

112810 a

Ueber einige  
die Faserstoffgerinnung befördernde Substanzen.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines

**Doctors der Medicin**

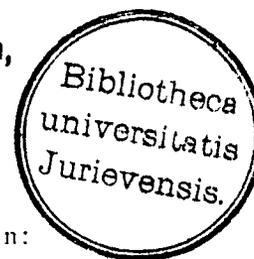
verfasst und mit Bewilligung

Einer Hochverordneten Medicinischen Facultät der Kaiserlichen Universität  
zu Jurjew (Dorpat)

zur öffentlichen Vertheidigung bestimmt

von

**Renaud von Wistinghausen,**  
Estonus.



Ordentliche Opponenten:

Prof. Dr. D. Barfurth. — Prof. Dr. G. Dragendorff. — Prof. Dr. K. Dehio.

Jurjew (Dorpat).

Druck von H. Laakmann's Buch- und Steindruckerei.

1894.

Des zu früh dahingeshiedenen Herrn Prof. Dr. Alexander Schmidt, welcher in aufopfernder Weise, trotz schweren Leidens die Güte gehabt hat, meine Arbeit einzuleiten, gedenke ich in dankbarster Verehrung.

Meinen hochverehrten Freund und Lehrer, Herrn Dozenten Dr. Werner Zoega von Manteuffel, dessen Assistent zu sein ich das Glück habe, bitte ich für seine liebenswürdige Führung die Versicherung meiner herzlichsten Dankbarkeit entgegenzunehmen.

Herrn Prof. Dr. Karl Dehio danke ich auf's Beste für das Interesse, welches er mir stets und insbesondere beim Abschluss vorliegender Arbeit entgegengebracht hat.

## Einleitung.

Vorliegende Arbeit ist unter der Leitung des dahingeshiedenen Prof. Alexander Schmidt begonnen worden. Nur die ersten Versuchsresultate habe ich ihm vorlegen können, dennoch habe ich das Glück gehabt schon beim Beginn der Arbeit durch mündliche Auseinandersetzung die entscheidende Richtung zu erhalten, welcher Umstand mir auch späterhin die Fortführung des Unternommenen ermöglichte. Andererseits habe ich Gelegenheit gehabt Einsicht zu erhalten in das Manuscript des noch nicht erschienenen 2. Theils der «Blutlehre», wofür ich an dieser Stelle meinen besten Dank der Wittwe des Verstorbenen, Frau Ida Schmidt, auszusprechen mir die Ehre nehme. Aus dem mir vorliegenden Manuscript ersehe ich, dass Prof. Alexander Schmidt einen Theil der von mir angestellten Versuche bereits vorher selbst ausgeführt hat, wie ich weiter unten bei der Besprechung derselben genauer angeben werde. Zugleich ersehe ich im Allgemeinen die Uebereinstimmung der Resultate und

der daran geknüpften Deduction. In einem Punkt jedoch besteht eine meiner Ansicht nach nur scheinbare Differenz, die ich bei Gelegenheit beleuchten werde. Leider bin ich durch äussere Umstände verhindert eine Reihe von Experimenten auszuführen, welche, wie mir scheint, geeignet wären diesen Punkt in wünschenswerther Weise aufzuklären.

Meine Arbeit bezieht sich auf die Widersprüche, welche bestehen zwischen den Versuchsergebnissen von Arthus und Leon Lilienfeldt einerseits und Alexander Schmidt andererseits. Ich habe, obgleich ich die Absicht hatte, mich ausschliesslich mit der Lilienfeldt'schen Theorie zu beschäftigen, letztere doch nicht von der Arthus'schen Arbeit trennen können. Die Kalksalze als Bedingung sine qua non für die Faserstoffgerinnung erhalten durch Lilienfeldt eine ganz bestimmte, nur ihnen zukommende Bedeutung, welche, wie mir schien, vom Standpunkt der Alexander Schmidt'schen Blutlehre nicht besser bestritten werden könne, als durch den Beweis, dass die Gerinnung des Plasmas auch nach der Entfernung der Kalksalze durch Oxalsalz möglich sei, ohne dass ein Zusatz von Ca. stattfindet.

In der Meinung, dass nach Erbringung dieses Beweises die von Leon Lilienfeldt aufgestellte Theorie von vornherein eine andere Beleuchtung erfährt, theile ich die sich auf die Arthus'schen Ansichten beziehenden Versuche zuerst mit, bevor

ich auf eine Besprechung der Leon Lilienfeldt'schen Mittheilungen genauer eingehe.

Es scheint mir aber zu allererst, da ich vom Standpunkt der Alexander Schmidt'schen Blutlehre ausgehe und diese als einzig richtige Basis für weitere Erforschung der Blutgerinnungsfrage ansehe, eine kurze Wiedergabe derselben erforderlich, so weit sie sich auf das von mir berührte Thema bezieht. Zugleich hoffe ich dadurch das Verständniss für die erwähnten Streitfragen denjenigen Lesern erleichtern zu können, welche sich mit der Blutgerinnungsfrage weniger beschäftigt haben sollten.

---

## I.

Unter einer proplastischen Flüssigkeit versteht A. I. Schmidt eine Flüssigkeit, welche constant flüssig bleibt, obgleich sie die Fähigkeit hat zu gerinnen. Büsst eine proplastische Flüssigkeit die Fähigkeit zu gerinnen ein, so verliert sie damit zugleich den Character der Proplasticität. Es giebt nun gerinnbare Lösungen, welche von vorn herein proplastisch sind und andere, welche durch künstliche Mittel, die sie vor der Gerinnung schützen, proplastisch gemacht, resp. erhalten werden können. Zu den ersteren gehört das im Körper unter normalen Bedingungen circulierende Blut und die von diesem in Bezug auf Proplasticität nur quantitativ verschiedene allgemeine Körperflüssigkeit, sowie die meisten Höhlentranssudate. Diese Flüssigkeiten verlieren ihre Proplasticität beim Verlassen des Organismus, d. h. sie gerinnen über kurz oder lang. Nur die Höhlentranssudate des Pferdes und einige Hydrocelenflüssigkeiten haben die Fähigkeit ihre Proplasticität auch extra corpus zu erhalten. Künstlich

proplastisch erhaltene Flüssigkeiten erhält man durch Zusatz der meisten Salze in stärkerer aber sehr verschiedener Concentration. Oxalate genügen schon in ganz geringer Menge, um eine gerinnbare Flüssigkeit proplastisch zu erhalten. Ebenso wie durch Salze kann man die Gerinnung durch Zusatz gewisser organischer Substanzen verhüten, z. B. durch Cyloglobin und Pepton.

Das Vollblut enthält ausser den für die Gerinnung unwesentlichen, oder in bisher unbekannter Weise wirkenden Stoffen diejenigen Substanzen, welche als Ingredienzien zum Zustandekommen der Gerinnung angesehen werden müssen:

- 1) den Mutterstoff des Fibrinferments das Prothrombin, oder Thrombinogen,
- 2) das Fibrinferment (Thrombin), als Urheber der Gerinnung,
- 3) das Paraglobulin, als Mutterstoff des Metaglobulin oder Fibrinogen,
- 4) das Fibrinogen (Metaglobulin), als Substrat der Gerinnung,
- 5) Neutralsalze, ohne deren Anwesenheit die Faserstoffgerinnung unmöglich ist,
- 6) die das Ferment (Thrombin) von seinem Mutterstoff (Prothrombin) abspaltenden Stoffe: die zymoplastischen Substanzen (von enzym = Ferment),
- 7) einen gewissen Gehalt an Alkali.

Danach unterscheiden sich in einer Flüssigkeit, welche nicht in Folge ihres augenblicklichen Fermentgehaltes gerinnt, folgende Stadien der Gerinnung:

I. Das Stadium der Fermentabspaltung. Für diesen Act ist kein Globulin erforderlich; es genügt das Prothrombin als passives und die zymoplastischen Substanzen als actives Material.

II. Das Stadium der Fermentwirkung. Dieser Act betrifft sowohl das Paraglobulin als das Metaglobulin (Fibrinogen), indem unter Einfluss des Ferments das zweite vom ersten abgespalten wird und zugleich in die lösliche Form des Faserstoffs übergeht.

III. Das Stadium der Ausfällung des Fibrins. Es kommt zu Stande durch die Wirkung der in Lösung befindlichen Neutralsalze, unter denen die Kalksalze den grössten Einfluss haben.

Es folgen sich die genannten drei Stadien in der vorstehenden Reihenfolge auf einander, aber nicht als wenn das erste Stadium abgeschlossen sein müsste, ehe das zweite beginnt etc., vielmehr beginnen sie nur in dieser Reihenfolge und gehen neben einander bis zum Abschluss der Gerinnung einher, wo das zweite und dritte, d. h. die Fermentwirkung und die Ausfällung des Fibrins aufhören, während die Abspaltung des Thrombins im nunmehr gebildeten Serum noch einige Zeitlang fort dauert.

Während der Gerinnung des Blutes geht ein Theil der darin enthaltenen farblosen körperlichen Ge-

bilde zu Grunde; die dadurch freiwerdenden Stoffe üben eine kräftige befördernde Wirkung auf den Vorgang der Gerinnung aus.

Beachtet man die Thatsache, dass die Zellen eines jeden Organes von der Blut- resp. Lymphflüssigkeit umspült werden, dass, ebenso wie behufs Ernährung und Aufbau der Zelle constant eine Wechselwirkung von der Blutflüssigkeit zur Zelle und von dieser zurück ins Blut stattfindet, so ist von vornherein klar, dass das Blut zu nicht geringem Theil aus Stoffen zusammengesetzt ist, welche den Zellen entstammen, d. h. aus dem Protoplasma hervorgehen. Es erklärt sich also die (beschleunigende) Wirkung sich auflösender protoplasmatischer Gebilde auf die Gerinnung durch eine Vermehrung derjenigen Stoffe, welche im Blute, als aus den Körperzellen stammende, bereits enthalten sind.

Die gerinnungbeschleunigende Thätigkeit der Leucocyten und der anderen farblosen Gebilde des Blutes kann nachgeahmt werden durch Zusatz beliebiger Zellen, als: Eiterzellen, oder aus irgend welchen Organen künstlich isolierter Organzellen. Nach einem solchen Zusatz erkennt man eine gleiche kräftige Beschleunigung der Faserstoffgerinnung wie durch Zusatz von Leucocyten, oder durch Belassung derselben in der noch nicht geronnenen oder durch Kälte proplastisch erhaltenen Blutflüssigkeit. Die Eigenschaft der Gerinnungsförderung kommt also nicht

specifisch den im Blute vorhandenen farblosen Elementen, sondern im Allgemeinen allen Zellen zu.

Danach erscheint die Faserstoffgerinnung als Zellenfunction.

Um nun zu erfahren, welchem Theil des protoplasmatischen Inhaltes der Zelle vorstehende Function obliegt, kommt es darauf an auf irgend einem Wege das aus den Zellen erhaltene Protoplasma so zu theilen, dass die vorhandenen Eigenschaften nicht zerstört werden und die betreffenden Theile möglichst auf dem *status intra cellulam* erhalten bleiben. Hierfür können nur die in der Chemie als am meisten indifferent geltenden Lösungs- und Extractionsmittel in Anwendung kommen.

Von diesem Gesichtspunkte aus hat Alexander Schmidt die Zerlegung des Zellprotoplasmas vorgenommen durch Alcohol, Wasser und physiologische Kochsalzlösung, und zwar in der angegebenen Reihenfolge aus Gründen, die erst weiter unten auseinandergesetzt werden können.

1. Die Extraction von Zellen mit Alcohol ergibt Stoffe, welche der regressiven Metamorphose angehören. Dampft man einen solchen Alcoholextract ein, so erhält man einen gelbbraunen zähen Rückstand, welcher ein Gemenge verschiedener Substanzen darstellt. Setzt man von diesem Rückstand etwas zu gerinnbarer Flüssigkeit, welche den Mutterstoff des Ferments enthält, hinzu, so erfolgt eine eclatante

Beschleunigung der Gerinnung. Ein Zusatz derselben zu prothrombinhaltigem Serum ruft eine kräftige Fermententwicklung hervor.

In gleicher Weise kann man dieses Gemenge darstellen aus dem Blute. Lässt man z. B. Blut direct aus der Ader in Alcohol fließen, so gehen dieselben Substanzen in die alcoholische Lösung über, und nach dem Eindampfen erhält man einen gleichen gelbbraunen Rückstand, welcher ebenso Gerinnung resp. Fermententwicklung hervorruft.

Ihre Thätigkeit gehört ins erste Stadium der Gerinnung. Sie sind nur dann im Stande in einer proplastischen Flüssigkeit Gerinnung hervorzurufen, wenn in ihr ein anderer Stoff, nämlich derjenige, von dem das Ferment abgespalten werden soll, vorhanden ist. So gelingt es z. B. nicht in den von selbst niemals gerinnenden Höhlentranssudaten des Pferdes durch Zusatz von zymoplastischen Substanzen Fibrinbildung zu erzeugen, es sei denn, dass man diesen Flüssigkeiten vorher den Mutterstoff des Ferments zugeführt hätte.

Es entsteht also das Ferment nur in dem Falle, wo jener Mutterstoff (Prothrombin) und zymoplastische Substanzen zu gleicher Zeit anwesend sind. Das Prothrombin findet sich im Plasma, im Serum und im Protoplasma der Zellen. Es ist bisher noch nicht gelungen diesen Körper darzustellen, aber seine Existenz beweist sich aus folgenden Thatsachen:

Extrahiert man Zellen eines Höhlentranssudates vom Pferde mit Wasser und fügt zum Extract zymoplastische Substanzen hinzu, so entsteht kein Ferment. Extrahiert man dagegen Lymphzellen mit Wasser und lässt hier zymoplastische Substanzen einwirken, so entsteht Ferment. Daraus ist ersichtlich, dass den Zellen, welche aus dem Höhlentranssudate des Pferdes stammen, etwas fehlt, was in den Lymphzellen wohl vorhanden ist. Andererseits wirken die Zellen aus dem Höhlentranssudate des Pferdes auf kalt filtriertes Pferdeblutplasma stark gerinnungbeschleunigend, während sie im Höhlentranssudate überhaupt keine Gerinnung hervorzubringen im Stande waren. Die beiden Flüssigkeiten verhalten sich also denselben Zellen gegenüber verschieden. Die Wirkung derselben auf Plasma erklärt sich einfach durch die in ihnen enthaltenen zymoplastischen Substanzen, welche man ihnen durch Alcohol entziehen kann. Im Höhlentranssudate des Pferdes sind aber diese wie erwähnt wirkungslos. Im Plasma muss noch ein anderer Körper vorhanden sein, welcher im Höhlentranssudate fehlt. Nachdem damit constatirt ist, dass es zur Entstehung des Ferments zweier Agentien bedarf, fragt es sich, welche Rolle die zymoplastischen Substanzen und welche das Prothrombin hat. Wie aus dem Namen ersichtlich, hält Alexander Schmidt die zymoplastischen Substanzen für die

abspaltenden, die activen, während jenes ihm als spaltbares, passives Material erscheint.

Fügt man zu einer Lösung, welche Prothrombin, aber kein Ferment enthält, z. B. zu dialysiertem Blutserum, zymoplastische Substanzen hinzu, so entwickelt sich in ihr (dank ihres Gehalts an Prothrombin) Ferment bis zu einer gewissen Zeit. Von da ab nimmt die Fermententwicklung ab, und hört schliesslich ganz auf. Fügt man nun zu derselben Lösung von neuem zymoplastische Substanzen, so beginnt die Fermentabspaltung ebenso wie das erste Mal und so kann man durch wiederholte Zufuhr von zymoplastischen Substanzen wiederholt neue Fermentmengen erzeugen. Gesetzt den Fall es repräsentierten, entgegen der Schmidt'schen Ansicht, die apriori im Serum vorhandenen zymoplastischen Substanzen das spaltbare, d. h. passive Material für die Fermenterzeugung, und es wäre der bisher unbekannte Körper, das Prothrombin das spaltende, active Agens, so kann man sich das Aufhören der Fermententwicklung nur als Folge der Erschöpfung des Prothrombins vorstellen. Füge man nun durch einen erneuten Zusatz erneutes Spaltungsmaterial hinzu, so liesse sich nicht denken, dass das bereits erschöpfte Prothrombin dadurch zu neuer Thätigkeit angeregt werde. Von einem »Verbrauch« der zymoplastischen Substanzen kann andererseits nicht die Rede sein, denn es gelingt leicht aus dem also behandelten Serum durch Alcohol wirk-

same zymoplastische Substanzen zu extrahieren. Ihre Wirksamkeit im Serum hört aber schliesslich auf, weil ausser dem Ferment andere Spaltungsproducte entstehen, die die weitere Abspaltung hindern. Es häufen sich also die Widerstände und in diesem Sinne wird die Kraft der zymoplastischen Substanzen lahm gelegt. Nur so ist ein Erfolg des erneuten Zusatz erklärlich.

Auf diese Thatsachen gestützt nimmt Prof. Alexander Schmidt das Prothrombin als einen Stoff an, der sowohl im Blut als im Serum, als im Wasserextract der Lymphzellen enthalten ist. Aus ihm kann nur durch die zymoplastischen Substanzen mit Unterstützung von Alkali Ferment erzeugt werden. An sich ist er unwirksam, wo das Ferment wirksam ist. Eine reine Fermentlösung wird durch zymoplastische Substanzen auf prothrombinfreie Transsudate nicht wirksamer, eine Prothrombinlösung wird erst durch zymoplastische Substanzen wirksam.

Die Abspaltung des Ferments hat ihre Grenzen, über die hinaus ein weiterer Zusatz von zymoplastischen Substanzen nicht mehr zum Ziel führt. Bringt man ein solches Serum, welches kein Ferment mehr entwickeln kann auf den Dialysator, so kann man nach einiger Zeit wieder die Abspaltung des Ferments durch zymoplastische Substanzen anregen. D. h. es werden auf dem Dialysator die Hindernisse die allem Anschein nach in den neben

dem Ferment entstandenem Spaltungsproducten bestehen fortgeschafft.

2. Nach der Fermentabspaltung beginnt die Wirkung des Ferments. Die Beweise für das fermentative Wesen des Thrombins sind im Capitel über dasselbe in «zur Blutlehre» enthalten. Es wird nach Alexander Schmidt dargestellt durch Fällung von neutralisiertem Blutserum durch Alcohol, der monatelang über dem Coagulum steht und mehrfach gewechselt wird. Das schliesslich mit Alcohol und Aether ausgewaschene und getrocknete Coagulum giebt einen Wasserextract, welcher ausser etwas Eiweiss und Salzen das Ferment enthält. Für jeden Versuch muss eine Fermentlösung frisch hergestellt werden, weil das Thrombin im Laufe kurzer Zeit zerfällt. Behufs vollständiger Reindarstellung wird die Fermentlösung auf ein kleines Volumen (im Vacuum) eingeengt, und mit dem 25-fachen Vol. Alcoh. abs. versetzt. Der über einem geringen körnigen Niederschlage stehende opalisierende Alcohol wird vom Niederschlage abgegossen und filtriert. Die Filtration dauert verhältnismässig sehr lange. Der Alcohol tropft klar ab und das Ferment bleibt auf dem Filter. Von diesem wird es durch Wasser abgewaschen, welches rasch filtriert und das Ferment in klarer Lösung enthält. Bei dieser Manipulation verliert das Ferment nicht an Wirksamkeit.

Fügt man eine Fermentlösung zu irgend einer

proplastischen Flüssigkeit, so tritt stets Gerinnung ein, es sei denn, dass sich in jener Flüssigkeit Hindernisse der Fermentation befinden. Die Wirkung des Ferments bezieht sich hauptsächlich auf die Ueberführung des Fibrinogens (Metaglobulin) in die lösliche Form des Faserstoffs. Ausser dieser Wirkung nimmt Alexander Schmidt an, dass das Fibrinogen unter dem Einfluss des Ferments im Plasma aus dem Paraglobulin entstehe: Das Paraglobulin ist also der Mutterstoff des Fibrinogens, wie dieses der Mutterstoff des löslichen Faserstoffs ist. Es besteht eine Stufenfolge dieser 3 Körper, von denen der Faserstoff reines Eiweiss vorstellt und das Paraglobulin den Proteiden näher steht. Diese Stufenreihe lässt sich, wie Alexander Schmidt gezeigt hat, aufwärts bis zur Zelle verfolgen.

Nachdem man Zellen beliebiger Art, beispielsweise Lymphdrüsenzellen ausgiebig, wie zur Gewinnung der zymoplastischen Substanzen bereits angegeben wurde, mit starkem Alcohol extrahiert hat, kann man nun nach Entfernung der zymoplastischen Substanzen, den zurückgebliebenen, in Alcohol unlöslichen Rest der Zellsubstanz mit Wasser extrahieren. Dabei geht ein Stoff in die wässrige Lösung über, welcher aus dieser, nach geschehener Filtration durch Zusatz von Alcohol gefällt wird. Diese Substanz ist ein Körper von charakteristischen Eigenschaften. Er ist unlöslich in Alcohol und Aether, nach

beliebig oft wiederholter Fällung stets wieder löslich in Wasser. Er dreht die Polarisationssebene nach rechts und zersetzt das Wasserstoffsperoxyd unter Aufbrausen. Er heisst Cytoglobin. In Bezug auf die Faserstoffgerinnung hat er zweierlei Functionen. Erstens unterdrückt er in genügender Quantität Blut oder filtrierten Plasma zugesetzt, dessen Gerinnung vollkommen. Seine Wirkung kann durch einen Zusatz von zymoplastischen Substanzen aufgehoben werden, sie bezieht sich hauptsächlich auf das Stadium (I) der Fermentabspaltung. Wird seine hindernde Wirkung vom Plasma vermöge der darin enthaltenen zymoplastischen Substanzen oder durch künstliche Vermehrung letzterer überwunden, so resultiert schliesslich eine Vermehrung des, bei der Gerinnung gebildeten Faserstoffs. Dieses ist die zweite Function des Cytoglobins: es giebt das Material zur Bildung des Faserstoffs ab. Die Globuline sind Derivate des Cytoglobins. Indess giebt es in der Stufenfolge zwischen dem Cytoglobin und dem Paraglobulin ein Zwischenglied. Diesen Körper erhält man, wenn man Cytoglobinlösung mit Essigsäure versetzt. Dabei bildet sich ein weisser Niederschlag, welcher in Wasser nicht mehr, in schwachen Alcalien und physiolog. Kochsalzlösung leicht löslich ist. Er dreht die Polarisationssebene nach links und giebt proplastischen Flüssigkeiten zugesetzt bei der Gerinnung ebenfalls eine Vermehrung des Faserstoffs. Er heisst Präglobulin.

Es ergibt sich also folgende Reihe von Substanzen, welche in der Zelle beginnt und beim Faserstoff endigt: Cytoglobin, Präglobulin, Paraglobulin, Metaglobulin (Fibrinogen), Fibrin.

Die Umwandlung des Cytoglobins und Präglobulins in Paraglobulin lässt sich leicht verfolgen, wenn man Cytoglobin der Einwirkung von dialysiertem, filtriertem und wieder alcalisch gemachtem Blutserum unterwirft. Nach einiger Zeit, während welcher die Präglobulinreaction immer schwächer wird, schwindet diese vollständig und es findet sich schliesslich nur Paraglobulin in dem Serum enthalten.

Der Ursprung des Globulins ist demnach bis zum Protoplasma der Zelle zu verfolgen.

Sowohl das Cytoglobin wie das Präglobulin finden sich in der Zelle vor. Durch Extraction des nunmehr, d. h. nach der Wasserextraction zurückbleibenden Restes erhält man durch Behandlung mit physiologischer Kochsalzlösung einen Stoff in salziger Lösung, welcher mit dem Präglobulin identisch ist. Was nach allen diesen aufeinanderfolgenden Extractionen schliesslich als in den angewandten Mitteln unlöslich zurückbleibt, nennt Alexander Schmidt Cytin. Dieses ist der am höchsten stehende Molecularcomplex, die eigentliche Grundsubstanz der Zelle. Von ihm kann künstlich das Cytoglobin abgespalten werden.

Der Uebersicht halber sei die Reihenfolge der Extractionen wiederholt.

Extraction von Zellen mit Alcohol ergibt zymoplastische Substanzen — gerinnungsfördernd.

Darauffolgende Extraction von Zellen mit Wasser ergibt Cytoglobin — gerinnungshindernd.

Darauffolgende Extraction von Zellen mit physiolog. Kochsalzlösung ergibt Präglobulin — gerinnungshindernd.

Rest = Cytin.

3. Die Fermentwirkung erstreckt sich auf die Bildung des löslichen Faserstoffs. Ist dieser gebildet, so wird er durch Neutralsalze ausgefällt resp. in die unlösliche Form übergeführt. Ein zur Illustration dieses Vorgangs dienliches Experiment ist folgendes: Man bestimmt an einer Probe kalt filtrierten, also langsam gerinnenden Pferdeblutplasmas, den Zeitpunkt, wo die Gerinnung bei Zimmertemperatur beginnt. Danach setzt man eine zweite Probe etwas kürzere Zeit der Zimmertemperatur aus und unterdrückt in ihr durch Kälte den Abschluss der nun fast zum Ende gediehenen Gerinnung. Fügt man jetzt zu einem Theil der derart behandelten Probe ein Neutralsalz bis zu einer Concentration, welche im ersten Stadium der Gerinnung die Fermentabspaltung unterdrückt haben würde zu, so tritt die Gerinnung momentan ein, während das Vergleichspräparat erst einige Zeit später und langsam gerinnt.

Der durch die Einwirkung des Ferments allmählig entstandene, lösliche Faserstoff wird also plötzlich durch Zusatz von Neutralsalz unlöslich. In einem Plasma, welches der Wirkung des Ferments nicht ausgesetzt war, tritt ein plötzliches Festwerden von Faserstoff durch Salzzusatz niemals ein.

Das Analogon für eine derartige Wirkung sieht Alexander Schmidt in dem Verhalten der colloidalen Kieselsäure gegen Salze als krystalloide Substanzen; sie gerinnt, wenn sie möglichst salzfrei ist, höchst langsam, auf Salzzusatz sofort.

Die Rolle der Salze, von denen die einzelnen natürlich verschieden wirken, erstreckt sich ausser auf die Ausfällung des Fibrins auch noch auf den ersten und zweiten Act der Gerinnung, da weder die Abspaltung des Ferments, noch die Fermentation bei absolutem Salzangel vor sich gehen können. Unter ihnen wirken die Kalksalze besonders günstig.

Aus dem vorstehenden ergeben sich für die Faserstoffgerinnung folgende Gesetze:

1. Es giebt keine Fibrinbildung ohne Einwirkung des Fibrinferments.
2. Die Faserstoffgerinnung ist eine Zellenfunction.
3. Das Substrat der Faserstoffgerinnung stammt aus dem Protoplasma der Zellen des Organismus.

## II.

Nachdem Alexander Schmidt in allgemeinen Umrissen eine vorläufige Mittheilung über die im vorstehenden erwähnten Stoffe und ihre Functionen bei der Gerinnung publicirt hatte (Centralblatt für Physiologie, 2. August 1890), erschien im April 1892 im Archiv für Physiologie von Du Bois-Reymond ein Vortrag von Leon Lilienfeldt: «Ueber Leucocyten und Blutgerinnung.» Die darin enthaltenen Untersuchungen beschäftigen sich mit der Frage, welcher Theil der Zelle in den von Rauschenbach (Dissertation, Dorpat 1883) und Schmidt wirksam gefundenen Wasserextracten als Träger des wirksamen Bestandtheils anzusehen sei. Verfasser kommt auf Grund seiner chemischen und physiologischen Experimente zu Schlüssen, welche geeignet scheinen, die vom ihm früher (Du Bois-Reymond, Archiv 1892, pag. 114—154. Hämatologische Untersuchungen) gemachten Erfahrungen wesentlich zu unterstützen.

Die früher schon von Alexander Schmidt constatirte Thatsache, dass der Vorgang der Gerin-

nung mit den Eigenschaften des Protoplasmas in engstem Zusammenhang stehe, in dem Sinne, dass die Fibringerinnung als Zellenfunction anzusehen ist, erweitert Liliensfeldt durch die morphologische Localisation dieser Eigenschaft, indem er dieselbe als specifisches Eigenthum des Zellkerns ansieht. Den von ihm aus Lymph- und Thymuszellen gewonnenen Körper erkennt er als eine Verbindung von Nuclein mit einem eiweissartigen Körper, wobei die die Gerinnung hervorrufende Eigenschaft dem Nuclein (Leuconuclein), mithin also der Kernsubstanz zufällt. Das Nucleohiston besteht aus 2 Componenten, welche unter einander chemisch gebunden sind. Diese Verbindung kann nur durch Säuren, oder Kalksalze aufgehoben werden. Durch die Intactheit der Verbindung «Nucleohiston» sei der flüssige Zustand des Blutes garantiert. Durch die im Blute vorhandenen Kalksalze wird die Verbindung aufgehoben und zwar so, dass das, die Gerinnung hindernde Histon, an die Kalksalze gebunden und dadurch unwirksam wird, während das nun freigewordene Nuclein seine gerinnungserregende Wirkung entfalten kann.

Ehe die Wirkung der Kalksalze stattfindet, ist mithin keine Gerinnung möglich. Die Anwesenheit der Kalksalze ist also eine nothwendige Vorbedingung für das Zustandekommen der Gerinnung. Die vorstehende Ansicht, welche mir als wesentlicher Theil der von Liliensfeldt aufgestellten These von der

Blutgerinnung erscheint, veranlasst mich auf das Thema von der Nothwendigkeit der Kalksalze näher einzugehen. Gipfelt doch die Deduction Liliensfeldt's in dem Satz:

«Wir wissen jetzt ganz bestimmt, dass es im «Blute ein durch Essigsäure fällbares Nucleoproteid «einerseits, Kalksalze andererseits giebt, und dass der «Zusammentritt dieser zweier Substanzen schon voll-«ständig genügt um Faserstoff zu erzeugen.»<sup>1)</sup>

Daraus erhellt, dass Liliensfeldt einen Zellstoff, das Nucleoproteid: Nucleohiston, nicht allein für den Gerinnungserreger sondern gleichzeitig auch fürs Gerinnungssubstrat und die Kalksalze als zweites nothwendiges Ingrediens für die Faserstoffgerinnung ansieht.

Die schon früher bekannte Thatsache, dass die im Blute vorhandenen Kalksalze die Fibringerinnung günstig beeinflussen, haben insbesondere Arthus<sup>2)</sup> und Pagès<sup>3)</sup> dahin erweitert, dass die Kalksalze ein unumgängliches Erforderniss für die Gerinnung bilden. Von den drei für die Fibrinbildung als nothwendig geltenden Stoffen sei das Paraglobulin, wie Hammersten bereits nachgewiesen habe, überflüssig, und würde durch die nothwendigen Kalk-

1) Du Bois-Reymond. Arch. 1893, pag. 563.

2) Theses de Paris. Recherches sur la coagulation de sang. Paris, 1890.

3) Arthus et Pagès. Nouvelle theorie de la coagulation de sang. Arch. de physiol. (5) II, p. 739-746.

salze ersetzt. Es seien also für die Faserstoffgerinnung folgende 3 Factoren erforderlich: 1. Fibrinogen, 2. Ferment, 3. Kalksalz.

Das Fibrin sei eine Kalkverbindung, bei der der Kalk durch keinen anderen Stoff ausser durch Strontian ersetzt werden kann. Zwei Formen des Fibrins seien möglich: *a)* Kalkfibrin; *b)* Strontianfibrin.

Fängt man Pferdeblut in einer Lösung von oxalsaurem Kalium auf, in einem Verhältniss, dass die ganze Mischung nunmehr 0,09 % oxalsaures Kalium enthält, so wird das Blut ungerinnbar und kann beliebig lange aufbewahrt werden, ohne dass dieser Act sich vollzieht. Diese Thatsache findet nach Arthus ihre Erklärung in dem Umstande, dass oxalsaures Kali die Kalksalze fällt, indem es sie in die unlösliche und somit unwirksame oxalsaure Verbindung überführt. Setzt man nun zu einem solchen proplastischen Oxalplasma geringe Mengen Kalksalz hinzu, so tritt die Gerinnung wie gewöhnlich ein.

Fällt man, um den Ueberschuss von oxalsaurem Kali zu entfernen, denselben mit Chlorbaryum aus, so tritt doch keine Gerinnung ein, sondern erst auf Zusatz von Chlorcalcium oder eines anderen löslichen Kalksalzes. Versetzt man, um den Ueberschuss des Oxalsalzes zu entfernen, das Oxalplasma mit Chlor-magnesium, so gehen die gebildeten Fibrinmengen

ungefähr den Zusätzen an Kalksalz parallel. Die Fermentwirkung auf reine Fibrinogenlösungen erkläre sich dadurch, dass in letzterer sowie in der Lösung des Ferments constante, wenn auch geringe Beimengungen von Kalksalz enthalten seien.

Eine Gerinnung des Plasmas ist also nach Arthus nicht möglich, so lange das Kalksalz durch Oxalat entfernt bleibt.

Spricht nun andererseits Alexander Schmidt von einer günstigen Wirkung der Kalksalze als einer Eigenschaft, die ihnen zwar in hohem Maasse, jedoch nicht specifisch zukommt, so ist nach ihm die Gerinnung nicht abhängig von ihrer Anwesenheit. Es besteht also über die Wichtigkeit, resp. Unumgänglichkeit der Kalksalze eine Controverse.

Die an sich überzeugenden Versuche von Arthus müssen, soll anders die Alexander Schmidt'sche Ansicht ihnen gegenüber aufrecht erhalten werden, eine andere, dem Experimentator fremde Auffassung erfahren.

Setzt man zu spontan gerinnbarem Blut oder Plasma oxalsaures Salz, bevor die Fermentabspaltung eingeleitet ist, und erreicht man dadurch Ungerinnbarkeit, so kann zweierlei Ursache derselben sein. Entweder, es kann, wie Arthus annimmt, durch Mangel der thatsächlich ausgefallenen Kalksalze ein zur Gerinnung nothwendiges Princip eliminiert worden sein, oder es kann nach Ausfällung der Kalk-

salze ein Ueberschuss an oxalsaurem Kalium restieren, welcher die Fermentabspaltung und Fermentation hindert. Letztere Auffassung entspricht der Ansicht Alexander Schmidt's. Der Ueberschuss an Oxalsalz kann nur durch Zusatz von Kalk resp. Strontian genügend entfernt werden um die Gerinnung möglich zu machen. Weder Chlorbaryum, noch Chlormagnesium sind dann im Stande das oxalsaure Salz vollständig unschädlich zu machen. Gelingt es nun nicht durch Fermentzusatz im Oxalplasma Gerinnung hervorzurufen, so muss es dennoch nach Entfernung des Oxalsalzes ohne Zusatz von Kalk möglich sein.

Um mit Sicherheit alles im Blute vorhandene Kalksalz auszufällen, liess ich 100 Cbctm. Pferdeblut direct aus der Ader in eine Lösung von neutralem oxalsaurem Kalium fliessen, so dass die Mischung im Ganzen 0,2% dieses Salzes enthielt. In einigen Stunden hatten sich die rothen Blutkörperchen gesenkt, so dass das Plasma abgehoben werden konnte. Versetzte ich eine Probe des Oxalplasmas mit Chlorcalcium, so trat im Verlauf kurzer Zeit vollkommen feste Gerinnung ein. Setzte ich dagegen zum Oxalplasma das halbe Volumen wirksamer Fermentlösung (der etwas Kochsalz zugefügt war), so trat auch bei beliebiger Ausdehnung der Beobachtungszeit keine Gerinnung ein. Ich brachte nun, um den Ueberschuss an Oxalat zu verringern,

einen Theil des Oxalplasmas auf den Dialysator, dessen äusseres Wasser alle  $\frac{1}{2}$  Stunde gewechselt wurde, wartete aber nicht so lange, bis das oxalsaure Salz vollkommen geschwunden war, vielmehr war in der nunmehr entnommenen Probe mittelst Chlorcalcium überschüssiges Kaliumoxalat nachzuweisen, wenn auch lange nicht mehr so viel, wie vor Beginn der Dialyse. Ein ebenso grosser Zusatz von Fermentlösung, wie er erfolglos vor der Dialyse dem Oxalplasma zugesetzt worden war, brachte im dialysierten Plasma im Verlaufe von 3 Stunden Gerinnung hervor. Nachdem mir die Gerinnung abgeschlossen erschien, brachte ich das Fibrin durch Schlagen mit einem Glasstäbchen zum Collabieren, filtrierte die übrigbleibende Flüssigkeit, welche ziemlich klar durchs Filter ging und vertheilte sie in zwei Gläser. Der einen Probe setzte ich ein wenig Chlorcalciumlösung hinzu — der anderen die entsprechende Menge Wasser. In der ersten Probe war im Vergleich zur zweiten eine deutliche Trübung sichtbar, es war also in der Flüssigkeit noch überschüssiges oxalsaures Natron nachgewiesen. In der Meinung, es hier mit Serum zu thun zu haben, war ich überrascht, als beide Proben nach einer Stunde geronnen waren. Die Gerinnung war also nicht abgeschlossen gewesen, oder konnte vielmehr ihr Ende nicht erreichen, bevor der Rest des Oxalsalzes

nicht in der einen Probe durch Kalksalz unschädlich gemacht, in der anderen durch Verdünnen mit Wasser abgestumpft war.

Es ist bekannt, dass in der nach der Alexander Schmidt'schen Methode dargestellten Fermentlösung ein geringer Gehalt an Kalksalz vorhanden ist. Das Verhalten des undialysierten Oxalplasmas liesse sich demnach dadurch erklären, dass man annimmt, der Ueberschuss des Oxalats im Plasma habe den Kalkgehalt der Fermentlösung zerstört und die Fermentwirkung könne ohne Beihilfe der Kalksalze nicht eintreten. Diese Möglichkeit besteht fürs erste zu Recht. Das Verhalten des dialysierten Plasmas ändert aber die Sache. Auch hier besteht nach Zusatz und sogar nach stattgehabter, wenn auch allerdings nicht vollständiger Gerinnung ein kleiner Ueberschuss an Oxalat. Auch hier muss also der Kalkgehalt der Fermentlösung ausgefällt worden sein und dennoch tritt die Gerinnung ein.

Bei weitem leichter sind diese Thatsachen zu verstehen, wenn man den Oxalatüberschuss als direct gerinnungshemmend auffasst. Vor der Dialyse ist der Ueberschuss an Oxalat zu gross, um vom Ferment überwunden zu werden — nach der Dialyse nicht mehr.

Da es nach Angabe von Arthus und meiner eigenen Erfahrung nicht gelingt die Gerinnungsfähig-

keit im Oxalatplasmas durch Ausfällen des Oxalatüberschusses mit Chlorbaryum und Chlormagnesium wieder hervorzurufen, durch Strontian aber wohl, so scheint mir der Annahme nichts im Wege zu stehen, dass die vollständige Ausfällung des Oxalats durch Chlorbaryum und Chlormagnesia gar nicht erreicht wird, während das Strontian die Oxalate in derselben Weise wie Ca. zu beseitigen im Stande ist.

Ich habe versucht durch einen anderen Stoff das Oxalat unschädlich zu machen. Auf Anrathen des Herrn Prof. Dragendorff benutzte ich dazu das Ceriumoxyd. Aber es gelang mir nicht dadurch allein Gerinnung hervorzurufen.

Das Ceriumoxyd ist in neutraler und so schwach alkalischer Lösung wie Plasma, so gut wie unlöslich und geht die Bindung des Oxalats in Folge dessen äusserst langsam vor sich. Zudem setzt sich das Ceriumoxyd, da es in Pulverform angewendet werden muss, am Boden des Glases ab, und kommt nur mit einer verhältnismässig kleinen Oberfläche, wenn man nicht ineinemfort umrühren will, mit dem in Lösung befindlichen Oxalat in Berührung. Es kommt also gar nicht dazu, dass das Oxalat auch nur annähernd vollständig ausgefällt wird. Darum erschien es mir rathsam die Fermentabspaltung zu unterstützen. Dazu benutzte ich die nach der Schmidt'schen Methode hergestellten, durch Alcohol aus Lymphdrüsenbrei extrahierten zymoplastischen Substanzen.

Um von vornherein einen eventuell schädlichen Ueberschuss derselben zu vermeiden, stellte ich eine Reihe Gläser auf, in denen ich den Zusatz von Glas zu Glas vergrösserte. Die zymoplastischen Substanzen, welche nach dem Abdampfen des Alcoholextractes zurückbleiben, bilden eine braune, zähe Masse. Von dieser wurde ein wenig in Wasser verrieben und, da sie sich nicht vollständig löst, als Emulsion tropfenweise zugesetzt. Zugleich fügte ich, ebenfalls tropfenweise, verdünnte Natronlauge hinzu, gleichfalls ansteigend und zwar so, dass den grösseren Zusatz zymoplastischer Substanzen stets ein grösserer Zusatz Alkali begleitete.

Nach 10 Stunden war die Flüssigkeit in zwei Gläsern geronnen.

Die Gerinnung begann vom Niveau des Ceriumoxyds und schritt aufsteigend fort. Ueber dem Gerinnsel, das an den Wänden haftete, war noch Flüssigkeit vorhanden. In dieser Flüssigkeit konnte ich durch Zusatz von Kalksalz Trübung erzielen, aber bedeutend weniger als vor dem Beginn des Versuches.

In einem zweiten Versuch führte mich bei derselben Anordnung ein Zusatz von Ceriumoxyd nicht zum Ziele, offenbar war der Gehalt an überschüssigem Oxalat in diesem Plasma grösser. Zu dialysiertem Oxalplasma Ceriumoxyd hinzuzusetzen ist nicht empfehlenswerth, weil dadurch sehr bald ein

grob flockiger Niederschlag entsteht. Ceriumoxyd passt also nur für ein Oxalatplasma von einer bestimmten, relativ niedrigen Concentration, welche natürlich wegen des doch immerhin schwankenden Kalksalzgehalts im Blut schwer zu treffen ist. Ich führe aber den Versuch an, weil ich im Parallelversuch mit zymoplastischen Substanzen ohne Ceriumoxyd keine Gerinnung erhielt und die Thatsache der Gerinnung in den mit Ceriumoxyd versehenen Proben nur durch Beihilfe desselben, d. h. durch Bildung von vollkommen unlöslichem Ceriumoxalat gedeutet werden kann.

Durch den Zusatz von zymoplastischen Substanzen konnte immerhin eine Kalkzufuhr stattgefunden haben. Eine im hiesigen pharmaceutischen Institut des Herrn Prof. Dragendorff, welcher meiner Bitte auf die liebenswürdigste Weise entgegen kam, ausgeführte Untersuchung von 0,5 Gramm zymoplastischer Substanz (Alcoholextractivstoffe), ergab folgende Daten:

0,5 Gramm Substanz ergeben einen Aschenantheil von 20,4%. Dieser besteht vorzugsweise aus NaCl, etwas Phosphorsäure und auf 0,5 Originalsubstanz in maximo 0,00013 CaO; mithin ungefähr 0,026%. Um nun die Wirkung des Kalkgehalts zu eliminieren versetzte ich die Emulsion der zymoplastischen Substanzen, welche auf 1 Gewichts-

theil Substanz in minimo 20 Gewichtstheile Wasser enthielt mit 0,005 % oxalsaurem Natrium.

Der Kalkgehalt der Fermentlösung konnte wegen der Grösse der dazu nothwendigen Quantität nicht bestimmt werden. Daher setzte ich von einer 0,2 % wässrigen Oxalatlösung tropfenweise zu einer Fermentlösung, bis eine Probe der Mischung mit Chlorcalcium eine zweifellose Trübung gab, also ein Ueberschuss von Oxalat vorhanden war.

Weder durch eine solche Fermentlösung noch durch die Emulsion zymoplastischer Substanzen konnte ich an einem von neuem frisch hergestellten 0,2 %-igen Oxalatplasma Gerinnung erzielen.

Ich brachte nun auf zwei Dialysatoren, welche mit gewöhnlichem, groben Dialysationspergament armirt waren, je 40 Ccm. klares, abgehobenes und filtrirtes Oxalatplasma.

Das äussere (destillierte) Wasser wurde zuerst alle  $\frac{1}{4}$  Stunde, später halbstündlich, zuletzt, ausser in der Nacht, alle Stunde gewechselt.

Als im Inhalt beider Dialysatoren zu gleicher Zeit eine starke Trübung durch Niederschlag der Globuline entstanden war, nahm ich beider Inhalt in verschiedenen Gläsern auf und löste die Trübung durch Zusatz von 1 % reinem Kochsalz und einigen Tropfen verdünnter Natronlauge auf.

Vom Inhalt des ersten Dialysators entnahm ich nach der Auflösung der Globuline 12 Ccm. für Ge-

rinnungsproben, worauf die Dialyse in beiden Apparaten ihren Gang ging.

Jedesmal, wenn die Globuline ausfielen, wurden dem ersten Dialysator 12 Ccm. entnommen. Dieses geschah im Ganzen drei mal, während der 2. Dialysatorinhalt nicht vermindert wurde.

Ich erhielt durch diese Versuchsanordnung drei Proben von verschieden lange dialysiertem Oxalatplasma. Die zu verschiedenen Zeiten nacheinander entnommenen 12 Ccm. vertheilte ich jedes mal in Reagensgläser und fügte stets zu einer dieser Proben das gleiche Volumen, wie oben angegeben, entkalkter Fermentlösung — zu den übrigen ansteigende Dosen von entkalkter, leicht alkalisch gemachter Emulsion zymoplastischer Substanzen. Dadurch entstanden im Laufe der Zeit drei Serien von verschieden lange dialysiertem, aber mit entsprechend gleichen Zusätzen versehenen Plasmaproben.

In Serie I gerann nur die mit entkalkter Fermentlösung versetzte Probe.

In Serie II gerannen neben der Fermentprobe alle mit entkalkten zymoplastischen Substanzen versehenen Proben.

In Serie III gerannen sowohl die mit zymoplastischen Substanzen (ausser einer, in der der Alcaligehalt höher als sonst gegriffen war), als die Fermentprobe.

Die jedesmalige Controllprobe blieb in allen drei Serien definitiv flüssig.

Ich habe hier die Gerinnungszeiten nicht angegeben, weil es mir nur darauf ankam zu zeigen, dass die Gerinnung überhaupt eintrat. Die durch Fermentzusatz hervorgerufene Gerinnung erfolgte in kurzer Zeit, auf die durch zymoplastische Substanzen hervorgebrachte Gerinnung musste ich bis zu 20 Stunden warten.

Die letzte (3te) Entnahme fand am Abend des 2-ten Tages statt. Zu gleicher Zeit wurde der Inhalt des 2-ten Dialysators zum 3-ten Mal durch Kochsalz und Alcalizusatz geklärt. Als ich am nächsten Morgen denselben Inhalt wieder trübe fand, erwies sich, dass der bisher benutzte Kochsalz- und Alcalizusatz bei weitem nicht genügend war, um alle in der Flüssigkeit schwimmenden festen Massen zu lösen. Neben dem gewöhnlichen feinkörnigen Niederschlag fand sich eine zahlreiche Menge Flocken, die sich nicht mehr lösten und nur durch Filtration von der Flüssigkeit getrennt werden konnten. Nach Auflösung des nebenbei bestehenden feinkörnigen Niederschlages durch den gewohnten Zusatz an Kochsalz und Alkali wurde durch einen aschefreien Filter filtriert, wonach das Filtrat vollkommen klar war. Als nach einer Stunde das äussere Wasser wieder gewechselt wurde, zeigte sich, dass der ganze Inhalt des Dialysators geronnen war. Man konnte den

Apparat umkehren, ohne dass der am Pergament fest anhaftende Kuchen herabfiel.<sup>1)</sup>

Nachdem nach Verlauf einiger Zeit die Gerinnung als abgeschlossen angesehen werden konnte, wurde das Pergament mit dem daran haftenden Gerinnsel von der Flasche abgelöst und nach ausgiebiger Retraction des Fibrins dieses längere Zeit in destillirtem Wasser ausgewaschen. Da es mir damals nur auf den Kalkgehalt und nicht darauf ankam, etwaige Paraglobulineinschlüsse zu entfernen, wurde keine Waschung mit Kochsalzlösung vorgenommen. Ich erhielt schliesslich ein vollkommen normal aussehendes schneeweisses Präparat. Dieses wurde im hiesigen pharmaceutischen Institut des Herrn Prof. Dragendorff, welcher mir mehrfach auf die liebenswürdigste Weise entgegengekommen ist, auf seinen Kalkgehalt geprüft. Von dort wurde mir folgende Antwort:

0,1655 Fibrin ergaben 0,0015 Asche, davon waren 0,00012 CaO oder in maximo auf die Originalsubstanz bezogen 0,072 % CaO.

Nach den Untersuchungen von Freund<sup>2)</sup> ent-

---

1) Mit Oxalatplasma, das mehrere Tage, selbstverständlich in der Kälte, aufbewahrt worden war, ist mir dieser Versuch nicht gelungen. Nach 3-tägiger Dialyse reagierte es auch auf keinen Gerinnungserreger mehr. Es hatte eben seine Proplasticität auf dem Dialysator eingebüsst.

2) Med. Jahrbücher. Wien 1888. VI.

hält normales Fibrin 0,44 % CaO. Pekelharing erhielt in 0,1500 Substanz 0,0010 CaO<sup>1)</sup>.

Es enthielt also trotz der gewiss doch oberflächlichen Auswaschung mit Wasser allein das auf dem Dialysator geronnene Fibrin 6 bis 10 mal weniger CaO, als unter normalen Umständen geronnenes. Wie viel hiervon auf Rechnung von trotz der Filtration zurückgebliebenem oxalsaurem Kalk oder auf organische Verbindungen kommt, welche durch Oxalate nicht zerstört werden, kann ich natürlich nicht entscheiden. Es scheint mir aber klar zu sein, dass durch Ausfällen mit Oxalat im Plasma die Nothwendigkeit der Kalksalze für die Gerinnung nicht bewiesen werden kann. Vielmehr können sie, wie schon vielfach von den Vertretern der Dorpater Schule hervorgehoben worden ist, durch verschiedene andere Salze, wie im vorstehenden Versuch z. B. durch Kochsalz, ersetzt werden. Eine auffallende Herabsetzung der Fibrinziffer liegt nicht vor, wie bei Mangel an Kalksalz zu erwarten wäre, sie belief sich auf 0,41375 %. Ich erinnere aber ausserdem daran, dass vor der Gerinnung durch Filtration eine nicht unbeträchtliche Menge Fibrinflocken entfernt worden waren, die dadurch entstanden waren, dass die Ge-

---

1) Ueber die Bedeutung der Kalksalze für die Gerinnung des Blutes. Internationale Beiträge zur wissenschaftl. Med. Festschrift, Bd. 1.

rinnung begann, aber bei fortgesetzter Dialyse durch das Ausfallen der Globuline unterbrochen worden war. Deswegen und weil das Fibrin nicht mit Kochsalzlösung ausgewaschen wurde, kann vorliegende Bestimmung der Fibrinziffer keinen Anspruch auf absolute Genauigkeit erheben.

Durch die Ausfällung mit dem Oxalat sind im Oxalplasma die Kalksalze entfernt worden. Nach der Ausfällung der Kalksalze bleibt ein Ueberschuss von Oxalat nach und dieser hindert die Gerinnung. Weder durch Chlorbaryum noch durch Chlormagnesium wird jener Ueberschuss vollständig gefällt und daher die gerinnungswidrige Wirkung des nachbleibenden Oxalats aufgehoben. Kalk- und Strontian-Salze allein sind im Stande das Oxalat vollständig zu entfernen. Ebenso die Dialyse.

Zu demselben Resultate ist wie ich eingangs dieser Auseinandersetzung bemerkt habe, auch Prof. Alexander Schmidt schon früher gekommen. Die Beschreibung seiner desbezüglichen Experimente findet sich im 3. Kapitel des Manuscripts für den 2. Theil seines Werkes «zur Blutlehre», wo er auf pag. 83 (des Manuscripts) die Resultate seiner Versuche mit folgenden Worten zusammenfasst:

«Schafft man nach stattgehabter Kalkfällung den «in Lösung bleibenden Ueberschuss des Kaliumoxalats «aus dem Plasma, was auf verschiedene Weise geschehen kann, so ist das Blut resp. Plasma, ebenso

«auch die künstliche Lösung der Plasmaglobuline  
 «wieder gerinnungsfähig, und sie sind leicht zum Ge-  
 «rinnen zu bringen, ohne dass es der Hinzufü-  
 «gung eines Kalksalzes bedarf. Erneuert  
 «man den Oxalatzusatz, so wird die Gerinnungsfä-  
 «higkeit zum zweiten Male vollkommen aufgehoben,  
 «obgleich hier von einer Kalkfällung keine  
 «Rede ist, da die Kalksalze schon ausge-  
 «fällt waren.»

Dasselbe Resultat wie mit Oxalatplasma habe ich mit einer Fibrinogenlösung erreicht, welche nach der Vorschrift von Pekelharing<sup>1)</sup> folgendermaassen dargestellt wurde. Centrifugiertes und filtriertes Oxalatplasma von 0,1 % Oxalatgehalt wurde mit dem doppelten Volumen concentrirter Kochsalzlösung gefällt. Das in groben Flocken und Klumpen herausfallende Globulin wird auf der Centrifuge möglichst gesammelt, was ziemlich schwer von statten geht, weil es sich trotz des Centrifugierens sowohl oben als unten im Glase sammelt. Die Flüssigkeit wird mit einigem Substanzverlust abgegossen, der Niederschlag in destilliertem Wasser gelöst, nochmals mit Kochsalzsaturation gefällt, centrifugiert etc. Das so dreimal nacheinander gefällte Fibrinogen wird endlich in destilliertem Wasser ( $\frac{1}{2}$  Vol. des ursprünglich in Arbeit genommenen Oxalatplasmas) gelöst

1) l. c.

und nun als reine Fibrinogenlösung als Reagens auf Gerinnungserreger benutzt. Da sie ursprünglich aus Oxalatplasma hervorging, musste sie kalksalzfrei sein. Ich brachte sie nun auf den Dialysator, dessen äusseres Wasser zweimal nach einer halben Stunde, alsdann immer nach einer Stunde gewechselt wurde. Nach 4-stündiger Dialyse fand sich auf dem Pergament eine schneeweisse, papierdünne Membran, die sich wohl unterschied von sonst zur Beobachtung gekommener feinkörniger Ausscheidung des Globulins. Schüttelte ich den Dialysator, so blieb die Membran am Pergament haften, während auf dem Dialysator ausgeschiedenes Fibrinogen sich sehr bald in der Flüssigkeit vertheilt und diese diffus trübt. Mit Hilfe der Spritzflasche konnte man bei einiger Vorsicht kleine Stücke der Membran so theilweise lösen, dass sie im strömenden Wasser flottierten. Mit einem Hornspatel liess sich die weisse zarte Masse abschaben. Sie wurde zur Probe in 8 % Kochsalzlösung gebracht, in der sie sich nach Verlauf von zwei Tagen nicht gelöst hatte. Es war also Fibrin.

Vorliegender Versuch besagt zweierlei:

1. Trotz des vorschriftmässigen dreimaligen Umfällens, gerann die Fibrinogenlösung, ohne irgend welchen Zusatz spontan. Eine undialysierte Probe derselben Lösung blieb ad indefinitum ungeronnen. Es liegt hier also ein scheinbar ungerinnbares Prä-

parat vor, das nach Entfernung des die Gerinnung hindernden Kochsalzüberschusses der spontanen Gerinnung unterlag.

2. Durch den Zusatz von oxalsaurem Kali, sind mit Sicherheit alle Kalksalze ausgefällt gewesen. Durch das mehrfache Auflösen und Fällen des Fibrinogens ist das überschüssige Oxalat vollständig entfernt worden. Es besteht hier also nicht eine Behinderung der Gerinnung durch Oxalat. Es genügte auch schon eine kurz dauernde vierstündige Dialyse, da es sich nur um die Entfernung des viel leichter diffundierenden Kochsalzes handelt.

Es kommt hier fürs erste nur der zweite Punkt in Betracht: die Thatsache, dass die Gerinnung ohne Anwesenheit von Kalksalzen eingetreten ist.

Damit ist, meiner Ansicht nach, sowohl fürs Plasma, als auch für die Fibrinogenlösungen bewiesen, dass die Kalksalze keine nothwendige, unumgängliche Bedingung für die Gerinnung sind. Es mag immerhin anerkannt sein, dass ihnen unter den Neutralsalzen der erste Rang gebührt, specifisch ihnen allein zukommend ist ihre Wirkung aber nicht.

### III.

Die Rolle, welche Leon Liliensfeldt den Kalksalzen zuschreibt, involviert, wie mir scheint, die Vorbedingung ihrer Nothwendigkeit bei der Gerinnung.

Er sagt selbst: «Die Kalksalze verleihen also dem Nucleohiston gerinnungshervorrufende Eigenschaften».

Und weiter: «So lange, als das Nucleohiston nicht gespalten ist, kann es keine Gerinnung hervorrufen, durch Kalksalze gespalten, leitet es Gerinnung ein<sup>1)</sup>».

Das heisst doch wohl: so lange keine Kalksalze anwesend sind, gelingt es dem Nucleohiston nicht die Gerinnung zu Stande zu bringen — proplastische Lösungen, welche keine (löslichen) Kalksalze enthalten, müssten permanent flüssig bleiben, obgleich «Nucleohiston» da ist. Nun nach dem, im vorigen Abschnitt gesagten, dürfte die Unhaltbarkeit der Liliensfeldt'schen Theorie schon jetzt

1) Du Bois Reymonds Archiv. 1892. p. 554.

klar sein und das Interesse für sie alsbald erlahmen, wenn es nicht in hohem Grade interessant wäre, die Darstellung seiner gerinnungmachenden Substanzen zu verfolgen und dieselben mit den, von Alexander Schmidt dem Protoplasma entzogenen zu vergleichen, zumal da die, von Lilienfeldt zur Darstellung benutzten Reagentien mit den Schmidt'schen vollständig übereinstimmen. Es besteht nur, wie wir sehen werden, insofern eine Verschiedenheit der Methode als die Reihenfolge in der Anwendung der Extractionsmittel bei Lilienfeldt eine andere ist, als bei Alex. Schmidt. Es kommt hier darauf an, festzustellen, welche Methode, resp. welche Reihenfolge in der Anwendung derselben Mittel mehr geeignet ist, zum Ziele zu führen.

Ich habe bei der kurzen Wiedergabe desjenigen Theils der Alexander Schmidt'schen Blutlehre, auf welchen sich vorliegende Arbeit bezieht, die Methode zur Darstellung der zymoplastischen Substanzen, des Cytoglobins, Präglobulins und Cytins bereits angegeben, es bleibt mir nur zur Begründung der Wichtigkeit, warum die Alcoholextraction der Wasserextraction vorangehen muss, folgendes auseinanderzusetzen.

Rauschenbach hat bereits im Jahre 1883 (Inauguralabh. Dorpat) den Einfluss des Wasserextracts von Lymphzellen auf die Gerinnung beschrieben.

Es ist also, seit mehr als 10 Jahren bekannt, dass das Wasserextract der Lymphzellen Stoffe resp. einen Stoff enthält, welcher die Gerinnung im hohen Grade beschleunigt. Zugleich war es klar, dass das Wasserextract ein Gemenge von Stoffen enthielt, welche schwer von einander zu trennen sind. Es gehen vor allen Dingen Stoffe in die wässrige Lösung über, welche zugleich auch in Alcohol löslich sind. Diese haben sich durch die Schmidt'schen Untersuchungen im Lauf der Zeit als diejenigen herausgestellt, welche die Fähigkeit besitzen, das Ferment von seinem Mutterstoff abzuspalten. Sind diese «zymoplastischen Substanzen» einmal in das Wasserextract übergegangen, so hält es schwer, resp. ist es unmöglich, dieselben wieder vollständig zu entfernen. Zugleich modificieren sie die Löslichkeit der ausser ihnen im Wasserextract enthaltenen Stoffe in dem Sinne, dass dieselben bedeutend schwerer löslich in Reactionsflüssigkeiten werden, in denen sie sich ohne Anwesenheit der zymoplastischen Substanzen auf's leichteste lösen.

Fällt man das Wasserextract, gleichviel ob mit Alcohol oder Essigsäure, immer wird ein grosser Theil der zymoplastischen Substanzen, obgleich er in Alcohol löslich ist, mit in den Niederschlag gezogen, und es gelingt nur mit Anwendung grosser Alcoholumengen die zymoplastischen Substanzen annähernd vollständig dem Niederschlag zu entziehen.

Es ist also evident, dass es hier die grösste Schwierigkeit macht, die, ausser dem in Wasser löslichen Theil der zymoplastischen Substanzen, im Wasserextract enthaltenen Stoffe rein darzustellen. Auf die Reindarstellung kommt es aber hier besonders an; denn nur durch sie erkennt man, dass der nach Entfernung der zymoplastischen Substanzen zurückbleibende, in Wasser lösliche Rest, auf die Gerinnung des Blutes und Plasmas eine andere, und zwar der jener direct entgegengesetzte Wirkung hat.

Es kommt also, will man anders die Zellstoffe auf ihre wahre Gerinnungswirkung prüfen darauf an, die zymoplastischen Substanzen zuerst zu entfernen, bevor man zur Darstellung des nur in Wasser löslichen Stoffes übergeht. Diesen Zweck hat Alexander Schmidt dadurch erreicht, dass er die Zellen zuerst ausgiebig mit Alcohol extrahierte. Der nun nachbleibende Rest enthält den in Wasser löslichen Bestandtheil das Cytoglobin, dessen Wirkung auf die Blutgerinnung darin besteht, dass er dieselbe unterdrückt.

Lilienfeldt extrahiert von vorn herein mit Wasser und fällt den Wasserextract durch Essigsäure oder Alcohol und Aether. Dadurch finden sich in dem Niederschlag, der nun entsteht, beide Male zymoplastische Substanzen neben den anderen Stoffen vor. Ein zweimaliges Auflösen des Essigsäureniederschlags in kohlensaurem Natron und Fällung

durch Essigsäure befreit denselben zwar von nicht geringen Mengen zymoplastischer Substanz, aber keineswegs vollständig.

Lilienfeldt hat den von ihm dargestellten Körper als Nucleoproteid erkannt. Eine Reinigung desselben durch Alcohol kann ihn nicht wesentlich verändern, da bekanntlich die Nucleine nicht vom Alcohol angegriffen werden. Zum Zweck der Elementaranalyse kocht Lilienfeldt jenen Essigsäure resp. Alcohol-Niederschlag aus dem Wasserextract der Lymphdrüsen mit Alcohol aus. Der dadurch erhaltene Körper ist thatsächlich von den begleitenden zymoplastischen Substanzen befreit, und verdient daher, wie mir scheint, mit vollem Recht den Namen Nuclein. Durch die Manipulation des Kochens (in Alcohol) ist er aber in seinem Wesen doch soweit — offenbar durch theilweise Ueberführung in coaguliertes Eiweiss verändert, dass er sich in Wasser nicht mehr löst, während Lilienfeldt die Löslichkeit in Wasser im Allgemeinen für das Nucleohiston in Anspruch nimmt.

Das Cytoglobin, welches, nach Entfernung der zymoplastischen Substanzen, durch Wasserextraction gewonnen wird, ist nun, ohne dass es durch Kochen von den zymoplastischen Substanzen befreit wurde, schon in Folge seiner Darstellungsmethode frei von dieser Beimengung. Trotzdem besitzt es, oder vielmehr grade deswegen, die Löslichkeit in Wasser.

Noch andere Eigenschaften bleiben bei der Darstellung des Cytoglobins an diesem haften, während sie durch Kochen vernichtet werden; ich erinnere an die von Alexander Schmidt mitgetheilte Thatsache, dass Cytoglobin die Polarisationssebene nach rechts dreht.

Der Vorgang bei der Darstellung des Nucleohistons ist folgender: Im Wasserextract befinden sich, wie gesagt, neben einander Cytoglobin und zymoplastische Substanzen. Die Fällung mit Alcohol bringt einen Niederschlag hervor, welcher aus demselben Gemenge besteht, mit Abzug derjenigen zymoplastischen Substanzen, welche besonders leicht in Alcohol löslich sind. Die dem Cytoglobin anhaftenden zymoplastischen Substanzen modificieren die Löslichkeit desselben in dem Sinne, dass dieses Gemenge in Wasser bedeutend schwerer löslich ist, als reines Cytoglobin. Man kann diese Thatsache experimentell erproben: Ich mischte Cytoglobin und zymoplastische Substanz im Verhältniss von 1:4 mit ein wenig Wasser, verrieb das Gemenge, löste durch Wasserzusatz nach Möglichkeit auf, filtrierte und erhielt dadurch eine Lösung, welche, künstlich dargestellt, inhaltlich ungefähr dem Wasserextract von Zellen gleichkam. Nun brachte ich eine Fällung durch Alcohol hervor, die sowohl Cytoglobin wie zymoplastische Substanz enthielt, denn der nach Abstreifen des Niederschlags abgehobene und einge-

dampfte Alcohol hinterliess auf der Eindampfschale einen bedeutend geringeren Rückstand an zymoplastischen Substanzen, als ich in Arbeit genommen hatte. Der Niederschlag wurde auf dem Filter gesammelt, mit Aether ausgewaschen und getrocknet. Das nunmehr entstandene Pulver konnte sich, was Leichtlöslichkeit in Wasser anbetrifft, mit dem zur Herstellung desselben verwandten Cytoglobin keineswegs messen.

Weiter verdeckt die Gegenwart der zymoplastischen Substanzen wegen der viel stärkeren Opaleszenz der Lösung die Eigenschaft des Cytoglobins die Polarisationssebene nach rechts zu drehen vollständig.

Ich führe Vorstehendes deswegen an, damit die Wichtigkeit der Entfernung der zymoplastischen Substanzen klar sei.

Hat man aus dem Wasserextract der Lymphdrüsenzellen mit Alcohol thatsächlich die zymoplastischen Substanzen entfernt, was technisch auf die grössten Schwierigkeiten stösst, theoretisch aber denkbar ist, so bleibt eben Cytoglobin nach.

Das ideale Nucleohiston ist, da die Alcohol-extractstoffe, wie schon erwähnt, nicht dazu gehören können resp. dürfen, mit dem Cytoglobin identisch, so lange es sich um Fällung des Nucleohistons durch Alcohol handelt.

Die andere Methode von Lilienfeldt das Nucleohiston herzustellen, nämlich durch Fällung

vermitteltst Essigsäure, ergiebt eine andere Zusammensetzung. Lasse ich die auch hier beigemengten Alcoholextractivstoffe ausser Acht, so bleibt nun das Cytoglobin der Wirkung der Essigsäure ausgesetzt. Die Essigsäure spaltet das Cytoglobin aber in Präglobulin, welches niederschlägt und in ein Spaltungsproduct, welches in Lösung bleibt. Es handelt sich demnach bei der Fällung des Wasserextracts mit Essigsäure nicht mehr um ein Gemenge von Cytoglobin und zymoplastischen Substanzen, sondern der Niederschlag besteht aus einer Summe von Präglobulin und zymoplastischen Substanzen. Die zwei Niederschläge sind also nicht, wie Lilienfeldt annimmt, einander identisch. Dass der durch Essigsäure aus dem Wasserextract gefällte Körper in Wasser, wenn auch unvollkommen, löslich ist, während es zu den Eigenschaften des Präglobulins gehört, in Wasser unlöslich zu sein, kann, wegen der Anwesenheit der Alcoholextractstoffe, nicht Wunder nehmen, denn dass sie die Löslichkeit anderer Niederschläge modificiren, ist eine besonders vom Lecithin, welches mit dabei ist, allgemein bekannte Thatsache.

Lilienfeldt hat auch die zymoplastischen Substanzen studirt<sup>1)</sup>. Nach ihm enthalten sie folgende Stoffe:

---

1) Zur Chemie der Leucocyten. Zeitschrift für physiol. Chemie. Bd. XVIII, d. 23. Sep. 1893.

- a) Protagon.
- b) Amidovaleriansäure.
- c) Inosit.
- d) Monokaliumphosphat.
- e) Lecithin und Cholesterin.

Die zymoplastische, d. h. die fermentabspaltende Wirkung schreibt Lilienfeldt allein dem Monokaliumphosphat zu. Die Constatirung dieser Thatsache ist in sofern sehr interessant, als danach die Fermentabspaltung durch einen chemisch reinen Körper studirt werden kann, ohne dass man stets das ganze Gemenge anzuwenden braucht. Mit der Behauptung aber, dass nur dem Monokaliumphosphat die besprochene Wirkung zukommt<sup>1)</sup>, kann ich nicht übereinstimmen. Ich verweise in dieser Beziehung auf die Dissertation von Jacob von Samson-Himmelstjerna (Dorpat, 1885), welcher dieselbe Eigenschaft am Lecithin (Präparat von Doctor G. Grübler Leipzig) constatirt hat.

---

1) Dy Bois Reymonds Archiv. 1893, p. 566.

#### IV.

Ich habe gesagt, dass, so lange es sich um Alcoholfällung handelt, das ideale Nucleohiston, d. h. ein solches, das von zymoplastischen Substanzen befreit ist, ohne gekocht worden zu sein, nichts anderes ist als Cytoglobin, so lange es sich um eine Fällung mit Essigsäure handelt, nichts anderes als Präglobulin. Eine in nicht allzuweiten Grenzen schwankende Aehnlichkeit der beiderseitigen Elementaranalysenzahl, ausser der Schwefelzahl, deutet schon darauf hin: Ich stelle die Zahlen des Präglobulins denen des, mit Essigsäure hergestellten Nucleohistons gegenüber:

	C.	H.	N.	S.	P.	
Präglobulin	51,44	7,61	16,96	3,39	<b>3,74</b>	Demme u. A. Schmidt.
Nucleohiston	48,46	7,00	16,86	0,701	<b>3,025</b>	Lilienfeldt (im Mittel)

Das Cytoglobin hat eine noch höhere P-zahl:  
= 4,50.

Ausserdem möchte ich daran erinnern, dass, wie Alexander Schmidt mitgetheilt hat, die Pepsinsalzsäure das Cytoglobin kaum anzugreifen im Stande ist.<sup>1)</sup>

1) Zur Blutlehre. Leipzig, 1892. Verlag von F. C. W. Vogel.

Wenn es sich dadurch erwiesen hat, dass das Cytoglobin und alle übrigen von ihm abstammenden Glieder der Globulinreihe zu den Nucleoproteiden gehören und somit die Stoffe repräsentiren, welche dem Zellkern entstammen, so ist dies eine interessante Thatsache, gegen die sich nichts einwenden lässt, deren Erforschung die Wissenschaft Leon Lilienfeldt zu verdanken hat. Auch schon von anderer Seite ist das Cytoglobin und Präglobulin als Nucleoproteid diagnostiziert worden.<sup>1)</sup> Vor allen Dingen stimmen die Eigenschaften des Nucleohistons mit denen des Cytoglobins und Präglobulins in Bezug auf die Faserstoffgerinnung überein.

Eine der hervorragendsten Eigenschaften des Cytoglobins ist die Fähigkeit desselben, das Material für die Bildung des Faserstoffs herzugeben. Zum Plasma zugesetztes Cytoglobin ruft, wenn es zur Gerinnung kommt, eine bedeutende Vermehrung des Faserstoffs hervor. Diese Thatsache ist von Alexander Schmidt in «zu Blutlehre» so anschaulich geschildert und so evident bewiesen, dass es nicht erforderlich ist, hier genauer darauf einzugehen.

Es sind dort die Uebergänge vom unlöslichen Grundstoff der Zelle bis zum Fibrinogen auf's ein-

1) Hammersten. Zur Kenntniss der Nucleoproteide. Zeitschrift für physiologische Chemie. Hoppe-Seiler. Band XIX, 1. Heft, 1894.

gehendste besprochen und verfolgt. Dass der Ursprung des fibringebenden Substrats bis in die Substanz der Zelle zu verfolgen ist, ist eine Entdeckung von Alexander Schmidt. In diesem Sinne sei das Prioritätsrecht Alexander Schmidt's gewahrt. Aber es ist eine interessante Bestätigung und Erweiterung jener Thatsache, welche Lilienfeldt durch die Auffassung jener Stoffe «als aus den Kernen stammend» gegeben hat. Cytoglobin, Präglobulin, Paraglobulin gehören demgemäss nach der bestehenden Definition für Nuclein unter die Nucleoproteide, und werden von Lilienfeldt alle unter dem einen Namen Nucleohiston zusammengefasst. Der Unterschied der Auffassung besteht aber darin, dass Lilienfeldt einen directen Uebergang des in den Zellen enthaltenen Nucleohistons in Fibrin annimmt, d. h. dass zwischen dem Kernstoff und dem löslichen Faserstoff keine Zwischenstufen existieren, während Alexander Schmidt die Repräsentanten der, seiner Ansicht nach vorhandenen Zwischenstufen, mit besonderen Namen belegt. Wie dem auch sei, die Eigenschaft, das Substrat für die Faserstoffbildung herzugeben, hat das Nucleohiston mit dem Cytoglobin und dessen Derivaten gemein.

Die andere Eigenschaft des Cytoglobins, in Bezug auf die Gerinnung, nämlich die, das Blut sowohl, als das Plasma vor der Gerinnung zu bewahren,

d. h. proplastisch zu erhalten, scheint nun fürs erste der Eigenschaft des Nucleohistons die Gerinnung gerade hervorzurufen aufs heftigste zu widersprechen. Denn das Nucleohiston ist ja nach Lilienfeldt der einzige Gerinnungserreger den es giebt, allerdings nur — falls Kalksalze anwesend sind.

Die Ungleichheit der Wirkung ist inbezug aufs Blut aber nur scheinbar. Um dieses zu erweisen prüfte ich eingehend die Wirkung des Nucleohiston an, bei 0,3° C. filtriertem Pferdeblutplasma, welches vollkommen klar, also vollkommen zellfrei ist und sehr langsam gerinnt.

Das Nucleohiston stellte ich mir für alle Versuche folgendermaassen nach der Vorschrift von Lilienfeldt her; wobei ich hervorheben will, dass ich nicht mit Kalbslymphdrüsen, sondern mit Lymphdrüsen des Rindes gearbeitet habe. In Dorpat werden die Kälber so jung geschlachtet, dass man Material von vielen Thieren braucht, was wegen Mangel an Centralschlachthäusern gar nicht zu beschaffen ist.

Frisch vom Schlachthause geholte Lymphdrüsen des Rindes wurden sorgfältig vom Fett und anhängendem Gewebe befreit, in der Fleischhackmaschine zerkleinert und mit Glaspulver verrieben. Der so entstandene Brei wurde mit dem 4-fachen Volumen destillierten Wassers verdünnt, mehrfach umgerührt und über Nacht stehen gelassen. Nach 12 Stunden

wurde das Wassereextract durch Abgiessen und Filtrieren von Bodensatz getrennt und 2 Stunden centrifugiert. Dabei bildet sich am Boden des Glases ein fast schwarzer ziemlich fester Bodensatz. Die darüberstehende, stark opalisierende Flüssigkeit wurde abgegossen und noch einmal filtriert. Einige Tropfen dieser Flüssigkeit wurden auf einem Objectträger getrocknet und mehrfache mit Alaunkarmin gefärbte Präparate wiesen keine einzige Zelle auf.

Das Filtrat wurde nun mit Essigsäure tropfenweise versetzt, wodurch ein wolkiger Niederschlag entstand, der sich in der ganzen Flüssigkeit vertheilte. Nach einigen Stunden hatte sich der Niederschlag gesenkt und darüber stand eine leicht gelblich gefärbte, aber vollkommen klare Flüssigkeit. Letztere wurde nun bis zum Niveau des Niederschlages abgehoben und eingedampft; sie gab einen gelblichen ziemlich festen Rückstand, welcher sich nur theilweise in Alcohol löste — wegen des in ihm ausser einem Theil zymoplastischer Substanzen noch vorhandenen, in Alcohol unlöslichen, neben dem Präglobulin gebildeten Spaltungsproducts des Cytoglobins.

Der Niederschlag selbst wurde auf einem Filter gesammelt, nach möglichst vollständigem Abtropfen der noch anhaftenden sauren Flüssigkeit mit einem Spatel aufgenommen und in kohlen-saurem Natron gelöst, worin er leicht löslich war. Aus dieser alkalischen Lösung wieder mit Essigsäure gefällt, noch-

mals gelöst und wieder gefällt, wurde er mit essigsäurehaltigem Wasser ausgewaschen und endlich auf dem Filter gesammelt.

Von dem so erhaltenen grau gefärbten Brei wurde ein Theil unter der Luftpumpe getrocknet. Ein anderer Theil einer Extraction mit Alcohol (96°) unterworfen. Diese Portion wurde in mehrere Theile getheilt und die einzelnen Proben verschieden lange der Einwirkung des Alcohols ausgesetzt. Eine dritte Portion wurde in einem mit einem Rücklaufkühler versehenen Glasballon ca. 20 Minuten in starkem Alcohol gekocht, dann auf dem Filter gesammelt, mit absolutem Alcohol und Aether ausgewaschen und über Chlorcalcium getrocknet.

Das schliesslich resultierende Pulver ist schneeweiss, leicht verreiblich und trägt alle Characteristica des von L. Lilienfeldt zuerst als Leuconuclein beschriebenen Präparats.

Während des Kochens resp. Extrahierens mit Alcohol gehen in die alcoholische Lösung eine Menge jener schon oft erwähnten Substanzen über. Der zum Extrahieren, Auswaschen und Auskochen verwandte Alcohol wurde infolge dessen jedesmal eingedampft, mit dem Zweck, den bezüglichen Rückstand auf seine Gerinnungswirkung zu prüfen. Dadurch entstanden zwei Serien von Präparaten, nämlich Nucleohistonpräparate, denen die Alcoholextractstoffe durch Alcohol theilweise, resp. vollständig entzogen

worden waren, und andererseits Präparate, welche diejenigen Stoffe enthielten, die den Nucleohistonpräparaten entzogen waren. Alle diese Präparate wurden nun gleichzeitig an ein und demselben in der Kälte filtrierten Pferdeblutplasma angewandt.

Alle Substanzen wurden in besonderen Schälchen mit etwas Wasser zu Emulsionen verrieben und möglichst genau neutralisiert, alsdann dem Plasma, welches in Reagensgläsern zu je 1,5 Cbctm. vertheilt war, 4—5 Tropfen derselben beigefügt. Die Temperatur war während der Beobachtungszeit, welche auf 3 Tage ausgedehnt wurde, 14° R.

Von diesem Versuch theile ich das Verhalten der charakteristischen Proben in der Art mit, dass ich zuerst die Gerinnungsbeschleunigung und dann die Behinderung angebe, wobei die Gerinnungszeit auf den Beginn der Gerinnung bezogen ist.

A. Beschleunigung durch:

1. Alcoholextractstoffe, die gewonnen wurden durch Auskochen von Nucleohiston in Alcohol . . . . . um 61 Minuten.
2. Alcoholextractstoffe, die gewonnen wurden durch Extraction des Nucleohiston mit Alcohol . . . . . um 56 Minuten.

3. Alcoholextractstoffe, die gewonnen wurden durch Auswaschen von Nucleohiston mit Alcohol . . . . . um 56 Minuten.
4. Nucleohiston, welches weder ausgekocht noch extrahiert, also mit Alcohol nicht in Berührung gekommen war . . um 12 Minuten.

B. Verzögerung durch:

1. in Alcohol gekochtes Nucleohiston (wie zur Elementaranalyse nach Lilienfeldt präpariertes) . . . . . um 390 Minuten.
2. Mit Alcohol ausgewaschenes Nucleohiston . . . . . um 30 Stunden.
3. Mit Alcohol extrahiertes Nucleohiston . . . . . unterdrückte die Gerinnung vollständig.

Aus vorstehendem Versuch geht zur Evidenz hervor, dass von den Alcoholextractstoffen, also von den zymoplastischen Substanzen befreites Nucleohiston gerinnungshemmend auf Pferdeblutplasma wirkt, demnach auch in Bezug auf diese Eigenschaft mit dem Cytoglobin oder, da es sich im vorliegenden Falle um die Essigsäurefällung handelt, besser gesagt mit dem Präglobulin übereinstimmt.

Dass das in Alcohol gekochte Präparat in B. 1. am schwächsten gerinnungshemmend wirkt, obgleich es am wenigsten resp. gar keine zymoplastischen Substanzen enthält, findet seine Erklärung in dem Umstande, dass die Hitze die gerinnungshemmende Kraft herabsetzt.

Die dem Nucleohiston entzogenen zymoplastischen Substanzen zeigten im Plasma, als einer prothrombinhaltigen Flüssigkeit, die prompteste Gerinnungswirkung und beschleunigen die Gerinnung bedeutend mehr als in Verbindung mit Nucleohiston, weil sie nun nicht mehr durch das in letzterem enthaltene Präglobulin in Schranken gehalten wurden.

Die Beschleunigung durch Nucleohiston A. 4. beträgt im vorliegenden Falle nur 12 Minuten; ich habe in anderen Versuchen eine grössere Beschleunigung gefunden. Das richtet sich nach der Gerinnungsenergie des Plasmas. Im vorliegenden Falle gerann die Controlprobe in 87 Minuten. Unterlässt man vor der Probe das mehrfache Auflösen des Nucleohiston in kohlensaurem Natron, so ist seine gerinnungsfördernde Kraft stärker. Das Nucleohiston verliert eben auch dabei zymoplastische Substanzen.

Dieselben Resultate erhält man mit Nucleohiston, wenn es durch Alcohol gefällt worden ist. Sie sind aber weniger eclatant, weil es bedeutend schwerer gelingt aus dem Alcoholniederschlag die zymoplastischen Substanzen zu entfernen. Die gerinnung-

hemmende Eigenschaft tritt jedoch schon hervor, wenn man den zur Fällung benutzten Alcohol nach 24-stündigem Stehen durch frischen ersetzt und diesen im Laufe von 3—4 Tagen einigemal wechselt.

So lange von einer Trennung des Nucleohistons in eine hindernde und fördernde Componente die Rede ist, gilt also, dass sie durch Alcohol hervorgerufen werden kann. Derjenige Antheil, welcher vom Alcohol nicht gelöst wird, verdient allein den Namen Nuclein und dieser ist es gerade, der die Gerinnung hemmt. Es bedarf nicht der Salzsäure, um den in den Zellen enthaltenen gerinnungshemmenden Körper darzustellen; es bedarf nicht der Kalksalze, um das Nucleohiston in eine gerinnungsfördernde und eine gerinnungshemmende Componente zu theilen.

## V.

L. Lilienfeldt leugnet das Fibrinferment. «Mit den Thatsachen», sagt er, «welche ich zu finden das Glück hatte, kommt man, ohne das Fibrinferment heranzuziehen, bei der Erklärung aller Gerinnungserscheinungen aus»<sup>1)</sup>.

Das gewöhnliche Reagens auf Fibrinferment (das Salzplasma) habe ich in Bezug auf das Nucleohiston nicht angewandt, weil Lilienfeldt an giebt, dass das Salzplasma durch Nucleohiston, «unter Einhaltung gewisser Maassregeln» zur Gerinnung gebracht wird<sup>2)</sup>.

Da jene Maassregeln nicht näher angegeben werden, mir daher unbekannt geblieben sind, so könnte ein negativer Befund meinerseits als auf weg lassen derselben beruhend gedeutet werden. Ich habe darum ein anderes, jedenfalls das sicherste Reagens auf Ferment verwandt, nämlich Höhlen transsudate des Pferdes und eine Hydrocelenflüssig-

1) Du Bois Reymonds Archiv. 1892, p. 556.

2) Ebenda, p. 172.

keit, welche spontan und auf Zusatz von zymo plastischen Substanzen nicht gerann.

In diesen Flüssigkeiten habe ich innerhalb 10 bis 15 Minuten stets eine Gerinnung durch Ferment lösung erzielt, mit Nucleohiston, trotz vielfach wiederholter Versuche, niemals. Ein Zusatz von 0,1% Kalksalz vermochte niemals in solchen Flüssigkeiten dem Nucleohiston gerinnungerregende Eigenschaften zu verleihen. Jene Flüssigkeiten enthalten den Mutterstoff des Ferments nicht, es können also die zymoplastischen Substanzen hier gar keine Fermentabspaltung und infolge dessen auch keine Gerinnung hervorrufen. Ebenso verhalten sich auch die aus diesen Flüssigkeiten durch ein- und zweimaliges Füllen mit überschüssigem Kochsalz erhaltenen Plasminlösungen.

Sehr bezeichnend für diese Thatsache ist ein Passus von Lilienfeldt<sup>1)</sup>.

Er schreibt: «Einen directen Beweis, dass die «Zellkernsubstanz der Leucocyten, das Nucleohiston, «unmittelbar in Fibrin umgewandelt werden kann, «lieferte ich dadurch, dass ich quantitative Fibrinbestimmungen in Gerinnungsgemischen anstellte, «welche aus einer gemessenen Menge einer spontan «nicht gerinnenden Peritonealflüssigkeit vom Pferde, «einer gemessenen Menge einer kräftigen Fibrinfer-

1) Du Bois Reymond. Archiv. 1893, p. 564.

«mentlösung einerseits und in einer vollkommen  
«gleich zusammengesetzten Gerinnungsmischung, der  
«noch eine gewogene Menge Nucleohiston hinzu-  
«gefügt wurde, anstellte.»

In der von Liliensfeldt gebrauchten Mischung befindet sich erstens das Substrat der Gerinnung, zweitens das Nucleohiston und, um die Gerinnung zuwege zu bringen, fügt Liliensfeldt noch eine «kräftige Fermentlösung» hinzu. Warum? Wenn Liliensfeldt consequent geblieben wäre, so hätte er seiner Theorie gemäss an dieser Stelle Kalksalze und nicht Ferment hinzugefügt.

Die Antwort auf das «warum» aber, ist sehr einfach. Es geht garnicht anders. Nucleohiston + Kalksalze machen in Pferdeperitonealfüssigkeiten gar keine Gerinnung. Deshalb hat Liliensfeldt beim citierten Versuch das von ihm so verachtete Ferment doch nöthig gehabt.

Es giebt aber ein Mittel um dem Nucleohiston Fermentwirkung zu verschaffen. Nach Alexander Schmidt<sup>1)</sup> enthält das Wasserextract der Lymphdrüsenzellen Prothrombin. Wenn man nämlich dem Wasserextract noch zymoplastische Substanzen zu den bereits vorhandenen zufügt, und die Flüssigkeit vorübergehend alcalisch macht, so bildet sich in demselben Ferment — und seine Wirksamkeit erstreckt

1) Zur Blutlehre, 1892.

sich dann auch auf proplastische Flüssigkeiten, die ohne Fermentzusatz nicht gerinnen. Hätte Liliensfeldt ein so behandeltes Wasserextract mit Alcohol gefällt, so hätte er ein Nucleohiston erhalten, welches, dank seines Gehalts an Ferment beim citierten Versuch den Zusatz einer Fermentlösung wirklich überflüssig gemacht hätte.

Die Sachlage ändert sich sofort, wenn man dem Höhlentranssudate des Pferdes eine prothrombinhaltige Lösung zufügt. Um eine solche zu erhalten, überliess ich Rinderblut der spontanen Gerinnung. Nach 2 Tagen hob ich das Serum ab, dialysierte es weitere 2 Tage lang mit 2-stündlichem Wasserwechsel, filtrierte und fügte nun zu 4 Theilen Pferdepericardial-Flüssigkeit 1 Theil dieser Lösung. Um die spontane Gerinnung zu hintertreiben, wurde die Flüssigkeit sofort nach der Mischung mit einem Ueberschuss von Steinsalz versetzt. Dadurch entstand ein flockiger weisser Niederschlag, von dem die darüber stehende gelbe Flüssigkeit abfiltriert wurde. Durch Nachgiessen von destilliertem Wasser, löste sich mit Hilfe des anhaftenden Kochsalzes der Niederschlag auf und ich erhielt ein klares, wegen des hohen Salzgehalts, spontan ungerinnbares Präparat (Methode von Denis). In diesem erregten sowohl Nucleohiston, als auch zymoplastische Substanzen über kurz oder lang Gerinnung.

Durch Zuführen einer Lösung, in welcher man nach den Schmidt'schen Angaben die Ferment-  
abspaltung durch Zusatz zymoplastischer Substanzen  
hervorrufen kann (Prothrombinlösung), entsteht also  
in den Höhlentranssudaten die Disposition für die  
Wirkung des Nucleohiston, und in dieser künstli-  
chen Gerinnungsmischung wirkt das Nucleohiston  
ebenso wie im Plasma in Folge eines Gehalts an  
zymoplastischen Substanzen.

Ich habe sowohl in Bezug auf das Plasma als  
auf die künstliche Gerinnungsmischung von der Wir-  
kung des Nucleohistons nur als eines Veranlassers  
der Faserstoffgerinnung gesprochen. Die Vermehrung  
des Faserstoffs durch Nucleohistonzusatz zu den  
genannten Flüssigkeiten findet, tritt die Gerinnung  
ein, stets statt, aber selbstredend nicht in Folge des  
Gehalts des Nucleohistons an zymoplastischen Sub-  
stanzen, sondern in Folge seines Gehalts an Cyto-  
globin, resp. Präglobulin.

## VI.

Die Veranlassung zur Leugnung des Fibrinfer-  
ments bildet das Verhalten der künstlichen aus  
Plasma gewonnenen Fibrinogenlösungen. In solchen  
erzielt man durch Nucleohistonzusatz mit Kalksalzen  
fast immer Gerinnung. Es macht thatsächlich, wenn  
man die nach Hammersten oder Pekelharing  
dargestellte Lösung als reine Fibrinogenlösung an-  
sieht, den Eindruck, als wenn, hat man Nucleohiston  
und Kalksalze, ein Ferment nicht mehr nöthig wäre.

Die Identität des Nucleohistons mit  
dem Cytoglobin resp. Präglobulin aber be-  
wahrheitet sich auch hier. Sowohl durch  
Cytoglobin wie durch Präglobulinzusatz  
wird, wie ich gefunden habe, in kurzer  
Zeit die Hammersten'sche Fibrinogen-  
lösung zur Gerinnung gebracht. Bedeutend  
schwieriger, d. h. nur mit Anwendung gewisser Maass-  
regeln, die ich weiter unten angeben werde, und  
auch dann nicht mal immer, gelingt es durch zymo-  
plastische Substanzen in der Hammersten'schen

Fibrinogenlösung Gerinnung zu erzielen. Die Wirkung des Nucleohistons auf Fibrinogenlösung kommt daher meiner Meinung nach nicht infolge seines Gehalts an zymoplastischen Substanzen, sondern infolge seines Gehalts an Cytoglobin, resp. Präglobulin zu Stande. Es kehrt sich also das Verhältniss um, diejenigen Stoffe, welche im Blut und Plasma die Gerinnung hindern, gerade diese rufen in der «Fibrinogenlösung» die Gerinnung hervor, diejenigen, welche im Plasma die prompteste Gerinnung machen, erweisen sich hier als unzureichend. Wollte man also vom Verhalten der Fibrinogenlösung gegen die besprochenen Stoffe auf das Plasma oder Blut Rückschlüsse ziehen, so würde man gerade auf das dem Thatsächlichen Entgegengesetzte herauskommen.

Der einzige Gerinnungserreger, der überall, sowohl im Plasma, als in Transsudaten, als in Fibrinogen stets Gerinnung macht, ist die Fermentlösung.

1. Die Darstellung der P e k e l h a r i n g'schen Oxalatfibrinogenlösung habe ich bei Gelegenheit der Besprechung der Kalksalze bereits angegeben. Die Darstellung der H a m m e r s t e n'schen Fibrinogenlösung geschah auf folgende Weise: In einem  $\frac{1}{3}$  Volumen Magnesiumsulphatsaturation aufgefangenes Pferdeblut stand 14 Stunden ab. Das über den gesunkenen Blutkörperchen stehende Plasma wurde abgehoben, filtriert und mit dem gleichen Volumen Kochsalzsaturation versetzt. Der dabei entstehende

voluminöse Niederschlag wurde auf mehreren Faltenfiltern gesammelt. Nach vollendeter Filtration werden die Filtra mitsammt dem daraufhaftenden klebrigen Rückstand in kleine Stücke geschnitten, in 8% Kochsalzlösung und zwar in  $\frac{1}{3}$  bis  $\frac{1}{2}$  Volumen des in Arbeit genommenen Magnesiumsulphatplasmas, in einer Reibschale aufgenommen, zerstampft und schliesslich der aus Filtrierpapier und Fibrinogen bestehende Brei mit der Faust ausgedrückt, die Lösung filtriert, von neuem gefällt etc. Jedesmal bleibt ein Theil des Niederschlags ungelöst und geht verloren. Nach dreimaligem Fällen wurde die definitive Lösung nicht mit kochsalzhaltigem, sondern mit destilliertem Wasser besorgt.

Die Gerinnungsproben mit Nucleohiston ergaben im Allgemeinen ziemlich constante Resultate. In der Regel trat die Gerinnung, welche bei Zimmer-temperatur (ca.  $14^{\circ}$  R.) vor sich ging, zuerst ungefähr 8—10 Stunden in der Probe, welcher Nucleohiston und 0,1% Chlorcalcium zugesetzt worden war, ein. Aber auch ohne Zusatz von Kalk gerannen die Proben, welchen Nucleohiston beigefügt war, nur 6—8 Stunden später. Dabei machte sich ein Unterschied geltend zwischen dem durch Alcohol und dem durch Essigsäure gefällten. Während beide im Verein mit dem Kalksalz ziemlich gleichzeitig wirkten, trat die Wirkung des zweiten ohne Kalksalz fast nie ein.

Die bei jedem einzelnen Versuch zum Vergleich mit Fermentlösung versetzten Proben gerannen spätestens in 15 Minuten, in der Regel aber in 5 bis 8 Minuten. Die Gerinnungszeit kann man bedeutend abkürzen, wenn man die Fibrinogenlösung vor dem Versuch dialysiert, nur darf man die Dialyse natürlich nicht bis zur Salzarmuth treiben. Die Wirkung der Dialyse erklärt sich durch den hohen Salzgehalt (NaCl) der Fibrinogenlösungen, welcher an sich schon ein Gerinnungshinderniss ist. Um ihn näher zu bestimmen, wog ich in einem vorher mit starker Salzsäure ausgekochten und geglühten Platintiegel 10 Cbctm. Fibrinogenlösung ab und erhielt:

Tiegelgewicht 29,6380  
id. + Lösung 38,7200.

Darauf wurde fast bis zur Trockne eingedampft und 2 mal 24 Stunden bei 110° getrocknet.

Trockengewicht 29,7880	Lösung + Tiegel 38,7200
Tiegelgewicht 29,6380	Trockengewicht 29,7880
Rückstand . . . 0,1500	Wasser . . . . . 8,9320

Zur Entfernung des Antheils anorganischer Substanz wurde der Tiegel mit dem Gesamttrückstande 1/2 Stunde in Rothglut gehalten, darauf wieder gewogen.

Tiegel + Kochsalzrückstand	29,7595
Tiegel . . . . .	29,6380
Salz . . . . .	0,1215

bezogen auf 8,9320 Wasser = 0,734%, ein Pro-

centsatz, der an sich nicht, aber im Vergleich zur geringen Menge an organischer Substanz (0,0285 also circa 1/5 des Salzgehalts) bedeutend zu nennen ist.

Ich habe wenigstens 12 mal die Hammersten'sche resp. Pekelharing'sche Fibrinogenlösung dargestellt, und die Nucleohistonwirkung an ihr beobachtet. Zweimal habe ich Lösungen gehabt, auf die dasselbe Nucleohiston nicht wirkte. Das Nucleohiston wurde in lufttrockenem Zustande über Chlorcalcium aufbewahrt und für jeden Versuch die betreffende Probe mit Wasser angerührt und unfiltriert tropfenweise beigegeben. Daraus ergibt sich ein verschiedenes Verhalten der Fibrinogenlösungen. Ich betone das deshalb, weil Prof. Alexander Schmidt, wie ich aus dem Manuscript des zweiten Theils ersehe, in seinen Versuchen mit zymoplastischen Substanzen Gerinnung erhalten hat, während ich, wie bereits erwähnt, mit zymoplastischen Substanzen höchst selten und auch dann nur mit Hilfe der Dialyse, Kalksalzen oder Alcalizusatz Gerinnung hervorbrachte. Die Hammersten'sche Darstellung schreibt ein dreimaliges Umfällen vor. Nach ein- und zweimaligem Fällern besteht die Gefahr der spontanen Gerinnbarkeit, d. h. die Fermentgeneratoren sind bei zweimaligem Umfällen noch nicht genügend entfernt. Sind nun bei dreimaligem Umfällen die Fermentgeneratoren, insbesondere der Mutterstoff des Ferments, beseitigt, so ist es nicht wunderbar, dass

zymoplastische Substanzen keine Gerinnung mehr hervorrufen. Ich habe es also in der Mehrzahl der Fälle mit Fibrinogenlösungen zu thun gehabt, welche so gut wie frei von Prothrombin waren. Die Wirkung der zymoplastischen Substanzen dürfte aber sofort hervortreten, sobald noch Spuren von Prothrombin vorhanden sind. Wenn ich nun ohne weiteres zugebe, dass ein dreimaliges Umfällen die grössten Chancen bietet die Lösung vom Prothrombin zu befreien, so muss ich andererseits zugeben, dass sie doch nicht vollständige Garantie dafür bietet. Sie wird bedeutend weniger Garantie dafür bieten, wenn die Fibrinogenlösung nach einer anderen, ebenfalls von Hammersten angegebenen Methode hergestellt werden, welche etwas von der von mir angeführten und benutzten abweicht. Nach dieser Methode fällt das jedesmalige Filtrieren zwischen dem dreimaligen Fällen fort und der Niederschlag wird von der Flüssigkeit jedesmal durch die Centrifuge und Abgiessen getrennt. Es ist begreiflich, dass diese Trennung weniger gründlich ist, als die durch dreimaliges Filtrieren bewerkstelligte. Desto leichter haben diejenigen Substanzen, die als Fermentgeneratoren zu bezeichnen sind, die Möglichkeit bis in die definitive Lösung zu gelangen.

Alexander Schmidt hat nun, wie er angiebt, nach der letzteren Methode seine Lösungen dargestellt und dadurch meiner Ansicht nach ein

Material erhalten, welches insofern etwas von dem meinigen differierte, als es mehr in der Lage war Prothrombin zu enthalten.

Bei Gelegenheit der Besprechung des Einflusses der Kalksalze auf die Gerinnung habe ich eines Versuches Erwähnung gethan, dessen Resultat, wie ich dort erwähnte ausser auf die Eigenschaften der Kalksalze auch auf die nach der Pekelharing'schen Methode dargestellten Fibrinogenlösung ein Licht zu werfen im Stande ist.

Nach 4-stündiger Dialyse bildete sich auf dem Pergament eine Fibrinschicht, ohne dass Gerinnungserregende Substanzen zugesetzt worden waren. Es ist also eine Thatsache, dass trotz genauer Befolgung der für die Darstellung angegebenen Regeln und, vor allem, trotzdem, dass die Lösung an sich nicht gerinnt, also den Character der spontanen Gerinnungsfähigkeit gar nicht verräth, Präparate erzielt werden können, welche alle Bedingungen der Gerinnung in sich tragen. Ehe die Probe mit der Dialyse an einer solchen Lösung nicht gemacht ist, läuft man hiernach Gefahr etwas für eine reine Fibrinogenlösung anzusprechen, was es doch nicht ist.

Von grossem Interesse scheint mir die Wirkung des Cytoglobins und Präglobulins auf die Fibrinogenlösung. Ich gebe deshalb folgendes Versuchsprotocoll wieder:

Fibrinogenlösung, nach Hammersten dargestellt wird zu je 1,5 ccm. in Reagensgläser vertheilt, zu denen folgende Zusätze gefügt wurden: 1) Ferment, 2) Paraglobulin (durch Verdünnen von Serum mit dem 15-fachen Vol. Wasser gewonnen), 3) Cytoglobin, 4) Präglobulin, 5) zymopl. Substanzen. Alle Zusätze, ausser der Fermentlösung, welche 0,5 betrug, werden zu 4 Tropfen zugefügt. Temp. 14° R. Zeit 9 Uhr Abends.

1,5 Fibrinogenlösung	<u>gerinnt</u>
1) + Ferment . . . . .	in 6 Min.
2) + Paraglobulin (wässrige Emulsion) . .	über Nacht.
3) + Paraglobulin + 0,1% Chlorcalcium .	über Nacht.
4) + Cytoglobin (wässrige Lösung) . . .	über Nacht.
5) + Cytoglb. + zym. Subst. (wäss. Emuls.)	über Nacht.
6) + Cytog. + zym. Subst. + 0,1% Chlorcalc.	über Nacht.
7) + Cytoglobin + 0,1% Chlorcalcium . .	über Nacht.
8) + Präglobulin (alcalische Lösung) . . .	über Nacht.
9) + Präglobulin + 0,1% Chlorcalcium . .	über Nacht.
10) + zymoplastische Subst. (wäss. Emulsion)	nicht.
11) + zymopl. Subst. + 0,1% Chlorcalcium .	nicht.

Leider bin ich in Folge äusserer Verhältnisse nicht in der Lage, die sich an obigen Versuch anschliessenden Fragen auf experimentativem Wege der Beantwortung näher zu bringen. Um mich daher nicht in Vermuthungen zu bewegen, beschränke ich mich auf die Mittheilung der Thatsachen. Es sei nur folgendes bemerkt: Bei einer Wiederholung des vorstehenden Versuchs constatirte ich an derselben,

unterdess kalt aufbewahrten Fibrinogenlösung, welche weder von selbst, noch auf Zusatz von Kalksalz gerann, dass die Gerinnung in den Proben mit Cytoglobin nach Verlauf von 5 Stunden eintrat. Es kam hier also früher zur Gerinnung, als ich es sonst bei Zusätzen von «Nucleohiston» zu sehen gewohnt war.

Die 10-tägige Behandlung des Zellprotoplasmas mit Alcohol, welche bei der Darstellung des Cytoglobins stattgefunden hatte, hatte auch der Eigenschaft in Fibrinogenlösungen Gerinnung hervorzurufen, nicht den geringsten Abbruch gethan — das beste Zeichen dafür, dass die Schmidt'sche Methode die Darstellung der Zellstoffe am meisten in ihrer in den Zellen präformierten Form ermöglicht.

## Schluss.

Aus dem Vorstehenden ergibt sich:

1. Inbetreff der Wirksamkeit der Kalksalze die Ueberzeugung, dass, wengleich dieselben thatsächlich von nicht zu unterschätzender Bedeutung für die Faserstoffgerinnung sind, sie dennoch keine spezifische, d. h. ihnen allein zukommende Rolle spielen.

2. Dass ferner die Nothwendigkeit des Alex. Schmidt'schen Ferments auf Grund der Leon Lilienfeldt'schen Untersuchungen nicht geleugnet werden kann.

3. Dass die Wirkung des Nucleohistons auf Blut und Plasma eine Folge der in ihm enthaltenen zymoplastischen Substanzen ist.

4. Dass prothrombinfreie, der Wirkung des Ferments nicht ausgesetzt gewesene Transsudate durch Nucleohiston nicht zur Gerinnung gebracht werden können.

5. Dass das von den zymoplastischen Substanzen befreite Nucleohiston, wenn es durch Alcohol gefällt war, dem Cytoglobin, wenn es durch Essigsäure gefällt war, dem Präglobulin gleichkommt.

6. Dass die Wirkung des Nucleohistons auf Fibrinogenlösungen, die aus Plasma dargestellt wurden, dieselbe ist, wie die des Cytoglobins resp. Präglobulins.

Es kann daher nicht von einer gerinnungfördernden Wirkung eines Nucleins inbezug auf Blut und Plasma die Rede sein, wohl aber, wie Alexander Schmidt es für Cytoglobin und Präglobulin bereits nachgewiesen hat, von einer faserstoffbildenden Wirkung in dem Sinne, dass der in Rede stehende Körper, welchen Lilienfeldt als Kernsubstanz charakterisiert hat, das Material für die Faserstoffbildung hergiebt.

## Thesen.

1. Die Anerkennung der Alexander Schmidtschen Blutlehre ist nur eine Frage der Zeit.
2. Die in Wasser löslichen zymoplastischen Substanzen von Lymphdrüsenzellen müssen in concentrirter alcoholischer Lösung ein gutes Analepticum liefern.
3. Die analeptische Wirkung der Sperminpräparate beruht auf ihrem Gehalt an den in Wasser löslichen Alcholextractstoffen.
4. Diejenigen, welche für die circuläre Darmnath die «fortlaufende» empfehlen, haben Recht.
5. Bei zeitiger operativer Entfernung von Carcinom sollte die zugehörige Lymphdrüsenexstirpation erst einige Zeit später gemacht werden.
6. Es ist erforderlich, dass jeder Pädagog mit der Evolutionslehre vertraut sei.