

vorhandene, doch äußerst geringe Jodgehalt in 100 g Substanz dem Nachweise entging.

Auffallend ist der Reichtum der Hornsubstanz, den auch Bourcet fand.

Der Jodgehalt beim menschlichen Organe ist im allgemeinen ein viel höherer als beim Kalbe. In der Schilddrüse fanden wir etwa neunmal so viel J als Durchschnittszahl von 7 Bestimmungen, angestellt an 4 Drüsen. Es scheint der Jodgehalt mit dem Alter zuzunehmen; doch wäre noch eine weit größere Anzahl von Bestimmungen hierzu notwendig. Leber und Niere haben eine relativ hohe Jodzahl, besonders im Vergleich mit dem Kalbe. Haut, Haare, Nägel haben nahestehende, beträchtliche Zahlen. Dagegen ist der Jodgehalt des Magens etwa neunmal so hoch als im unmittelbar benachbarten Dünndarme.

Unsere Schlußfolgerungen sind die folgenden:

In jedem Organ ist Jod qualitativ nachweisbar. Quantitative Bestimmungen ergeben einen sehr verschiedenen Jodreichtum der einzelnen Organe. Der Jodgehalt der Schilddrüse übertrifft, besonders beim Menschen, bei weitem die anderen Organe. Es erscheinen die Hypothesen nicht mehr haltbar, welche eine Erklärung der Funktion der Schilddrüse auf Grund ihres ausschließlichen Jodgehaltes aufbauen.

---

## II.

### **Versuche über einige Bedingungen der Blutgerinnung, insbesondere über die Specificität der in den Geweben vorhandenen Coaguline.<sup>1)</sup>**

Von

Leo Loeb.

(Aus dem Patholog. Laboratorium der McGill University, Montreal, Canada.)

---

In einer früheren Arbeit<sup>2)</sup> fand ich, daß die gerinnungsbeschleunigende Wirkung von Geweben auf Hummerblutplasma

<sup>1)</sup> Diese Untersuchungen wurden mit Unterstützung aus dem Research Fellowship und der McGill University ausgeführt.

<sup>2)</sup> Über die Bedeutung der Blutkörperchen usw. Dieses Archiv Bd. 173; siehe auch Biological Bulletin Mai 1903.

eine spezifische ist. Hummermuskel hat einen sehr stark koagulierenden Einfluß, nicht selten wirkt er stärker wie Hummerfibrin. Blutcoagula sowie Gewebe verschiedener Wirbeltiere hingegen waren wirkungslos. Es war danach von Interesse, ähnliche Untersuchungen bei Wirbeltieren anzustellen. Es war dies besonders deswegen wünschenswert, weil bei den unter pathologischen Umständen stattfindenden Gerinnungen der Einfluß des umgebenden Gewebes in Betracht kommen könnte. Wenn nach Unterbindung eines Gefäßes häufig Gerinnung an der Unterbindungsstelle eintritt, so kommen zwei Faktoren in Betracht: 1. der Einfluß der aus der verletzten Gefäßwand extrahierbaren Substanzen, und 2. in dem Blut selbst auftretende Veränderungen, die zur Gerinnung führen mögen. Falls bei entzündlichen Vorgängen, z. B. in dem Peritoneum, sich fibrinöse Beläge bilden, so kommt 3. außer den beiden oben angegebenen Faktoren noch möglicherweise der Einfluß von Mikroorganismen zur Geltung. Ebenso können auch andere Fremdkörper von Bedeutung werden. Ähnliches gilt für die Bildung eines Schorfes in Wunden. Die Bildung von festen Gerinnungsprodukten gibt den Anlaß zu einer Einwanderung von Bindegewebe, Gefäßen (und auch von Epithel<sup>1)</sup>) in die Coagula und führt zur Organisation des Coagulums und möglicherweise zu Verwachsungen. In ungeronnene Flüssigkeiten findet ein Einwachsen des Gewebes nicht statt.

In folgendem sollen daher die Ergebnisse einiger vergleichender Untersuchungen über die Bedeutung der oben erwähnten drei Faktoren, die bei im Körper stattfindenden Gerinnungen in Betracht kommen, mitgeteilt werden.

## I. Einige Beobachtungen über die Blutzellen und Blutplättchen.<sup>2)</sup>

1. Im Blute der Arthropoden findet nach dem Ausfließen des Blutes eine Agglutination der Blutkörperchen statt. Fangen

1) Über Regeneration des Epithels. Archiv für Entwicklungsmechanik, VI. Bd., 1898. Über das Wachstum des Epithels, Arch. f. Entwicklungsmechanik, XIII. Bd., 1902.

2) Ob die Blutplättchen als eine gesonderte Art von Blutzellen oder als Zerfallsprodukte anderer Zellen aufzufassen sind, soll hier vorläufig unentschieden gelassen werden.

wir Gänseblut nach dem von Delezenne angegebenen Verfahren unter Vermeidung der Beimischung von Gewebsbestandteilen zu dem ausfließenden Blute auf, so bleibt dasselbe stundenlang ungeronnen. Untersuchen wir einen Tropfen dieses Blutes auf dem Objektträger, so finden wir hier inmitten der lebhaft fließenden roten Blutkörperchen Häufchen von hämoglobinlosen Zellen, die untereinander agglutinieren und am Boden festkleben. Spült man den Objektträger mit ein wenig 0,8 prozentiger Kochsalzlösung ab, so kann man diese Häufchen von Zellen fast isoliert erhalten. Der Kern einer solchen Zelle ist vielleicht etwas kleiner, als der der roten Blutkörperchen. Er färbt sich tief homogen mit Hämatoxylin. Nur wenig Protoplasma umgibt in regelmäßiger Verteilung diesen Kern. In frischen, nicht fixierten und nicht gefärbten Präparaten kann man zuweilen stärker lichtbrechende Stellen (Körner oder kleine Vacuolen?) in diesen Gebilden erkennen. Diese Zellen entsprechen den Spindeln der Amphibien und in ihrem Verhalten den Blutplättchen der Säugetiere. Centrifugieren wir das ungeronnene Blut sofort nach seiner Entnahme, so findet sich zwischen dem Plasma und den am Boden des Gefäßes liegenden roten Blutkörperchen eine schmale, weiße Zone. Diese letztere Schicht bildet eine zusammenhängende Membran. Sie besteht hauptsächlich aus den oben genannten agglutinierenden Zellen, untermischt mit weißen Blutkörperchen. Fangen wir einige Kubikzentimeter Blut einer decapitierten Taube schnell in 30 cem einer 0,8prozentigen Natriumchlorid-Lösung auf und centrifugieren wir, so unterbleibt ebenfalls gewöhnlich die Gerinnung für längere Zeit, und wir können diese Zellschicht zur Untersuchung erhalten.

2. Die Blutzellen der Arthropoden können durch mechanische Einwirkungen in fibrilläre Gebilde verwandelt werden. Viele Zellen können in eine Reihe angeordnet und in zusammenhängende Fadensysteme umgewandelt werden. Der Kern bleibt hierbei zuweilen als eine Kugel erhalten oder er wird ebenfalls ausgezogen. Die roten Blutkörperchen der Gans können durch Auflegen eines zweiten Objektträgers auf das auf einem Objektträger befindliche Blut und nachheriges Abziehen dieses Objektträgers ebenfalls ausgezogen werden, wobei die

Zellsubstanz selbst sich in Fasern spalten kann. Auch hier können hintereinander gereihete Zellen in Fasersysteme ausgezogen werden. Die Kernsubstanz wird ebenfalls in Fasern ausgezogen, wie man leicht durch Färbung mit Hämotoxylin und Eosin nachweisen kann. Es werden also auch hier unter der Einwirkung von Zug und Druck Fasern aus Zellen gebildet.<sup>1)</sup>

3. Durch Erwärmen des Blutplasmas des Hummers auf 45—50° während einer halben Stunde kann die spontane Gerinnung des Plasmas aufgehoben werden. Nach Zusatz von Hummerfibrin oder Hummermuskel tritt aber dann Gerinnung auf. Fängt man Meerschweinchenblut in auf 56° C erwärmter 0,8prozentiger NaCl-Lösung auf, vermischt sofort Blut und Salzlösung und zentrifugiert, so erhält man eine Plasmamischung, die längere Zeit ungerinnbar bleibt. Die Blutlösung wird in einer offenen Schale aufgefangen, so daß sofort Abkühlung eintritt. Etwa 2—3 ccm Blut werden in 35 ccm Salzlösung aufgefangen. Zuweilen tritt während des Zentrifugierens Gerinnung ein, falls die ausfließende Blutmenge zu groß war, oder falls das Blut so langsam ausfloß, daß bereits an einer Stelle Gerinnung eingetreten war, bevor das Blut die Salzlösung erreichte. In ähnlicher Weise kann das Blut des Kaninchens, der Katze und der Ratte behandelt werden. Es kommt vor, daß hierbei unter dem Einfluß der erhöhten Temperatur Hämolyse eintritt, gewöhnlich ist das aber nicht oder nur in geringem Grade der Fall.

Wird das Blut für kurze Zeit einer Temperatur von 56 bis 57° ausgesetzt, so bleibt die große Mehrzahl der Blutkörperchen ziemlich gut erhalten. Beim Auffangen in einer auf 59 bis 62° erwärmten Salzlösung hingegen zerfällt eine große Anzahl von roten Blutkörperchen in größere oder kleinere Tropfen. Zuweilen kann man sehen, wie zwei solcher Tropfen von einer Art Membran des Blutkörperchens eingeschlossen werden, mehrere Tropfen verschiedener Größe können auch durch einen Faden verbunden sein. Die Erwärmung scheint demnach die Oberflächenspannung der Zellen zu ändern und wohl auch die

<sup>1)</sup> Dies läßt sich jedoch viel deutlicher an den Blutzellen der Arthropoden nachweisen.

Zellsubstanz flüssiger zu machen. In ähnlicher Weise runden sich die Blutkörperchen der Arthropoden unter dem Einfluß einer erhöhten Temperatur ab. Centrifugieren wir nun dieses auf  $56^{\circ}$  erwärmte Blut, so bildet sich wieder zwischen Plasma und den roten Blutkörperchen eine dünne, weiße Membran, die der Hauptsache nach aus agglutinierenden Blutplättchen nebst eingeschlossenen weißen Blutkörperchen besteht. Die Blutplättchen adhäreren sowohl untereinander, wie an den weißen Blutzellen. Sie haben meist feine Fortsätze und sind alle von ungefähr derselben Größe. Ihr Durchmesser beträgt unter diesen Bedingungen etwa ein Fünftel desjenigen der roten Blutzellen; sie sind hämoglobinfrei. Sie gleichen in Größe, Gestalt und Verhalten den Plättchen des menschlichen Blutes. Sie kleben am Objektträger fest und können wie die entsprechenden Gebilde des Vogelblutes von den roten Blutzellen durch Abspülen mit Kochsalzlösung getrennt werden. Fixiert man mit Osmiumsäure oder mit absolutem Alkohol, so können sie nachher mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt werden. Sie nehmen hierbei bei stärkerer Färbung mit Hämatoxylin gewöhnlich einen schwach bläulichen Ton an, doch kommt es vor, daß einzelne Plättchen sich mit Eosin färben. Fixiert man die aus Blutplättchen bestehende Membran in Sublimat und färbt sodann die in Paraffin eingebetteten Stückchen, nachdem dünne Schnitte hergestellt waren, in der gewöhnlichen Weise mit Hämatoxylin und Eosin, so nehmen die Blutplättchen eine leicht rote Farbe an. Diese als Blutplättchen gedeuteten Gebilde sind nicht identisch mit den sich bei etwas höherer Temperatur aus den roten Blutkörperchen abschnürenden Tropfen, die von sehr wechselnder Größe sind, sich auf dem Objektträger mit Eosin färben, die nicht agglutinieren und Hämoglobin besitzen. Wurde nicht genügend centrifugiert, so ist nicht selten die Zone des Blutplasmas weißlich gefärbt. Dies ist bedingt durch große Mengen in dem Plasma suspendierter Blutplättchen.

Diese einfache Methode ermöglicht es also, große Mengen von Blutplättchen ohne Zusatz chemisch differenter Substanzen fast rein zu erhalten. Es ist von Interesse, daß Erwärmen auf  $56^{\circ}$  die Agglutinierbarkeit der Blutplättchen nicht aufhebt. Erwärmen auf  $56^{\circ}$  hebt auch die Aggluti-

nierbarkeit der den Blutplättchen in ihrem Verhalten entsprechenden kernhaltigen Zellen des Vogelblutes nicht auf.

Wir sehen also, daß in dem nicht gerinnenden Gänseblut, wie in dem durch Erwärmen zeitweise ungerinnbar gemachten Meerschweinchenblut eine Agglutination der Blutplättchen (bezw. der im Vogelblut vorhandenen sich entsprechend verhaltenden Zellen) stattfinden kann, ohne daß sich hieran direkt eine Gerinnung des Blutes anschließt. Die Agglutination der Blutplättchen steht also mit dem Gerinnungsprozeß in keinem direkten Zusammenhang.

Die Ähnlichkeit dieser Agglutinationsvorgänge mit der Agglutination der Blutzellen der Arthropoden ist jedoch bemerkenswert.

## II.

1. Im weiteren sollen nun Versuche mitgeteilt werden, die eine weitere Ausdehnung der früher von mir in Anschluß an Untersuchungen über die Gerinnung des Blutes von Arthropoden festgestellte Analogie zwischen dem Verhalten der in den Geweben vorhandenen gerinnungsbeschleunigenden Faktoren und der durch Immunisierung erhaltenen spezifischen Substanzen wie der Agglutinine, Präcipitine und Lysine bezwecken.<sup>1)</sup> Es wurden Versuche an Säugetieren, Vögeln, Reptilien und Amphibien, sowie einige weitere Versuche an Arthropoden angestellt, die es nun ermöglichen, die Specificität der Gewebscoaguline auf verschiedene Tierklassen auszudehnen. Der starke Einfluß gewisser Gewebsextrakte auf die Gerinnung des Blutes ist besonders durch die Untersuchungen Woolridges bekannt geworden. Delezenne<sup>2)</sup> fand sodann, daß, wenn das Blut von Vögeln in Canülen den Adern entnommen wird unter Vermeidung irgendwelchen Kontakts mit der Wunde, dasselbe lange ungeronnen erhalten bleiben kann. Centrifugiert man solches Blut, so kann das Plasma 10 Tage oder länger flüssig bleiben. Wurde das der Canüle entfließende Blut in Gewebsextrakten aufgefangen, so trat sehr schnell Gerinnung ein. Extrakt der Leber eines Vogels erwies sich wirksamer als der Extrakt der Leber eines Säugetieres, welches hierzu benutzt

<sup>1)</sup> Dieses Archiv Bd. 173.

<sup>2)</sup> Archives de Physiologie normale et pathologique. IX, 1897.

wurde. Delezenne deutete diesen Befund dahin, daß Vogelgewebe besonders wirksame Extrakte liefere, um für die geringe Gerinnungsfähigkeit seines Blutes zu kompensieren. Conrad<sup>1)</sup> scheint bei seinen Versuchen über die Wirkung der Extrakte frischer und autolysierter Organe auf die Gerinnung des Blutes einer etwa vorhandenen spezifischen Wirkung keine Aufmerksamkeit geschenkt zu haben.

Letztthin hat sodann Hewlett<sup>2)</sup> gefunden, daß Gänseleberextrakt auf Hundeblut nicht gerinnungsbeschleunigend wirkt, daß hingegen Extrakt von Hundeleber gerinnungsbeschleunigend auf das Blut der Gans wirkt. Er sieht hierin eine Andeutung einer spezifischen Wirkung, ebenso wie ich schon vorher in Anschluß an meine früheren Versuche diese coagulierende Wirkung der Gewebe mit der Wirkung der spezifischen Agglutinine, Präcipitine und Lysine verglichen hatte. Wir werden später sehen, daß die in den Organen des Hundes enthaltenen Coaguline eine schwächere Wirkung auf das Blutplasma der Gans haben, wie die in den Organen eines Vogels enthaltenen.

Die folgenden vergleichenden Untersuchungen über die Wirkung der Coaguline wurden angestellt:

1. Versuche mit Kaninchenblut. Extrakte wurden aus den folgenden Organen und Geweben hergestellt: Muskel und Leber des Kaninchens, der Katze, des Meerschweinchens und der Taube. Das Gewebe wurde unter Zusatz von 0,8procentiger Natriumchloridlösung zerrieben und entweder durch Gaze filtriert oder centrifugiert. Zur Herstellung der Extrakte wurden gleiche Quantitäten der Organe der verschiedenen Tiere verwendet. Es zeigte sich aber, daß die Resultate in gewissen Grenzen unabhängig waren von der Quantität der verarbeiteten Gewebe. Je 4 ccm dieser Extrakte wurden in kleine Reagenzröhrchen gegossen und in jedes Röhrchen sodann 2 ccm Blut, das der Carotis eines Kaninchens mit einer Canüle entnommen

<sup>1)</sup> Hofmeisters Beiträge I.

<sup>2)</sup> Hewlett, Über die Einwirkung des Peptonblutes auf Haemolyse und Bactericidie, Bemerkungen über die Gerinnung des Blutes. Arch. f. exp. Pathologie und Pharmakologie Bd. 49, 1903 (4. Juni). Diese Arbeit erschien einige Wochen vor meiner im Montreal Medical Journal veröffentlichten zweiten Mitteilung (1. Juli 1903).

wurde, einfließen gelassen. Blut und Extrakt wurden sofort durch Schütteln des Röhrchens gemischt. Es ist hierbei zu beachten, daß das während der Asphyxie dem Tiere entzogene Blut schwerer gerinnt. Zur Kontrolle wurde Blut in mit 4 ccm einer 0,8prozentigen Kochsalzlösung gefüllten Röhrchen aufgefangen, ferner wurden in verschiedenen Versuchen in einzelne Röhrchen Blutgerinnsel und Blutserum der Taube und des Meerschweinchens sowie Blutserum des Kaninchens gebracht. Fünf Versuchsreihen wurden angestellt und eindeutige Resultate erhalten. Die Extrakte von Muskel und Leber des Kaninchens waren am wirksamsten. Alle anderen Gewebsextrakte verursachten nur eine langsamere Gerinnung. Zuweilen war die Gerinnung in den Extrakten der Organe anderer Tiere sogar langsamer als in Natriumchloridlösung. Anders wie die Gewebsextrakte verhielten sich aber die Blutcoagula und Blutsera. Hier konnte bisher ein Unterschied zwischen der Wirksamkeit der von den verschiedenen Tieren herstammenden Substanzen nicht gefunden werden. Sie waren alle sehr wirksam. Die Leber- und Muskelextrakte desselben Tieres waren ungefähr gleich stark. Jedenfalls waren im Vergleich zu den Geweben fernerstehender Tierklassen keine wesentlichen Unterschiede vorhanden.

Als Beispiel möge Versuch V mitgeteilt werden, in dem die Unterschiede nicht so beträchtlich waren, wie in einzelnen anderen Versuchen. Zu diesem Versuch wurden verschiedene Verdünnungen benutzt.

Mischung in Reagenzröhren		Zeit bis zu vollständig. Gerinnung
2 ccm 0,8 p. c. NaCl-Lösung + 1 ccm Kaninchenblut . . .		5 Minuten
4 " 0,8 " " + 2 " " . . .		10 "
2 " Kaninchenmuskelextrakt + 3 ccm 0,8 p. c. NaCl-Lösung + 2 ccm Kaninchenblut . . .		sofort
1 " Kaninchenmuskelextrakt + 3 ccm 0,8 p. c. NaCl-Lösung + 2 ccm Kaninchenblut . . .		sofort
2 " Kaninchenleberextrakt + 1 ccm . . .		sofort
1 " Kaninchenleberextrakt + 3 ccm 0,8 p. c. NaCl-Lösung + 2 ccm Kaninchenblut . . .		1 Minute
2 " Meerschweinchenmuskelextrakt + 1 ccm Kaninchenblut		4 Minuten
1 " Meerschweinchenmuskelextrakt + 3 ccm " . . .		4 "
0,8 ccm NaCl-Lösung + 2 ccm Kaninchenblut . . .		4 "



Mischung in Reagenzröhren		Zeit bis zu vollständig. Gerinnung.
2 ccm Katzenmuskelextrakt + 1 ccm Kaninchenblut . . . .		2 Minuten
1 „ Katzenmuskelextrakt + 3 ccm NaCl-Lösung + 2 ccm Kaninchenblut . . . . .		2 „
2 „ Katzenleberextrakt + 1 ccm Kaninchenblut . . . . .		2 „
1 „ Katzenleberextrakt + 3 ccm NaCl-Lösung + 2 ccm Kaninchenblut . . . . .		2½ „
2 „ Taubenmuskelextrakt + 1 ccm Kaninchenblut . . . .		3 „
1 „ Taubenmuskelextrakt + 3 ccm NaCl-Lösung + 2 ccm Kaninchenblut . . . . .		3 „
2 „ Taubenleberextrakt + 1 ccm Kaninchenblut . . . . .		3 „
4 „ Taubenblutgerinnsel, in 0,8 p.c. NaCl-Lösung suspendiert, + 2 ccm Kaninchenblut . . . . .		etwa 1—2 „

2. Versuche mit Vogelblut. Diese Versuche sollen im besonderen nachher besprochen werden. Hier soll nur soviel bemerkt werden, daß es sich zeigte, daß die Gewebe von Gans, Huhn und Taube viel stärker auf das Blutplasma der Gans, das nach Delezennes Methode gewonnen wurde, wirkten als die meisten anderen Gewebe. In diesen Versuchen wurde nicht das Extrakt verschiedener Gewebe benutzt, sondern ein Stück des Organs (bezw. des Gewebes) selbst. Es zeigte sich, daß Unterschiede zwischen den verschiedenen Tieren bestehen. Es wurde in diesen Versuchen die spezifische Wirkung der Vogelgewebe festgestellt. Diese Specificität ließ sich hingegen ebenso wenig wie im Fall des Kaninchenblutes für die in den Blutgerinnseln oder in dem Serum des geronnenen Blutes befindlichen Fermente nachweisen.

3. Versuche mit dem Blute von Schildkröten. Zu diesen Versuchen wurden große Schildkröten benutzt. Es wurden 5 Versuche angestellt, die wiederum zeigten, daß das Blut eines Tieres am schnellsten unter dem Einfluß der Gewebs-extrakte desselben oder einer nahe verwandten Tierart coaguliert. In diesen Versuchen gerann das in Extrakten von Schildkrötenmuskel und Schildkrötenleber aufgefangene Blut bei weitem am schnellsten. In einem Versuch waren allerdings die Unterschiede nicht so deutlich, wie in allen andern; in diesem war eine etwas kleinere Schildkröte benutzt worden, und das Blut floß aus den durchschnittenen Halsadern des Tieres nur sehr langsam

heraus. Wir können annehmen, daß die mangelhafte Technik in dem einen Versuch die Unterschiede weniger deutlich hervortreten ließ. Leber und Muskel der Schildkröte, der Taube, des Kaninchens und des Meerschweinchens wurden versucht, und zur Kontrolle eine 0,8prozentige Natriumchlorid-Lösung. Je 1 ccm des Blutes, welches aus dem durchschnittenen Halse ausfloß, wurden in 2 ccm verschiedener Extrakte aufgefangen.

Versuch I sei als Beispiel angeführt.

In 4 Reagensröhrchen gefüllt mit je 2 ccm von Schildkrötenmuskel- und Schildkrötenleberextrakt, Gerinnung des Schildkrötenblutes nach 4 Min.

In einem Reagensröhrchen gefüllt mit Kaninchenmuskel-extract nach 10 Min., in einem zweiten nach 12 Min.

In Taubenleberextrakt; nach 10 Min. in dem einen, nach 18 Min. in dem zweiten Röhrchen.

In dem Röhrchen mit Taubenmuskel, Kaninchenleberextrakt und in 0,8 p. c. NaCl Lösung war nach 20 Min. noch keine Gerinnung eingetreten.

Versuche mit Froschblut. Sehr große Frösche („Bullfrogs“) wurden zu diesen Versuchen verwandt. Das Blut wurde gewonnen durch Durchschneiden der ventralen Seite des Tieres an der Grenze zwischen Brust und Hals. Je  $\frac{1}{2}$  ccm des schnell herausströmenden Blutes wurden in 1 ccm der Extrakte von Muskel und Leber von Frosch, Kaninchen, Taube und des Muskels des Meerschweinchens, sowie in 0,8 p. c. Natriumchlorid-Lösung aufgefangen. Sieben Versuche wurden angestellt; dieselben ergaben übereinstimmende Resultate. Extrakte von Froschgeweben waren bei weitem am wirksamsten; Leber- und Muskelextrakte der verschiedenen Tierarten zeigten keine wesentlichen Unterschiede.

Versuch V.

1 ccm 0,8 p. c. NaCl-Lösung  $+$   $\frac{1}{2}$  ccm Froschblut  $4\frac{1}{2}$  Minuten.

1 ccm Froschleberextrakt  $+$   $\frac{1}{2}$  ccm Froschblut  $1\frac{1}{2}$  Minuten.

1 ccm Taubenleberextrakt  $+$   $\frac{1}{2}$  ccm Froschblut noch flüssig nach 15 Minuten.

1 ccm Kaninchenleberextrakt  $+$   $\frac{1}{2}$  ccm Froschblut noch flüssig nach 15 Minuten.

1 ccm Froschleberextrakt  $+$   $\frac{1}{2}$  ccm Froschblut  $1\frac{1}{2}$  Minuten.

### Versuche mit Arthropodenblut.

Es wurden die früheren Befunde ausgedehnt und nachgewiesen, daß die verschiedenen Gewebe und auch die verschiedenen Blutcoagula von Wirbeltieren ohne Einfluß auf die Gerinnung des Arthropodenblutes ist. Die Spezifizität erstreckt sich also in diesem Falle nicht nur auf die Gewebescoagula, sondern auch auf die in den Blutcoagulis enthaltenen Fermente, während, wie wir oben sahen, und wie wir noch weiter sehen werden, eine solche scharfe Spezifizität zwischen den in den Blutcoagulis der Wirbeltiere enthaltenen Fermenten nicht besteht. Weitere Untersuchungen, über die später berichtet werden soll, zeigen innerhalb der wirbellosen ebenfalls eine Spezifizität der Gewebescoaguline.

2. Nachdem nun so die Spezifizität der Gewebescoaguline festgestellt war, wurden Versuche angestellt, um die Frage zu entscheiden, ob quantitative Unterschiede in der Wirkung der von verschiedenen anderen Species herrührenden Gewebe auf ein bestimmtes Blut beständen. Zu diesen Versuchen wurde das Blutplasma der Gans benutzt.<sup>1)</sup> Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß je 3 cem des nach der Methode von Delezenne gewonnenen Gänseplasmas in flache Schälchen gebracht wurde. In die Mitte des Schälchens wurde ein Stück desjenigen Gewebes gelegt, dessen Einfluß auf die Gerinnung untersucht werden sollte. Hierbei ergab sich nun in Übereinstimmung mit den früheren Untersuchungen am Arthropodenblute, daß die Coagulation direkt um das eingelegte Stück begann, und dann allmählich dem Boden des Schälchens entlang nach der Peripherie fortschritt. Also auch hier zeigte es sich, daß die die Gerinnung hervorrufenden Substanzen imstande sind, durch das gelatinöse Coagulum zu dringen. Doch kam es wohl, wenn auch selten, vor, daß die Gerinnung in der Peripherie begann. Es schien mir dies dann einzutreten, wenn das Gewebestück ausgewaschen war und vielleicht das anhaftende Wasser die gerinnungsbewirkende Substanz in die Peripherie führte, oder wenn das Blutplasma schon ohnehin

<sup>1)</sup> Für freundliche Unterstützung bei einer Anzahl der zu diesen Versuchen nötigen Operationen an Tieren bin ich Herrn Prof. Halsey und Herrn Dr. Morrow zu großem Danke verpflichtet.

der Gerinnung nahe war, Dies ist jedoch nicht sicher. Das Blutplasma wurde meist in 10 p. c. Verdünnung mit 0,8 p. c. NaCl. Lösung benutzt, doch wurden gewöhnlich auch einzelne Versuche mit unverdünntem Plasma und in Verdünnungen von 1 Teil Blutplasma in 5, 15, 20 und 20 Teilen der Mischung mit 0,8 p. c. NaCl. Lösung angestellt. Während bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung (direktes Auffangen des Blutes in den Gewebsextrakten) die Gerinnung sehr schnell eintritt und daher ein genauer quantitativer Vergleich der Wirksamkeit der verschiedenen nicht spezifisch wirksamen Extrakte sehr schwierig ist, schreitet bei der oben angegebenen Versuchsweise die Gerinnung so langsam fort, daß annäherungsweise quantitative Unterschiede in der Wirksamkeit der verschiedenen Extrakte festgestellt werden können, vorausgesetzt, daß dieselbe Menge Plasma, gleichgroße Schälchen und ein gleichgroßes Stück des Gewebes benutzt wird. Doch können nur die mit demselben Plasma angestellten Versuche untereinander verglichen werden, da das von verschiedenen Individuen herrührende Plasma in seiner Coagulationsfähigkeit etwas variiert, was wahrscheinlich durch Unterschiede in seinem Gehalte an Fibrinogen bedingt ist, während hingegen die relative Stärke der in den Geweben verschiedener Tiere enthaltenen Fermente im wesentlichen immer erkennbar ist.

Es zeigte sich nun, daß I. Unterschiede bestehen in der Stärke der von verschiedenen Tierarten herrührenden Gewebe. Vergleichen wir Leber und Muskel der verschiedenen Tierarten, so finden wir Gans, Huhn und Taube am wirksamsten. Ein beträchtlicher Unterschied in der Wirksamkeit der Gewebe dieser drei Tiere auf das Plasma der Gans konnte bisher nicht festgestellt werden. Außerordentlich viel schwächer wirken Muskel und Leber des Meerschweinchens und Kaninchens. Führt, wie das häufig der Fall war, ein Stück Muskel der Taube, die am häufigsten zu diesen Versuchen benutzt wurde, Gerinnung des Plasmas der Gans in 2—3 Stunden herbei, so braucht der Muskel des Meerschweinchens hierzu nicht selten 1—2 Tage. Trat in dem Plasma einer anderen Gans unter dem Einfluß des Taubenmuskels völlige Gerinnung erst nach 12 Stunden ein, so war der Meerschweinchenmuskel gewöhn-

lich völlig wirkungslos. Etwas stärker wie der Muskel des Meerschweinchens, aber doch recht schwach, wirkt gewöhnlich der Muskel und die Leber des Frosches. Verursachte Taubenmuskel völlige Gerinnung in 1—4 Stunden, so bewirkte Froschmuskel dieselbe Wirkung in etwa 16—24 Stunden. Viel stärker wirksam und dem Vogelgewebe an Stärke fast gleich sind Muskel und Leber von Katzen und Hunden. Zu diesen Versuchen werden hauptsächlich ganz junge Katzen benutzt. Die Gewebe von drei Hunden und zwei Katzen wurden geprüft. Der Muskel der Katze erwies sich annähernd, aber nicht ganz so wirksam wie der Muskel der Taube. In zwei Fällen waren die Gewebe zweier Hunde noch etwas schwächer, wie der Muskel der Katzen. In einem Fall war der Muskel eines Hundes ebenso kräftig wirksam, wie der Muskel der Taube. Umgekehrt sind, wie ganz kürzlich Hewlett<sup>1)</sup> fand, Extrakte von Vogelgeweben ganz oder fast wirkungslos gegenüber dem Blut von Hunden, während wie bekannt, Extrakte von Geweben des Hundes einen stark beschleunigenden Einfluß auf die Gerinnung des Hundebutes haben. Wir sehen also auch hier, daß die Gewebe einer Tierspecies sich anders verhalten gegenüber dem Blute ihrer eigenen und verwandten Arten, wie gegenüber dem Blute fernerstehender Tiere.

Es bestehen nun aber neben diesen spezifischen Substanzen auch nicht spezifische gerinnungsbeschleunigende. Wittes Pepton enthält einen solchen Stoff gegenüber dem Blutplasma der Gans. Aber auch in Geweben befinden sich solche Substanzen. Während, wie wir sahen, die bisher geprüften Gewebe und Blutcoagula der Wirbeltiere (auch das für die Gans sehr wirksame Coagulum der Hundelympe) auf das Blutplasma des Hummers ohne Wirkung sind, sind Gewebe wirbelloser Tiere nicht ohne Einfluß auf das Plasma der Gans. Muskel und Fibrin des Hummers verursachte mehrmals Gerinnung in 18—20 Stunden, während allerdings Taubenmuskel in solchen Fällen in wenigen Stunden wirkte. Viel kräftiger wirkte aber der Muskel von verschiedenen Krebsen. Dieser mag sogar schneller Gerinnung bewirken wie Taubenmuskel. Auch Muskelstücke von Fischen,

<sup>1)</sup> Arch. f. exp. Pathologie und Pharmakologie 1903.

wie vom Flunder, können kräftig wirken, wenn diese auch nicht so aktiv waren, wie Taubenmuskel.

Gewöhnlich wurden mehrere Einschnitte in ein Stück gemacht, bevor es in ein Blutplasma gelegt wurde, um etwaige Ungleichheiten verschiedener Stücke, die dadurch bedingt sein mochten, daß Bindegewebsfasern an einer Seite das Gewebe bedeckte, zu beseitigen. Die relative Stärke der verschiedenen Stücke wurde durch Zerschneiden gewöhnlich nicht beeinflusst. Doch kam es zuweilen vor, daß Zerschneiden in viele Stücke ein Gewebe, zum Beispiel ein Stück Froschleber wirksamer machte. Ausnahmsweise kam es auch vor, daß Meerschweinchenmuskel ziemlich wirksam war. In einigen Fällen wurden Muskelstücke des Frosches und des Meerschweinchens in flüssiger Luft gefroren und dann in kleinste Stücke zerstoßen und dem Blutplasma zugesetzt, um eine schnelle Extraktion aller gerinnungsbeschleunigenden Substanzen zu ermöglichen. Mehreremals wurde dadurch die Wirksamkeit des Muskels erhöht. Doch konnte auch in solchen Fällen Meerschweinchenmuskel fast ganz unwirksam sein. Taubenmuskel, welcher in dieser Weise behandelt war, gewann nicht an gerinnungsbeschleunigender Stärke. Alle diese Versuche verursachten also gewisse Variationen in der gerinnungserregenden Kraft der verschiedenen Substanzen, aber sogar in diesen modifizierten Versuchen trat meistens die spezifische Wirkung der Vogelgewebe deutlich hervor. In einem Versuche wurde Extrakt aus den nach Frieren in flüssiger Luft zerstoßenen Geweben hergestellt. Auch hier war Taubenmuskel-extrakt sehr wirksam, Meerschweinchenmuskelextrakt ganz unwirksam.

Die Größe der verschiedenen Gewebsstücke ist von Bedeutung. Größere Stücke wirken stärker, wie kleine. Doch kann dieser Faktor gewöhnlich nicht die charakteristischen Unterschiede zwischen den Geweben verschiedener Tiere verdecken. Auswaschen der Gewebe beseitigt ihre Wirkung nicht. Auch Zerkleinern ausgewaschener Stücke bringt keine wesentliche Veränderung in der Reihenfolge der Gewebe verschiedener Tiere hervor, falls im übrigen gleiche Bedingungen in bezug auf die Lagerung der Stücke (im Centrum des Schäl-

chens) eingehalten werden. Doch wurde in einem Falle die Wirksamkeit von Froschmuskel durch Zerkleinern des in flüssiger Luft gefrorenen Muskels beträchtlich erhöht.

In einem Versuch wurden statt der Gewebestücke selbst, mit 0,8 p. c. NaCl. Lösung unter Chloroformzusatz hergestellter Extrakt verschiedener Gewebe in gleichen Verhältnissen mit dem Plasma der Gans gemischt. Der Extrakt von Taubenmuskel war sehr wirksam, der des Meerschweinchens war wirkungslos. Extrakte von verschiedenen Blutcoagulis waren wirksam. Auch die durch Auswaschen des Taubenmuskels mit 0,8 p. c. NaCl. Lösung erhaltene Flüssigkeit ist imstande, Gerinnung zu bewirken. Ein kleines Stück Taubenmuskel, das mehreremale in frischem Plasma der Gans Gerinnung bewirkt hat, kann noch 2—3 Tage nach dem Ausschneiden aus dem Tierkörper in Blutplasma von neuem Gerinnung hervorrufen, ohne merklich an Kraft verloren zu haben.

Es wurden auch mehrere vergleichende Versuche mit ausgewaschenen Stücken von Blutgefäßen des Meerschweinchens einerseits und der Taube und Gans andererseits angestellt.<sup>1)</sup> Während letztere sehr wirksam waren, waren erstere völlig unwirksam. Also dieselben spezifischen Unterschiede, die sich in der Wirksamkeit des Muskels und der Leber zeigen, bestehen auch in der Wirksamkeit der verletzten Blutgefäßwand. Auch ein Stück des Peritoneums des Meerschweinchens mit dem anliegenden Muskelgewebe erwies sich unfähig, im Verlaufe eines Tages Gerinnung des Gänseplasmas zu bewirken. Es kommen nur selten größere Variationen in der gerinnungsbeschleunigenden Wirkung verschiedener Gewebe vor. So wurde einmal beobachtet, daß der Muskel des Meerschweinchens am ersten Tage in dem Plasma des Gänseblutes voll-

<sup>1)</sup> Diese Versuche wurden ausgeführt, von dem Gedanken geleitet, daß aus dem Blutgefäßendothel sich vielleicht gerinnungshemmende Stoffe extrahieren lassen möchten. In einer nach Abschluß dieser Arbeit mir zugänglich gewordenen Veröffentlichung (Zieglers Beiträge 1903) glaubt Gutzky bei einer anderen Versuchsanordnung imstande zu sein, solche gerinnungshemmende Wirkung nachzuweisen. Jedenfalls ergibt sich aus den hier mitgeteilten Versuchen, daß sein Schluß, daß zertrümmerte Gewebsteile qualitativ anders wirken, wie nicht zertrümmerte, in dieser allgemeinen Fassung nicht zutreffend ist.

ständig ohne Wirkung war, aber am zweiten Tage in dem Schälchen schnell Gerinnung hervorrief. Die Leber des Meerschweinchens war in diesem Falle ohne Wirkung. In einem anderen Falle bewirkte ein Stück des Muskels des Meerschweinchens in wenigen Stunden Gerinnung; doch war auch in diesem Fall Taubenmuskel kräftiger. Wahrscheinlich kommen zuweilen sehr starke Ansammlungen gerinnungserregender Stoffe in verschiedenen Geweben vor. Solche Fälle sind aber nicht häufig.

Vergleichen wir die Wirkung verschiedener Gewebe derselben Tierart, so finden wir gewisse Variationen; aber im allgemeinen sind die typischen Unterschiede zwischen den verschiedenen Tierarten in verschiedenen Geweben vorhanden. In der Mehrzahl der Fälle war wohl der Muskel der Taube etwas stärker wirksam, wie die Leber der Taube. Zuweilen war die Leber wirksamer. Die Leber des Frosches war meistens, aber nicht immer wirksamer wie Froschmuskel. Zweimal war der Muskel des Hundes wirksamer als die Hundeleber, einmal bestand das umgekehrte Verhältnis. Auch beim Meerschweinchen sind meist Leber und Muskel gleich schwach in ihrer Wirkung. Zerschnittene Lymphdrüsen des Meerschweinchens waren gewöhnlich wirksamer als Muskel und Leber und Gefäßwand desselben Tieres. In einem Falle waren sie sogar so wirksam wie Taubenmuskel. Auch Eier des Frosches erwiesen sich wirksam. In den beiden letzten Fällen sind wohl besondere gerinnungserregende Substanzen, deren Wirkung nicht auf bestimmte Tierarten beschränkt ist, vorhanden. Im allgemeinen aber ist die Wirkung verschiedener Organe derselben Tierart von ähnlicher relativer Größe.

Vergleichen wir nun die Wirksamkeit der Blutcoagula oder des Fibrins verschiedener Tiere untereinander, indem wir dieselbe Versuchsanordnung anwenden, wie in dem Falle der Gewebsstücke, so finden wir im Gegensatz zu den Geweben, daß hier eine Spezifität nicht nachweisbar ist. Wir finden Unterschiede in der Wirksamkeit verschiedener Blutcoagula, aber eine bestimmte Beziehung des Blutcoagulums einer bestimmten Tierspecies zu dem eigenen Blute oder zu dem einer verwandten Tierart ließ sich nicht erkennen. So



war zum Beispiel in den meisten Versuchen das Blutcoagulum der Taube oder der Gans von geringerer Wirksamkeit, wie das Coagulum des Meerschweinchens, dessen Muskel eine so geringe coagulierende Kraft für das Plasma der Gans hatte. Doch kam es vor, daß Taubencoagulum etwas wirksamer war, als Meerschweinchencoagulum. Ein großer Unterschied in der Wirksamkeit beider bestand nicht. Doch war das Coagulum von Hundeblut merklich wirksamer als Meerschweinchen- und Vögelcoagulum. Das Blut dreier Hunde wurde benutzt. In einem Falle führte dasselbe zum Beispiel in 1½ Stunden völlige Gerinnung des Gänseplasma herbei. Es war in diesem Falle wirksamer wie Taubenmuskel. Als ebenso wirksam erwies sich der Zusatz von 1 ccm vom Serum des Hundeblutes zu 3 ccm Gänseplasma.

Das Coagulum der Lymphe, welche ohne Beimengung von Blut dem Ductus thoracicus zweier Hunde entnommen wurde, erwies sich ebenso wirksam, aber nicht wirksamer als das Blutcoagulum derselben Hunde. Die Gewebe der Hunde erwiesen sich in diesem Falle merklich schwächer wirksam, als die Coagula. Auch das Blutcoagulum der Katze war wirksamer als das der Taube und des Meerschweinchens. Ebenso verursachten einige Tropfen der menschlichen Pericardialflüssigkeit (mit suspendierten Zellen), 6 Stunden nach dem Tode zu 2 ccm Gänseplasma zugesetzt, Gerinnung, ebenso wie derselben Leiche entnommenes noch flüssiges Blut. Das Blutcoagulum des Frosches bewirkte gewöhnlich, aber nicht immer, langsamere Gerinnung wie die vorher erwähnte Coagula. In dem Blutcoagulum des Frosches tritt gewöhnlich im Verlaufe mehrerer Stunden Fibrinolyse ein. Die Möglichkeit ist denkbar, daß ein dem Fibrinferment antagonistisches Ferment die Auflösung des Fibrins bewirkt, und daß deshalb der spontanen Auflösung verfallenes Fibrin seine gerinnungserregenden Wirkungen verloren haben möchte. Dies ist jedoch nicht der Fall. In einem Versuch hatte völlig aufgelöstes Blutcoagulum des Frosches seine coagulierenden Wirkungen auf das Gänseplasma bewahrt.

Häufig war eine gewisse Menge ausgetretenen Blutserums und ausgewaschener Blutkörperchen um das in dem Gänse-

plasma liegende Blutcoagulum vorhanden. Die Coagulation des Blutplasmas der Gans fand gewöhnlich bald in der unmittelbaren Umgebung dieser aus dem Blutcoagulum ausgetretenen Substanzen statt, schritt aber dann etwas langsamer weiter in die Peripherie fort.

Vergleichen wir die gerinnungsbewirkende Kraft der Blutcoagula verschiedener Tiere mit den Geweben der Taube, so finden wir, daß Taubenmuskel gewöhnlich schneller wirkte als das Blutcoagulum der Taube, und daß derselbe oft, aber nicht immer, auch dem Meerschweichencoagulum überlegen war. Das Blutcoagulum des Hundes wirkte stärker als Taubenmuskel, das der Katze gleich stark. Extrakte des Blutcoagulums der Taube und des Meerschweinchens in 0,8 p.c. NaCl-Lösung (zehn Tropfen des Extraktes wurden zu 3 ccm Plasma zugesetzt), waren sehr wirksam. Das Extrakt des Meerschweinchens war wirksamer als dasjenige der Taube. Das Blutcoagulumextrakt des Meerschweinchens bewirkte völlige Coagulation des Gänseplasma in  $1\frac{1}{2}$  Stunden, das Extrakt des Blutcoagulums der Taube brauchte hierzu 4 Stunden. Taubenmuskelextrakt bewirkte ebenfalls in  $1\frac{1}{2}$  Stunden völlige Coagulation.

Zwei Tage altes Blutcoagulum des Meerschweinchens, welches bereits Coagulation des Gänseplasmas bewirkt hatte, hatte seine gerinnungserregende Kraft nicht verloren. In allen diesen Versuchen finden wir, daß die Blutcoagula nicht spezifisch wirken.

Wenn wir statt der Blutcoagula Blutzellen zu dem Blutplasma der Gans hinzufügen, so ist die Wirkung eine viel geringere. Falls wir Blutplasma der Gans nicht zentrifugieren, gerinnt dasselbe allerdings viel schneller wie nach vorheriger Centrifugierung, wie schon Delezenne zeigte. Ebenso kann in wenigen Stunden Gerinnung eintreten, wenn wir nach dem Centrifugieren das Blutplasma in Contact mit dem Blutkörperchen lassen. Hierbei beginnt die Gerinnung in der Nähe der Blutzellen. Wenn wir aber in gewöhnlicher Weise eine 10 p. c. Verdünnung des Blutplasmas benutzen und eine den in den gewöhnlichen Versuchen benutzten Geweben oder Coagulis an Volumen ungefähr gleiche Menge zentrifugierter Blutkörper in die Mitte des Schälchens, welches 3 ccm Blutplasma enthält,

bringen, so ist die Wirkung eine geringe. Mit centrifugierten und darauf mit normaler Salzlösung gewaschenen roten Blutkörperchen der Gans trat gewöhnlich im Verlauf von 2—3 Tagen überhaupt keine Gerinnung ein. Sogar vorher im Mörser zerstoßene rote Blutkörperchen waren unwirksam. Wurde eine Mischung von Blutplättchen und weißen Blutkörperchen dem Blutplasma zugesetzt, so war meist eine gewisse Beschleunigung der Gerinnung bemerkbar: doch war dieselbe nur geringfügig im Vergleich zu der Beschleunigung, welche durch Gewebe eines Vogels oder durch Blutcoagula bewirkt wurde. So trat in einem Falle unter solchen Umständen Coagulation nach  $1\frac{3}{4}$  Tagen ein, in einem anderen Falle war sogar der Zusatz von einem Gemisch von weißen und roten Blutzellen der Gans, die in einem anderen Schälchen beginnende Gerinnung des unverdünnten Plasmas bewirkt hatten, ohne Wirkung auf das verdünnte Plasma. Auch Zusatz von einigen Tropfen Blutserum der Gans zu 3 ccm Blutplasma war in einem Versuch wirkungslos. In diesen Fällen sind die Blutzellen nicht in dem Plasma verteilt, wie dies in dem uncentrifugierten Blut der Fall ist, und ferner wirken sie nicht auf unverdünntes Plasma. Die Wirksamkeit der in den verschiedenen Geweben vorhandenen Coaguline hängt in bestimmter Weise von der Concentration des Gänseplasmas ab, oder genauer wahrscheinlich von der Concentration des in dem Plasma enthaltenen Fibrinogens. Die in den Geweben enthaltenen Coaguline verlieren ihre Wirksamkeit, wenn das Plasma stärker wie 1 : 15 verdünnt ist. Eine Verdünnung von einem Teil Plasma mit 14 Teilen 0,8 NaCl. Lösung verhindert schon gewöhnlich ihre Wirkung. Sie sind wirksam bei einer 10 p. c. Verdünnung des Plasmas. Gleichzeitig Zusatz von Muskelstücken und Blutserum erhöhte in einem Versuch die Gerinnung des verdünnten Gänseplasmas nicht.

Das Optimum der Wirksamkeit findet sich bei dem Plasma verschiedener Gänse bei verschiedenen Verdünnungsgraden. In der Mehrzahl der Fälle koaguliert ein unverdünntes Plasma schneller und vollständiger, wie ein durch 9 Teile einer 0,8 p. c. NaCl.-Lösung verdünntes. Doch war das Verhältnis in einer Anzahl der Fälle gerade umgekehrt. Das verdünnte Plasma gerann schneller und vollständiger, wie das unverdünnte. Es kam vor,

daß, während in dem verdünnten Plasma unter dem Einfluß eines Stückes Taubenmuskels eine schnelle und vollständige Gerinnung eintrat, in dem unverdünnten Plasma ein gleiches Stück Muskel völlig wirkungslos war, oder daß sehr bald, nachdem sich in dem unverdünnten Plasma ein Coagulum um das Muskelstück gebildet hatte, die weitere Coagulation unterblieb. In solchen Fällen war vermutlich die Konzentration des Fibrinogens in dem Plasma eine sehr bedeutend größere. Wahrscheinlich analoge Verhältnisse finden sich auch bei gewissen Immunisationsreaktionen, indem durch eine Vermehrung der präzipitablen Substanz über ein Optimum hinaus die Präzipitinbildung verringert oder ganz aufgehoben wird. Andererseits zeigte ein Stück des schwachwirkenden Meerschweinchenmuskels auch in unverdünntem Plasma nur eine geringe Wirkung.

Die Wirkungsbreite der verschiedenen Blutcoagula liegt in weiteren Grenzen. Dieselben sind gewöhnlich noch bei einer Verdünnung von 1 Teil Plasma mit 29 Teilen 0,8 p. c NaCl.-Lösung wirksam, wenn auch bei den stärksten Verdünnungsgraden das sich bildende Coagulum nunmehr ein ganz lockeres ist. Bei einer noch stärkeren Verdünnung werden auch die Blutcoagula unwirksam. Wir finden also, daß, während bei geringen Verdünnungsgraden der Taubenmuskel gewöhnlich stärker oder ebenso wirksam ist wie das Blutcoagulum der Taube, bei höheren Verdünnungen das Blutcoagulum noch wirksam ist, der Muskel oder die Leber aber vollständig wirkungslos sind.

Es wurde oben angegeben, daß, wenn das Blut von verschiedenen Säugetieren in einem Überschuß von auf 56—57 Grad erwärmter 0,8 p. c. NaCl.-Lösung aufgefangen und dann zentrifugiert wird, dasselbe längere Zeit nicht gerinnt. Fängt man etwa 2—3 ccm Blut des schnell ausströmenden Blutes des Meerschweinchens in 35—40 ccm der NaCl.-Lösung auf, so unterbleibt die spontane Coagulation meist 20 Stunden oder länger. Doch kam es vor, daß auch in einem solchen Falle nach 6 Stunden spontane Coagulation eintrat. 3 ccm Meerschweinchenblut in 15 ccm der auf 63—64 Grad erwärmten Salzlösung aufgefangen, gerann nach einer halben Stunde. 4 cmm Meerschweinchenblut in 17 ccm der auf 60 Grad er-

wärmten NaCl.-Lösung aufgefangen, gerann während des Zentrifugierens. 5 ccm Meerschweinchenblut in 35 ccm auf 56 Grad erwärmter 8 p. c. NaCl.-Lösung aufgefangen, gerinnt ebenfalls während des Zentrifugierens. Dieselbe Menge Blut in 35 ccm auf 59—60° erwärmter NaCl.-Lösung aufgefangen, gerinnt 20 Minuten später. Taubenblut in einer Verdünnung von 2 ccm : 35 ccm 0,8 p. c. NaCl.-Lösung bleibt gewöhnlich längere Zeit ungeronnen, auch wenn die NaCl.-Lösung vorher nicht erwärmt war, falls das Blut schnell ausfließt und während des Ausfließens nicht mit Blutgerinnsel in Berührung kommt. Derartiges Plasma von Säugetier- oder Vogelblut kann nun zu ähnlichen Versuchen benutzt werden, wie das nach Delezennes Methode gewonnene Plasma der Gans. Unter diesen Umständen ist jedoch das Plasma mehr als zehnfach verdünnt und wir finden daher ähnliche Verhältnisse, wie bei dem mehr als zehnfach verdünnten Plasma der Gans. Wir finden, daß in der Regel die solchem Plasma zugesetzten Blutcoagula verschiedener Tiere schnell den Beginn der Coagulation veranlassen, daß aber gewöhnlich die Muskelstücke verschiedener Tiere (auch die derselben Tierspezies angehörigen) wirkungslos sind. Doch ist das Verhalten derartig verdünnten Blutplasmas keineswegs so konstant, wie das des nach Delezennes Methode aufgefangenen Gänseplasmas. Jenes Plasma ist in einem sehr labilen Zustand und ist oft nahe der spontanen Gerinnung. Zusatz von Fremdkörpern, z. B. einer größeren Menge pulverisierter Kohle, hat daher gewöhnlich einen deutlich beschleunigenden Einfluß auf seine Gerinnung. In solchen Fällen, wo Kohle wirkt, sind dann auch andere Gewebe oft wirksam, wie Leber der Taube oder des Frosches, oder auch Leber des Meerschweinchens. Doch kommen Fälle vor, wo Kohle unwirksam ist, die Blutcoagula jedoch wirksam sind. Es ist nun bemerkenswert, daß, obwohl solches Plasma gewöhnlich leicht gerinnt, in den meisten Fällen Muskel ohne Wirkung war. Nur wenige Ausnahmen kamen vor. Wurde derartig verdünntes und erwärmtes oder nur verdünntes Blut (Taube) nicht zentrifugiert, so trat auch hier meist viel schnellere Gerinnung ein, wie nach vorherigem Zentrifugieren. Auch wenn bald, z. B. nach einigen Stunden spontane Coagulation eintrat, beschleunigte gewöhnlich die Anwesenheit von Blut-

coagulum oder Kohle den Beginn der Gerinnung und bestimmte die Stelle, an der Fibrin sich zuerst abgelagerte. Trat die Gerinnung schon sehr schnell, z. B. nach 20 Minuten spontan ein, so konnte auch dann gewöhnlich der Einfluß des Coagulums oder einer größeren Menge Kohle nachgewiesen werden. Das aus dem schnell gerinnenden Blutplasma, welches sich in flachen Schälchen ohne Zusatz von Coagulum oder Kohle befand, sich bildende Coagulum klebte nach der Gerinnung an den Boden des Schälchens fest. War aber vor der Gerinnung Kohle oder ein Blutcoagulum in das Schälchen gelegt worden, so klebte das sich schnell bildende Coagulum gewöhnlich nicht an dem Boden des Schälchens fest, sondern in diesem Falle bildete das Blutcoagulum oder die Kohle das Gerinnungszentrum, mit dem allein das sich bildende Coagulum in festem Zusammenhang sich befand. Ähnliche Beobachtungen konnten auch an dem Plasma der Gans gemacht werden. Inwiefern derartige Umstände unter pathologischen Bedingungen von Bedeutung werden können, das soll später besprochen werden.

Falls Lösungen von Wittes Pepton (Albumosen) in den Kreislauf des Hundes oder der Katze injiziert werden, so wird die spontane Blutgerinnung aufgehoben. Setzt man in vitro 1 ccm oder auch nur 6 Tropfen einer 10—12 p. c. Lösung von Wittes Pepton zu 3 ccm einer 10 p. c. Lösung des Blutplasmas der Gans, so findet eine deutliche Beschleunigung der Gerinnung statt. Nach dem Ablauf der ersten Stunde bilden sich oft Fäden, und später erfolgt gewöhnlich eine Coagulation des gesamten Plasmas. Die Wirkung einer derartigen Albumosenlösung ist gewöhnlich schwächer wie der Zusatz von Vogel-muskel oder Blutcoagulum, ist aber meist stärker wie der Zusatz von Froschmuskel. Die Zeit, in der das Pepton wirksam ist, ist in dem Blutplasma verschiedener Gänse verschieden. Gerinnt das Plasma nach dem Zusatz anderer Agentien nur sehr langsam, so kann Wittes Pepton ganz unwirksam sein. Hier wirkt also Pepton auf das Blutplasma ohne Vermittlung der Leukocyten. Von einigen Forschern war angenommen worden, daß Pepton durch Zerstörung der Leukocyten wirke. Auf das Plasma des Hummerblutes wirkt Pepton, wie ich früher

zeigte,<sup>1)</sup> stark gerinnungshemmend. Es ist nun von Interesse, daß beide Wirkungen hauptsächlich Wittes Pepton zukommen, während das von Merck hergestellte Pepton fast ohne Wirkung ist. Es beschleunigt die Gerinnung des Gänseplasmas entweder nicht oder in viel geringerem Maße wie Wittes Pepton und hebt andererseits auch nicht die Gerinnung des Hummerblutes auf.

Nur einmal war eine Ausnahme vorhanden, indem Mercks Pepton die Gerinnung des Gänseplasmas beschleunigte, Wittes Pepton jedoch nicht. Auf das stark verdünnte, nach der oben angegebenen Methode bereitete Blutplasma des Meerschweinchens oder des Vogels wirkt Wittes Pepton ebenfalls gerinnungsbeschleunigend; doch wirkt auch hier oft Mercks Pepton, letzteres jedoch gewöhnlich nur dann, wenn indifferente Stoffe verschiedener Art eine schnelle Gerinnung bewirken, also das Blutplasma der spontanen Gerinnung sehr nahe ist.

Werden Lösungen von  $\text{CaCl}_2$  in verschiedener Konzentration dem Gänseplasma zugesetzt, so findet eine Beschleunigung der Gerinnung im Laufe der nächsten 2—3 Tage nicht statt. Wenn 1 ccm einer 28 p. c. Harnstofflösung zu 4 ccm Hummerplasma zugesetzt wird, findet eine beträchtliche Verlangsamung der Gerinnung statt. Auf das Blutplasma der Gans schien Harnstoff keine spezifische Wirkung auszuüben.

Es wurde bereits oben wiederholt auf die bekannte gerinnungsbeschleunigende Wirkung von chemisch inerten Fremdkörpern hingewiesen. Das Blutplasma der verschiedenen Tierarten verhielt sich nicht gleichartig Fremdkörpern gegenüber. Auch ist die Wirkung verschiedener Fremdkörper verschieden. Auf das nach Delezennes Methode gewonnene zehnfach verdünnte Blutplasma der Gans wirken Fremdkörper immer bedeutend schwächer wie Vogelmuskel oder ein Stück Blutcoagulum. Eine geringe Menge pulverisierter Holzkohle hat meistens im Laufe der nächsten Tage überhaupt keinen Einfluß auf die Gerinnung. Auch der Zusatz von sehr viel Kohle hat gewöhnlich keinen sehr starken Einfluß. In einem Falle erfolgte hierauf z. B. erst nach zwei Tagen Gerinnung. Auch der Zusatz von Kohle nebst einem Stück Agar, in der Form, in der er als Nähr-

<sup>1)</sup> Dieses Archiv, Bd. 173.

medium für Bakterien benutzt wird, hat gewöhnlich keinen merklichen Einfluß auf die Gerinnung. Stärker wirken aber Substanzen, die Wasser aufnehmen, wie Filtrierpapier und ein Stück des trockenen, käuflichen Agars. Bei gleichzeitigem Zusatz von Filtrierpapier und Kohle kann schon nach  $3\frac{3}{4}$  Stunden ein wenig Gerinnung vorhanden und nach etwa 16 Stunden völlige Gerinnung eingetreten sein. In einem anderen Falle war zu dieser Zeit erst die Hälfte des Plasmas geronnen. Die Einwirkung ist hier also viel geringer, als die des Vogel Muskels und der Blutcoagula. Bei dem sehr verdünnten, vorher erwärmten Blutplasma des Meerschweinchens hingegen ist die Einwirkung von einer größeren Menge Kohle eine stärkere als beim Blutplasma der Gans. Hier kann die Wirkung der Kohle ebenso stark sein, als die des Blutcoagulums. Es hat also bei dem der spontanen Gerinnung nahen Blutplasma des Meerschweinchens der Muskel des Meerschweinchens oder der Taube gewöhnlich keine Wirkung, der chemisch indifferente Fremdkörper kann kräftiger wirken, obwohl doch auch wahrscheinlich beim Meerschweinchen, ebenso wie bei anderen hierauf untersuchten Tieren, der eigene Muskel spezifisch gerinnungsbeschleunigende Substanzen besitzt. Diese sind jedoch in der hier angewandten Verdünnung des Plasmas nicht wirksam. Beim Hummer waren alle bisher angewandten Fremdkörper völlig außer Stande, eine Gerinnungsbeschleunigung zu bewirken.

Die Unterschiede, die sich in dem Verhalten des Hummerblutplasmas und dem Blutplasma der Gans in Bezug auf die Wirkung des Peptons und der Fremdkörper ergaben, legten es nahe, auch ihr Verhalten gegen Blutegelextrakt zu prüfen. Der Extrakt wurde in der Weise hergestellt, daß die Köpfe einiger Blutegel durch Frieren in flüssiger Luft zu einer fein pulverisierbaren Masse umgewandelt wurden. Das erhaltene Pulver wurde sodann in 0,7 p. c. NaCl.-Lösung unter Chloroformzusatz extrahiert. 4—7 Tropfen dieses Extraktes verhinderten die Coagulation von 3 ccm des Blutplasmas der Gans, auch wenn demselben ein Stück Taubenmuskel oder ein Stück Blutcoagulum zugesetzt waren. Wurde die gleiche oder eine größere Menge von Blutegelextrakt zu 4 ccm Hummerplasma, welchem Hummermuskel oder Hummerfibrin beigelegt waren, hinzuge-



setzt, so war dieselbe nicht imstande, die Coagulation zu verhindern. In einigen Versuchen wurde der Extrakt mit dem Hummerplasma gemischt und vor dem Zusatz des Muskels oder des Fibrins  $\frac{1}{2}$  Stunde stehen gelassen. Auch dann war der Extrakt nicht imstande, die Coagulation aufzuheben. Zuweilen trat hierbei jedoch eine leichte Abnahme in der Menge des gebildeten Coagulums ein. Diese war aber in aller Wahrscheinlichkeit nicht die Folge eines spezifischen Einflusses des Extraktes, sondern wurde wohl durch schnelle Zunahme der Fäulnis in dem Hummerplasma veranlaßt, welche unter dem Einfluß des Bluteglextraktes nebst den darin suspendierten Teilen der Blutegelköpfe bald eintrat.

Es sei hier kurz über einige Versuche berichtet, die unternommen wurden, um zu bestimmen, ob Blutplasma oder die in dem Blutcoagulum (Fibrin des Hummers) enthaltenen Gerinnung erregenden Substanzen durch die Temperatur der flüssigen Luft in Bezug auf ihr Verhalten bei der Gerinnung verändert würden.<sup>1)</sup>

Hummerblut, welches direkt nach dem Ausfließen aus dem Tiere in einem in flüssiger Luft befindlichen Reagenzröhrchen aufgefangen wurde und 25 Minuten darin belassen wurde, bildete nach dem Auftauen eine geronnene, gelatinöse Masse. Hummermuskel und Hummerfibrin hatten, wenn sie ebenso lange einer solchen Temperatur ausgesetzt worden waren, nicht an gerinnungserregender Wirksamkeit verloren. Dasselbe Resultat wurde in einem anderen Versuch erhalten, in dem Hummerplasma und Hummerfibrin einzeln  $\frac{1}{2}$  Stunde lang in flüssiger Luft belassen wurden. In ähnlicher Weise verlor Blutplasma der Gans, nachdem dasselbe 40 Minuten lang in flüssiger Luft gewesen war, nicht an Gerinnungsfähigkeit. Nach dem Auftauen gerann es schnell auf Zusatz eines Stückes des Muskels eines Huhnes. Ebenso wenig verlor das Blutcoagulum der Gans merklich an Wirksamkeit durch 40 Minuten langes Verweilen in flüssiger Luft. In ähnlicher Weise ist es bereits für proteolytische Fermente bekannt, daß ihre Wirksamkeit durch die Temperatur der flüssigen Luft nicht aufgehoben wird.

<sup>1)</sup> Herr Prof. Cox und Herr Prof. Rutherford überließen mir in freundlicher Weise die zu diesen Versuchen nötige flüssige Luft.

Nur einmal wurde gefunden, daß Blutcoagulum des Meer-schweinchens, nachdem es bei der Temperatur der flüssigen Luft zerstoßen war, nachher völlig unfähig war, im Blutplasma der Gans Gerinnung hervorzurufen. Es ist schwierig, eine solche Ausnahme zu erklären.

Die Tatsache, daß das Blutplasma der Gans für längere Zeit ungeronnen erhalten werden kann, macht es möglich, den Einfluß von Bakterien auf die Gerinnung des Blutes *in vitro* zu untersuchen. Solche Versuche wurden begonnen, und hier seien kurz einige der bisher erhaltenen Resultate mitgeteilt. Es ergab sich, daß bei Mischung von verdünntem Blutplasma der Gans mit Bouillonkulturen (mit oder ohne Zusatz von Pepton zur Bouillon) in gewissen Proportionen verschiedene Bakterien konstante Unterschiede in ihrem Einfluß auf die Gerinnung des Plasmas zeigen. Unter den bisher untersuchten Bakterien zeigte der *Staphylococcus pyogenes aureus* bei weitem den größten Einfluß auf die Gerinnung. 6—10 Tropfen einer Bouillonkultur führten gewöhnlich in 4—6 Stunden die Gerinnung von 3 ccm 10 p. c. Gänseplasma herbei. Der *Bacillus Diphtheriae*, *Bacillus Xerosis*, *Bacillus Typhi*, *Bacillus Tuberculosis* und der *Streptococcus pyogenes* erwiesen sich ohne bemerkenswertes Coagulationsvermögen. Hierbei muß aber in Betracht gezogen werden, daß bisher nur schwache *Streptococcus*kulturen verwendet werden konnten, und daß der *Bacillus Tuberculosis* nur in Form einer Suspension einer *Glycerinagarkultur* in 0,8 p. c. NaCl.-Lösung verwendet wurde. Bouillonkulturen werden vielleicht ein anderes Resultat ergeben. Der *Bacillus Pyocyaneus*, *Bacillus Prodigiosus* und *Bacillus Coli* haben eine merklich schwächere Wirkung wie der *Staphylococcus*. Sie übertreffen jedoch die vorher genannte Gruppe von Organismen. Diese Wirkung der Bakterien ist nicht eine einfache Fremdkörperwirkung, die Menge der verwandten Bakterien ist nicht der wesentliche Faktor. Auch die Reaktion der Flüssigkeit kann durch Kontrollversuche als Ursache der Gerinnungsbeschleunigung ausgeschlossen werden. Sterilisieren der *Staphylococcus*kultur im Autoklaven vernichtet oder schwächt wesentlich ihre gerinnungsbeschleunigende Wirkung. Wahrscheinlich sind gelöste Stoffwechselprodukte der Bakterien die Ursache ihrer Wirkung auf die Coagulation des Plasmas.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß der Staphylococcus denselben gerinnungsbeschleunigenden Einfluß im Tierkörper ausübt. Wenn wir das verdünnte Blutplasma der Gans in die Peritonealhöhle eines Kaninchens oder einer Taube injizieren, so tritt, wie mehrere Versuche zeigten innerhalb der nächsten zwei Stunden keine Coagulation innerhalb des Körpers ein. Das der Peritonealhöhle des Kaninchens nach zwei Stunden entnommene Plasma gerinnt aber wie gewöhnlich außerhalb des Tierkörpers nach Zusatz von Muskel einer Taube. In zwei Versuchen wurden einmal in die Peritonealhöhle eines kleinen Kaninchens, ein anderes Mal in die Peritonealhöhle einer Taube je 8 ccm des verdünnten Blutplasmas der Gans injiziert und 15 Minuten nachher wurde in die Peritonealhöhle beider Tiere je 1 ccm einer mehrere Wochen alten Bouillonkultur des Staphylococcus pyogenes aureus eingeführt. Gewöhnlich tritt die coagulierende Wirkung des Staphylococcus erst nach 4—6 Stunden zutage. Nach zwei Stunden war jedoch das injizierte Plasma in dem Kaninchen lose coaguliert, in der Taube war zu dieser Zeit noch keine Coagulation eingetreten.

Als Beispiele seien die Versuchsprotokolle von Versuch 44 wiedergegeben. Wie oben angegeben, zeigen manche Versuche kleine Variationen in der Fähigkeit einzelner Gewebe, die Coagulation zu beeinflussen. Solche Variationen treten auch in Versuch 44 hervor. Nur eine große Anzahl von Versuchen ermöglicht es mit Sicherheit, den Einfluß verschiedener Gewebe zu vergleichen.

Versuch 44. (7. Mai 1903.) (u. P. G. = unverdünntes Blutplasma der Gans. 1:10 G. P. = 10fach verdünntes Blutplasma. Die Versuche sind bei Zimmertemperatur ausgeführt.)

1. 3 ccm u. G. P. + Stück Taubenmuskel. 4,30 p. m. Um 5,40 p. m.  $\frac{3}{4}$  coaguliert. 6,55 p. m. fast völlig coaguliert.

2. 1:10 G. P. + Stück Taubenmuskel. 4,30 p. m. Um 5,40 kleines lokales Coagulum um Taubenmuskel. 6,15 p. m. lokales Coagulum, kleine runde Gerinnself in der Nachbarschaft. 8,00 p. m.  $\frac{1}{3}$  des Plasmas um den Muskel coaguliert. Am 8. Mai 9,00 a. m. völlig coaguliert.

3. 1:10 G. P. + Stück Taubenblutcoagulum. 4,30 p. m. Um 6,15 p. m. kleines lokales Coagulum. Am 8. Mai 9,00 a. m.  $\frac{1}{3}$  coaguliert (lokal um Taubenblutcoagulum). 6,00 p. m. fast ganz coaguliert.

4. 1:10 G. P. + Blutcoagulum derselben Gans. 4,30 p. m. Am 8. Mai

9,00 a. m. keine Coagula. 6,00 p. m. kleines lokales Coagulum. Am 9. Mai 9,00 a. m.  $\frac{3}{4}$  coaguliert.

5. 1:10 G. P. + Taubenherzmuskel. 4,30 p. m. Um 6,15 p. m. ein wenig Coagulation am Rande des Schälchens. 8,00 p. m. kein Fortschritt. 8. Mai 9,00 a. m.  $\frac{1}{2}$  coaguliert lokal um Herzmuskel. 6,00 p. m.  $\frac{3}{4}$  coaguliert. Am 9. Mai 9,00 a. m. alles coaguliert.

6. 1:10 G. P. + Stück Hoden der Taube. 4,30 p. m. Um 8,00 p. m. keine Coagulation. 9,00 a. m. am 8. Mai Spuren Coagulum um Hoden. 6,00 p. m. kleines lokales Coagulum und kleine Körner von Coagulum in der Nachbarschaft vom Boden des Schälchens. 9. Mai 9,00 a. m. lokales Coagulum etwas ausgedehnt.

7. 1:10 G. P. + Stück Leber des Frosches (in mehrere Teile zerschnitten). 4,30 p. m. Am 8. Mai 9,00 a. m. keine Coagulation. 6,00 p. m. keine Coagulation. 9. Mai keine Coagulation.

8. 1:10 G. P. + Stück Froschmuskel (in mehrere Teile zerschnitten). 4,30 p. m. 8. Mai 9,00 a. m. keine Coagulation. 6,00 p. m. ein wenig Coagulation lokal am Muskel. 9. Mai morgens  $\frac{1}{2}$  coaguliert.

9. 1:10 G. P. + zu Brei zerstoßene Froscheier. 4,30 p. m. 8,00 p. m. keine Coagulation. 8. Mai 9,00 a. m. lokale Coagulation. 6,00 p. m.  $\frac{1}{2}$  coaguliert. 9. Mai 9,00 a. m. ganz coaguliert.

10. 1:10 G. P. + pulverisierte Holzkohle (Messerspitze voll). 4,30 p. m. 9. Mai 9,00 a. m. keine Coagulation.

11. 1:10 G. P. (3 ac) + 1 ccm 10 p. c. Mercks Pepton. 4,30 p. m. 9. Mai 9,00 a. m. keine Coagulation.

12. 1:10 G. P. + Stück Blutcoagulum des Meerschweinchens. 5,40 p. m. 6,20 p. m. lokales Coagulum um das Blutcoagulum des Meerschweinchens. 8,00 p. m.  $\frac{1}{4}$  coaguliert. 8. Mai 9,00 a. m. ganz coaguliert.

13. 1:10 G. P. + Muskel des Meerschweinchens (in Stücke zerschnitten). 5,40 p. m. keine Coagulation. 9. Mai 9,00 a. m. keine Coagulation.

14. 1:10 G. P. + Leber des Meerschweinchens. 5,40 p. m. 9. Mai 9,00 a. m. keine Coagulation.

15. 1:10 G. P. + Niere des Meerschweinchens (in Stücke zerschnitten). 5,40 p. m. 9. Mai a. m. keine Coagulation.

16. 1:10 G. P. + Lymphdrüsen des Meerschweinchens (in Stücke zerschnitten). 5,40 p. m. 9. Mai 9,00 a. m. keine Coagulation.

17. 1:10 G. P. + Mischung von weißen Blutkörperchen und Blutplättchen der Gans (dieselben waren mit Hilfe der Zentrifuge gewaschen). 6,10 p. m. 8. Mai 6,00 p. m. keine Coagulation. 9. Mai 9,00 a. m.  $\frac{1}{2}$  coaguliert am Boden.

18. 1:10 G. P. + gewaschene rote Blutkörperchen der Gans. 9. Mai 9,00 a. m. keine Coagulation.

19. 2 ccm. 1:10 G. P. + einige Tropfen flüssiges Menschenblut (6 Stunden nach dem Tode entnommen). 8. Mai 9,00 a. m. ganz coaguliert.

20. 2 ccm. 1:10 G. P. + einige Tropfen Pericardialflüssigkeit vom Menschen (6 Stunden nach dem Tode entnommen). 8. Mai 9,00 a. m.  $\frac{1}{2}$  coaguliert.

Das zu diesem Versuch verwandte Blutplasma gerann langsam; dennoch ist der verschiedene Einfluß verschiedener Tierarten deutlich erkennbar.

III. Aus diesen Versuchen können wir folgern, daß in den Geweben verschiedener Tierarten spezifische coagulierende Substanzen vorhanden sind, welche stärker auf das eigene Blut wirken, als auf das Blut anderer Tiere. Es ist eine relative, nicht eine absolute Stärke der Wirkung, welche die verschiedenen Coaguline unterscheidet. Es könnte absolut ein Gewebe eines Tieres stärker auf das Blut eines fremden Tieres wirken, als die eigenen Gewebe dieses Tieres, ohne daß dies der oben angegebenen Schlußfolgerung widersprechen müßte, falls nur das Gewebe des zweiten Tieres stärker auf sein eigenes Blut wirkt, als auf das einer anderen Tierklasse, und falls das Gewebe des ersten Tieres noch stärker auf das Blut seiner eigenen Species wirkt, wie auf das Blut der zweiten Species. Nun wurde aber soweit kein Gewebe gefunden, welches stärker auf das Blut einer zweiten Tierklasse wirkt, wie der Muskel dieser Tierklasse selbst. Wie weit diese Specificität geht, wird noch im einzelnen näher zu bestimmen sein. Wir sahen, daß Gewebe des Meerschweinchens, welches eine dem Kaninchen verwandte Species darstellt, schwächer auf Kaninchenblut wirkt, als Kaninchengewebe. Umgekehrt sahen wir, daß ein Unterschied in der Wirkung zwischen den Geweben verschiedener Vogelgewebe auf die Gerinnung des Plasmas der Gans soweit nicht gefunden wurde<sup>1)</sup>. Allerdings war die Methode, die in beiden Versuchen verwandt wurde, verschieden.

Es bestehen nun neben diesen spezifischen andere, nicht oder weniger spezifische Substanzen, welche Coagulation bewirken. Eine solche Substanz ist z. B. Wittes Pepton gegenüber dem Blutplasma der Gans. Ähnliche Stoffe werden aber auch in Geweben gefunden, z. B. in den Muskeln gewisser Crustaceen (Krebsmuskel). Wir sahen, daß der Muskel von *Callinectes hastatus* eine starke Wirkung auf das Plasma der Gans hatte.

<sup>1)</sup> Weitere Versuche zeigten, daß, wie zwischen verschiedenen Vögeln, so auch zwischen manchen Säugetieren eine Specificität sich nicht nachweisen läßt.

Eine Specificität konnten wir nicht feststellen in Bezug auf die in den Blutcoagulis enthaltenen Fermente. Wir finden gewisse Unterschiede in der Stärke der Wirkung derselben, aber diese Unterschiede waren nicht spezifisch in dem Sinne, wie es die Gewebe waren. Eine solche Specificität könnte vielleicht doch bestehen, aber sie ist möglicherweise verdeckt durch die Anwesenheit zahlreicher nicht spezifischer Fermente, oder die Verschiedenheit in der Menge der etwa in Blutcoagulis vorhandenen spezifischen Fermente könnte deren Anwesenheit verdecken. Eine Specificität der Blutcoagula tritt jedoch in ihrem Verhalten gegenüber dem Blutplasma des Hummers hervor, dem gegenüber die von Wirbeltieren herrührenden Coagula unwirksam sind. Die Verschiedenheit des Hummerfibrinogens von dem der Wirbeltiere wird auch dadurch dargetan, daß sowohl Wittes Pepton, wie Blutegelextrakt und Fremdkörper auf Hummerblutplasma anders wirken, als auf Wirbeltierblutplasma. Mercks Pepton ist in beiden Fällen fast unwirksam.

Daß die Verschiedenheit in der Wirkung der Blutcoagula und der Gewebe auf einer etwa vorhandenen, verschieden starken Diffundierbarkeit der coagulierenden Fermente beruht, kann deswegen ausgeschlossen werden, weil Organe mit ganz verschiedener Textur, wie Muskeln und Leber, beide die spezifische Wirkung erkennen lassen, und ferner, weil in der Umgebung der verschiedenen Blutcoagula gewöhnlich etwas Serum auftrat und kleine, losgelöste Partikel von Coagula sich befanden, aus denen die Fermente leicht hervordringen können, und endlich, weil die spezifische Wirkung auch in Organextrakten zutage trat.

Diese Verschiedenheit in der Wirkung der Blutcoagula einerseits und der Gewebestücke andererseits schließt auch die Möglichkeit aus, daß in den Gewebestücken oder in den Extrakten vorhandene Spuren von Blut die Ursache der spezifischen, coagulierenden Wirkung ist.

Diese Verschiedenheit tritt auch zutage in dem für die Blutcoagula und die Gewebestücke verschiedenen Verdünnungsmaximum. Schwieriger ist es, die in den Geweben vorhandene Lymphe als die Trägerin der spezifischen Substanzen auszuscheiden. Die folgenden Tatsachen sprechen gegen diese Be-

deutung der Lymphe: 1. Sorgfältiges Auswaschen eines Stückes Taubenmuskel verringert dessen Wirksamkeit nicht wesentlich.

2. Lymphe des Ductus thoracicus des Hundes wirkt gerade so stark coagulierend, wie dessen Blut. Wahrscheinlich gilt dieselbe Beziehung auch für andere Tiere. Wir sahen aber, daß in der Mehrzahl der Fälle Taubenmuskel ebenso stark oder oft sogar stärker wirkte, als ein gleich großes Stück Blut-coagulum der Taube, obwohl in dem Muskel nur sehr wenig Lymphe vorhanden gewesen sein kann. Es dürften daher in dem Muskel selbst vorhandene Stoffe die Ursache der Gerinnungsbeschleunigung sein. 3. Beim Hummer ist nur eine Art zirkulierender Körperflüssigkeit bekannt, und diese kann hier als Ursache der Wirkung des Humtermuskels ausgeschlossen werden, da kleine, möglicherweise dem Hummer anhaftende Spuren von Blut nicht imstande sind, eine der Wirkung des Humtermuskels vergleichbare Wirkung auszuüben. Hier muß also der Muskel selbst die gerinnungserregenden Substanzen enthalten.

Es liegt nach den Untersuchungen von Pekelharing nahe, diese gerinnungserregenden Substanzen in den Nucleoproteiden der verschiedenen Organe zu suchen, und wir müßten deshalb eine spezifische Struktur für die in den Geweben einer Tierart vorhandenen Nucleoproteide annehmen. In der Terminologie der Ehrlichschen Theorie würden sie eine spezifische haptophore Gruppe in Bezug auf das Fibrinogen ihres eigenen Blutes besitzen. Wir müßten dann aber annehmen, daß außerdem noch andere, weniger spezifische, haptophore Gruppen dieser Nucleoproteide vorhanden sind, welche mit den Fibrinogenen gewisser näher verwandter, nicht aber mit denen entfernter Tierklassen (z. B. der Wirbellosen im Falle der Gewebe von Wirbeltieren) in Verbindung treten können.

Diese Erwägungen legen die große Ähnlichkeit dieser natürlich vorkommenden Gewebescoaguline mit den durch künstliche Immunisierung erzeugten Substanzen, den Agglutininen, Präcipitinen, Lysinen nahe, und man darf wohl vermuten, daß auch diese Stoffe auf eine ähnliche Weise entstehen, nämlich durch Autoimmunisation, indem die in dem Körper vorhandenen Fibrinogene unter gewissen Umständen spezifisch auf sie

einwirkende Substanzen in den Geweben produzieren oder auch, daß die in den Geweben vorhandenen Substanzen spezifisch sie bindende Fibrinogene schaffen. Die Frage nach dem Ursprung dieser Substanzen ist auch deshalb von großem Interesse, weil sie anscheinend spezifisch adaptierte Schutzmittel sind, die eine jede Tierklasse erworben haben muß und welche am besten geeignet sind, die Verblutung zu verhindern, indem sie gerade die Gerinnung des Blutes der eigenen Tierart am schnellsten bewirken. Falls diese gerinnungsbeschleunigende Wirkung Geweben der verschiedensten Tiere in nicht spezifischer Weise zukäme, läge kein derartiges Problem vor.<sup>1)</sup>

In Bezug auf die Thrombose und die Bildung fibrinösen Exsudates können wir aus den mitgeteilten Versuchen folgende Schlüsse ziehen: Nach Entfernung des Endothels werden aus den Geweben spezifisch gerinnungserregend wirkende Substanzen extrahiert. Infolge dessen scheidet sich ein in colloidalen Lösung gehaltenes Fibrinogen als Fibrin aus, und zwar, wie bei dem Versuche in vitro, in dichter Apposition zu dem Gewebe. Wir können wohl annehmen, daß hier dieselben Vorgänge im Körper wie im Versuch außerhalb des Körpers stattfinden. Es wäre allerdings die Beobachtung von Baumgarten<sup>2)</sup> in Berücksichtigung zu ziehen, der zufolge Gefäße unterbunden werden können, ohne daß eine Gerinnung eintreten muß; jedoch wurde in diesen Fällen voraussichtlich an der Unterbindungsstelle das verletzte Endothel vor der Berührung mit dem Blute bewahrt. Daß aus den Endothelzellen gerinnungshemmende Substanzen extrahiert werden können, ließ sich in den oben mitgeteilten Versuchen nicht nachweisen. Falls solche Substanzen wirklich aus dem Endothel extrahiert würden, wäre es schwierig zu verstehen, warum dieselben nicht hinreichend sein sollten, die Bildung einer Fibrinablagerung an einer kleinen, des Endothels beraubten Stelle

<sup>1)</sup> Spezifische Substanzen anderer Art scheinen auch bei der Autolyse der Organe tätig zu sein (Jacoby), und auch in anderen Fällen, wie bei der Wirkung der Antioxydase, die nach den Untersuchungen von Czapek unter gewissen Umständen die weitere Oxydation der Homogentissinwirkung verhindert.

<sup>2)</sup> v. Baumgarten, Über die Schicksale des Blutes in doppelt unterbundenen Gefäßstrecken. Verhandlungen der deutschen Patholog. Gesellschaft, 1902.



zu verhindern, während doch auf dem Epicard z. B. sich beobachten läßt, daß ein Verlust des Endothels mit der Abscheidung von Fibrin verbunden ist, obwohl das benachbarte Endothel wohl erhalten ist und fähig wäre, gerinnungshemmende Stoffe zu produzieren. Die Bedeutung des Endothels ist möglicherweise lediglich eine passive, dasselbe bietet der fibrinogenhaltigen Flüssigkeit eine glatte Fläche dar, die, ähnlich wie Öl, das Blut flüssig erhält, und ferner verhindert dasselbe das Eindringen spezifischer, in den unterliegenden Geweben vorhandener, die Gerinnung bewirkender Substanzen. Über diese Fragen müssen weitere Versuche über das Verhalten fibrinogenhaltiger Flüssigkeiten im Tiere angestellt werden. Die Tatsache, daß Berührung mit den Geweben den Niederschlag von Fibrin bewirkt, schließt aber nicht aus, daß auch Agglutination Thrombose verursachen kann. Wir sahen, daß eine Agglutination der Blutplättchen<sup>1)</sup> im Blute der Gans und im erwärmten und verdünnten Blute von Säugetieren stattfinden kann, ganz unabhängig von der Blutgerinnung. Umgekehrt sahen wir, daß rote und weiße Blutkörper und Blutplättchen der Gans entweder gar keinen oder nur einen geringen Einfluß auf die Gerinnung des verdünnten Plasmas der Gans haben. Wir sehen also, daß obwohl gewöhnlich, nachdem das Blut den Körper verlassen hat, sowohl eine Agglutination der Blutplättchen als auch eine Gerinnung des Blutes eintritt, diese beiden Vorgänge doch nicht in direkter Verbindung stehen. Die Bedingungen, unter denen diese beiden Vorgänge stattfinden, sind nicht dieselben. Es dürfte sich darum handeln, die Bedingungen für die Agglutinationerscheinungen einerseits und für die Gerinnung des Blutplasmas andererseits gesondert zu untersuchen. Wenn wir die Ergebnisse vergleichender Untersuchungen heranziehen wollen, so erkennen wir die Verschiedenheit der beiden hier in Betracht kommenden Vorgänge in klarer Weise im Blute der Arthropoden. Hier lassen sich die Bedingungen der Gerinnung eines Fibrinogens ganz gesondert von dem zweiten

<sup>1)</sup> Ob, wie Arnold und Schwalbe annehmen, die Blutplättchen hauptsächlich Zerfallsprodukte der roten Blutkörperchen darstellen, mag hier unerörtert bleiben, da die Versuche, über welche hier berichtet wird, dadurch nicht berührt werden.

nach dem Ausfließen des Blutes aus dem Körper stattfindenden Vorgang, der Agglutination der Blutzellen, prüfen. Eine solche gesonderte Prüfung läßt sich hier um so leichter anstellen, als, wie weitere Untersuchungen ergaben,<sup>1)</sup> bei einzelnen Arthropoden der erste Faktor, die Gerinnung eines Fibrinogens, ganz wegfallen kann, und die oft massige sog. Blutgerinnung lediglich in einer Agglutination der Blutzellen besteht. Bei den Arthropoden sehen wir deutlich, daß ein Teil der Bedingungen, welche die Gerinnung des Fibrinogens einerseits und die Agglutination der Blutzellen einerseits herbeiführen, verschieden sind, obwohl beide Veränderungen nach dem Herausfließen des Blutes eintreten. Führen wir in die Bluträume eines *Limulus* einen Faden ein, so bildet sich ein Thrombus. Dieser Thrombus besteht lediglich aus agglutinierten Blutzellen. Hier läßt sich auch deutlich nachweisen, daß die Blutzellen außerhalb des Körpers weich und dehnbar werden, und daß die Klebrigkeit des Zellprotoplasmas die Agglutination völlig erklärt, ohne Annahme eines sie einhüllenden Fibrins, das bei gewissen Tieren vollständig fehlt.

In Bezug auf Fremdkörperwirkung fanden wir, daß das Blut verschiedener Tiere sich nicht gleich gegen Fremdkörper verhält. Das Blutplasma der Gans wurde durch Fremdkörper in seiner Gerinnung beschleunigt. Gewisse Fremdkörper scheinen stärker zu wirken, als andere. Das Plasma des stärker verdünnten, bei 56° aufgefangenen Säugetierblutes wurde jedoch meistens, in Anbetracht seiner stärkeren Verdünnung, relativ stärker durch Fremdkörper beeinflusst, als das Plasma der Gans. Das Blutplasma des Hummers wird durch Fremdkörper nicht beeinflusst.

Wir finden ferner, daß die Bedeutung verschiedener Bakterien für die Gerinnung der fibrinogenhaltigen Flüssigkeiten sehr verschieden ist. Unter den bisher untersuchten Bakterien fanden wir eine spezifische Einwirkung des *Staphylokokkus pyogenes aureus*. Auf der anderen Seite war z. B. *Bacillus Typhi* unwirksam. Die Wirkung von Bakterien kommt in Be-

<sup>1)</sup> Hierüber soll an anderer Stelle eingehender berichtet werden. Vergleiche „Über die Coagulation des Blutes einiger Arthropoden.“ Hofmeisters Beiträge Jan. 1904.

tracht bei der Infektion von serösen Höhlen, Gefäßen und Schleimhäuten, aber vielleicht auch in den Bindegewebsinterstitien. Eine coagulierende Wirkung gewisser Bakterien, welche bei acuten Entzündungen eitererregend wirken, würde insbesondere bei chronischen Entzündungen in Betracht zu ziehen sein.

Die Coagulation vorher flüssiger Substanzen wird in ihren Folgen zum Teil dadurch von großer Bedeutung, daß das Bindegewebe und Blutgefäße, welche gewöhnlich nicht in Flüssigkeiten einziehen, in feste Coagula einwachsen und so möglicherweise Verwachsungen herbeiführen können. Gewöhnlich wird diese Wirkung des Fibrins auf wachsende Zellen als eine chemotropische betrachtet. Es ist jedoch nicht wahrscheinlich, daß das Fibrin chemisch anziehend auf die Zelle wirke, das Fibrinogen aber anders wirken sollte. Es liegt näher, hier eine Äußerung der Contactreizbarkeit anzunehmen. Es ist daher für die Einwanderung des Bindegewebes von Bedeutung, daß das Coagulum sich in fester Verbindung mit dem unterliegenden Gewebe befindet. Wir fanden nun, daß, wenn die Gerinnung des Blutplasmas langsam stattfand, dasselbe fest an der unterliegenden Fläche des Schälchens haftete. Fand aber die Gerinnung sehr schnell statt und war gleichzeitig ein die Gerinnung beschleunigender Körper in dem Plasma suspendiert, so war das Coagulum in mehreren Fällen nur mit dem in der Flüssigkeit befindlichen, die Gerinnung erregenden Körper in fester Verbindung, nicht aber mit der Fläche des Schälchens.

In analoger Weise würde im Tierkörper in Fällen, in denen die Gerinnung langsam stattfindet oder in denen die die Gerinnung erregenden Stoffe fest an der Unterlage haften, das Coagulum in festem Zusammenhang mit der Unterlage sein und demzufolge würde wohl eine Organisation desselben durch Bindegewebe stattfinden, in dem Falle aber einer sehr schnellen Coagulation um einen mit der Unterlage nicht fest verbundenen Körper würde das Coagulum frei bleiben und eine Organisation desselben würde wahrscheinlich nicht stattfinden.

### Zusammenfassung.

1. Die Agglutination der Blutplättchen und vermutlich auch anderer körperlicher Bestandteile des Blutes und die Aus-

scheidung von Fibrin sind zwei von einander nicht direkt abhängige Vorgänge. Wie in dem Blute einiger wirbelloser Tiere nach dem Ausfließen des Blutes aus dem Tierkörper, unabhängig von der Gerinnung einer fibrinogenen Substanz eine Agglutination der Blutzellen stattfindet, und wie bei *Limulus* der Thrombus um einen in die Blutlymphräume eingeführten Fremdkörper aus agglutinierten Blutzellen besteht, so dürfte wahrscheinlich auch bei Wirbeltieren eine Agglutination körperlicher Elemente des Blutes unabhängig von der Ausscheidung des Fibrins bei der Thrombose in Beiracht kommen.

2. Durch kurzes Erwärmen auf 56 Grad wird die Agglutination der Blutplättchen des Meerschweinchens und anderer Tiere nicht aufgehoben, wohl aber bleibt das Blutplasma dieser Tiere unter diesen Umständen längere Zeit ungeronnen, falls das Blut in bestimmtem Verhältnis mit 0,8 p. c. NaCl. Lösung gemischt wird. Auf Zusatz eines Stückes Blutcoagulum zum Plasma tritt jedoch bald Gerinnung auf.

3. Die Einwirkung der Gewebe auf die Bildung des Fibrins ist eine spezifische; die Gewebe eines jeden bisher untersuchten Tieres hatten eine stärker gerinnungserregende Wirkung auf das Blut oder Blutplasma eines Tieres derselben oder einer nahe verwandten Art, wie auf das einer anderen Species.

4. Diese spezifische Gerinnungsbeschleunigung läßt sich sowohl bei Einwirkung von künstlich bereiteten Gewebs-extrakten wie (bei Versuchen mit Vogelblut) bei Verwendung der Organstücke selber nachweisen. Ausgeschnittene Stücke von Gefäßwänden wirkten nicht wesentlich verschieden von Muskel und Leber; sie hatten ebenfalls einen spezifisch gerinnungsbeschleunigenden Einfluß. Es ließ sich bei der hier angewandten Versuchsweise das Vorhandensein gerinnungshemmender Substanzen in den Endothelzellen nicht nachweisen.

5. Wie beim Blutplasma des Hummers läßt sich auch beim Plasma der Gans eine Gerinnung derselben durch bloße Berührung mit den Geweben bestimmter Tiere hervorrufen; auch hier erweist sich der Einfluß der Gewebe gewöhnlich zuerst als ein lokaler und breitet sich dann allmählich nach der Peripherie zu aus, wobei die die Gerinnung bewirkenden Substanzen durch das Coagulum hindurchdiffundieren müssen.

6. Es läßt sich mit großer Wahrscheinlichkeit ausschließen, daß die gerinnungsbeschleunigende Wirkung der Gewebe durch die in denselben enthaltene Lymphe bedingt ist.

7. Eine spezifische Beeinflussung der Gerinnung durch Blutcoagula ließ sich unter Wirbeltieren nicht nachweisen. Doch sind die Blutcoagula von Wirbeltieren ohne Einfluß auf das Hummerblut.

8. Die verschiedenen Blutzellen der Gans haben eine viel geringere gerinnungsbeschleunigende Wirkung auf das Blutplasma der Gans als Gewebstücke eines Vogels oder wie Blutcoagula.

9. Das Maximum der Verdünnung des Gänseplasmas, bei der die Gewebecoaguline noch wirksam sind, liegt zwischen 1:10 und 1:15. Das Verdünnungsoptimum ist verschieden in dem Blut verschiedener Gänse. Das Maximum der Verdünnung für die in den Blutcoagulis enthaltenen Fermente liegt merklich höher, obwohl bei geringeren Verdünnungsgraden das Gewebe eines Vogels sich als wirksamer erwiesen haben mochte, als das Blutcoagulum. Dieser Umstand, sowie das Fehlen einer spezifischen Wirkung der Blutcoagula macht es wahrscheinlich, daß die in den Blutcoagulis und die in den Geweben enthaltenen gerinnungsbeschleunigenden Substanzen nicht identisch sind.

10. Das aus in flachen Schälchen befindlichem, verdünntem Blutplasma sich bildende Coagulum klebt gewöhnlich an dem Boden des Schälchens fest. Befindet sich jedoch in dem Blutplasma eine gerinnungserregende Substanz suspendiert und findet die Gerinnung relativ schnell statt, so ist das Gerinnsel gewöhnlich nicht an der Unterlage befestigt. Dieser Umstand dürfte von Bedeutung sein für das Schicksal eines im Körper sich bildenden Coagulums, welches organisiert werden kann, falls es der Unterlage adhäriert.

11. Ebenso wie Wirbeltiercoagulum auf Hummerblut ohne Wirkung ist, so haben auch Wittes Pepton, Blutegelextrakt und Fremdkörper in vitro auf das Blut der Vögel einerseits und auf das Hummerblut andererseits eine verschiedene Wirkung. Wenn das Blutplasma der Gans oder des Hummers 30 Minuten lang der Temperatur der flüssigen Luft ausgesetzt

wird, so büßen sie an Gerinnungsfähigkeit nicht ein. Ebenso wenig wird die Wirksamkeit der in Blutcoagulis enthaltenen Gerinnung erregenden Fermente durch diese Temperatur merklich verringert.

12. Verschiedene Bakterien haben einen bestimmten, für die einzelnen Arten verschiedenen Einfluß auf die Blutgerinnung in vitro. Unter den bisher untersuchten zeigte der Staphylokokkus pyogenes aureus die bei weitem stärkste gerinnungsbeschleunigende Wirkung.

---

### III.

## Über die klinische Bedeutung der wichtigsten morphologischen Veränderungen an den roten Blutkörperchen.

(Aus der Inneren Abteilung des Krankenhauses Charlottenburg.)

Von

Dr. O. Boellke,

Assistenzarzt.

(Hierzu Tafel I.)

---

Seitdem durch fortgesetzte Studien vornehmlich der letzten drei Jahrzehnte die Haematologie als ein wichtiger Zweig der klinischen Medizin gebührend gewürdigt ist und das Interesse der Forscher mehr und mehr auf sich gezogen hat, sind in einer großen Menge von Publikationen die dunkleren, strittigen Fragen auf diesem Gebiete erörtert und auch teilweise klargelegt worden. Eine Reihe von wichtigen, vor allen histologischen Veränderungen harrt aber trotzdem noch einer definitiven, einwandfreien Erklärung. Dies ist um so weniger zu verwundern, als man es ja mit einem flüssigen, in steter Bewegung befindlichen Gewebe zu tun hat, dessen einzelne morphologische Elemente dem Untersucher so gut wie immer nur weit entfernt von ihrer Matrix und ihrem Zerfallsort zu Gesichte kommen. Da auf diese Weise der genetische Übergang, der bei histologischen Studien gerade so nötig ist, verloren geht, so hat die beweisende Kraft der gefundenen Bilder stets eine mehr oder weniger hochgradige Be-