

Der Antagonismus gerinnungsbefördernder und gerinnungshemmender Stoffe im Blute und die sogenannte Pepton-Immunität.

Von

Dr. phil. et med. **Karl Spiro**, I. Assistenten des Instituts,
und

Dr. phil. **Alexander Ellinger**.

aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge. No. 1.

(Der Redaction zugegangen am 16. März 1897.)

Von den Verfahren, die Gerinnung des Blutes zu verzögern, haben vornehmlich zwei das Interesse der Physiologen auf sich gezogen und ein eingehenderes Studium erfahren: die Injection des „Pepton“, dessen Wirkung auf die Blutgerinnung Schmidt-Mülheim¹⁾ 1880 in C. Ludwig's Laboratorium entdeckte, und des von Haycraft²⁾ im Jahre 1884 zuerst beschriebenen Extractes aus Bluteigeköpfen.

Bringt man „Pepton“ — so sei nach ungenauen, aber in der Litteratur üblich gewordenem Sprachgebrauch das keineswegs einheitliche Product einer kurzen Pepsinverdauung genannt³⁾ — in die Blutbahn eines Hundes, so verliert das Blut für eine gewisse Zeit die Eigenschaft, alsbald nach dem Austritt aus dem Gefässsystem zu gerinnen. Die Gerinnung wird je nach der Menge des eingeführten „Pepton“ um Tage, Stunden

1) Schmidt-Mülheim, DuBois' Archiv 1880 S. 50.

2) Haycraft, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmacol. XVIII, S. 209. (1884).

3) Das Witte'sche Pepton stellt ein solches Gemenge von Albumen dar.

oder Minuten verzögert, und das Blut behält die Eigenschaft der verzögerten Gerinnbarkeit längere oder kürzere Zeit.

Bei dem von uns verwandten Präparat, kälutlichen Witte'schen Pepton, fanden wir z. B. nach schnell mittelst einer Spritze ausgeführter intravenöser Injection einer concentrirten Lösung von 0.3 – 0.4 gr. pro Kilo Thier, dass eine Blutprobe, die 2½ Stunden nach der Injection entnommen wurde, noch 1 Stunde brauchte, um fest zu werden, und dass die normale Gerinnbarkeit bei dem Versuchsthier nach 3½ Stunden wiederkehrte. Die Stärke der Wirksamkeit wechselt übrigens bei verschiedenen Individuen innerhalb ziemlich weiter Grenzen.

Injectirt man ausreichend grosse Mengen und entnimmt man das Blut wenige Minuten nach der Injection, so erhält man ein Blut, das Tage lang flüssig bleibt und kurz nach der Entnahme eine scharfe Grenze zwischen Plasma und Blutkörperchen zeigt. Wenn die Gerinnung eintritt, so erfolgt sie, wie schon Fano¹⁾ beobachtete und später Contejean²⁾ genauer beschrieb, von dieser Grenze aus ins Plasma hinein fortschreitend. Daraus wurde wohl mit Recht der Schluss gezogen, dass der Zerfall von weissen Blutkörperchen den Anstoss zur Gerinnung gibt, wie das von weitaus den meisten Physiologen seit Alexander Schmidt auch für das normale Blut angenommen wird. Durch längeres Centrifugiren lässt sich das „Peptonplasma“ von den noch aufgeschwemmten Leucocyten vollständig befreien. Dieses Plasma nun gerinnt

wenigstens nach den Angaben der meisten Autoren und nach unsern Beobachtungen – erst nach Einleiten von Kohlensäure, während ein leucocytenhaltiges Plasma schon durch Verdünnen mit Wasser zur Gerinnung gebracht werden kann. Fibrinferment bringt Peptonplasma nach Fano nicht zur Gerinnung; andere Beobachter hingegen sahen unter seiner Einwirkung Gerinnung eintreten.

Fano bildete sich auf Grund der angeführten Beobachtungen und der Thatsache, dass im Peptonblut die Leucocyten

1) Fano, DuBois' Archiv 1881, S. 277.

2) Contejean, Compt. rend. soc. biol. 1896, S. 714.

besonders lange amoeböide Bewegungen zeigten, die Anschauung, dass „der im Blut vorhandene gerinnungshemmende Stoff die Leucocyten vor dem Zerfall schütze, und dass das Fibrinferment erst nach dem Zerfall der Leucocyten wirksam werde“, während Schmidt-Mülheim kurz zuvor seine minder zahlreichen Erfahrungen dahin zusammengefasst hatte, dass durch Pepton eine der Bedingungen unwirksam gemacht werde, welche zur Bildung von Fibrinferment führen.

Von den späteren Beobachtern sind Athanasiu und Carvalho¹⁾ der Ansicht, dass infolge der hohen Vitalität der Leucocyten kein freies Fibrinferment vorhanden sei, Grosjean²⁾ und Contejean³⁾ glauben, dass wohl fertiges Fibrinferment im Peptonblut existire, dass aber eine Hemmungssubstanz seine Wirkung paralysire, Dastre und Floresco⁴⁾ endlich führen die Unwirksamkeit des vorhandenen Ferments auf eine abnorm starke Alkalescenz des Peptonplasmas zurück.

Weniger widersprechend sind die Ansichten über die Wirkung des Blutegeextracts. Dies unterscheidet sich vom Pepton in erster Linie dadurch, dass es schon in geringen Mengen auch *in vitro* die Gerinnung des Blutes hemmt und intravenös beigebracht bei allen darauf untersuchten Thieren wirkt. Das Plasma von solchem Blute ist nach den übereinstimmenden Beobachtungen aller Autoren nur auf Zusatz von ausreichenden Mengen Fibrinferments zur Gerinnung zu bringen und gerinnt deshalb nicht spontan, weil die wirksame Substanz des Extracts die Wirkung des vorhandenen Fibrinferments zerstört⁵⁾. In der That gelang es Ledoux⁶⁾ nicht, aus Blutegeextract-Plasma nach der Schmidt'schen Methode Fibrinferment herzustellen.

1) C. rend. soc. biol. 1896. S. 516.

2) Grosjean. Travaux du laborat. de Léon Frédéricq IV. S. 45. Eulfich 1892.

3) Contejean C. r. soc. biol. 1896. S. 744.

4) Dastre u. Floresco ebda. 1897. S. 28. Die Arbeit erschien erst nach Abschluss des experimentellen Theils unserer Untersuchung.

5) Vgl. nam. Dickinson, Journ. of Physiology XI. S. 566.

6) Ledoux, Arch. d. biologie XIV. S. 63 (1895).

In Uebereinstimmung oder wenigstens ohne Widerspruch mit den bisherigen Beobachtern lässt sich aus dieser kurzen vorausgestellten Uebersicht für die beiden Plasma-Arten das folgende entnehmen:

Peptonplasma gerinnt auf Einleiten von CO_2 , Blutegel-extract-Plasma nicht. Beide gerinnen auf Zusatz einer ausreichenden Menge Fibrinferment.

I. Der Antagonismus von Gerinnung befördernden und hemmenden Substanzen.

A. Versuche im Reagensglas.

Bevor wir weitere Schlüsse aus dem vorliegenden und dem von uns neu beobachteten Material zu ziehen versuchen, sei zunächst der Standpunkt kurz präcisirt, den wir in der gegenwärtig noch stark im Flusse befindlichen Gerinnungsfrage einnehmen, soweit es für die Eindeutigkeit der gebrauchten Namen und Begriffe nöthig ist.

Nothwendig für die Gerinnung sind Fibrinogen, Fibrinferment und ein gewisser Salzgehalt. Das Fibrinferment (Thrombin) entsteht unter dem Einfluss gewisser Substanzen, die Alexander Schmidt „zymoplastischer“ nennt, aus einer unwirksamen Vorstufe, dem Prothrombin (in dem weiter gefassten Sinne Schmidt's, nicht Pechelharng's). Die Fragen über die specifische Bedeutung der Kalksalze und den Ursprung des Fibrinogens und Prothrombins können hier füglich unberührt bleiben.

Der Beweis, dass im Peptonplasma wirklich freies Fibrinferment vorhanden sei, ist bisher in der Litteratur nicht mit Sicherheit erbracht. Nur Dastre und Floresco, auf deren Versuche wir noch zurückkommen, haben die Frage in Betracht gezogen, ob vielleicht im Peptonplasma nur Prothrombin und kein fertiges Ferment vorhanden sei. Die Angaben aller übrigen Autoren lassen sich wohl mit der Annahme vereinigen, dass es in solchem Blut nicht bis zur Bildung von Ferment gekommen sei, sondern nur die Vorstufe (Prothrombin) vorhanden

4) die Umwandlung dieser zum Ferment, die nach Alexander Schmidt die zymoplastischen Substanzen besorgen, aber unterblieben ist. Danach müssen die sogenannten zymoplastischen Substanzen im Peptonplasma Gerinnung erzeugen können. Das ist, wie uns mehrfach wiederholte Versuche gelehrt haben, in der That der Fall. Aus Leucocyten gewonnene Alkoholauszüge, die auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft waren und in Folge dessen kein Ferment enthalten konnten, brachten in wenig Wasser gelöst sowohl Pepton- wie Blutegeleextract-Plasma prompt in wenigen Minuten zur festen Gerinnung. Die Reaction der wässerigen Lösungen war schwach alkalisch: Controlproben mit der gleichen Menge Wasser ergaben erst nach Stunden oder überhaupt gar keine Gerinnung.

Die vielfachen Widersprüche in der Litteratur über die Gerinnbarkeit des Peptonplasmas erklären sich vielleicht zum Theil daraus, dass nicht genügend darauf geachtet wurde, ob das Peptonplasma vor dem oder beim Centrifugiren abgekühlt wurde. Bei der Abkühlung setzt sich nämlich, wie Wooldridge¹⁾ gezeigt hat und wir bestätigen konnten, ein geringer Niederschlag ab, dessen Anwesenheit eine nothwendige Bedingung für die Gerinnung des Plasmas nach Einleiten von CO₂ ist. Bei unseren Versuchen zeigte solches abgekühltes, filtrirtes Plasma auf Zusatz von zymoplastischen Substanzen wohl einen Niederschlag, aber keine feste gelatinöse Gerinnung wie das nicht abgekühlte. Ob das als eine wesentliche Verschiedenheit aufgefasst werden darf, soll vor der Hand dahingestellt bleiben.

Wenn nun der Zusatz der „zymoplastischen Substanzen“ sowohl im Pepton- wie im Blutegeleextract-Plasma die Gerinnung einleitet, so darf daraus wohl gefolgert werden, dass diesen Flüssigkeiten solche die Bildung von Ferment und somit die Gerinnung befördernden Stoffe fehlen, oder dass ihre Wirkung durch die Anwesenheit anderer hemmender Substanzen paralytisch ist. Das gänzliche Fehlen gerinnungsbefördernder Stoffe ist aber schon dadurch unwahrscheinlich, dass beide

1) Wooldridge, die Gerinnung des Bluts, herausgegeben v. Max Frey, Leipzig 1891.

Plasma-Arten, wenn auch unter Umständen erst nach langer Zeit, schliesslich doch spontan gerinnen. Es kann sich also nur um eine Gegenwirkung von Hemmungsstoffen in grösserer oder geringerer Menge gegen ebenfalls in wechselnden Mengen anwesende, die Fermentbildung befördernde Substanzen handeln. Dass die Hemmungsstoffe auch die Wirkung fertigen Fibrin-ferments verhindern können, soll darum nicht bestritten sein, ja scheint sogar nach den Versuchen von Dickinson durchaus wahrscheinlich.

Aus diesen Versuchen im Reagensglase ergab sich für den Zustand des Pepton- und des Blutegeextract-Plasmas eine einheitliche Auffassung, die den Unterschied zwischen beiden nur in einer quantitativen Verschiedenheit der vorhandenen, die Fermentbildung fördernden und hemmenden Stoffe sieht.

B. Versuche an Thieren.

Noch augenfälliger konnten wir diese Analogie zeigen durch Versuche, die wir am lebenden Thiere anstellten, um durch die gleichen Mittel die Wirkung des Peptons wie des Blutegeextracts zu unterdrücken.

Ein solches Mittel fanden wir in der Injection von bestimmten Säuren und zum Theil von deren Salzen in die Blutbahn.

Die Versuchsanordnung war die folgende. Die Thiere wurden durch Morphium anästhesirt, in einigen Fällen auch durch Chloroform oder Aether narkotisirt. Die Arteria und Vena femoralis wurden freigelegt. In die Vene wurden die Versuchslösungen, je nach der angewandten Menge, entweder mittelst einer Spritze injicirt oder aus einer Canüle einliessen gelassen. Aus der Arterie wurden durch eine rechtwinklig abgebogene Glascanüle in den aus den Versuchsprotokollen ersichtlichen Zwischenräumen Blutproben entnommen. Die Glascanüle wurde in den meisten Fällen vor jeder neuen Entnahme herausgenommen und sorgfältig gereinigt, damit nicht etwa in derselben zurückgebliebene Gerinnsel bei der neuen Blutprobe eine kürzere Gerinnungszeit veranlassen. Um diese Reinigung leichter und schneller vornehmen zu können, wurden auch Gummiverbindungen bei den Canülen vermieden.

Die Blutproben wurden zumeist in Reagensgläsern aufgefangen, und als Moment der Gerinnung der Zeitpunkt bezeichnet, wenn das Gerinnungsgewebe umgekehrt werden konnte, ohne dass auf leichtes Beklopfen Flüssigkeit

ausfloss. Doch wurde auch die Bildung der ersten Gerinnsel, so weit das möglich ist, im Reagensglas beachtet und notirt. Da, wo das Auftreten der ersten Gerinnsel exacter beobachtet werden sollte, wurden ausser in den Eprouvetten auch Proben in kurzen Capillarröhrchen von etwa 2 mm lichter Weite aufgefangen und der Zeitpunkt bestimmt, von welchem ab die geringe Flüssigkeitssäule im Röhrchen auf Neigen und leichtes Beklopfen desselben sich nicht mehr verschob. Auf diese Weise konnte man die Bildung schwacher Gerinnsel, die im Reagensglas, wie Gley gelegentlich mit Recht hervorhebt, leicht übersehen werden, stets sicher stellen, und auch eine nachher etwa wieder eintretende Auflösung des Gerinnsels (Fibrinolyse) entging der Beobachtung nicht. —

Die meisten Thiere gingen innerhalb 24—48 Stunden nach der Injection zu Grunde. Zuweilen fanden sich bei der Autopsie Thromben in den grösseren Venen, öfters aber konnte, makroskopisch wenigstens, eine wesentliche Veränderung nicht gefunden werden.

Die Wirkung der Säuren wurde namentlich an dem Beispiel der Salzsäure, der Arabinsäure und der Fleischsäure (Antipepton) studirt.

Die folgenden Versuchsprotokolle, die aus einer grösseren Reihe von Beobachtungen herausgegriffen sind, mögen die erhaltenen Resultate veranschaulichen.

1. Versuche mit Salzsäure.

Versuch.

3. XII. 96. Gelber Rattenlänger. 5.999 kg.

Injection von 2,5 gr. Witte'schem Pepton + 1 ccm. Normal-Salzsäure-Lösung.

Zeit der Blutentnahme	Blut in der Capillare geronnen um	Blut im Reagensglas geronnen um
3h 59	3 ⁵⁵	4 ⁰
3 ⁵⁶⁻⁵⁷ Injection		
4 ⁰⁰	4 ¹⁰	4 ⁰⁵
4 ⁰⁵	4 ¹⁷	4 ¹⁰
4 ¹⁰	4 ²⁰	4 ²⁰

Resultat: Bei gleichzeitiger Injection von Witte-Pepton und Salzsäure ist die Wirkung des Peptons aufgehoben.

Der Hund hatte sich am 30. XI. als empfänglich für die gerinnungshemmende Wirkung des Präparats gezeigt.

Versuch.

14. XII. Schwarzbrauner Spitz. 6.200 kg.

Injection von Säure nach Witte-Pepton.

Zeit der Blutentnahme	Blut in der Capillare geronnen um	Blut im Reagensglas geronnen um
11 ⁰⁸	11 ⁰²	11 ⁰⁹
11 ⁰⁴⁻⁰⁶	2 gr. Witte-Pepton injicirt	
11 ¹⁰	nach Stunden flüssig	
11 ²⁷	11 ¹³	nach Stunden flüssig
11 ⁰⁶⁻²³	3ccm. Normal-Salzsäure in 20ccm. phys. NaCl-Lösg. injicirt	
11 ³⁹	11 ¹³	12 ²⁰
11 ⁴⁷	11 ¹⁵	12 ⁰⁰
12 ⁰³	—	12 ⁰⁵

Resultat: Die allerdings nicht sehr ausgeprägte Hemmungswirkung des Peptons wird durch nachfolgende Injection von Säure aufgehoben.

Versuch.

4. XII. 96. Weisser Terrier. 5.400 kg.

Injection von Säure nach Blutegel-Extract.

Zeit der Blutentnahme	Blut in der Capillare geronnen um	Blut im Reagensglas geronnen um
4 ⁰⁰	4 ⁰⁰	4 ⁵⁴
4 ⁵⁵	Extract von 10 Blutegelköpfen injicirt	
4 ⁵⁶	7 ²⁰ Gerinnsel	am nächst. Vorm. flüssig
5 ⁰⁰	am nächst. Tage flüssig	
5 ¹⁰		
5 ²²	2 ccm. Normal-Salzsäure + 4 ccm. physiol. NaCl-Lösg. injicirt	
5 ²⁴	7 ²⁰ geronnen gefunden	am nächst. Vorm. fest
5 ³⁰	6 ⁰⁶	" " "
5 ³⁹	die gleiche Injection wie um 5 ²²	
5 ⁴³	6 ¹²	7 ²⁰ fest gefunden
5 ⁵⁵	6 ¹⁸	

Resultat: Die gerinnungshemmende Wirkung des Blutegel-extracts ist durch nachfolgende Injection von Säure bedeutend abgeschwächt. Während die Wirkung der injicirten Dosis nach den quantitativen Versuchen von Ledoux unter normalen Umständen ca. 3 1/2 Stunden anhält, gerinnt hier eine nach 50 Minuten entnommene Probe im Reagensglas in weniger als 1 1/2 Stunden.

Augenfällig war der Erfolg der Säureinjection namentlich am nächsten Vormittag zu beobachten: die um 5¹⁶ entnommene Reagensglas-Probe zeigte nicht die Spur eines Gerinnens, während das um 5²⁴ entnommene Blut als gelatinöse Masse das Reagensglas in scharf abgegrenzten Schichten ausfüllte.

Versuch.

9. XII. 96. Schwarzer Spitz. 7,500 kg.

Injection von Salzsäure, kurz darauf Injection der äquivalenten Menge Soda, zuletzt Witte-Pepton.

Zeit der Blutentnahme	Blut in der Capillare geronnen um	Blut im Reagensglas geronnen um
4 ²³	4 ²⁸	4 ³⁵
4 ³¹⁻³³	1 cem. Normal-Salzsäure mit 12 cem. phys. NaCl-Lösg. injicirt	
4 ³⁷	4 ³⁷	4 ³⁸
4 ³⁹⁻⁴¹	4 cem. Normal-Sodalösung injicirt	
4 ⁴³	sofort	4 ⁴³
4 ⁴⁵⁻⁴⁶	3,2 gr. Witte-Pepton injicirt	
4 ⁴⁸	4 ⁴⁴	keine Gerinnung
5 ⁰⁰	5 ¹⁶	starke Gerinnung um 7 h
5 ²⁰	5 ²⁷	

Resultate: Auch eine vorausgegangene Injection von Säure vermag die Wirkung des Peptons abzuschwächen. Die Säure wirkt nicht als solche dem Pepton entgegen: denn eine kurz darauf erfolgte Einspritzung der äquivalenten Menge Alkali hebt die Folgen der Säurewirkung nicht auf.

Dieser Versuch dürfte zugleich die von Dastre und Floresco kürzlich geäußerte Anschauung widerlegen, dass die Ungerinnbarkeit des Peptonplasmas durch seine höhere Alkaleszenz bedingt sei. Die beiden französischen Autoren haben zum Beweis ihrer Ansicht u. A. die auch von uns beobachtete Thatsache angeführt, dass eine vorausgegangene Injection von Säure ins Blut die Peptonwirkung aufhebt. Wenn die Wirkung der Säure wirklich nur darin bestünde, dass die Reaction des Bluts sich verändert, so müsste die folgende Alkaliinjection die Säurewirkung paralysiren: man braucht nur an die Versuche von Walter¹⁾ zu erinnern, der mit Säure vergiftete Kaninchen durch

¹⁾ Arch. f. exp. Path. u. Pharm. VII. 118. S. 1877.

Natriumbicarbonat vom Tode rettete. Eine solche Aufhebung der Säurewirkung aber kann hier durch Alkali nicht erzielt werden.

Auch die früher erwähnte Beobachtung, wonach eine alkalisch reagierende Lösung (zymoplastischer Substanzen) Peptonplasma zur Gerinnung bringt, passt wenig zu der Anschauung von Dastre und Floresco, ganz abgesehen davon, dass eine Reihe von Autoren das Peptonplasma weniger alkalisch gefunden haben als das normale.

Uebrigens haben uns eigene Versuche gelehrt, dass geringe Veränderungen der Reaction einer eingespritzten Peptonlösung die gerinnungshemmende Wirkung nur wenig beeinträchtigen. Wir haben in 4 Versuchen, in welchen wir eine mit Essigsäure schwach angesäuerte (4—5 Tropfen 10%iger Essigsäure im Ueberschuss) Lösung von Witte-Pepton injicirten, einmal gar keine, dreimal undeutliche Abschwächung der Hemmungswirkung beobachtet.

Versuch.

24. XI. 96. Schwarzer Metzgerhund. 12.400 kg.

Essigsäureinjection.

Blut entnommen	in der Capillare geronnen	im Reagensglas geronnen
12 ¹⁸	12 ²²	12 ²¹
12 ²⁵ Injection einer schwach essigsäuren Lösung von 4 gr. Pepton		
12 ²⁸	nicht geronnen	nicht geronnen
12 ⁴⁵	3 h	Abends
12 ⁰	12 ³	3 h. geronnen gebunden

2. Versuche mit Arabinsäure.

Es war von Interesse, neben der Wirkung einer Mineralsäure auf die Gerinnung auch die einer solchen Säure zu beobachten, die vermöge ihrer geringen Diffusibilität nur schwer aus dem Gefäßsystem heraustreten konnte. Als Typus einer solchen Säure wurde die Arabinsäure gewählt.

Die Darstellung der Arabinsäure geschah auf folgende Weise: Gummi arabicum (das Kalksalz der Arabinsäure) wurde mit Salzsäure

in einer Reibschale zu einem dicken Syrup verrieben, der Syrup etwas mit Wasser verdünnt, durch Leinen filtrirt und mit etwa der dreifachen Menge Alkohol gefällt. Nach gutem Umrühren wurde der Niederschlag absitzen gelassen und der überstehende Alkohol abgegossen. Der Niederschlag wurde unter der Pumpe abgesaugt und so lange mit verdünntem Alkohol gewaschen, bis sich kein Chlor und Kalk mehr nachweisen liess.

Die noch feuchte Arabinsäure¹⁾ wurde zu den Versuchen in Wasser oder in Soda gelöst, in einer Concentration von ungefähr 10%o. verwandt.

Auch bei der Arabinsäure ergab sich, dass sie die Wirkung des Witte-Peptons bei gleichzeitiger, vorheriger und nachfolgender Application aufhebt oder wenigstens abschwächt.

Versuch.

2. XII. Gefleckter Windhund. 6.400 kg.

Gleichzeitige Injection von Pepton und Arabinsäure.

Probe entnommen	Blut in der Capillare geronnen um	im Reagenzglas geronnen um
4 ⁰²	4 ⁰⁵	4 ¹³
4 ⁰⁷ Injection von 3.2 gr. Pepton + 2 gr. Arabinsäure	nicht geronnen	nicht geronnen
4 ¹²		
4 ²²		
4 ³¹	5 ³⁵	Abends Gerinnsel
4 ⁴³	5 ⁵⁹	6 ⁰⁰ fest
4 ⁵⁷	5 ²⁰	6 ⁰⁰ Gerinnsel
5 ⁰⁹	5 ²⁴	

Resultat: Die Hemmungswirkung der beträchtlichen Dosis Witte-Pepton zeigt sich bei gleichzeitiger Injection von 2 gr. Arabinsäure bedeutend abgeschwächt. Demselben Hunde waren am 26. XI. nur 0,35 gr. Witte-Pepton pro Kilogramm, in schwach essigsaurer Lösung, injicirt worden. Dabei blieben die nach 1½ Stunden entnommenen Blutproben in den Capillaren noch stundenlang flüssig.

Aber nicht allein die freie Arabinsäure, sondern auch ihr Natronsalz, selbst bei einem Ueberschuss der Lösung an Soda, vermag der gerinnungshemmenden Wirkung entgegenzutreten.

¹⁾ Trocken aufbewahrt geht sie leicht in eine unlösliche Modification über.

Versuch.

5. XII. Pudel. 4.10 kg

Injection von arabinsaurem Natron, dann Pepton, dann Blutegeleextract.

Probe entnommen		in der Capillare geronnen	im Reagensglas geronnen
4 ⁰		4 ⁰	4 ⁰
4 ¹¹⁻¹⁷	3 gr. arabinsaures Natron injicirt		
4 ¹⁹		4 ²	4 ²
4 ²⁰		4 ³	4 ³
4 ²⁵⁻³¹	2.2 gr. Witte-Pepton injicirt		
4 ²⁷		4 ⁴	4 ⁴
4 ²⁸		4 ⁵	5 ⁰
4 ²⁹	Extract von 9 Blutegeleköpfen injicirt		
5 ⁰²		nicht geronnen	nicht geronnen
5 ¹¹		5 ⁰⁵	fest geronnen
5 ¹²		5 ¹⁵	

Mehrere Versuche der gleichen Anordnung ergaben das gleiche Resultat.

Dieses Resultat aber scheint uns deswegen nicht ohne Bedeutung, weil zweifellos im Blute Salze wenig diffusibler Säuren vorhanden sein müssen. In diesen wäre somit wieder ein neuer Factor erkannt, der auf das so überaus wechselnde Gerinnungsvermögen des Blutes einen Einfluss ausübt.

Wir haben eine dieser im Thierkörper vorkommenden Säuren, die Fleischsäure, in ihrer Wirkung auf die Gerinnung näher studirt, und wenn auch unsere Resultate mit diesem Körper schwankender waren wie die bisher angeführten, so dürften sie doch zum mindesten geeignet sein, frühere, in der Pepton-Litteratur niedergelegte Beobachtungen klarer zu stellen.

3. Versuche mit Antipepton.

Schon Fano zog in seiner grossen Pepton-Arbeit auch das durch Pankreasverdauung des Eiweisses erhaltene Product, dem er den Namen Trypton beilegte, in den Kreis seiner Untersuchungen. Er kam dabei zu wechselnden Resultaten. Eine directe Einwirkung auf die Gerinnung des Blutes konnte er nicht beobachten, wohl aber in einigen Fällen einen Einfluss auf die Wirksamkeit einer späteren Pepton-Injection.

Schmidt-Mülheim hatte gefunden und Fano bestätigte diese Beobachtung in zahlreichen Versuchen, dass nach dem Abklingen der Peptonwirkung eine erneute Peptoninjection das Blut nicht mehr ungerinnbar mache.

Ist das Blut eines Pepton-Hundes zur normalen Gerinnbarkeit zurückgekehrt, so ist es etwa für einen Zeitraum von 24 Stunden gegen weitere sonst wirksame Peptoninjectionen immun. Dabei braucht die erste immunisirende Injection selbst die Gerinnung nicht verzögert zu haben.

Dasselbe Verhältniss beobachtete Fano in einem Falle, als er einer Tryptoninjection eine Peptoneinspritzung folgen liess. Und zwar war das verwandte Tryptonpräparat durch Verdauung in einer schwach mit Salicylsäure angesäuerten Lösung gewonnen. Ging die Verdauung in alkalischer Lösung vor sich, so zeigte die Tryptoninjection dagegen keine immunisirende Wirkung.

Nach den von uns beobachteten Thatsachen könnte in der Verschiedenheit der Darstellung speciell der dabei herrschenden Reaction, welche Fano beiläufig erwähnt, die Verschiedenheit der Wirkung der Tryptonpräparate mit begründet sein.

Ohne jeden Einfluss auf die Blutgerinnung fand die Injection von Antipepton auch Pollitzer¹⁾, welcher die von Kühne unterschiedenen Producte der Eiweissverdauung einzeln auf ihre Hemmungswirkung untersuchte. Nach seinen Beobachtungen besitzen diese Eigenschaft im höchsten Grade die Deuteroalbumosen, und die Heteroalbumose, weniger das Amphopepton, gar nicht die eigentliche Protalbumose und das Antipepton.

Wir selbst haben mit mehreren Antipepton-Präparaten verschiedener Darstellung gearbeitet.

Zu den ersten Versuchen wurde das sogenannte Drüsenpepton der Höchster Farbwerke benutzt, welches der eine von uns in einer früheren Arbeit bereits zu andern Zwecken verwandt hatte²⁾, sowie ein Antipepton-Präparat der Sammlung des hiesigen Instituts. Dasselbe war nach einer gütigen Mittheilung des Herrn Dr. E. Laves, früheren Assistenten

1) Pollitzer, Journ. of physiology VII. S. 283 1886

2) Ellinger, Ernährungsversuche mit Drüsenpepton Ztschr. f. Biologie 1896, S. 201.

des Instituts, aus Fibrin mit Pankreasinfus unter Zusatz von Soda, alkoholischer Thymollösung und etwas Chloroform durch 10tägige Digestion bei 35° hergestellt. Zwecks Reinigung wurde die verdaute Fibrinlösung bei schwach alkalischer und saurer Reaction gekocht, filtrirt eingedampft und mit Alkohol und Aether ausgewaschen. Die Reinigung mit Ammoniumsulfat wurde nur dann ausgeführt, wenn eine kleine Probe die Nothwendigkeit hierzu ergab. Das Präparat hatte beträchtliche Mengen Wasser angezogen, so dass es einen dicken Syrup bildete. Eine Trockenbestimmung ergab einen Wassergehalt von 29.5%.

Zu den späteren Versuchen, bei welchen auch zur Beobachtung der Gerinnung zuerst die Capillar-Methode angewandt wurde, diente ein von Grübler und ein von uns dargestelltes Präparat, die genau nach den Vorschriften von Siegfried und Balke¹⁾ bereitet waren.

Wir haben im Ganzen über die Wirkung des Antipeptons etwa 40 Versuche angestellt, da unsere ganze Untersuchung vom Studium dieser Erscheinungen ausging. Erst nachdem wir die Bedeutung der Säureinjectionen im Allgemeinen erkannt hatten, waren auch diese Versuche von einem einheitlichen Gesichtspunkte aus aufzufassen. Hier sollen, dem Rahmen dieser Arbeit entsprechend, nur die wichtigsten Resultate an der Hand einiger wenigen Versuchsprotokolle wiedergegeben werden.

Versuch.

2. VI. 96. Spitz. 5.200 kg.

Injection von Witte-Pepton, dann Drüsenpepton.

Blut entnommen	im Reagensglas geronnen
325	322
329 - 1.6 gr. Witte-Pepton injicirt	
336	nicht geronnen
352	
353 - 1.6 gr. Drüsenpepton injicirt	
404	459
415	437
429	433

Die Canülen, durch welche die Blutproben entnommen wurden, wurden in diesem Versuch noch nicht vor jeder Entnahme gewechselt.

Resultat: Drüsenpepton schwächt die Wirkung einer nicht zu grossen Dosis Witte-Pepton bedeutend ab. Bei Injection

1) Balke, Ztschr. f. physiol. Chemie, Bd. 22 (1896) S. 248.

einer grösseren Menge Witte-Pepton (0,5 gr. pro Kilo Thier) erreichten wir mit der gleichen Menge Drüsenpepton nur eine geringe Abschwächung der Hemmungswirkung.

Aehnlich verhielt sich das ältere Antipepton-Präparat. In Dosen von 0,5 gr. (trocken) pro kg. Thier schwächte es die Wirkung von 0,3—0,4 gr. Witte-Pepton in fünf Versuchen deutlich ab, wenn die Injection des Antipeptons der des Witte-Peptons folgte. Verlangten wir dagegen von dem Antipepton stärkere Wirkungen und wandten wir es zu diesem Zwecke in grösseren Dosen an, so versagte es zu unserem Erstaunen den Dienst.

Wir prüften deshalb den Einfluss unseres Präparates auf die Gerinnung normalen Bluts und fanden in der That, dass grosse Dosen davon die Gerinnungszeit des Blutes bedeutend hinausschoben, während kleine Mengen die Gerinnung beförderten.

Nach einer Injection von 0,6 gr. Antipepton z. B. sank die Gerinnungszeit von 8 auf 4 Minuten, dagegen machte die Injection von 1,1 gr. pro Kilo Thier das Blut ungerinnbar.

Diese merkwürdige Erscheinung konnte auf zweierlei Art erklärt werden. Entweder: das Antipepton an sich wirkt in kleinen Dosen befördernd, in grossen Dosen hemmend, wie das in neuester Zeit allerdings innerhalb sehr viel engerer Grenzen von Thompson¹⁾ auch für das Witte-Pepton (Albumosen) nachgewiesen wurde. Oder: unser Präparat enthielt eine Beimengung einer gerinnungshemmenden Substanz, deren Wirkung erst bei Anwendung grösserer Dosen augenfällig wurde.

Die Versuche mit dem reineren Präparate belehrten uns, dass die zuletzt ausgesprochene Vermuthung zutraf. Unter dieser Voraussetzung erklärten sich auch eine Reihe von anderen Beobachtungen zwanglos, welche wir mit dem älteren Präparate gemacht hatten. So konnten wir z. B. durch eine vorausgegangene Antipepton-Injection im Gegensatz zu Fano eine nachfolgende Injection von Witte-Pepton nicht unwirksam machen. Ferner wurde mehrfach die Immunität gegen eine

¹⁾ Journal of Physiology, Bd. XIX. 1897 S. 1.

ernente Witte-Pepton-Injection aufgehoben, wenn zwischen der ersten und zweiten eine Einspritzung von Antipepton eingeschaltet wurde.

Versuch.

9. VII. 96. Dachshund, 7,300 kg.

Injection von Witte- und Antipepton, dann Witte-Pepton.

Blut entnommen		im Reagensglas geronnen
10 ⁵⁷		11 ⁰⁰
10 ⁵⁷	2,5 gr. Witte-Pepton injicirt	
11 ⁰²		nicht geronnen
11 ¹²		
11 ¹⁵⁻¹⁶	4 gr. Antipepton injicirt	
11 ²²		11 ²⁵ nicht ganz fest
11 ²⁶		12 ¹³
11 ²⁷		12 ¹⁵
11 ²⁸	2,5 gr. Antipepton injicirt	
12 ⁰⁰		12 ¹⁵
12 ¹³	2,5 gr. Witte-Pepton injicirt	
12 ²²		stundenlang nicht geronnen
12 ²⁹		

Das Resultat dieses Versuchs, dass die immunisirende Wirkung der ersten Witte-Pepton-Injection ausblieb, ebenso wie die Nichtbestätigung des Experiments von Fano lassen sich vermuthlich daraus erklären, dass mit dem gerinnungsfördernden Antipepton auch ein Hemmungsstoff eingebracht worden ist, der, mit dem neu injicirten Witte-Pepton verbunden, schliesslich die Uebermacht gewinnt.

Arbeiteten wir mit dem reinen Präparate, so blieben diese merkwürdigen Nebenerscheinungen aus. Das Antipepton wirkte wie eine schwache Säure, die bezüglich ihrer Diffusibilität zwischen den Mineralsäuren und der Arabinsäure steht, so dass sie in grösseren Mengen injicirt, auch in alkalischer Lösung ihren gerinnungsbefördernden Einfluss geltend machte. Sie entsprach also durchaus den Erwartungen, die man auf Grund der Arbeiten Siegfried's¹⁾ und seiner Mitarbeiter über die Fleischsäure hegen konnte.

¹⁾ Siegfried, Archiv f. Physiologie, herausg. von E. du Bois-Reymond, 1894, S. 401.

Versuch.

20. XI. 96. Pudel. 5.100 kg.

Gleichzeitige Injection von Witte-Pepton und Antipepton

Probe entnommen	in der Capillare geronnen	im Reagensglas geronnen
10 ⁰¹	10 ⁰⁴	10 ⁰⁶
10 ⁰⁶⁻⁷	1.6 gr. Witte-Pepton und 1.6 Antipepton injicirt	
10 ⁰⁸	nicht geronnen	nicht geronnen
10 ¹⁶	10 ²⁰	..
10 ³¹	10 ³¹	11 ⁴⁵
10 ⁵¹	11 ⁰⁰	11 ²⁰

Resultat: Die gleichzeitige Injection von Witte-Pepton und Antipepton schwächt die Hemmungswirkung bedeutend ab.

Versuch.

16. XI. 96. Pudel. 5.100 kg.

Antipepton nach Witte-Pepton.

Probe entnommen	in der Capillare geronnen	im Reagensglas geronnen
10 ⁰³	10 ⁰⁷	10 ⁰⁹
10 ¹¹	1.6 gr. Witte-Pepton injicirt	
10 ¹²	nicht geronnen	nicht geronnen
10 ²⁵
10 ³¹
10 ³⁴⁻⁵	3 gr. Antipepton injicirt	
10 ³⁶	nicht geronnen	nicht geronnen
10 ³⁹
11 ⁰²	12 ⁰⁰	am nächsten Morgen fest
11 ¹⁸	12 ¹⁵

Resultat: Durch eine nachfolgende Antipepton-Injection wurde die Wirkung des Witte-Peptons deutlich, wenn auch nicht stark, abgeschwächt. Die Lösung des Gemenges reagierte in beiden angeführten Versuchen neutral, indem die ganz schwach saure Reaction des Antipeptons die alkalische des Witte-Peptons aufhob. In einem andern Versuche, in welchem das Gemenge, mit Soda schwach alkalisch gemacht, injicirt wurde, trat der Einfluss des Antipeptons deutlicher hervor.

Das reine Antipepton wirkte, entgegen den Beobachtungen mit dem älteren Präparat, auch in alkalischer Lösung, wenn es in ausreichender Menge injicirt wurde, wie der folgende Versuch lehrt.

Versuch.

3. XII. 96. Weisser Terrier. 5,400 kg.

Antipepton vor Witte-Pepton.

Probe entnommen	in der Capillare geronnen	im Reagensglas geronnen
10^{12}	10^{15}	10^{16}
10^{17-19}	4 gr. Antipepton in schwach alkalischer Lösung injicirt	
10^{22}	10^{26}	10^{27}
10^{31}	10^{37}	10^{33}
10^{32}	2.5 gr. Witte-Pepton injicirt	
10^{37}	11^{19}	11^{20}
11^{14}	11^{16}	11^{21}

Wir haben an dem Antipepton noch eine Reihe von anderen physiologischen Eigenschaften studirt, wie den Einfluss auf die Alkalescenz und den Trockengehalt des Blutes, auf den Blutdruck, die Zahl der Leucocyten und die Lymphabscheidung, behalten uns aber die Veröffentlichung dieser Resultate, da sie hier den Zusammenhang der Arbeit stören würden, auf ein anderes Mal vor. Hier sei nur kurz erwähnt, dass das Antipepton in Bezug auf Alkalescenz, Lymphorrhöe und Leucocyten qualitativ sich ähnlich wie die Albumosen verhält, in Bezug auf den Blutdruck und den Trockengehalt des Blutes aber wesentliche Unterschiede von diesen zeigt. Das Sinken des Trockengehalts des Blutes nach Antipepton-Injectionen ist eine Erscheinung, die nach Einbringung anderer Säuren in die Blutbahn nicht auftritt, und schon daraus erhellt die Sonderstellung, die in der Gerinnungswirkung der Fleischsäure zukommt.

Biologisch scheint uns die Wirkung des Antipeptons den Albumosen gegenüber deshalb von besonderem Interesse, weil wir hier den Antagonismus zweier Substanzen kennen lernen, deren eine leicht aus der anderen entsteht. Es sei daran erinnert, dass nicht nur die tryptische Verdauung, sondern auch gewisse Spaltpilze im Stande sind, aus Albumosen Pepton zu bilden, wie Kühne¹⁾ gezeigt hat.

So liegt es nahe, in Analogie mit der von einigen Autoren angenommenen Bildung von Antitoxin aus Toxin, an einer specifischen Gegensatz von Muttersubstanz (Albumose) und Pro-

¹⁾ Kühne, Ztschr. f. Biol., 1892, S. 1.

dient (Antipepton) zu denken. Doch schliesst die Thatsache, dass die Wirkung des Antipeptons in gleicher Weise auch den angeführten Säuren u. s. w. zukommt, die Berechtigung, eine spezifische Beziehung anzunehmen, aus.

II. Die Pepton-Immunität.

In dem ersten Theil dieser Abhandlung wurde erörtert, dass durch bestimmte Eingriffe die durch Pepton- oder Blutgeextract erzielte Schwerverinnbarkeit des Blutes, sei es im Reagensglas, sei es im Thierkörper, aufgehoben werden kann. Wie diese Aufhebung des Gerinnungsvermögens im Organismus zu Stande kommt, ist bisher nicht behandelt worden.

Dass nicht das Pepton selbst der gerinnungshemmende Körper des Pepton-Blutes ist, ergibt sich schon daraus, dass es nach der Injection innerhalb weniger Minuten aus der Blutbahn verschwunden ist. Die sämmtlichen Forscher, die sich mit dieser Frage beschäftigt haben, Schmidt-Mülheim¹⁾, Hofmeister²⁾, Neumeister³⁾, Shore⁴⁾ und Starling⁵⁾ haben es nach kürzester Zeit nicht mehr im Blut nachweisen können, dagegen mehr oder minder grosse Bruchtheile desselben in den Excreten, in den Organen, welche die Abscheidung der Excreta besorgen, und in der Lymphe wiedergefunden. Weiterhin spricht gegen eine Hemmungswirkung des Peptons selbst dessen Unwirksamkeit *in vitro*.

Für die Anwesenheit eines bestimmten, vom Pepton verschiedenen Hemmungskörpers im Peptonblut sprechen dagegen die folgenden Umstände: Wenn man normales Blut in Peptonblut auffängt, so kann man bei richtig gewähltem Verhältniss die Gerinnung des ersteren aufheben. Ferner: Injectirt man Kaninchen, auf deren Blut Peptoninjectionen nicht gerinnungs-

1) l. c.

2) Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Chemie V. (1881) S. 127.

3) Neumeister, Ztschr. f. Biol. N. F. VI. (1888), S. 283. IX. 1890, S. 318.

4) Shore, Journ. of. Physiol. XI. (1890), S. 561.

5) Starling, Centralbl. f. Physiologie VI. S. 395 (1892).

hemmend wirken¹⁾, das Blut eines Pepton-Hundes, so wird auch das Kaninchenblut schwer gerinnbar.

Aus allen diesen Thatsachen zog Fano den Schluss, dass unter Beihilfe des Peptons im Blute eine Verbindung entsteht welche demselben seine Befähigung zum Gerinnen raubt. Diese Ansicht ist in der allgemeinen Fassung, die ihr Fano gegeben hat, wohl nur von Wenigen bestritten.

Die zahlreichen französischen Arbeiten der beiden letzten Jahre haben viel dazu beigetragen, sie zu befestigen und genauer zu präcisiren. Namentlich Contejean und Gley und seine Mitarbeiter haben diese Erkenntniss auf experimentellen Wege gefördert. Contejean²⁾ konnte zuerst zeigen, dass Integrität der Lebernerven eine notwendige Vorbedingung für den Eintritt der Peptonwirkung sei; weiterhin beobachtete er, dass Unterdrückung der Circulation in den Bauchorganen die Wirkung des Peptons verhindert. Die Exstirpation der Thyreoidea, der Niere und des Pankreas fand er ohne Einfluss, die Bedeutung der Muskeln wenigstens nicht von grosser Bedeutung für den Eintritt der Peptonwirkung. Auf Grund seiner Versuche schreibt Contejean allen Zellen des Organismus die Fähigkeit zu, unter dem Einfluss des Peptons den gerinnungshemmenden Stoff zu bilden, vorwiegend aber der Leber und den Därmen (*masse intestinale*).

In einer lebhaften Polemik mit ihm befindet sich Gley, der ausschliesslich der Leber eine Bedeutung für die Bildung des Hemmungstoffes zumisst. Seine und Pachon's⁴⁾ Versuche gingen von der Beobachtung aus, dass bei Unterbindung der Lymphgefässe der Leber die Peptonwirkung abgeschwächt oder aufgehoben wird. Sie glaubten diesen Erfolg darauf zurückführen zu müssen, dass durch Lymphstauung die Leberzellen in ihrer normalen Function gestört werden, und erhielten in

1) Vergl. dazu allerdings Gley, *Compt. rend. soc. biol.* 1896, S. 658.

2) Contejean, *Compt. rend. soc. biol.* 1895, S. 729.

3) Contejean, *Arch. de physiol.* 1895, S. 245.

4) Gley u. Pachon, *Arch. de physiol.* 1895, S. 711.

Deselben, *Compt. rend. soc. biol.* 1896, S. 523.

Gley, *ibid.* 1896, S. 663.

der That auch durch Gallenstauung bei Unterbindung des Ductus choledochus ähnliche Resultate. Endlich fanden sie Peptoninjectionen unwirksam, wenn sie die Leber grösstentheils extirpirten oder Essigsäure in den Ductus choledochus injicirten — welche letztere Versuchsanordnung auf Grund unserer Erfahrungen mit Säureinjectionen ins Blut immerhin verschiedener Deutungen fähig ist.

Die Unterbindung der Leberlymphgefässe führte sowohl Starling¹⁾ als Delezenne²⁾ zu entgegengesetzten Resultaten. Dagegen sprechen die Versuche des letzteren an der ausgeschnittenen Leber, durch welche er Peptonlösungen fliessen liess, zu Gunsten der Gley'schen Ansicht. Diese wird endlich gestützt durch die Resultate, die Hédon und Delezenne³⁾ an Hunden erhielten, welchen sie eine Eck'sche Fistel anlegten und die Leber extirpirten.

Ohne die Frage entscheiden zu wollen, ob die Leber allein oder nur vorwiegend die Bildungsstätte des Hemmungsstoffes ist — eine Alternative, deren Entscheidung uns übrigens nicht so hervorragend wichtig erscheint —, haben auch wir uns von der Bedeutung der Leber für die Peptonwirkung auf anderem Wege überzeugt. Wir haben uns zu Versuchsthieren gewandt, an welchen schon manche wichtige Frage des Leberstoffwechsels hat entschieden werden können. Man weiss, dass Gänse die Ausschaltung der Lebercirculation um viele Stunden überleben, und dass somit Versuche an Gänsen gegen manche Einwände geschützt sind, welche man gegen Leberextirpationsversuche an Hunden erheben kann. Wir sparen uns die eingehende Veröffentlichung dieser Versuche für später auf und bemerken hier nur, dass nach Ausschaltung der Leber grosse Dosen von Witte-Pepton, die bei normalen Gänsen die Gerinnung aufhoben, nicht die mindeste Verzögerung hervorriefen. Auch wir schliessen uns somit der Anschauung an, dass die Mitwirkung der Leberzellen für die Bildung des Hemmungsstoffes wesentlich ist.

1) Starling, Journal of physiology, XVII. S. 30.

2) Delezenne, Compt. rend. soc. biol. 1896.

3) Hédon u. Delezenne, ibid. 1896, S. 633.

Wie kommt nun — diese Anschauungen über die Peptonwirkung als richtig vorausgesetzt — die merkwürdige Erscheinung der Peptonimmunität zu Stande? Fano hat auf diese Frage die folgende Antwort gegeben: Der Hemmungsstoff muss, damit er wirksam sein kann, in genügender Menge vorhanden sein, und er wird innerhalb des lebendigen Blutstroms allmählich einer Zerstörung entgegengeführt. Nach seiner Entfernung findet sich der Blutbestandtheil, aus oder mit welchem durch das eingespritzte Pepton der die Gerinnung hemmende Körper hergestellt wurde, nicht mehr in genügender Menge vor, um abermals den zuerst herbeigeführten Erfolg zu erzielen.

Fano nimmt also bei dem Thier, das durch eine vorausgegangene Injection von Pepton immun gemacht worden ist, eine Erschöpfung an Hemmungsstoff an, bei dem natürlich immunen Thier, wie dem Kaninchen, die Unfähigkeit, einen Hemmungsstoff zu bilden. Damit stimmte gut die Thatsache überein, dass die Transfusion von Peptonblut eines Hundes auch beim Kaninchen Gerinnungshemmung veranlasst, und das Blutegeextract beim Kaninchen wie beim Pepton-immunen Hunde wirkt. Hier wird der Hemmungsstoff fertig zugeführt, und er wirkt auch beim erschöpften Organismus.

Die Frage der Pepton-Immunität wurde erst 14 Jahre nach der Fano'schen Untersuchung durch Beibringen neuen Materials wesentlich gefördert. Auch hier wieder ging Contejean¹⁾ voraus.

Die Bakteriologie hatte in den vorausgegangenen Jahren eine Fülle von neuen Thatsachen und Versuchen zur Erklärung der erworbenen Immunität durch Vaccination beigebracht. Die Bildung von Antitoxinen aus oder neben den Toxinen war bewiesen und ihre Uebertragbarkeit mittelst des Blutserums in den Versuchen von Behring und von Roux gezeigt. Es lag also die Frage nahe, ob nicht auch auf die Peptoninjection der Organismus mit der Bildung einer antitoxischen, d. h. hier einer gerinnungsbefördernden Substanz antworte.

Contejean warf die Frage für das Pepton auf und prüfte sie experimentell. Er injicirte einem Hunde B Blut eines

1. Contejean, Arch. de physiol., 1895, S. 45.

Pepton-Hundes A in so geringer Menge, dass das Blut von B nicht ungerinnbar wurde. Dieser Hund B war, wenn die Zeit und Mengenverhältnisse richtig gewählt wurden, einige Stunden nach der Transfusion für Pepton immun¹⁾. Auch durch Injection von Peptonblut-Serum in das Peritoneum konnte er Hunde gegen Peptoninjectionen immunisiren. Da möglichst geringe Peptonmengen injicirt wurden, so ist eine Erschöpfung des Organismus an der hypothetischen Vorstufe des Hemmungskörpers nicht wahrscheinlich. Vielmehr scheinen uns diese Versuche durchaus dafür zu sprechen, dass nach Peptoninjection sich im Körper auch eine antitoxische gerinnungsbefördernde Substanz bildet. Contejean aber kommt unerwarteter Weise in der Fortsetzung seiner Versuche²⁾ auf die Erschöpfungstheorie zurück und zwar auf Grund des folgenden Versuchs:

Ein Hund A wird Pepton-immun gemacht durch Transfusion von Peptonblut. 2 Stunden später wird dem Hunde A ein grosser Theil seines Blutes entzogen und seine Jugularis mit der Carotis eines Hundes B verbunden, dessen Blut eben durch eine kräftige Peptoninjection ungerinnbar gemacht worden ist. Der Hund B verblutet sich so zu sagen in das Gefässsystem von A. Das Blut von A wird darauf ungerinnbar.

Auch dieser Versuch scheint uns mit der Anschauung, dass eine antitoxische Substanz entstehe — wir wollen diese Anschauung kurz als Antagonistentheorie bezeichnen — wohl vereinbar, denn auch im Reagensglas-Versuch, in welchem Peptonblut mit dem Blut eines Pepton-immunen Hundes in den richtigen Mengenverhältnissen zusammengebracht wird, erhält man eine ungerinnbare Mischung.

Es ist uns aber überdies gelungen, durch eigene Experimente die Erschöpfungstheorie direct zu widerlegen, indem wir den Hemmungskörper bei immunen Thieren in der Lymphe nachwiesen.

1) Vergl. auch Spiro, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., XXXVIII (1896), S. 126.

2) Contejean, Arch. de physiol., 1895, S. 245.

Die Einwirkung der Peptoninjectionen auf das Verhalten der Lymphe ist bereits mehrfach studirt worden, und man hat aus den beobachteten Thatsachen wohl Schlüsse für die Theorie der Lymphbildung, nicht aber für das Wesen der Peptonwirkung gezogen. So hat Fano die Beobachtung, dass die Lymphe nach Peptoninjection ungerinnbar würde, zu Gunsten der Ludwig'schen Ansicht angeführt, dass die Lymphe ein Filtrat aus dem Blutplasma sei, während Heidenhain¹⁾ in seiner grossen Arbeit über die Lymphagoga, vornehmlich durch sein Studium am Pepton, die Anschauung begründete, dass die Lymphe durch eine active Secretion seitens der Capillarepithelien entstehe. Starling²⁾ stellte dann weiter fest, dass die vermehrte Lymphe, die nach Peptoninjection erscheint, vorwiegend aus der Leber stammt.

Für unsere Schlussfolgerungen waren noch zwei in der Litteratur niedergelegte Beobachtungen von Bedeutung: die Shore's³⁾, dass schon die Injection von ganz geringen Mengen Pepton genügt, um die Lymphe ungerinnbar zu machen, und die von dem einen von uns⁴⁾ gelegentlich einer früheren Arbeit gemachte Beobachtung, dass die Wirkung des Peptons bei einem Lymphfistelhunde sehr viel schneller abklingt und dementsprechend die Peptonimmunität sehr bald (oft schon nach einer halben Stunde) eintritt.

Die Shore'sche Angabe liess uns hoffen, in der Ungerinnbarkeit der Lymphe einen Anhaltspunkt für die im Körper erfolgte Bildung des Hemmungskörpers in jenen Fällen zu finden, wo aus irgend welchen Gründen seine Wirkung im Blut selbst sich nicht äussern könnte. Darum unterwarfen wir die Gerinnungsverhältnisse der Lymphe unter verschiedenen Bedingungen einer genaueren Untersuchung.

a) Versuche an Lymphfistelhunden mit Pepton.

Wir begnügten uns dabei nicht, die Ungerinnbarkeit der

1) Heidenhain, Pflüger's Arch., Bd. 49, S. 216 (1891).

2) Starling, l. c.

3) Shore, Journal of Physiology, XI, S. 528, 1890.

4) Spiro, Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol., XXXVIII, S. 113, 1896.

Lympe festzustellen, sondern benutzten als Reagens auf die Anwesenheit des Hemmungsstoffes den Kaninchenkörper, d. h. wir injicirten die Lympe des Hundes Kaninchen in die Vena angularis und beobachteten die Gerinnungszeit des aus der Carotis entnommenen Bluts. Zur Controle injicirten wir einem Kaninchen defibrinirte Lympe eines Hundes, dessen Lymphstrom durch eine intravenöse Kochsalzinjection verstärkt worden war. Die Gerinnungszeit des normalen Blutes betrug bei dem Thier 3—4 Minuten. Nach Injection von 20 ccm. der defibrinirten Lympe wurden die entnommenen Proben sofort im Reagensglas fest. Als wir weitere 20 ccm. in etwa 3 Minuten einfließen liessen, ging das Thier unmittelbar darauf zu Grunde, und die Section zeigte im ganzen Gefässsystem dicke Gerinnsel. Die Injection normaler Lympe wirkte also, wie das kaum anders zu erwarten war, in hohem Grade gerinnungsfördernd, und es kann somit als ein Beweis für die Anwesenheit beträchtlicher Mengen von Hemmungsstoff angesehen werden, wenn es gelingt, durch eine solche Injection die Gerinnung des Kaninchenbluts hinauszuschieben. Selbst das Ausbleiben einer gerinnungsbefördernden Wirkung darf man wohl in diesem Sinne als ein positives Resultat betrachten. Zuweilen beobachteten wir nach Injection von Peptonlympe, die nicht die typische Hemmungswirkung zeigte, nach Injection einer kleinen Menge (etwa 10—15 ccm.) eine geringe Hemmung, dann trat bei weiterer Zufuhr beschleunigende Wirkung und öfters der Tod wie nach Injection von defibrinirter normaler Lympe ein. Es schien also, als ob nur bei Injection einer bestimmten Dosis die Hemmungswirkung deutlich in die Erscheinung träte, ein Mehr oder Weniger aber die Klarheit des Resultates trübte.

Ein Einwand liess sich allerdings gegen diese Gerinnungsversuche am lebenden Kaninchen noch erheben: Alexander Schmidt und seine Schüler haben beobachtet, dass nach Injection von zymoplastischen Substanzen mit einer Steigerung des intravitalen Fermentgehaltes eine schlechte Gerinnbarkeit des Aderlassblutes einherging. Aehnliche Beobachtungen haben auch Wooldridge bei Einführung seines Gewebsfibrinogens und Lilienfeld bei Anwendung des Nucleohiston gemacht.

Ähnliche Verhältnisse konnten auch bei unseren Lymphinjectionen vorliegen. Dieselben konnten im kreisenden Blute die Gerinnung fördern, selbst zu Thrombosen in den Capillaren führen, während das entnommene Blut schwerer gerann. Dieser Einwand erforderte unsomehr eine Widerlegung, als die meisten Kaninchen, wenn auch nicht unmittelbar während des Versuchs, wie bei der Anwendung des normalen Chylus, so doch wenigstens innerhalb der nächsten 24—48 Stunden zu Grunde gingen. Allerdings wurden bei der Section, die fast in allen Fällen ausgeführt wurde, nie Thromben in den grösseren Gefässen gefunden, aber capilläre Thrombosen waren darum nicht ausgeschlossen.

Wir haben deshalb in mehreren Versuchen die Hemmungswirkung der Lymphe auch im Reagensglas controlirt und mit der Wirkung in vivo durchaus übereinstimmend gefunden. Damit dürften nach dieser Richtung die Versuche einwandfrei sein.

In der Technik der Operation richteten wir uns genau nach den von Heidenhain angegebenen Regeln.

Versuch.

10. XII. 96. Metzgerhund. 27,5 kg.

Der Ductus thoracicus wird nächst der Einmündung in die Vene freigelegt und eine Glascanüle in denselben eingebunden.

Blut entnommen um	Blut in der Capillare geronnen um	Blut im Reagensglas geronnen um	Lymphmenge
1 ⁰¹	—	1 ⁰³	—
1 ⁰² -1 ⁰⁴	12 gr. Witte-Pepton injicirt	nicht geronnen	1 ⁰² -1 ⁰³ 61 cem. wasserklare L.
1 ¹¹	nicht geronnen	nicht geronnen	—
1 ³¹	—	—	—
1 ⁴⁵	1 ⁵⁶	—	1 ³³ -1 ⁵⁰ 12 cem.
2 ⁰¹	2 ⁰²	bald Gerinnsel, nicht fest geronnen	1 ⁵² -2 ⁰² 3 cem.
2 ⁰⁶ -2 ⁰⁹	12 gr. Witte-Pepton injicirt	—	Aus der Canüle muss ein Gerinnsel entfernt werden. Nach der neuen Injection Lymphe wieder ungerinnbar.
2 ¹²	2 ¹³	Gerinnsel	—
2 ³⁶	2 ³⁸	2 ⁴⁶	2 ²⁹ -2 ³⁹ 4,5 cem. ungerinnbar. L.

Resultat: Die Wirkung einer Injection von 0,44 gr. Witte-Pepton pro kg. Thier war nach 1 Stunde bereits abgeklungen. Eine erneute Injection machte die Lymphe ungerinnbar, während sie für das Blut unwirksam blieb. Bei dem sogenannten nannenen Hunde wird also Hemmungsstoff gebildet, entgegen der Ansicht von Fano und Contejean, wenn auch vielleicht in etwas geringerer Menge. Wenigstens zeigte die Prüfung am Kaninchen keine sehr starke Hemmungswirkung im Vergleich mit anderen Lymphproben. Dementsprechend ist auch der Lymphfluss nach der zweiten Injection weniger stark.

10. XII. 96. Kaninchen. 1800 gr.

Blut entnommen	Blut in der Capillare geronnen	Blut im Reagensglas geronnen
517	sofort	524
525	11 cem. Lymphe, die nach der II. Peptoninjection entnommen waren, in die V. jugularis injicirt	
529	531	533
534	12 cem. Lymphe injicirt	
539	541	606
548	552	602
550	Kaninchen stirbt.	

Resultat: Die Verzögerung der Gerinnung ist, wenn auch im Vergleich zu anderen Wirkungen von Peptonlymphe, die aus späteren Protocollen ersichtlich sind, nicht beträchtlich, doch deutlich. Dass die erste Probe nach der Lymphinjection im Reagensglas schneller gerann als die Normalprobe, darf nicht befremden. Es wurde nämlich in vielen Fällen beobachtet, dass die erste Probe, die einem intacten Kaninchen entnommen wurde, sehr viel länger zum Festwerden brauchte als die zweite, ohne dass inzwischen an dem Thier ein Eingriff gemacht worden wäre.

Zum Vergleich mit der Wirkung der Lymphe, die nach einmaliger Peptoninjection gewonnen wurde, sei hier der folgende Versuch am Kaninchen geschildert.

8. XII. 96. Kaninchen. 1600 gr.

Blut entnommen	Blut in der Capillare geronnen	Blut im Reagensglas geronnen
527	530	540
552-553	10 cem. Peptonlymphe injicirt	

Blut entnommen	Blut in der Capillare geronnen	Blut im Reagensglas geronnen
5 ³	5 ³⁹	6 ²
6 ²² -6 ²⁴	10 ccm. Lymphe injicirt	
6 ²⁵	6 ²⁷	7 ²
6 ²⁴ -6 ²⁵	6 ccm. Lymphe injicirt	
6 ²⁶	6 ³⁴	Um 8 ^h noch nicht fest
6 ²⁸	9 ccm. Lymphe injicirt	
6 ²⁸	6 ³⁴	Um 8 ^h noch nicht fest
6 ³⁰	10 ccm. Lymphe injicirt.	
6 ³⁰	Kaninchen stirbt.	

Aehnlich wie beim Pepton-immunen Hunde verhielt sich die Lymphe nach einer die Blutgerinnung nicht verzögernden Injection von Witte-Pepton in saurer Lösung.

Versuch.

Blut entnommen	Blut in der Capillare geronnen	Blut im Reagensglas geronnen
	9. XII. 96. Kaninchen. 1500 gr.	
12 ¹⁸	12 ¹⁹	12 ²⁷
12 ²² -12 ²⁵	10 ccm. Lymphe injicirt von einem Hunde, der Witte-pepton in salzsaurer Lösung erhalten hatte.	
12 ²⁷	12 ³⁰	12 ⁴¹
12 ³¹ -12 ³²	5 ccm. Lymphe injicirt.	
12 ³⁷	12 ⁴²	1 ³
12 ⁴¹ -12 ⁴²	5 ccm. Lymphe injicirt.	
12 ⁴⁵	12 ⁴⁸	12 ⁵⁷

Gleichgültig also, ob ein Hund durch eine vorausgegangene Injection von Witte-Pepton oder durch gleichzeitige Application von Säure für die Wirkung einer weiteren Peptoninjection unempfindlich gemacht worden ist, in der Lymphe ist in allen diesen Fällen der Hemmungsstoff in ansehnlicher Menge vorhanden. Und es gilt dieser Satz nicht minder für das natürlich immune Thier, das Kaninchen. Denn sammelt man bei diesem, nach der Operationsmethode Löwit's vorgehend, die Lymphe des Ductus thoracicus auf, so findet man diese tagelang ungerinnbar.

Dass dieser Befund sich mit der Erschöpfungstheorie Fano's und Contejean's nicht vereinigen lässt, wurde bereits erwähnt, um so besser stimmt er mit der Anschauung überein, dass unter dem Einfluss des Peptons gleichzeitig mit dem

Hemmungskörper im Organismus ein gerinnungsbefördernder Körper entsteht, der sich vorwiegend im Blute anhäuft.

Wir haben hier eine vollkommene Analogie zu der Wirkung von Bakteriengiften und der unter ihrem Einfluss entstehenden Immunität. Hier wie dort finden wir natürlich immune Thiere, ferner Thiere, die durch Behandlung mit körpertremden Stoffen giftfest gemacht sind, unsere Säurethiere einerseits, Behring's mit Jodtrichlorid gegen Diphtheriegift unempfindlich gemachte Kaninchen andererseits und endlich hier die Immunität durch eine vorausgegangene Peptoninjection, dort durch Einspritzung einer abgeschwächten Cultur, die Vaccination. Hier wie dort ein dem Gift, bezw. dem Hemmungsstoff entgegenwirkender Körper, der sich vorwiegend im Blutserum findet und mit diesem sich andern Thieren einverleiben lässt zu ihrem Schutze gegen die Wirkung des Gifts.

Diese Analogieen mögen vielleicht nur äusserliche sein, jedenfalls aber verdient das Studium der Einzelheiten eines solchen Immunisirungsvorgangs schon deshalb Interesse, weil durch Analogieschlüsse auf die bakteriologische Immunität, wenn keine weitere Erkenntniss dieses hochwichtigen Problems, so doch eine Förderung der Fragestellung erreicht werden kann. Die Untersuchungen Ehrlich's über die giftigen Pflanzeneiweissstoffe haben das zur Genüge bewiesen.

Man kann in der That da, wo das Kriterium für den Ausfall eines Versuchs nicht der Tod des Versuchsthieres, sondern der Eintritt oder das Ausbleiben einer einzelnen physiologischen Erscheinung wie die Gerinnung ist, weiter in das geheimnissvolle Dunkel vordringen, das über der Wirkungsweise dieser in so unendlich geringen Mengen wirksamen Stoffe ruht.

Beim Pepton liegen die Bedingungen insofern besonders günstig, als der Hemmungskörper vorwiegend in die Lymphe zu gehen scheint.

Wir haben gesehen, dass die Wirkung des Peptons auf die Blutgerinnung beim Lymphfistelhunde sehr viel schneller abklingt, als beim normalen Hunde. Der Grund davon mag zum Theil darin liegen, dass das Pepton durch die Lymphfistel

schneller abfließen kann, als es gewöhnlich durch Nieren und Darm entfernt wird, wie das der eine von uns in der erwähnten Arbeit gezeigt hat, daneben geht aber auch Hemmungsstoff selbst durch die Lymphe verloren. Ueberdies verdient noch die Möglichkeit besondere Berücksichtigung, dass die Hauptmenge der Hemmungssubstanz überhaupt erst durch die Lymphe ins Blut kommt. Man kann sich vorstellen, dass sie von ihrer hypothetischen Bildungsstätte, der Leber vorwiegend nicht in die Blutcapillaren tritt, sondern in die Lymphbahnen. Findet sie diese verschlossen, so ist der Uebertritt in die Blutbahn nur durch langsame Diffusion oder Gefässzerreissung möglich.

Auch Gley und Pachon legten sich diese Frage vor, als sie nach Unterbindung der Leberlymphgefässe die Wirkung des Peptons abgeschwächt sahen. Sie glaubten indessen die letztangeführte Annahme ausschliessen zu können, weil sie nach Unterbindung des Ductus thoracicus zu wechselnden Resultaten kamen. Indessen scheint uns dieser Versuch nicht entscheidend. Denn einmal geht sicherlich nicht die ganze Menge des Hemmungstoffes quantitativ in die Lymphe; sonst würde beim Lymphfistelhunde überhaupt keine Wirkung auf das Blut eintreten, ferner sind bei einer Lymphstauung die Bedingungen für den Uebertritt in die Blutcapillaren günstiger als sonst, und endlich lässt sich bei Unterbindung des Ductus thoracicus die Entstehung von Collateralbahnen oft schwer ausschliessen. Ungezwungen erklären sich aber bei unserer Annahme die widersprechenden Erfahrungen über die Gerinnbarkeit, die Gley und Pachon einerseits, Starling und Delezenne andererseits nach Unterbindung der Leberlymphgefässe erhielten, durch kleine Verschiedenheiten im Versuchsverlauf, indem bei dem einen Thiere etwas mehr, bei dem andern etwas weniger von dem Hemmungstoff in die Blutbahn hineinging, oder auch durch einen verschiedenen Gehalt des Bluts an normal vorhandenen gerinnungsfördernden Stoffen.

Dass der Uebertritt des Hemmungstoffes in die Blutbahn von der Menge des eingeführten Peptons abhängig ist, haben wir in mehreren Versuchen bei Lymphfistelhunden beobachtet. Hält man einen Hund durch kurz aufeinander folgende In-

rektionen beträchtlicher Peptonmengen unter einer dauernden Peptonwirkung, so ist auch beim Lymphfistelhier auf Stunden hinaus eine verschleppte, wenn auch keine aufgehobene Gerinnung zu erkennen.

Versuch.

7. I. 97. Männlicher Jagdhund. 24 kg.

Blut entnommen	In der Capillare geronnen	Im Reagensglas geronnen
3 ⁴¹	—	3 ⁴⁷
3 ⁴⁴	11 gr. Witte-Pepton injicirt	
3 ⁵⁸	—	nicht geronnen
4 ⁰⁰	8 gr. Witte-Pepton injicirt	
4 ⁰⁶	—	nicht geronnen
4 ²⁹	Abends geronnen	am nächst. Morgen starke Gerinnung
4 ³³	—	Abends starke Gerinnung
4 ⁴³	4 ⁵⁸	
4 ⁵²	—	
5 ⁰⁸	—	
5 ²⁹ -5 ⁴¹	6 gr. Witte-Pepton injicirt	
5 ⁴²	—	Abends starke Gerinnung
5 ⁴⁸	5 ³⁹	
5 ⁵⁷ -5 ³⁹	10 gr. Witte-Pepton injicirt	
5 ⁴⁰	6 ¹⁰	am andern Morgen fest
5 ⁵⁰ -5 ⁵³	10 gr. Witte-Pepton injicirt	
6 ¹¹	6 ²⁷	am andern Morgen fest
6 ²⁸ -6 ²⁹	11 gr. Witte-Pepton injicirt	
6 ³⁷	6 ⁵⁷	am andern Morgen fest
6 ³⁹ -6 ⁴²	6 gr. Witte-Pepton injicirt	
6 ⁴⁸ -6 ⁴⁹	6	
6 ⁵⁵	7 ¹⁷	am andern Morgen fest
7 ⁰³	ca. 150 ccm. Blut entzogen (zur Untersuchung in vitro)	
7 ¹¹	100 ccm. Blut entzogen, da sich der Exitus ankündigt	
7 ⁴⁵	Hund tot.	

Resultat: Dem Hunde wurde die colossale Quantität von 68 gr. Witte-Pepton beigebracht, ohne dass er schneller zu Grunde ging als andere Versuchsthiere, denen nur eine geringe Menge Pepton injicirt war. Die Lymphe dieses Hundes hatte beim Kaninchen keine hemmende Wirkung auf die Blutgerinnung. Man kann sich diese von der Regel abweichende Erscheinung vorläufig in der Art erklären, dass dort, wo so grosse Mengen Pepton injicirt wurden, auch grosse Mengen des ge-

erinnungsbefördernden Stoffes entstehen mussten, und dass dieser wenigstens zum Theil auch aus dem Blut in die Lymphe übergeht und deren Wirkung abschwächt.

Noch eine andere Erklärungsmöglichkeit für das Verhalten der Peptonlymphe bedarf der Erörterung. Ohne unsere obige Annahme, dass der Hemmungsstoff in der Hauptmenge durch die Lymphe ins Blut komme, liessen sich die beschriebenen Beobachtungen auch folgendermassen erklären: Von den beiden antagonistischen Stoffen, die von Anfang an im Blut vorhanden sind, geht der Hemmungsstoff leichter durch die Capillarwand hindurch und der geringe Ueberschuss davon genügt, um die im Vergleich zur Blutmasse geringe Menge Lymphe ungerinnbar zu machen. Ein Beweis für diese Auffassung wäre erbracht gewesen, wenn sich in den Nierencapillaren eine ähnliche Erscheinung hätte nachweisen lassen, wenn also der Harn eines Pepton-Hundes (ohne Lymphfistel) ebenfalls einen Hemmungsstoff enthalten hätte. Die angestellten Versuche zeigten aber, dass der Peptonharn absolut keine gerinnungshemmenden Eigenschaften hat, während der Harn eines Thieres, dem Blutegeextract injicirt ist, wie schon Haycraft angibt und wir bestätigt fanden, hemmend wirkt. In diesem Punkt besteht somit ein beachtenswerther Unterschied zwischen dem Hemmungskörper des Peptonbluts und jenem des Blutegeextracts. Beide vermögen die Capillarwand zu passiren, das Nierenfilter ist jedoch nur für den Hemmungsstoff der Blutegel durchgängig.

b. Vergleichende Versuche über die Wirkung von Pepton und Blutegeextract an Lymphfistelhunden.

Im Eingang unserer Arbeit haben wir auf Grund unserer Gerinnungsversuche mit Blutegeextract-Plasma im Reagensglas die Meinung ausgesprochen, dass der wirksame Körper des Blutegeextracts die Bildung und Wirkung von Fibrinfernent verhindert, also selbst ein Hemmungsstoff von der Art ist, wie er nach Peptoninjection erst im Organismus entsteht. Dass nach Injection von Blutegeextract auch ein die Fermentbildung fördernder Stoff im Organismus sich bildet, darauf weist keine Beobachtung hin.

Diesen Ansichten entsprechend mussten auch beim Lymphstelhunde die Wirkungen des Blutegeextracts anders ausfallen als die des Peptons. In den Versuchen, die wir mit dem Extract anstellten, ging denn auch die Fangerinnbarkeit der Lymphe durchaus parallel der des Bluts und die Wirkung des Extracts klang bei offenem Ductus thoracicus nicht wesentlich schneller ab als beim normalen Hunde. Der folgende Versuch zeigt anschaulich den Unterschied zwischen den beiden Agentien.

Versuch.

5. II. 97. Weiblicher Jagdhund. 23.500 kg.

Canüle in den Ductus thoracicus eingeführt. Um 10⁴⁵ 9 ccm. einer 10%igen Kochsalzlösung injicirt, um etwas grössere Quantitäten Lymphe zu erhalten, die im Reagensglas mit Blutegeextract zusammengebracht wurden.

6 ccm. dieser Lymphe	+ 1 ccm. Extract	= 1/2 Kopf gerann nicht.
6	+ 1/2	zeigte nach 1 St. Gerinnsel.
6	+ 1 Tropfen	war nach 5 Min. fest.

In einigen Tropfen Peptonlösung aufgefangen gerann die Lymphe ebenfalls normal (entgegen einer einmaligen Beobachtung Shóres).

Blut entnommen	Im Reagensglas geronnen	Verhalten der Lymphe
11 ¹¹	11 ¹⁴	Gerinnungszeit 5'
11 ¹³	5 ccm. Blutegeextract (entsprechend 3 Köpfen) injicirt	
11 ¹⁴	11 ¹⁷	
11 ¹⁶	11 ¹⁶ Gerinnsel, aber nicht fest	Die von 11 ²¹⁻⁴¹ entnommene Lymphe gerinnt nach einer halben Stunde fest.
11 ⁴⁴	11 ⁴⁹	11 ⁴³ Lymphe entnommen. Nach 5' Gerinnsel, nach 17' fest.
11 ⁵⁷	1.25 gr. Witte-Pepton injicirt	
11 ⁵⁸	12 ⁰²	Die von 11 ^{58-12¹⁵} entnommene
12 ⁰³	12 ¹⁰	Lymphe ist am nächst. Morg. flüss.
12 ¹⁶⁻²⁰	13 gr. Witte-Pepton injicirt	
12 ²¹	12 ²¹ Gerinnsel, wird nicht fest	Lymphfluss ca. 2 ccm. p. Min.
12 ²⁸	12 ³³	Bezügl. Hemmungswirkung
12 ⁴⁷	12 ⁴⁹	s. d. folg. Vers. am Kaninchen.
1 ⁰⁸	1 ¹³ dickes, weiches Gerinnsel	1 ¹⁰⁻³⁰ Lymphfluss nur noch 0.5 ccm. p. Min.
1 ⁵⁷⁻⁵⁹	Extract von 1 Blutegekopf pro Kilo Thier injicirt	
2 ⁰⁰	nicht geronnen	
2 ³¹		20 ccm. Lymphe wirkten beim Kaninchen deutlich hemmend.

Um 3^h stirbt das Thier

Resultat: Die Wirkung von Blutegeextract auf Lymphe stimmt ungefähr den quantitativen Verhältnissen nach mit

derjenigen auf Blut überein. Nach Ledoux ist etwa das Extract von $\frac{1}{4}$ Kopf nöthig, um 6 cem. Blut für einige Zeit ungeronnen zu halten. In unserem Versuche treten nach Zusatz derselben Menge nach 1 Stunde Gerinnsel in der Lymphe auf.

Bei intravenöser Injection einer Menge, die eben ausreicht, im Blut eine wahrnehmbare Wirkung zu erzeugen, tritt auch eine schwache Hemmung in der Gerinnung der Lymphe auf, die kurz nach dem Abklingen der Wirkung im Blut ebenfalls verschwindet. Dagegen macht ein Quantum Pepton, das im Blut gar keine Wirkung erzielt, die Lymphe auf Tage ungerinnbar.

Dies geringe Quantum Pepton genügt auch, wenigstens dem Lymphfistelhund gegen eine spätere grössere Injection von Pepton eine gewisse Immunität zu verleihen. Die Lymphe verhält sich dann wie beim Pepton-immunen Hund gewöhnlich. Sie bleibt ungeronnen, ohne beim Kaninchen stark hemmend zu wirken, letzteres vermuthlich weil von den gerinnungsbefördernden Stoffen auch ein Theil mit in die Lymphe geht und diese Stoffe im Kreislauf des Kaninchens bald die Oberhand gewinnen.

Bei einem solchen Versuche gestalteten sich die Gerinnungszeiten, wie folgt:

5. II. 97. Mittleres Kaninchen.		
Blut entnommen.		Im Reagensglas geronnen
5 ²⁰		5 ²⁶
5 ²⁷	12 cem. Pepton-Lymphe injicirt	
5 ²⁹		5 ³⁸
5 ³¹		5 ³⁸
5 ³⁶	10 cem. Lymphe injicirt	
5 ⁴¹		5 ⁴⁴
5 ⁴³	10 cem. Lymphe injicirt	
5 ⁴⁴		5 ⁵¹
5 ⁴⁹		5 ⁵³
5 ⁵⁵	Exitus. — Section ergab keine Thrombosen.	

Am schärfsten zeigte sich der Unterschied zwischen Pepton und Blutegelextract, wie schon hervorgehoben wurde, in der Frage der Immunität. In zahllosen Versuchen hat man die Erfahrung gemacht, dass eine Blutegelextract-Injection auf eine spätere keine bedeutende Wirkung ausübt. Dagegen ist der

Einfluss einer Peptoninjection auf eine folgende von Blutegelextract und umgekehrt nur gelegentlich von Contejean¹⁾ studirt worden. Nach seiner Mittheilung — ein ausführlicheres Protocoll scheint nicht darüber vorzuliegen — tritt in beiden Fällen eine schwache immunisirende Wirkung gegenüber dem später angewandten Hemmungsmittel ein.

Geht die Injection von Blutegelextract der Peptoneinspritzung voraus, so ist diese Immunisirung vielleicht durch den Hinweis darauf zu erklären, dass der Blutegelextract Albumosen enthält, von denen es noch nicht gelang den wirksamen Körper zu trennen. Es läge also hier derselbe Fall vor, als ob man durch eine ganz schwache Peptoninjection gegen eine folgende starke immunisirt hätte. Anders, wenn die Peptoninjection vorausgeht und der Blutegelextract folgt. Hier versagt die Erschöpfungstheorie ganz und gar den Dienst, während mit unsrer Annahme der Entstehung eines Antagonisten eine schwache Immunisirungswirkung leicht verständlich wird.

Auch diese Erscheinungen mussten beim Lymphfistelhunde deutlicher zu Tage treten, weil die Immunisirung schneller und intensiver zu Stande kommt.

Versuch.

15. XII. 96. Brauner Pudel. 27 kg.

Canüle in den Ductus thoracicus eingeführt.

Blut entnommen	Blut in der Capillare geronnen	Im Reagensglas geronnen
11 ²¹	11 ²⁸	11 ³¹
11 ²⁴	Extract von 13 Blutegelextractköpfen injicirt	
11 ²⁶	11 ³⁸	4h.
11 ³⁴	11 ⁴⁵	12 ¹²
11 ⁵¹	11 ⁵⁵	11 ⁵⁴
12 ⁰⁹⁻¹⁰	13.5 gr. Witte-Pepton injicirt	
12 ¹²	12 ²⁷	nicht fest geronnen
12 ¹⁸	12 ⁴¹	
12 ²⁸	—	12 ³²
12 ⁴⁵	12 ⁵⁰	12 ⁴⁷
12 ⁵⁶	Dieselbe Quantität Blutegelextract wie oben injicirt	
1 ⁰⁰	1 ²⁵	1 ²⁵
1 ⁰⁵	1 ¹⁴	1 ¹⁴
1 ¹⁵	1 ²⁴	1 ¹⁰

1) Contejean. Compt. rend. soc. biol. 1894, S. 833.

Resultat: Dieselbe Menge Blutegelextract, die im Anfang eine Verzögerung der Gerinnung im Reagensglas um 4 Stunden hervorrief, bewirkte beim Pepton-immunen Thier nur eine solche von einigen Minuten. Die gesammte bei dem Versuch erhaltene Lymphe war ungerinnbar.

Es bedarf kaum der Erwähnung, dass die Blutegelextract-Lymphe ebenso wie die Peptonlymphe auch auf die Gerinnung des Kaninchenblutes sowohl in vitro wie in vivo hemmend wirkt. Ob die Hemmungswirkung ceteris paribus bei der ersten oder bei der letzteren stärker ist, möchten wir auf Grund der vorliegenden Versuche nicht definitiv entscheiden. Doch sprachen diese eher für eine stärkere Wirkung der Peptonlymphe, wenn diese nicht durch vorhergegangene Immunisirung an gerinnungsfördernden Stoffen angereichert war.

Wir haben endlich noch die Frage zu entscheiden gesucht, ob die Analogie zwischen dem Hemmungsstoff, den der Blutegel ausscheidet, und dem, welchen der Hundeorganismus unter dem Einfluss des Peptons bildet, so weit geht, dass auch der letztere bei einer Temperatur von 100° seine Wirkung nicht verliert.

Contejean hat diese Frage verneint, Delezenne kam bei seinen Versuchen an der ausgeschnittenen Leber zu wechselnden Resultaten. Wir können sie entschieden bejahen.

Versuch.

12. II. 1897.

Zur Verwendung kam die Lymphe eines 12 kg. schweren Pudels, dem erst 9 gr. Witte-Pepton, drei Stunden später, als sein Blut wieder normal gerann, der Extract aus 25 Blutegelköpfen injicirt war.

Die gekochte Lymphe wurde centrifugirt und die obenstehende Flüssigkeit abgehoben, so dass in der Volumeinheit der gekochten Lymphe etwas mehr Hemmungsstoff vorhanden sein musste als in der ungekochten.

Zu den Lymphproben wurde in wechselnden Verhältnissen Kaninchenblut fließen gelassen, das Gemenge im Reagensglas gut gemischt und die Gerinnungsdauer beobachtet.

2 cem. Blut	+ 2 cem. frische Peptonlymphe	zeigten erst nach 1 Std. dicke Gerinnsel
1	+ 3 nach $1\frac{1}{2}$ Stunden
1	+ 4 2

2 ccm. Blut + 2 ccm. gekochte Peptonlymphe nach fast 3 Std. ohne Gerinnel.

1 + 3 " " " " "

1 + 4 " " " " "

2 ccm. Blut + 2 ccm. frische Blutegelextract-Lymphe nach 50 Min. fest

2 + 4 " " 1 Std. noch flüss. (Gerinnel)

1 + 4 " " ebenso

2 ccm. Blut + 2 ccm. gekochte Blutegelextract-Lymphe nach 50 Min. noch flüssig.

In der einzigen bisher bekannten chemischen Eigenschaft, der Widerstandsfähigkeit gegen Siedehitze, stimmen also die beiden Hemmungsstoffe mit einander überein.

III. Zusammenfassender Ueberblick über die Wirkung des Peptons und des Blutegelextracts.

Man hat Grund, mit Alexander Schmidt anzunehmen, dass die Geschwindigkeit, mit der die Gerinnung eintritt, unter Andern abhängig ist von der Anwesenheit gerinnungshemmender und befördernder Stoffe. Die Wirkung dieser Stoffe bezieht sich in erster Linie auf die Abspaltung des Fibrinferments vom Prothrombin, erstreckt sich aber vielleicht auch auf die Entstehung von Fibrinogen aus seinen Vorstufen und auf das fertige Ferment.

Im kreisenden Blute befinden sich diese Antagonisten in einem Gleichgewichtszustande, im Aderlassblute gewinnen die befördernden Substanzen die Uebermacht. Die Gerinnung tritt dann in der bekänten Weise nach einigen Minuten ein. Vermehrung oder Verminderung von einer Art der Antagonisten beeinflusst die Gerinnungstendenz des Blutes innerhalb und ausserhalb des Gefässsystems. Um solche quantitative Veränderungen handelt es sich bei den Wirkungen des Peptons und Blutegelextracts.

Im Blutegelextract wird dem Blut ein Hemmungsstoff zugeführt, der innerhalb einer gewissen Zeit ausgeschieden, vielleicht auch zum Theil im Organismus zerstört wird. Ist seine Hemmungswirkung abgeklungen, so hinterlässt er keine Spuren seiner Anwesenheit mehr.

Bei der Peptoninjection wird ein ähnlicher Hemmungskörper im Organismus gebildet und zwar unter wesentlicher

Mitwirkung der Leber. Dieser Hemmungskörper kommt zu einem beträchtlichen Theil auf dem Wege der Lymphbahn ins Blut, er kann durch eine Lymphfistel verhältnissmässig schnell aus dem Blute entfernt werden. Daneben tritt im Blut ein Antagonist dieses Hemmungskörpers auf, der allerdings in der ersten Zeit nach der Injection seine Wirkung nicht geltend macht. Nach einiger Zeit aber gewinnt er die Oberhand: vielleicht weil er sich inzwischen hat anhäufen können, oder weil der Hemmungskörper zerstört bezw. ausgeschieden ist. Das Thier befindet sich dann im Stadium der Immunität.

Es liegt nahe, die Entstehung der beiden Antagonisten mit dem Zerfall von Leucocyten zusammenzubringen, welcher der Injection von Pepton folgt. Denn sowohl A. Schmidt wie Lilienfeld haben aus den Leucocyten gerinnungshemmende und befördernde Stoffe dargestellt. Dabei betont Lilienfeld als wesentlich, dass der hemmende Körper, das Histon, basische, der gerinnungsbefördernde Körper, das Leuconuclein, saure Eigenschaften besitzt. Auch unsre Versuche mit Säureinjectionen weisen auf einen solchen Antagonismus der chemischen Natur der Körper hin, ohne dass wir daraus den Schluss ziehen möchten, dass die hier wirksamen Körper etwa jene Lilienfeld's seien. Schon die im Vergleich zum Blutegel-extract grossen Mengen, deren Lilienfeld von seinem Histon bedurfte, um das Blut ungerinnbar zu machen, lassen an die Möglichkeit denken, das eigentlich Wirksame sei nicht das Histon, sondern eine Beimengung desselben gewesen.

Dasselbe Bedenken kann natürlich auch betreffs der Wirkung des Peptons erhoben werden. Auch hier handelt es sich vielleicht nur um eine äusserst geringe Beimengung, welche den geschilderten Effect auf das Blut ausübt. Erwähnenswerth scheint jedenfalls in dieser Hinsicht, dass gewisse Fermente nach Salvioli¹⁾ u. Hildebrandt²⁾ ähnlich wirken wie die Albumosen, während z. B. die Somatose, eine Albumose, die nicht durch Verdauungsfermente erhalten wird, auf die Gerinnung

1) Salvioli, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1885, S. 913.

2) Hildebrandt, Virchow's Archiv 126, S. 1 (1890).

keine Wirkung hat. Die Schlussfolgerungen, die wir aus unsern Versuchen gezogen haben, werden übrigens durch diese Vorstellung nicht berührt. Nur müsste durchweg für Pepton dieser unbekannte Körper gesetzt werden, der im Organismus die Bildung einer hemmenden und einer befördernden Substanz veranlasst. Die Analogie mit den bakteriologischen Vorgängen wäre dann eine noch weitergehende.

Diese Analogie und die lebhafte Discussion, welche in der bakteriologischen Litteratur über die Entstehung und die Wirkungsweise der Antitoxine geführt wird, drängte uns auch die Frage auf: Entsteht in unserm Falle der mit dem Blutserum übertragbare Antagonist aus dem Hemmungskörper selbst, oder bildet ihn der Organismus neben demselben?

Mit Sicherheit lässt sich eine solche Frage hier wie bei den Bacteriengiften und Antitoxinen wohl nur durch eine vergleichende chemische Untersuchung der isolirten Substanzen entscheiden. Da aber die Chemie von diesem Ziele noch weit entfernt scheint, so ist vielleicht die Berücksichtigung von Wahrscheinlichkeitsargumenten gestattet.

Wir sehen, dass der Hemmungskörper nach Peptoninjectionen durch die Lymphe ins Blut gelangt. Wenn also der Antagonist aus dem Hemmungskörper entstände, so sollte man erwarten, dass das Serum eines Lymphfistelhundes an diesem gerinnungsbefördernden, immunisirenden Körper arm sei, da seine Vorstufe in die Lymphe übertritt. Gerade das Gegentheil aber ist der Fall. Ein solches Serum besitzt eine besonders hohe immunisirende Wirkung gegenüber späteren Peptoninjectionen, wie uns Versuche gelehrt haben. Wir möchten deshalb und aus manchen andern Gründen, für unsern Fall wenigstens, der Annahme zuneigen, dass der antagonistisch wirkende Körper nicht aus, sondern neben dem Hemmungskörper gebildet wird, d. h. dass in diesem Fall das Antitoxin nicht ein Derivat des Toxins ist.