Bd. X (1943).

Die Zusammensetzung nach Fraktionen ergibt sich wie folgt:

Tabelle 1.

Im Citrat-Plasma	Mensch g%	Pferd g%	Rind g%
Fibrinogen-Globuline . . .	0,44	1,04	0,8
Globulin	2,32	3,40	3,16
Albumin	4,56	2,28	2,96
Gesamt-Eiweiss	7,32	6,72	6,92
Spez. Gew. des Plasma . .	1,034	1,037	1,049

Es ergibt sich, dass in der Reihenfolge Mensch < Rind < Pferd, eine zunehmende Verschiebung nach den grobdispersen Proteinfractionen stattfindet.

Temperaturabhängigkeit der Viskosität.

Jede Verschiebung der Konzentrationsverhältnisse der Proteinfractionen muss sich auf die kolloidphysikalischen Eigenschaften des Plasmas entsprechend auswirken. So zeigen die stäbchenförmigen Fibrinogen-Teilchen grössere Strömungsanomalie wie die kugelförmigen Albumin-Teilchen. Über die Achsenverhältnisse der Proteinteilchen der einzelnen Fraktionen berichten *Polson*¹⁾, *Neurath* und *Cooper*²⁾, sowie *Fahey* und *Green*³⁾; ihre Angaben, welche auf der gleichzeitigen Messung von Viskosität, Diffusion und Sedimentation beruhen, geben ein Mass für die durchschnittliche Formanisotropie des Einzelteilchens. Allerdings darf im Plasma nicht mit einer einfachen Abhängigkeit von Viskosität und etwa dem Gehalt an fibrillären Proteinen gerechnet werden, da stets eine Wechselwirkung der Teilchen untereinander stattfindet. Die Grösse der dadurch bedingten Strukturviskosität und ihrer Temperaturabhängigkeit lassen sich vorläufig nur abschätzen.

Die Messung der Plasma-Viskosität geschieht spätestens 3 Stunden nach Blutentnahme; um von den geformten Blutbestandteilen zu trennen, wird erst 3' bei 10000 und 3' bei 15000 T. zentrifugiert; darauf 3 cm³ Blutplasma in das *Ostwald*-Viskosimeter pipettiert; dasselbe steht völlig eingetaucht im Wasserthermostaten (Temperaturregelung $\pm 0,01^\circ$). Die Viskosität wird ausgedrückt als spezifische Viskosität geteilt durch den Gesamtproteingehalt des betreffenden Plasmas; dadurch wird die λ_{sp} bezogen auf 1 g% Proteingehalt. Beobachtet wird im Temperaturintervall von 10–50° C; wenige Grade oberhalb dieser Temperatur beginnen Zersetzungserscheinungen.

Die Viskosität aller untersuchten Blutplasmaproben nimmt mit steigender Temperatur vorerst ab; zwischen 30° und 40° zeigt die Viskosität ein Minimum, um bei weiter steigender Temperatur nochmals etwas zuzunehmen. Pferd- und Rinderplasma zeigen eine sehr

¹⁾ *Polson*, Kolloid-Z. **88**, 51 (1939).

²⁾ *Neurath & Cooper*, Am. Soc. **62**, 2248 (1940).

³⁾ *Fahey & Green*, Am. Soc. **60**, 3039 (1938).

ähnliche relative Viskositätsabnahme; beim Menschen ist diese weniger ausgeprägt, die Kurve deshalb flacher. Wie stark sich Kurvenlage und Form ändern können, sowie patho-physiologische Einflüsse hinzukommen, zeigen je eine Blutplasmakurve bei Polyarthritus und Nephrose. Eine grössere Zahl davon wird im Zusammenhang mit den klinischen Daten anderweitig besprochen. Die

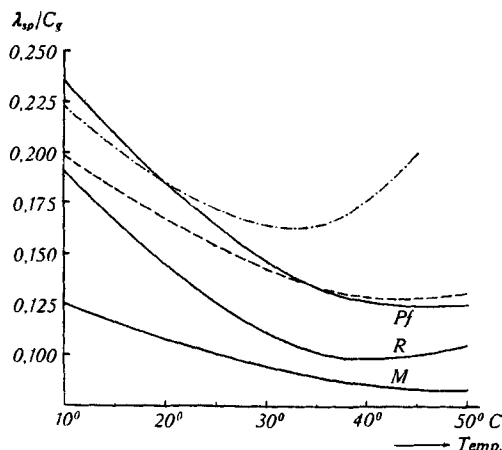


Fig. 2.

Temperaturabhängigkeit der Viskosität der Blutplasma von:

Pf = Pferd; R = Rind; M = Mensch, normal.

----- = Mensch, Polyarthritus; - - - - - = Mensch, Nephrose.

beobachtete Abnahme der λ ist in erster Linie der Ausdruck für eine allmähliche Desaggregation der Proteinteilchen; nach Massgabe ihrer Bindungsstärke lockern sich progressiv die Gruppen mit der kleinsten Kohäsion, so gleich zu Beginn die schwachen Anziehungskräfte zwischen lipophilen Gruppen in den Seitenketten. Die gleichfalls abnehmende Solvatation der Teilchen leitet ihre hitzebedingte, irreversible Koagulation ein. Dabei hat sich ergeben, dass die Lage der Kurve im Koordinatennetz hauptsächlich vom Gehalt des Blutplasmas an Fibrinogen-Globulinen abhängt, während die Gestalt der Kurve durch den Umfang der Wechselwirkung der Proteinteilchen bedingt wird.

Senkungsreaktion und Blutwerte bei Mensch, Pferd und Rind.

Die Senkungsreaktion wurde nach der Original-Methode von Westergren¹⁾ vorgenommen; dazu wird Blut und 3,85% Natriumcitrat im Verhältnis 4:1 gemischt.

¹⁾ Westergren, Erg. inn. Med. 26, 577 (1924).

Tabelle 2.

	Mensch, ♂ mm	Pferd mm	Rind mm
Senkung nach 30'	4	27	—
Senkung nach 60'	9	63	0,5
Senkung nach 120'	15	109	1
Erythrocyten im mm ³ . .	$5,1 \times 10^6$	$6,3 \times 10^6$	$6,5 \times 10^6$
Haemoglobin %	94	74	72
Färbe-Index	0,92 ¹	0,58	0,56

Bei dem Vergleich der Senkungsabläufe fällt die rasche Senkung des Pferdes gegenüber dem Menschen auf; betrachtet man aber die physikalisch-chemischen Eigenschaften des normalen Pferdeplasmas und die Zusammensetzung seiner Proteinfractionen, wie dies aus Figg. 1 und 2 hervorgeht, so findet die beobachtete Senkungsbeschleunigung darin ihre Erklärung. Ihre Abhängigkeit vom Gehalt an fibrillären Proteinen haben wir beschrieben (*Wunderly* und *Wuhrmann*¹). Während also die Senkungsreaktion des Pferdes weitgehend abgeleitet werden kann von humoralen Faktoren, ist dies beim Rind nicht möglich. Nach den Befunden auf Figg. 1 und 2 wäre hier eine Senkung zu erwarten, welche halbwegs zwischen Mensch und Pferd liegt. Wenn nun der 2-Stundenwert der Senkung des Rindes nur eben messbar ist, so muss dies dem cellulären Faktor zugeschrieben werden. Interessanterweise wird die Senkung selbst bei kranken und trächtigen Rindern nicht beschleunigt gefunden (*Wirth*)²; damit dürfte im Zusammenhang stehen, dass das Rind weniger leicht immunisierbar ist wie das Pferd, und bei ihm die Gewinnung hochwertiger Antisera viel längere Zeit dauert (*Schmidt*)³.

Vergleich des Gehaltes an Proteinbausteinen.

Auf Fig. 2 nehmen die Kurven von Pferd- und Rinderplasma einen deutlich parallelen Verlauf und stehen damit im Gegensatz zu der wesentlich flacheren Kurve von menschlichem Blutplasma. Es scheint uns bemerkenswert, dass analoge Verhältnisse vorliegen, wenn man die Werte für einzelne Aminosäure-Bausteine im Euglobulin und Pseudoglobulin bei Mensch, Pferd und Rind vergleicht.

Obwohl die Werte nicht überall mit derselben Analysenmethode gewonnen wurden und deshalb mit einer Abweichung von etwa 0,3 % zu belasten sind, erweist sich auch hier die Ähnlichkeit der Werte von Pferd und Rind. Dagegen ist im menschlichen Serum der Gehalt an Hexonbasen deutlich abweichend. Damit ist auf den Zusammen-

¹) *Wunderly* und *Wuhrmann*, Klin. Wochschr. **22**, 587 (1943).

²) *Wirth*, aus *Reichel*, „Blutkörperchensenkung“, S. 234 (Wien 1936).

³) *Schmidt*, Grundl. d. spez. Therapie (Berlin 1940).

hang zwischen Gehalt an einzelnen Protein-Bausteinen und physikalisch-chemischer Eigenschaft des Serums bzw. Plasmas hingewiesen, wie solche in der Temperaturabhängigkeit der Viskosität zum Ausdruck kommt.

Tabelle 3.

		Arginin g%	Histidin g%	Lysin g%	Cystin g%
Mensch .	{ Euglobulin ¹⁾	3,00	2,64	nicht	2,57
	{ Pseudoglobulin ¹⁾ .	2,96	2,71	be-	2,36
	{ Globin ¹⁾	1,37	7,36	stimmt	1,24
Pferd . .	{ Euglobulin ²⁾	8,5	5,0	9,9	1,7
	{ Pseudoglobulin ²⁾ .	8,9	5,8	9,8	1,7
	{ Globin ³⁾ ⁴⁾	3,3	7,6	8,1	0,4
		3,5	7,5	8,2	
Rind . .	{ Euglobulin ⁵⁾	11,6	3,8	9,2	2,0
	{ Pseudoglobulin ⁵⁾ .	10,8	4,8	9,6	1,9
	{ Globin ⁶⁾	3,1	7,4	8,0	0,5

Vom Haemoglobin ist bekannt, dass für seine Artspezifität in erster Linie Unterschiede im Bau der Globin-Komponente massgeblich sind. Vergleicht man die Werte einzelner Globinbausteine bei Pferd und Rind, so ergeben sich wieder grosse Ähnlichkeiten. Im Gegensatz dazu enthält menschliches Globin rund 40 % weniger Arginin und 64 % mehr Cystin. Im oben gezeigten Senkungsablauf lässt sich die erwähnte Ähnlichkeit bzw. Abweichung nicht mehr ableiten. Das menschliche Blut steht mit seiner Senkungsgeschwindigkeit zwischen dem viel rascher senkenden Pferdeblut und dem kaum messbaren Rinderblut; beim Letztgenannten muss der Grund wohl in cellulären Lipoiden gesucht werden, welche in die Grenzschicht der Erythrocyten eingebaut sind.

Senkungsablauf im Plasmamodell.

Um die cellulär bedingte Hemmung der Senkungsreaktion (wofür Rinderblut ein ausgezeichnetes Beispiel darstellt) näher zu charakterisieren, befreien wir die Erythrocyten durch gründliches Waschen von den Plasmabestandteilen und beobachten ihre Senkungs-Geschwindigkeit nach Zugabe eines proteinfreien Pektinsolles. Wir haben letzthin die Wirkung desselben auf menschliche Erythrocyten und ihre Senkung beschrieben (*Wunderly und Wuhrmann*⁷⁾). Als Pektin dient ein hochgereinigtes Präparat aus Apfelschalen, mit 37—50 freien Carboxylgruppen pro Molekel und einem Mol.-Gew. von über

¹⁾ Balint und Balint, Bioch. Z. **305**, 310 (1940); **306**, 296 (1940); **308**, 83 (1941).

²⁾ Harris und Eagle, J. gen. Physiol. **19**, 383 (1935).

³⁾ Block, J. Biol. Chem. **105**, 663 (1934).

⁴⁾ Abderhalden, Biochem. Hdlex. Bd. **14**, 232 (1933).

⁵⁾ Hartley, Biochem. J. **13**, 248 (1914).

⁶⁾ Bergmann und Niemann, J. Biol. Chem. **118**, 301 (1937).

⁷⁾ Wunderly und Wuhrmann, Schweiz. Med. Wochschr. **1944**, 185.

40000¹). Mit zweifach destilliertem Wasser wird davon ein Sol hergestellt von 0,24 Gew.-Prozent; dieses Sol wird kühl aufbewahrt und jede Woche erneuert. Ferner wird eine Lösung hergestellt, welche pro Liter 16 g NaCl; 0,4 g KCl; 0,2 g CaCl₂; 0,2 g MgCl₂ und 0,1-molar Phosphat-Puffer nach *Sörensen* enthält. Werden gleiche Teile von dieser Lösung I und dem Pektin-Sol (Lösung II) gemischt, so erhält man ein Sol, dessen λ_{rel} 1,90 beträgt, das somit isoviskos ist mit Blutplasma; die Pektinmodell-Lösung ist ferner isotonisch und da ihr p_H auf 7,34 gestellt wird (Chinhydronelektrode), auch isohydrisch. Zur Beobachtung des Einflusses von Acidose und Alkalose werden noch die p_H 6,34; 6,70; 7,01 und 7,78 eingestellt und vergleichsweise mitgemessen. Die Blutproben, welche in üblicher Weise mit Natriumcitrat ungerinnbar gemacht wurden, werden 1 Stunde nach Entnahme 2' bei 5000 und 3' bei 10000 T. zentrifugiert, das Plasma mit der Pipette abgehoben und durch *Ringer*-Lösung ersetzt. Um den Wascheffekt zu verbessern, werden die ursprünglich 12 cm³ Blut auf 4 Zentrifugengläschen gleichmässig verteilt, so dass das Verhältnis von Erythrocyten zur Waschflüssigkeit (*Ringer*-Lösung) auf 1 : 10 gesteigert werden kann. Dieses Auswaschen auf der Zentrifuge wird viermal wiederholt; auf diese Weise werden die Blutzellen praktisch frei von Serum, wie *Albers*²) und Mitarbeiter auf Grund der haemolytischen Wirksamkeit einer Verdünnungsreihe von HCl nachgewiesen haben. Eine messbare Resistenzveränderung als Folge der Waschung ist nicht anzunehmen, solange die Waschflüssigkeit keine lipophilen Eigenschaften aufweist. Die gewaschenen Erythrocyten werden in einem Messzylinder vereinigt und mit *Ringer*-Lösung auf das ursprüngliche Volumen (12 cm³) gebracht. Von dieser 100-proz. Erythrocyten-Suspension werden je 1,2 cm³ in kleine Reagensgläschen fliessen gelassen und dort mit je 0,3 cm³ Pektin-Modell-Lösung gut homogenisiert. Nach 15' wird zur Senkungsbestimmung in *Westergren*-Pipetten aufgezogen.

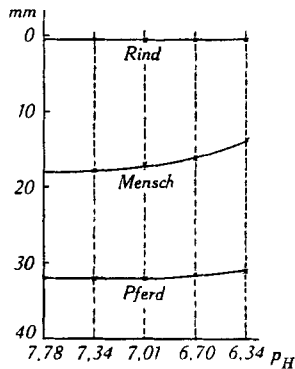


Fig. 3.

Einstundenwerte der Senkungsreaktion.
Standardflüssigkeit im p_H Bereich 7,78–6,34.

Auf obenstehender Fig. 3 sind auf der Abszisse die 5 mit 0,05-m. Phosphatpuffer eingestellten p_H -Werte, darunter mit 7,34 derjenige des strömenden Blutes; auf der Ordinate sind die Einstundenwerte der Senkung in mm aufgetragen.

Während die Erythrocyten des Rindes nur eine minimale Senkung zeigen, sind die Werte beim Menschen mittelgross, beim Pferd erheblich beschleunigt. Damit ist bewiesen, dass die minimale

¹) Das Pektin-Präparat wurde uns vom Agrikulturchem. Institut der E.T.H. freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

²) *Albers, Endter, Künzel, Schuler, Weiss und Westlinning*, *Bioch. Z.* **314**, 186 (1943).

Senkung der Rinder-Erythrocyten cellular bedingt ist. Der Senkungsablauf zeigt im serumfreien Pektin-Plasmamodell genau dieselbe Reihenfolge, wie sie im Blut (s. Tab. 2) gefunden wurde. Auf diese analoge Wirksamkeit soll erst näher eingetreten werden, wenn ein grösseres Material an normalen, sowie pathophysiologisch veränderten Erythrocyten vorliegt. Es zeichnet sich hier die Möglichkeit ab, neue Einsicht zu gewinnen über die Wechselwirkung zwischen Blutzelle und umgebendem Blutplasma, während Änderungen in der Proteinzusammensetzung des letzteren.

Nun folgen Versuche, welche die Wirkung zeigen von Serum, Serum-Globulin und inaktiviertem Serum auf den Senkungsablauf in der Pektin-Standardflüssigkeit; dabei ist nirgends Haemolyse sichtbar geworden.

Serumzusatz und Senkungsablauf.

Dazu werden je 1,6 cm³ gewaschene, normale Erythrocyten (Mensch) mit 0,1 cm³; 0,04; 0,01; 0,002 cm³ homologem Serum versetzt und 15' stehen gelassen. Darauf werden in die 4 Röhrchen je 0,4 cm³ isotonisches Pektin-Sol vom p_H 7,34 zufließen gelassen und homogenisiert; nach 15' wird in *Westergren*-Pipetten hochgezogen.

Der Einstundenwert der Senkung beträgt in allen 4 Pipetten gleichmässig 18 mm (2 Std. 34 mm). Der Serumzusatz übt somit im beobachteten Konzentrationsgebiet keine Wirkung aus auf den Senkungsablauf.

Globulinzusatz und Senkungsablauf.

Das Serumglobulin wird in der früher beschriebenen Methode¹⁾ hergestellt und mit physiol. Kochsalzlösung zu einem Sol gelöst, welches 8,8 mg Globulin pro cm³ enthält. Zu je 1,6 cm³ gewaschenen Erythrocyten (Mensch) werden 0,16 cm³ Globulinsol zufließen gelassen; nach 15' versetzt man mit je 0,4 cm³ Pektin-Sol, welche gepuffert sind auf die p_H 7,78, 7,34, 7,01, 6,70 und 6,34; nach 15' wird in die *Westergren*-Pipetten aufgezogen.

Der Einstundenwert der Senkung beträgt 38—39 mm (2 Stunden 74—75 mm); sie wird somit durch den Globulinzusatz mehr als verdoppelt. Andererseits werden die Erythrocyten durch den Proteinfilm für Alkalose und Acidose weniger empfindlich; während im proteinfreien Senkungsversuch normale Erythrocyten (Mensch) im p_H-Gefälle von 7,78 → 6,34 eine Abnahme der Senkungsgeschwindigkeit um 7—8 mm (Einstundenwert) zeigen, wird im obigen Versuch keine Änderung sichtbar. Anschliessend wurden bei p_H 7,34, abgestuft kleinere Zusätze von Globulinsol auf ihre senkende Wirkung geprüft. Es ergibt sich, dass ein Zusatz von 0,26 mg Serumglobulin pro Ansatz oder 13 mg% in der *Westergren*-Pipette die minimale Menge darstellen, welche eine noch messbare Senkungsbeschleunigung zur Folge haben. Rechnen wir die durchschnittliche Oberfläche eines normalen Erythrocyten (Mensch) zu 128 μ² (*Bernstein* und *Chesluk*²⁾), so beträgt ihre Gesamtoberfläche im Ansatz 1,4 m². Auf diese Fläche verteilen sich 0,26 mg Serumglobulin; somit 0,18 mg pro m². Nun haben *Gorter*³⁾ und *Hooft*⁴⁾ auf Wasseroberflächen gemessen, dass Serumglobulin bei p_H = 1 (0,1-n. HCl-Puffer) auf 1 m² pro mg

¹⁾ *Wunderly*, Helv. **25**, 498 (1942).

²⁾ *Bernstein* und *Chesluk*, J. Lab. Clin. Med. **27**, 1280 (1942).

³⁾ *Gorter*, Faraday **33**, 1125 (1937).

⁴⁾ *Hooft*, J. physiol. path. gén. **36**, 652 (1938).

spreizt und bei p_H 5,2 (0,0033-n. Natriumacetat-Puffer) auf 0,96 m²/mg. *Svedberg*¹⁾ und *Astbury*²⁾ berechneten die Dicke des so entstehenden Proteinfilms auf 10 Å und schlossen aus der ungewöhnlich grossen, bedeckten Fläche auf die Deformation der sphäroiden Proteinteilchen.

*Alexander*³⁾ hat die Grenzflächen-Spannung, -Viskosität und das -Potential von monomolekularen Proteinschichten an den Grenzflächen Öl/Wasser und Luft/Wasser vergleichend gemessen; er findet, dass der physikalische Zustand des Protein-Häutchens bei enger Packung an beiden Grenzflächen derselbe ist. Dabei dürfte die Grenzschicht Öl/Wasser vorläufig die beste modellmässige Wiedergabe der Verhältnisse sein, wie sie an der Grenzschicht Erythrocyten/Wasser vorliegen.

Übertragen wir diese Verhältnisse auf die Grenzschicht Erythrocyten/Wasser, so bemerken wir, dass die 0,18 mg Globulin pro m² keine vollständige Bedeckung der Blutzellen zustande bringen können. Die Orientierung der Globulin-Teilchen an diese Grenzschicht dürfte so erfolgen, dass die Polypeptidketten sich flach auf die grösstenteils lipoidhaltige Oberfläche der Erythrocyten legen und andererseits die polaren Gruppen ihrer Seitenketten dem Wasser zu richten. Dass es dabei zu einer gewissen Entfaltung der ineinander verknäuelten Polypeptidketten kommt, ist wahrscheinlich.

Zusatz von inaktiviertem Pferdeserum und Senkungsablauf.

Wir haben gesehen wie durch zugesetztes Serum, wo bis zu 2,5 mg Globulin pro Ansatz enthalten ist, der Senkungsablauf nicht beeinflusst wird; dagegen bewirken 0,26 mg isoliertes Serumglobulin, da hier die abschirmende Wirkung der Albumine fehlt, eine gut messbare Senkungsbeschleunigung. Die Steigerung der globulinbedingten Reaktionsbereitschaft kann auch in folgender Weise erreicht werden.

Man erhitzt im Wasserthermostat 2 cm³ Serum (Pferd) während 30' auf 56°; das Serum bleibt klar und lässt äusserlich durch nichts erkennen, dass seine Proteinstruktur eine Änderung erfahren hat. Erst durch den folgenden biologischen Versuch tritt diese in Erscheinung. Zu je 1,6 cm³ gewaschener, normaler Erythrocyten (Pferd) werden 0,2 cm³ frisches und parallel dazu 0,2 cm³ hitzevorbehandeltes Serum (Pferd) zugegeben und 15' stehen gelassen. Darauf werden je 0,4 cm³ Pektin-Sol vom p_H 7,34 unter Umschwenken zufließen gelassen. Nach 15' wird in *Westergren*-Pipetten aufgezogen.

Die Pipette mit unvorbehandeltem Serum gibt einen Stundenwert von 33 mm Senkung; mit hitzevorbehandeltem Serum dagegen von 51 mm (2-Stundenwerte 78 und 103 mm). Damit ist gezeigt, dass bei der „Inaktivierung“ eines Serums nicht nur das hitzelabile Komplement zerstört wird, sondern gleichzeitig intermolekulare Bin-

¹⁾ *Svedberg*, Proc. Roy. Soc. (London) **127**, 1 (1939).

²⁾ *Astbury*, *Bell*, *Gorter*, v. *Ormond*, Nature **142**, 33 (1938).

³⁾ *Alexander*, Faraday **37**, 117 und 426 (1941).

dungen so weit gelockert werden, dass das ursprünglich reaktions-träge Serum nun bindungsbereite Gruppen enthält.

Zusammenfassung:

Die Plasmaproteine von Mensch, Pferd und Rind werden charakterisiert durch Aussalzungskurven sowie durch die Temperaturabhängigkeit ihrer Viskosität.

Es wird die Blutsenkungsreaktion von Mensch, Pferd und Rind verglichen und in Beziehung gebracht zu der Zusammensetzung der Plasmaproteine. Um auch den cellulären Faktor vergleichbar zu erfassen, wird als Standardflüssigkeit ein Pektinsol angegeben, welches isotonisch, isohydrisch und isoviskos ist mit normalem Blutplasma. Aus dem Senkungsablauf von gewaschenen Erythrocyten von Mensch, Pferd und Rind in dieser proteinfreien Standardflüssigkeit, und dem Vergleich ihrer Senkung im Blutplasma, sowie dessen Proteinzusammensetzung, kann auf den cellulären Faktor (Ballungsbereitschaft der Erythrocyten) geschlossen werden.

Der Verfasser möchte den HH. Prof. Dr. A. Krupski und Assistent Lehmann für ihr freundliches Interesse bestens danken.

Medizin. Universitätsklinik Zürich (Dir. Prof. Dr. W. Löffler).

50. Diginin und Diginigenin

4. Mitteilung¹⁾

von C. W. Shoppee²⁾

(10. II. 44.)

In der ersten Mitteilung³⁾ wurde auf Grund des starken Reduktionsvermögens des Diginigenins und seiner positiven Reaktion mit 1,4-Dioxy-naphtalin⁴⁾ die Vermutung ausgesprochen, dass es sich bei der für diese Reaktionen verantwortlichen Carbonylgruppe um eine Aldehyd-Gruppierung handeln könnte, nachdem das Vorhandensein einer α -Ketol-Gruppierung ausgeschlossen war. Allerdings ist die Probe mit 1,4-Dioxy-naphtalin nicht sehr beweiskräftig, da auch Ketone bekannt sind, die diese Reaktion geben⁵⁾⁶⁾. Diese Tatsache und besonders der Umstand, dass bei der milden Oxydation von

¹⁾ 3. Mitteilung: C. W. Shoppee, *Helv.* **27**, 246 (1944).

²⁾ Rockefeller Research Fellow an der Universität Basel.

³⁾ C. W. Shoppee, T. Reichstein, *Helv.* **23**, 975 (1940).

⁴⁾ H. Raudnitz, H. Puluž, *B.* **64**, 2212 (1931).

⁵⁾ K. Miescher, A. Wettstein, C. Scholz, *Helv.* **22**, 894 (1939), insbesondere 902.

⁶⁾ D. A. Prins, T. Reichstein, *Helv.* **24**, 945 (1941).