

Über den Einfluß der Lipoide auf die Gerinnung des Blutes

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Albert-Ludwigs-Universität

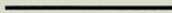
zu

Freiburg im Breisgau

von

Friedrich Rumpf

aus Berlin



Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH

1913.

Über den Einfluß der Lipoide auf die Gerinnung des Blutes

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Albert-Ludwigs-Universität

zu

Freiburg im Breisgau

von

Friedrich Rumpf

aus Berlin



Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH 1913

**Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen
Fakultät der Universität Freiburg i. B.**

Referent: Prof. Dr. Morawitz.

Dekan: Geh. Hofrat Prof. Dr. Hoche.

Softcover reprint of the hardcover 1st edition 1913

**ISBN 978-3-662-22945-3 ISBN 978-3-662-24887-4 (eBook)
DOI 10.1007/978-3-662-24887-4**

Viele bedeutungsvolle Tatsachen der Gerinnungslehre gehen auf die Untersuchungen von Al. Schmidt zurück. Die Ansicht über diesen Vorgang, die heute am meisten verbreitet ist, ist als eine Modifikation der ursprünglichen Theorie Schmidts anzusehen.

Schmidt¹⁾ lehrte, daß die Gerinnung zustande kommt durch ein Zusammenwirken zweier Körper, des schon seit längerer Zeit bekannten Fibrinogens und des Thrombins. Dieses hielt er für ein Ferment, eine Ansicht, die heute nicht mehr als absolut feststehend betrachtet werden kann.

Die Entstehung des Thrombins ist nach Schmidt ein recht komplizierter Vorgang: im Plasma findet sich, wie besonders die Untersuchungen verschiedener Schüler Schmidts gezeigt haben, kein Thrombin, wohl aber eine Vorstufe, ein Prothrombin. Die chemische Natur dieses Prothrombins ist unbekannt; wirksam wird das Prothrombin erst, wenn bestimmte Substanzen auf dasselbe eingewirkt haben: das sind die zymoplastischen Substanzen Al. Schmidts, die aus Leukocyten und anderen zerfallenden Zellen stammen sollen.

Schmidt hat Versuche gemacht, um die Natur dieser zymoplastischen Substanzen zu erforschen; er fand, daß sie alkohollöslich und hitzebeständig sind. Alkoholextrakte aus verschiedenen Geweben haben nach Schmidt die Eigentümlichkeit, in bestimmten Gerinnungsgemischen den Reaktionsablauf deutlich zu beschleunigen. Unter diesen gerinnungsbefördernden Stoffen scheint nach Untersuchungen der Schmidtschen Schüler von Samson-Himmelstjerna²⁾ und Nauk³⁾ das Lecithin eine bedeutungsvolle Rolle zu spielen.

¹⁾ Schmidt, Die Blutlehre. 1892; Weitere Beiträge zur Blutlehre. 1895.

²⁾ von Samson-Himmelstjerna, Experim. Studien über das Blut. Inaug.-Diss. Dorpat 1882.

³⁾ Nauk, Über eine neue Eigenschaft der Produkte der regressiven Metamorphose. Inaug.-Diss. Dorpat 1886.

Die Schmidtsche Lehre von den zymoplastischen Substanzen fand lange Zeit nicht die ihr gebührende Würdigung. Vereinzelt Angaben darüber, daß Lipoide und besonders Lecithin gerinnungsbeschleunigend wirken können, fanden sich zwar auch in einigen späteren Arbeiten, aber meist ohne Zusammenhang mit den Forschungen Schmidts. So gibt z. B. Wooldridge¹⁾ an, daß Lecithin die Gerinnung von Peptonblut zu beschleunigen oder auszulösen vermag.

In den folgenden Jahren fanden die zymoplastischen Substanzen wenig Beachtung. Vielmehr wandte sich das Interesse vorwiegend der Bedeutung der Kalksalze für die Gerinnung zu. Arthus, Pekelharing²⁾ und besonders Hammarsten³⁾ bewiesen die Unentbehrlichkeit der Erdalkalien, speziell der Calcium- und Strontiumionen, für die Aktivierung des Thrombins. In ihrer Theorie war von den zymoplastischen Substanzen Schmidts nicht mehr die Rede. Die ablehnende Stellung, die Al. Schmidt selbst der Lehre von der Ca-Wirkung gegenüber einnahm, hat wohl dazu geführt, daß seine ganze Theorie etwas in Mißkredit kam.

Erst die Arbeiten von Fuld⁴⁾ und Spiro⁵⁾, sowie von Morawitz⁶⁾ haben gezeigt, daß die Entstehung des Thrombins doch wohl ein komplizierterer Vorgang ist, als man nach Arthus und Pekelharing annehmen möchte. Neben Calciumsalzen und Prothrombin scheinen noch andere Substanzen für die Gerinnung des Blutes erforderlich zu sein oder diese doch wenigstens außerordentlich lebhaft zu beschleunigen. Man könnte wohl geneigt sein, diese Substanzen, die sich nach Nolf⁷⁾ besonders in den Zellen des Blutes und der Gefäßwände finden, unbedenklich mit den zymoplastischen Substanzen Schmidts zu identifizieren. Aber es fanden sich doch gewisse Unterschiede. Die von Fuld und Spiro sowie von Morawitz gefundenen gerinnungsbeschleunigenden Stoffe zeigten große Labilität: durch Erwärmung auf ca. 70° gingen sie zugrunde, sie waren nicht alkohollöslich und sehr schwer in trockenem Zustande zu gewinnen. Nur durch Eindampfen von Gewebssäften bei sehr niederer Temperatur gelang es Morawitz, Trockenpulver von Gewebsextrakten zu gewinnen, die lange Zeit hindurch ihre gerinnungserregende Wirkung beibehielten. Auch Conradi⁸⁾ zeigte, daß die ge-

1) Wooldridge, Chem. of the blood. 1893.

2) Pekelharing, Über die Bedeutung der Kalksalze für die Gerinnung. Beiträge f. R. Virchows Festschrift 1, 1891.

3) Hammarsten, Über die Bedeutung der löslichen Kalksalze usw. Zeitschr. f. physiol. Chem. 22, 1896.

4) Fuld, Centralbl. f. Physiol. 1903.

5) Fuld und Spiro, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5.

6) Morawitz, Die Chemie der Blutgerinnung. Ergebnisse der Physiol. 4.

7) Nolf, Eine neue Theorie der Blutgerinnung. Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk. 10, 1913.

8) Conradi, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1.

rinnungsbeschleunigenden Stoffe der Gewebe schon nach kurzdauernder Autolyse zugrunde gehen. Morawitz führte auch eine Reihe von Versuchen mit Alkoholextrakten verschiedener Organe aus; ihre Wirkung stand aber so weit hinter der frischer Gewebssäfte zurück, daß wohl davon nicht die Rede sein kann, daß die Gesamtheit gerinnungsfördernder Stoffe in den Alkoholextrakten enthalten sein könne. Morawitz läßt es offen, wie sich diese Gegensätze zwischen den älteren Versuchen Schmidts und seinen eigenen aufklären lassen. Jedenfalls hielt er es nicht für richtig, die von ihm und Fuld und Spiro gefundenen thermolabilen Substanzen mit den zymoplastischen Stoffen Schmidts zu identifizieren. Er schlug für die ersteren den Ausdruck Thrombokinase vor, der sich scheinbar eingebürgert hat.

Eine weitere Förderung erfuhr die Frage durch die Untersuchungen von L. Loeb¹⁾ und Muraschew²⁾. Diese Autoren zeigten, daß die gerinnungsbeschleunigenden Stoffe der Gewebe bis zu einem gewissen Grade artspezifische Eigenschaften haben. Das Thrombin selbst ist nur relativ wenig artspezifisch. Thrombine beliebiger Tiergattungen können das Fibrinogen anderer, oft sehr weit entfernter Wirbeltiergattungen zur Gerinnung bringen. Ein gutes Beispiel hierfür ist eine von Fuld hervorgehobene Tatsache: der gerinnungshemmende Stoff des Blutegels, das Hirudin, ist imstande, die Blutgerinnung bei den allerverschiedensten Tieren zu hemmen. Da das Hirudin ein Antithrombin ist, darf man wohl annehmen, daß auch die Thrombine verschiedener Tierarten einander ähnlich sind. Ganz anders steht es mit den gerinnungsbeschleunigenden Stoffen der Gewebssäfte, was besonders Loeb zeigen konnte.

In neuester Zeit sind nun einige Arbeiten erschienen, die auf die alten Schmidtschen Untersuchungen zurückgehen. Es wird von Zak³⁾ sowie von Bordet und Delange⁴⁾ der Versuch gemacht, die alten Anschauungen Al. Schmidts zum Siege zu führen. Nicht fermentähnliche Stoffe, nicht Thrombokinase sollen das wirksame Prinzip der Gewebssäfte darstellen, sondern Lipide. Da mir die Untersuchungen von Bordet und Delange nur in einem kurzen Auszuge zugänglich waren, möchte ich etwas ausführlicher auf die Versuche von Zak eingehen. Zak und ebenso Bordet und Delange

¹⁾ Loeb, Arch. f. d. ges. Physiol. 176, 1904.

²⁾ Muraschew, Über die Spezifität des Fibrinfermentes. Arch. f. klin. Med. 80.

³⁾ Zak, Studien zur Blutgerinnung. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 71, 1912.

⁴⁾ Bordet und Delange, Betrachtungen über die Rolle der Lipide bei der Blutgerinnung. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 71, 1912.

sprechen auf Grund ihrer Befunde die Vermutung aus, daß alle Wirkungen, die man bisher der Thrombokinese zuschreiben pflegte, durch Lipoide der Gewebe zustande kommen.

Zak, der zu seinen Untersuchungen Pferdeoxalat- bzw. -citratplasma wählte, hat im wesentlichen zwei Versuchsreihen angestellt: einmal hat er den Lipoidgehalt des Plasmas durch Zusatz von Lipoidemulsion in Kochsalzlösung vermehrt, und zweitens gelang es ihm, die Lipoide im Plasma auf verschiedene Weise zu vermindern oder zu beeinflussen. Seine einfachste und überzeugendste Methode ist jedenfalls ihre Extraktion mit Petroläther. Diese Versuche wiederholte ich in der von Zak angegebenen Anordnung, während ich auf die Wiederholung der Versuchsgruppe, bei denen Zak die Plasmalipoide durch Fällung mittels einiger Alkaloide und Spaltung durch Fermente beeinflusste, verzichtet habe.

In Kürze will ich die Wege angeben, die Zak zur Darstellung des Versuchsmaterials eingeschlagen hat, und denen auch ich gefolgt bin. Zunächst die Gewinnung der Lipoide. Auch ich habe ausschließlich Phosphatide benutzt, die aus frischem Rinderhirn hergestellt wurden. Genauer über ihre Gewinnung und Eigenschaften findet sich in einer Arbeit von Bang¹⁾. Die dort ausführlicher geschilderte Darstellungsmethode, die Erlandsen vorgeschlagen hat, wurde benutzt. Das zu einem Brei zerkleinerte Hirn wurde auf Petrischalen ausgestrichen, etwa 12 Stunden im Brutschrank bei 37° getrocknet, pulverisiert und mit Petroläther extrahiert. Es folgte eine mehrmalige Fällung mit Aceton, wonach die Niederschläge wieder in Petroläther gelöst wurden; die dritte derartige Lösung wurde getrocknet und im Vakuum und unter Lichtabschluß aufbewahrt. Ich habe wie Zak schließlich einen ockerfarbenen Lack erhalten, der in Kochsalzlösung eine milchige Emulsion ergab, gleichfalls neutral reagierte und auf Kaninchenblutkörperchen nicht hämolytisch wirkte.

Zu allen Gerinnungsversuchen mit entkalktem Pferde- resp. Rinderplasma wurden immer die gleichen Mengen von 2 ccm Plasma und 2⁰/₁₀ Lipoidemulsion in physiologischer Kochsalz-

¹⁾ Bang, Biochemie der Zellipoide. *Ergebn. d. Physiol.* 6.

lösung gebraucht; ausgelöst wurde die Gerinnung jeweils durch 6 Tropfen einer 5⁰/₀igen CaCl₂-Lösung, was der Versuchsanordnung von Zak entspricht. Diese wurde nun dahin erweitert, daß ich vergleichende Versuche mit Thrombokinasezusatz anstellte. Zur Herstellung der letzteren wurde frische Pferde- bzw. Rinderleber benutzt, die Stücke wurden nach Möglichkeit durch Auswaschen von Blut befreit, dann zerhackt und der Brei ¹/₂ Stunde mit Kochsalzlösung kräftig geschüttelt. Schließlich wurde dieses Gemisch für einige Stunden in den Eisschrank gestellt, die ThrombokinaseLösung dekantiert und sofort verwandt.

I. Versuche mit Zusatz von Lipoiden und Thrombokinase zum Pferde- bzw. Rinderplasma.

In 5 Reagensgläser gleichen Kalibers wurden je 2 ccm Oxalatplasma verteilt, Glas 1 bis 4 erhielten die steigenden Zusätze der Lipoidemulsion; Glas 5 diente als Kontrolle mit 0,20 ccm NaCl-Lösung. Hierauf kamen die Gläser immer für ¹/₂ Stunde in den Brutschrank, dann wurde die Gerinnung mit je 6 Tropfen der CaCl₂-Lösung ausgelöst und mit der Stoppuhr verfolgt.

Im Anschluß an einen derartigen Versuch wurde immer ein zweiter in gleicher Anordnung ausgeführt, mit dem Unterschied, daß Thrombokinase in steigenden Mengen zugesetzt wurde. In den folgenden Tabellen benutze ich die gleichen Zeichen für den Grad der Gerinnung wie Zak¹⁾.

Ich gebe aus einer größeren Reihe gleichmäßig angestellter Versuchsserien ein Beispiel wieder; die Resultate waren überall die gleichen.

a) Lipoidzusatz, Pferdeplasma.

	Zeit nach dem CaCl ₂ -Zusatz					
	30'	35'	40'	45'	50'	60'
2 ccm Plasma + 0,05 Lipoid	○	○	⊕	+	+	++
2 " " + 0,10 "	⊕	+	+	+	++	++
2 " " + 0,15 "	+	+	+	+	++	++
2 " " + 0,20 "	+	++	++	++	++	++
2 " " + 0,20 NaCl	○	○	○	+	+	++

¹⁾ ○ bedeutet keine Gerinnung. ⊕ bedeutet Spuren von Gerinneln. + bedeutet Gelatinöswerden und Klumpenbildung. ++ bedeutet totale Gerinnung, Umkehrbarkeit des Glases.

b) Thrombokinasezusatz, Pferdeplasma.
(Pferdeleber.)

	Zeit nach dem CaCl ₂ -Zusatz					
	11'	12'	13'	14'	15'	55'
2 ccm Plasma + 0,05 Tromb.	○	○	○	⊕	++	
2 " " + 0,10 "	⊕	+	+	++	++	
2 " " + 0,15 "	○	+	++	++	++	
2 " " + 0,20 "	⊕	+	++	++	++	
2 " " + 0,20 NaCl	○	○	○	○	○	++

Zur Kontrolle wurden ferner 2 ccm Plasma ohne jeden Zusatz in den Brutschrank gestellt, die Gerinnung erfolgte 45 Minuten nach dem Hinzufügen des CaCl₂.

Dieser Versuch lehrt, daß die Lipide eine geringe Beschleunigung der Gerinnung herbeizuführen vermögen; vergleicht man diese jedoch mit der durch die Thrombokinase erzielten, so steht sie in ihrer Intensität weit hinter dieser zurück. Noch deutlicher tritt dies hervor, wenn man die beiden folgenden Tabellen betrachtet, deren Resultate unter den gleichen Versuchsbedingungen mit Rinderoxalatplasma erhalten wurden.

a) Lipoidzusatz, Rinderplasma.

	Zeit nach dem CaCl ₂ -Zusatz					
	15'	17'	18'	19'	22'	26'
2 ccm Plasma + 0,05 Lipoid	⊕	⊕	⊕	+	++	
2 " " + 0,10 "	⊕	+	+	++	++	
2 " " + 0,15 "	+	+	++	++	++	
2 " " + 0,20 "	+	++	++	++	++	
2 " " + 0,20 NaCl	⊕	⊕	+	++	+	++

b) Thrombokinasezusatz, Rinderplasma.
(Rinderleber.)

	Zeit nach dem CaCl ₂ -Zusatz					
	1'	1' 30"	2'	3'	4'	28'
2 ccm Plasma + 0,05 Thromb.	○	○	⊕	⊕	++	
2 " " + 0,10 "	○	○	⊕	+	++	
2 " " + 0,15 "	○	⊕	+	++	++	
2 " " + 0,20 "	⊕	+	++	++	++	
2 " " + 0,20 NaCl	○	○	○	○	○	++

Rinderplasma ohne jeden Zusatz war in diesem Falle nach 20 Minuten geronnen.

Wir sehen also beim Rinderplasma in noch viel ausgesprochenem Grade, als es schon beim Pferdeplasma der Fall war, daß die Wirkungen der Trombokinase (Gewebs-säfte) und der Lipide auch nicht im entferntesten miteinander verglichen werden können. Während bei Zusatz von Thrombokinase die Gerinnung schon in 1 Min. 30 Sek. nach dem Ca-Zusatz erfolgt, bedarf sie bei Zusatz von Lipoiden 15 Minuten und verläuft nur unwesentlich rascher, als ohne jeden Lipoidzusatz.

Diese enormen quantitativen Differenzen müssen schon den Gedanken erwecken, daß der Schluß auf die Identität der Trombokinase mit den Lipoiden verfrüht erscheint, und das um so mehr, als in den Gewebssäften, trotz ihrer vielfach stärkeren Wirksamkeit, sicher viel weniger Lipide enthalten sind als in der Lipoidemulsion.

Auch eine andere Tatsache ist in diesen Versuchen bemerkenswert. Wie Loeb¹⁾ gezeigt hat, sind die wirksamen Stoffe der Gewebssäfte in recht ausgesprochenem Maße artspezifisch. Nun hatten wir die Lipide durchweg aus Rinderhirn, die Thrombokinase aber aus Pferde- oder Rinderlebern dargestellt; diese Extrakte wurden mit Pferde- resp. Rinderplasma kombiniert. Man sollte nun denken, daß die aus Rinderhirn gewonnenen Lipide gerade mit Rinderplasma besonders wirksam reagieren würden, da sie doch mit der Thrombokinase identisch, also artspezifisch sein sollen. Aber das ist nicht der Fall, vielmehr treten die Differenzen der Wirksamkeit zwischen Lipoiden und Thrombokinase in den Versuchen mit Rinderplasma noch viel deutlicher hervor, als in denen mit Pferdeplasma.

Auch das ist nicht geeignet, jene von Zak und Bordet und Delange verfochtene Identität zu stützen.

II. Versuche mit Plasma, das durch Extraktion mit Petroläther lipidarm gemacht ist (Zak).

Ich folge in dieser Versuchsreihe der von Zak vorgeschlagenen Methodik. Unterwirft man Oxalatplasma vom Pferde einer 12 bis 20stündigen, vorsichtig vorgenommenen Extraktion mit Petroläther, so erhält man ein Plasma, das sich äußerlich von Normalem nur durch sein trübes Aussehen unter-

¹⁾ Loeb, Biochem. Centralbl. 1907.

scheidet. Eine Bildung von Gerinnseln läßt sich, wenn man vorsichtig zu Werke geht, vermeiden. Ein solches Plasma gerinnt selbst in 24 bis 48 Stunden nicht, und zwar weder im Eis- noch im Brutschrank, auch nicht auf Zusatz von Chlorcalcium. Fügt man jedoch zu einem derartig behandelten Plasma Lipoidemulsion hinzu, so tritt je nach den gewählten Mengenverhältnissen die Gerinnung nach 2 bis 6 Stunden ein.

Setzt man z. B. zu 2 ccm Plasma, das 20 Stunden extrahiert wurde, 0,20 ccm einer 2⁰/₀igen Lipoidaufschwemmung, so ist die Gerinnung nach 3 Stunden 30 Minuten vollständig eingetreten; auch hier nach dem Moment des CaCl₂-Zusatzes gerechnet.

In diesen vielfach variierten und häufig ausgeführten Versuchen sehe ich eine Bestätigung der tatsächlichen Befunde von Zak. Da nur Lipoidzusatz, nicht aber Thrombokinase und CaCl₂ das Plasma zur Gerinnung bringen können, so erscheint die Ansicht wohl begründet, daß die Lipoidarmut des Plasmas ungünstige Bedingungen für den Ablauf der Gerinnung abgibt. Aber daraus darf man noch nicht schließen, daß die Lipide nun für die Entstehung des Thrombins maßgebende Bedeutung haben.

Es zeigt sich nämlich, daß das lipoidarme Plasma auch auf Zusatz von frischem Blutserum, in dem also fertiges Thrombin enthalten ist, nicht gerinnt. Jedenfalls konnte ich in 5 Versuchsreihen mit variierten Mengen Serum und lipoidarmen Plasma niemals Gerinnung erzielen, selbst nicht bei längerem Aufenthalt im Brutschrank.

Diese Versuche scheinen mir zu zeigen, daß die Bedingungen im lipoidarmen Plasma offenbar sehr komplizierter Natur sind, da auch das fertige Thrombin des Serums nicht imstande ist, Gerinnung auszulösen, obwohl das Serum natürlich eine gewisse Menge von Lipoiden enthält. Soviel aber scheint mir sicher: trotz voller Bestätigung der tatsächlichen Befunde von Zak bezüglich der Gerinnbarkeit des lipoidarmen Plasmas kann man aus diesen Tatsachen einstweilen noch nicht den Schluß ziehen, daß die Lipide zur Entstehung des Thrombins erforderlich sind.

Gerade die von mir mit Thrombin und Plasma ausgeführten Versuche lassen noch an manche andere Erklärungsmöglichkeiten denken. Ich weise nur auf die Möglichkeit von Änderungen physikalischer Faktoren hin, an die bei einem so komplizierten Gemenge, wie es das Plasma ist, entschieden gedacht werden muß.

Es sei hier auch daran erinnert, daß man z. B. die sicher sehr lipoidarme, nach Hammarsten¹⁾ gewonnene Fibrinogenlösung mit Schmidtschem Thrombin, das nach seiner ganzen Herstellungsart als nahezu lipoidfrei anzusehen ist, in ausgezeichneter Weise zur Gerinnung bringen kann. Auch diese Tatsache muß uns bei allen Erklärungsversuchen des von Zak festgestellten Phänomens zur Vorsicht mahnen.

III. Versuche mit Kombinationen von Serum und Lipoiden (Bordet und Delange).

Wie schon angedeutet, stellen sich Bordet und Delange bezüglich der Wirkungsweise der Thrombokinase auf denselben Standpunkt wie Zak. Der Unterschied ihrer Versuche gegen die soeben besprochenen liegt darin, daß Bordet und Delange nicht vom Plasma ausgehen, sondern Serum und eine Fibrinogenlösung ihren Untersuchungen zugrunde legen. Dies Vorgehen ermöglichte den beiden Forschern eine speziellere theoretische Begründung ihrer Auffassung über die Thrombokinase.

Leider stand mir nur die kurze Mitteilung der Autoren im Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. zur Verfügung. Bordet und Delange meinen, daß wässrige Lipoidaufschwemmungen in sehr geringen Quantitäten imstande sind, große Mengen von Fibrinferment bei Anwesenheit von Serum zu erzeugen. Der folgende, der genannten Mitteilung entnommene Satz charakterisiert diese Auffassung noch deutlicher: „Unsere Untersuchungen beweisen also entschieden, daß eine der unumgänglich notwendigen Vorstufen des Fibrinfermentes, die in vielen Zellen entweder des Blutes (Plättchen) oder der Gewebe vorhandenen Thrombokinase, die mit dem Plasma- oder Serumthrombogen reagiert, eigentlich eine Substanz darstellt, die die Löslichkeits-eigenschaften der Lipoide besitzt, deren chemische Zusammensetzung man aber erst genau erkennen kann, wenn man sie im reinen Zustande erhalten haben wird.“

Begründet wird diese Anschauung durch die gleich zu besprechenden Versuche. Verfasser hofft der Versuchsanordnung der beiden Autoren gerecht geworden zu sein, wenn er folgendermaßen vorging:

¹⁾ Hammarsten, Über das Fibrinogen I/II. Arch. f. d. ges. Physiol. 19 und 22.

Aus frischem Pferdeoxalatplasma wurde nach der Methode von Hammarsten durch Aussalzen mit gesättigter Kochsalzlösung und mehrfaches Lösen und Fällen in destilliertem Wasser eine Fibrinogenlösung hergestellt; nach dreimaligem Umfällen stellte diese in frischem Zustande eine wasserklare Flüssigkeit dar. (Näheres über die Technik bei Morawitz¹⁾. Der Vorschrift Bordets und Delanges, daß man nur mit vollständig von geformten Bestandteilen befreiten Pferdeserum arbeiten dürfe, wurde durch sehr langes und scharfes Zentrifugieren nachgekommen.

Meine Versuchsanordnung war folgende: 6 Gläser erhielten je 1 ccm Serum, dann die aus den Tabellen ersichtlichen Zusätze einer 2^o/_oigen Lipoidemulsion und ferner 6 Tropfen der CaCl₂-Lösung. Nun wurden je 2 ccm der Fibrinogenlösung hinzugefügt und von diesem Augenblick an der Verlauf der Gerinnung beobachtet. Nach Ablauf eines derartigen Versuches erfolgte immer sofort der Gegenversuch mit Thrombokinasezusatz. Auch bei diesen Versuchen wurde die Thrombokinase immer aus frischer Pferdeleber hergestellt.

Ich gebe ein Beispiel aus einer größeren Reihe:

a) Versuch mit Lipoidzusatz.

	Minuten nach 2 ccm Fibrinogenzusatz				
	23'	25'	37'	40'	47'
1 ccm Serum + 0,05 Lipoid	○	○	⊕	⊕	++
1 " " + 0,10 "	○	⊕	+	++	++
1 " " + 0,15 "	⊕	+	++	++	++
1 " " + 0,20 "	+	++	++	++	++
1 " " + 0,20 NaCl	○	○	⊕	+	++

b) Versuch mit Thrombokinasezusatz.

	Minuten nach 2 ccm Fibrinogenzusatz						
	5'	6'	7'	8'	9'	10'	46'
1 ccm Serum + 0,05 Thromb.	○	○	⊕	⊕	+	++	
1 " " + 0,10 "	○	⊕	⊕	+	++	++	
1 " " + 0,15 "	⊕	+	++	++	++	++	
1 " " + 0,20 "	+	++	++	++	++	++	
1 " " + 0,20 NaCl	○	○	○	○	○	○	++

¹⁾ Morawitz, Abderhaldens Lehrb. d. biochem. Arbeitsmeth. 5.

Auch bei diesen Versuchen wurde immer ein Gläschen, das nur mit CaCl_2 versetztes Serum enthielt, aufgestellt; in diesem Falle erfolgte seine Gerinnung 35 Minuten nach der Zugabe von 2 ccm Fibrinogen.

Auch hier erübrigt es sich, weitere derartige Versuchstabellen mitzuteilen; bei frisch bereiteten Lösungen erhielt ich immer ähnliche Werte, bei älterem Material entsprechende Verschiebungen derselben.

Diese Versuchsergebnisse stellen insofern eine Bestätigung der Untersuchungen von Bordet und Delange dar, als auch sie zeigen, daß die Lipoide einen beschleunigenden Einfluß auf die Gerinnung ausüben. Vergleicht man diesen jedoch mit dem intensiven Effekt der Thrombokinase, so stehen die Lipoide auch in diesem Falle weit in ihrer Wirkung hinter der ersteren zurück. Die Gerinnungsbeschleunigung der Serum-Fibrinogengemische beträgt bei Lipoidzusatz nur etwa 30⁰/₀, bei Zusatz von Thrombokinase aber verläuft die Gerinnung beinahe 6 mal rascher; die Beschleunigung beträgt mithin 600⁰/₀, so daß quantitative Vergleiche sehr zuungunsten der Lipoide ausfallen. Man kann also auch nach dieser von Bordet und Delange eingeschlagenen Untersuchungsmethode ihre Anschauung nicht als genügend motiviert erachten. Worauf jener gerinnungsbeschleunigende Einfluß der Lipoide zurückzuführen ist, läßt sich noch nicht sagen; vielleicht ist er ähnlich zu deuten wie die von Nolf so hoch eingeschätzte Wirkung von feinverteilten Fremdkörpern auf den Ablauf der Gerinnung.

IV. Versuche mit genuinem Blut und Zusatz verschiedener gerinnungsfördernder Stoffe. (Eigene Versuche.)

Das Ziel dieser Experimente war einmal die Untersuchung des Einflusses von Thrombokinase, Lipoiden und Tierkohleaufschwemmung auf die Gerinnung des genuinen Kaninchenblutes, ferner wurde der Einfluß dieser Substanzen an Pepton- und Hirudinblut geprüft.

Die erste Gruppe wurde auf folgende Weise ausgeführt: Ich beschickte von 5 Reagensgläsern 4 mit den aus der untenstehenden Tabelle ersichtlichen Lösungen. Dann wurde an einem mit Urethan narkotisierten Kaninchen die Carotis frei

präpariert und in dieselbe eine paraffinierte Kanüle eingebunden; aus dieser läßt man nun möglichst rasch je 4 ccm Blut in die bereitgehaltenen Gläser einlaufen und kontrolliert die Gerinnung mit der Stoppuhr. Die folgende Übersicht gibt die Gerinnungszeiten des Blutes unter dem Einfluß der verschiedenen Substanzen an.

	Zeit nach der Blutentnahme									
	25''	3'	4'	5'	6'	7'	8'	9'	10'	11'
Normales Blut	○	○	⊕	⊕	⊕	⊕	+	+	+	++
+ 1 ccm Ringer-Lösg. . .	○	○	○	⊕	⊕	⊕	+	+	++	++
+ 1 " 2% Kohle	○	○	○	⊕	⊕	⊕	+	+	++	++
+ 1 " 2% Lipoid	○	○	○	⊕	⊕	+	++	++	++	++
+ 1 " Thrombokin. . . .	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Die Wirkung der Thrombokinase ist eine enorme, denn unter ihrem Einfluß verläuft die Gerinnung in 25 Sekunden, während das mit Lipoidlösung versetzte Blut erst in 8 Minuten gerinnt, was eine Beschleunigung gegenüber dem normalen Blut von 3 Minuten bedeutet. Gegenüber der Kohleaufschwemmung und der Ringer-Lösung sind die Lipoide nur um 2 Minuten voraus. Dieser evidente Einfluß der Thrombokinase, die wie in den anderen Fällen auch aus arteigenem Gewebe (Kaninchenleber) bereitet wurde, kann nur durch eine besondere Wirkungsweise gedeutet werden. Den Lipoiden kommt hiernach kaum eine intensivere Wirkung zu als einer gleichprozentigen Kohleaufschwemmung oder einer gleich großen Menge Ringer-Lösung. Zwei weitere Versuche gaben dasselbe, absolut eindeutige Resultat.

Eine interessante Ergänzung zu diesen Beobachtungen stellen die Versuche mit Peptonblut dar. Das Peptonblut wurde in bekannter Weise von einem Hunde gewonnen.

In dem näher zu schildernden Versuch handelte es sich um einen ca. 9 kg schweren Hund, dem 100 g einer 3%igen Witte-Peptonlösung intravenös injiziert wurden. 5 Minuten später erfolgte die Blutentnahme in die vorher mit den verschiedenen Lösungen beschickten Gläser. Die Versuchsanordnung war also genau so wie bei dem Kaninchenversuch; es ergab sich folgendes Resultat:

	Zeit nach der Blutentnahme:				
	50''	60''	1' 15''	10'	14 ^h
4 ccm Peptonblut . . .	○	○	○	○	○
+1 ccm Ringer-Lösg. .	○	○	○	○	○
+1 " Kohle	○	○	○	○	○
+1 " Lipoid	○	○	○	○	○
+1 " Thrombokin. .	○	⊕	++	++	++

Dieses Ergebnis läßt wiederum die eigenartige Wirkung der Thrombokinase erkennen. Während sie das Blut in 1 Minute 15 Sekunden total gerinnen ließ, hatte weder die Lipoid- noch die Kohleaufschwemmung irgendeinen Einfluß auf das Peptonblut, das selbst nach 14 Stunden noch ungeronnen blieb. Aber damit noch nicht genug; setzt man nämlich zu diesen Gläsern, die Peptonblut resp. mit den Lösungen verdünntes Blut enthielten, nach 14 Stunden nur 0,5 ccm der Thrombokinaselösung zu, so gerinnt der Inhalt auch dann noch nach wenigen Minuten, was die folgende Tabelle beweist:

Fortsetzung des vorigen Versuchs nach 15 Stunden.

	Zeit nach dem Thrombokinasezusatz:				
	30''	1'	2'	2' 30''	3' 15''
4 ccm Peptonblut	○	⊕	+	++	++
+1 ccm Ringer-Lösg. .	○	⊕	+	+	++
+1 " Kohle	○	○	+	++	++
+1 " Lipoid	○	○	+	+	++

Diese Versuche mit Peptonblut sind insofern bedeutsam, als hier nicht mehr allein quantitative Unterschiede in der Wirkung der Lipotide und der frischen Gewebssäfte hervortreten, sondern auch qualitative; die Thrombokinase wirkt fast augenblicklich, die Lipotide vermögen aber selbst nach 14 Stunden im Peptonblut keine Gerinnung zu bewirken.

Zum Schlusse sei nun noch auf die entsprechenden Versuche mit Hirudinblut eingegangen. Auch sie wurden mit Hundeblut angestellt; ich verwandte Blut von einem 9 kg schweren Hunde, dem zu einem anderen Zweck 0,1 g Hirudin injiziert worden war; das Blut wurde in einem sorgfältig gereinigten Gefäß aufgefangen. Der einzige Unterschied gegenüber den vorigen Versuchen bestand also darin, daß das Blut

nicht direkt aus der Arterie in die Gerinnungsgläser verteilt wurde. Im übrigen ist aber die Versuchsanordnung, wie auch aus der folgenden Tabelle der Gerinnungszeiten ersichtlich ist, die gleiche.

Versuch mit Hirudinblut.

	Zeit nach der Blutzugabe:					
	1'	1' 30"	2' 10"	30'	2 ^h	15 ^h
2 ccm Hirudinblut	○	○	○	○	○	○
+ 1 ccm Ringer-Lösg.	○	○	○	○	○	○
+ 1 " Kohle	○	○	○	○	○	○
+ 1 " Lipoid	○	○	○	○	○	○
+ 1 " Thrombokinase	○	+	++	++	++	++

Es ergeben sich hier also ähnliche Verhältnisse, wie sie für das Peptonblut konstatiert wurden. Die Gläser, die keine Thrombokinase enthielten, blieben 15 Stunden und länger flüssig; die Auslösung der Gerinnung gelang aber andererseits auch durch geringere Mengen von Thrombokinase, wie in dem als Beispiel dienenden Versuch. So brachten 0,5 ccm der gleichen Thrombokinaselösung 2 ccm Hirudinblut in 2 Minuten 50 Sekunden zur vollkommenen Gerinnung, während wieder der Inhalt der anderen Gläser unverändert blieb. Jedoch war es nicht möglich, wie bei den Peptonversuchen, das durch die verschiedenen Substanzen unbeeinflusst gebliebene Blut nachträglich durch Thrombokinase zur Gerinnung zu bringen. Es ist ja schon vielfach darauf hingewiesen worden, daß die Thrombokinase Hirudinblut oder Hirudinplasma nicht immer zur Gerinnung bringen kann. Es kommt da sehr wesentlich auf die Menge des Hirudins an. Ist sehr viel Hirudin da, so ist auch der Zusatz von Thrombokinase wirkungslos. In unserem Falle war die Hirudinmenge so gewählt, daß die Gewebssäfte prompte Gerinnung verursachten, während sowohl Lipoide als auch die anderen gerinnungsfördernden Stoffe wirkungslos blieben.

Zum Schlusse sei noch der Beeinflussung der Gerinnung durch die Tierkohleaufschwemmung gedacht: während sie das Kaninchenblut um ein Geringes früher gerinnen ließ als das normale Kontrollblut, hatte die Kohle auf Pepton- und Hirudinblut gar keinen Einfluß.

V. Zusammenfassung.

Die von verschiedenen Autoren, besonders von Zak und Bordet und Delange geäußerte Hypothese, die Wirkung der Gewebssäfte beruhe ausschließlich oder auch nur vornehmlich auf den in ihnen enthaltenen Lipoiden, kann in diesem Umfange sicher zurückgewiesen werden, da sich die weitgehendsten qualitativen und quantitativen Unterschiede in der Wirkungsweise beider Stoffe zeigen.

1. Lipoidemulsionen begünstigen die Gerinnung von Oxaloplasma, aber quantitativ nur sehr unbedeutend und nicht in artspezifischer Weise; Gewebssäfte wirken viel stärker.

2. Lipoidarmes Plasma gerinnt nur nach Zusatz von Lipoiden. Diese Beobachtung von Zak konnte bestätigt werden, sie läßt aber keinen Schluß auf die Identität der Thrombokinase und der Lipoide zu, wie eingehend gezeigt wurde.

3. Die Angabe von Bordet und Delange, daß Lipoide ähnlich wie Gewebssäfte im Serum große Thrombinmengen entwickeln, besteht insofern nicht zu Recht, als die Beschleunigung der Gerinnung durch Lipoide bei dieser Versuchsanordnung verschwindend gering ist gegenüber der durch Gewebssäfte (Lipoide 30⁰/₀, Gewebssäfte 600⁰/₀ Beschleunigung).

4. Die Gerinnungszeit genuinen Kaninchenblutes wird durch Gewebssäfte enorm, durch Lipoidemulsion unwesentlich beschleunigt.

5. Pepton- und Hirudinblut können durch Gewebssäfte sehr rasch zur Gerinnung gebracht werden, während Lipoide hier ganz unwirksam sind.

Hieraus ziehe ich den Schluß, daß die Lipoide mit den wirksamen Substanzen nicht identisch sind. Ihre Rolle bei der Gerinnung, die ich nicht leugnen will, bedarf noch weiterer Aufklärung. Jedenfalls empfiehlt es sich, für die wirksamen Stoffe der Gewebssäfte den Ausdruck Thrombokinase beizubehalten.

Lebenslauf.

Ich wurde am 29. März 1889 als Sohn des Frauenarztes Dr. med. Friedrich Rumpf zu Berlin geboren.

Die Schuljahre verbrachte ich auf der Goethe-Schule und an der Ober-Realschule zu Steglitz-Berlin. Diese verließ ich Michaelis 1908 mit dem Zeugnis der Reife, welches ich im September 1910 durch eine Nachprüfung im Lateinischen ergänzte.

Von meinen Studiensemestern brachte ich zwei in Berlin, eins in München, die übrigen in Freiburg im Breisgau zu.
