

Das Globulin der weissen Blutkörperchen.

Cytoglobulin.

Synonyme: Albumin und Fibrin—Mandl, Albumin—Güterbock, Casein—Dumas & Cahours, Albumin—Lehmann & Messerschmidt, hyaline Substanz—Rovida, Miescher, cell-globulin—Halliburton, Cytoglobulin—Schmidt, Morochowetz.

Von Prof. Leo Morochowetz.

Historische Angaben. Gegen die vierziger Jahre, als die Lehre von der Identität oder wenigstens nahen Verwandtschaft der farblosen Blutkörperchen ¹⁾ des Blutes, der Lymphe, des Milchsafts, der Eiterkörperchen u. s. w. ihren Anfang nahm, fingen auch Arbeiten über die chemische Structur der weissen Blutkörperchen an zu erscheinen. Mandl (1837, 19 p. 479), welcher die Eiterkörperchen von der Flüssigkeit durch Filtration abtrennte, war der Ansicht, dass die grösseren Körperchen aus Fibrin, die kleineren aus Albumin bestehen. Gleichsam als Bestätigung dieser Angaben fand Güterbock (1837, 7 p. 9; 8 p. 378), dass die abgetrennten Eiterkörperchen in Essigsäure sich lösen, und die Lösung von gelbem Blutlaugensalze gefällt wird, woraus er schloss, dass die Eiterkörperchen aus Albumin bestehen. Güterbock beobachtete, dass die Eiterkörperchen sowohl in gewöhnlichem Wasser als in Zuckerwasser an den Rändern heller werden, in der Mitte dagegen sich trüben (7 p. 9). Aufquellen und Hellerwerden der Ränder der Eiterkörperchen unter dem Einflusse von Wasser beobachteten später Gruby & Delafond (1843, 6 p. 1369). Nach Güterbock's Beobachtungen, lösen Alkalien die Eiterkörperchen auf. Zu derselben Zeit beobachtete auch Babington (1837, 1 p. 268), dass die Eiterkörperchen mit Alkalien eine gallertartige Masse zu bilden schienen; Dumas & Cahours (1842, 3 p. 416) sahen die Hauptmasse der farblosen Zellen für Casein an.

Die ersten näheren Untersuchungen über die Proteinkörper der weissen Körperchen begegnen wir in Lehmann's & Messerschmidt's (1842, 17 p. 220) Arbeit. Die genannten Forscher gewannen auf Grund mikroskopischer Reactionen die Überzeugung, dass die Eiterkörperchen in verdünnten Mineralsäuren und auch in verdünnten organischen Säuren aufquellen und dann sich auflösen. Chlornatrium- und Chlorammoniumlösungen und einige andere Salzlösungen verhalten sich etwas anders: die Auflösung der äusseren Schicht des Körperchens, die sie, zum Unterschied vom Kern, Hülle nannten, findet ohne vorhergehendes Aufquellen statt (ib. p. 233) ²⁾. Im allgemeinen halten Lehmann & Messerschmidt die von ihnen ausgeschiedene Substanz derjenigen für analog, die sie aus Hühnereiweiss (ib. p. 233—4) bei der Verdünnung mit Wasser erhielten, nämlich für salzlösliches (17 p. 234) Ovoglobulin

¹⁾ Um Irrtümern vorzubeugen, bemerken wir hier gleich, dass Prévost & Dumas (1823, 4 p. 51 u. folg.) das Stroma der roten Blutkörperchen „globules blancs“ nennen.

²⁾ „Wurden diese Zellen mit Salmiak-, Kochsalz- oder Salpeterlösung behandelt, so löste sich

die Hülle vollkommen auf, so dass nur der Kern und wenig vereinzelt Pünktchen übrigblieben. Wir finden nämlich in der Hülle der Eiterkörperchen einen Stoff, den wir künstlich aus Eiweiss auf verschiedene Weise darstellen können“ (17 p. 236).

(p. n. 101, № 48—60). Dabei sprechen sich die Autoren dahin aus, dass das Protoplasma (die Hülle) der Körperchen auch in concentrirten Salzlösungen verschwindet (17 p. 231). Doch kann Henle nicht zugeben, dass concentrirte Salzlösungen das Protoplasma (die Hülle) der Eiterkörperchen auflösen, sondern nimmt hier Zusammenschrumpfen, Zusammenfallen des Protoplasma an (10 p. 192). In Borax (1 : 16 H₂O) quellen die Körperchen stark auf, und der Eiter stellt dann eine geleeartige Masse vor. Unter dem Mikroskop verschwammen die Umrissse der Körperchen; durch Zusatz von Essigsäure wurden die Eiterkörperchen wieder unterscheidbar (10 p. 192—3). Diese Erscheinungen, die jetzt durch die gleichzeitige Einwirkung von Säuren und Salzen sich leicht erklären, veranlassten Henle Lehmann & Messerschmidt's Beobachtungen gegenüber sich ungläubig zu verhalten. In der Folge identificirte jedoch Lehmann (1853, 16 p. 133) diese Körperchen mit dem Muskelfibrin (Myoglobin s. Kap. VII).—Auch Virchow (30 p. 86) gab die Löslichkeit sowohl der Eiterkörperchen als auch der farblosen Blutkörperchen in neutralen Salzen zu. Denis's Beobachtungen (1856, 2 p. 188) ergaben dieselben Resultate; bei der Behandlung von reinem Eiter mit dem doppeltem Volum 10⁰/₀-iger Kochsalzlösung bildet sich eine allgemeine zähe Masse, in welcher die Blutkörperchen verschwinden und welche im ganzen den Charakter der Stromasubstanz der roten Blutkörperchen vorstellt (ib. p. 188). In einem andern Falle behandelte Denis Eiter ebenfalls mit 2 Vol. aber schon circa 2⁰/₀-iger Kochsalzlösung, worauf der Niederschlag mit Wasser gewaschen wurde; es bildete sich eine zähe, wenig dichte Masse (2 p. 189). Hoppe-Seyler (1865, 13 p. 363) filtrirte die Eiterkörperchen ab und fand nach dem Auswaschen mit Wasser, dass dieselben in 10⁰/₀-iger Chlornatriumlösung löslich sind, wobei eine trübe, dicke, schwer filtrirbare Flüssigkeit entsteht. Das Filtrat scheidet mit Wasser Niederschläge aus, welche die Eigenschaften des Myosins (in Kühne's Sinne) aufweisen. In der Folge bedienten sich wie Hoppe-Seyler (1871, 14 p. 492) so auch sein Schüler Miescher (20 p. 442) des Glaubersalzes zur Abscheidung der Eiterkörperchen von der Eiterflüssigkeit. Miescher wusch die Eiterkörperchen 2— und sogar 3-mal mit in der Kälte gesättigter, dann mit dem 9-fachen Vol. Wasser verdünnter Natriumsulfatlösung. Nach der Filtration bleibt eine dicke, schleimige, in Wasser unlösliche Masse zurück. In Kochsalzlösung quellen die Körperchen stark auf und bilden eine gallertartige, schleimige Masse; bei Wasserzusatz fällt dieser Schleim aber in Flocken aus (ib. p. 444), welche bei der Behandlung mit Salzen ihre schleimige Consistenz wieder annehmen, sich jedoch nicht filtriren lassen. Dieses Aufquellen wird auch gar nicht beobachtet, wenn die Eiterkörperchen nach der Ausscheidung mehr als 24—36 Stunden unter Wasser gelegen haben. In $\frac{1}{2}$ —1⁰/₀₀ Natriumcarbonat lösten die Körperchen sich wieder auf; nach der Neutralisation schied das Filtrat in Salzen unlösliche Niederschläge (ib. p. 445) aus; nichtsdestoweniger fand Miescher, dass sehr verdünnte (1⁰/₀₀) Salzsäure aus den Körperchen eine bedeutende Menge Proteinkörper extrahirt, welche folglich in dieser Beziehung—Löslichkeit in Salzsäure von erwähnter Concentration—den Globulinen analog sind (ib. p. 446). Doch ist Miescher's Beschreibung seiner Beobachtungen weniger einfach als das, was wir soeben dargelegt. Miescher führt, wenn nicht die Vorstellung, so doch die Benennung „hyaline Substanz“ ein, indem er dieselbe mit Rovi'da's Namen verbindet, und scheint unter dieser Substanz die in seinen Versuchen „aufgequollene“, aber deutlich den Charakter des Globulins tragende Substanz zu verstehen. Dieser Umstand bedarf auch noch deshalb einer Erklärung, weil der Ausdruck „hyaline Substanz“—ohne irgend einen Hinweis auf den Ursprung desselben, sowie ohne die nötige Beachtung der Eigenschaften der Eiterkörperchen—sammt Miescher's Angaben in Hofmann's (1883,

12 p. 4) Lehrbuch der Tier-Chemie aufgenommen ist. Es muss erwähnt werden, dass Virchow schon im Jahre 1846 (30 p. 86) Eiterkörperchen in concentrirten Salzlösungen oder „salzhaltigem Wasser“ (s. oben) unter dem Mikroskop beobachtet und dabei bemerkt hatte, dass, während das destillirte Wasser die Körperchen allmählig befeuchtet, von der inneren körnigen und dunklen Masse eine glatte, homogene, dünne, blasse Hülle sich abzutrennen beginnt. Bei beschleunigter Behandlung mit Wasser ist diese Abscheidung der äusseren Schicht nur schwach ausgedrückt; anstatt dessen beobachtet man aber, dass die innere körnige Masse sich lockert, und kleine, blasse, in Wasser unlösliche Teilchen (30 p. 87) in derselben bemerkbar werden; bei längerem Stehen lösen sich jedoch alle Teile der Zelle, die Hülle sowohl und die körnige Masse als auch der Kern (ib. p. 88), in Salzlösungen auf. In der Folge—nach Virchow—bemerkte Rovida (1867, 22 p. 608)¹⁾, während er farblose Blutkügelchen und ihnen ähnliche Gebilde in 5%—18% Kochsalzlösungen beobachtete, dass nach dem Verschrumpfen der Körperchen in den erwähnten Lösungen dieselben schon nach 10 Minuten grösser werden, und ein Teil der Körperchen, in welchem keine Körner enthalten sind, heller wird, als er war: manchmal geschieht dies sogar, bevor die Verschrumpfung ein Ende genommen hat, wobei die Zellen einen hellen Tropfen oder eine durchsichtige Randzone ausscheiden, welche in 10%-iger Kochsalzlösung sich dennoch auflöst²⁾. Solche durchsichtige peripherische Zonen beobachtete Rovida auch an den farblosen Blutkörperchen von Froschleichen, die 28 Stunden lang bei 17° gelegen hatten. Obgleich dem Autor die Frage sich aufwirft, ob diese Gebilde angesichts der Löslichkeit des durchsichtigen Tropfens und der durchsichtigen Randzone in 10%-iger Kochsalzlösung nicht vielleicht aus Myosin bestehen, entschliesst Rovida sich dennoch nicht, irgend einen Schluss über die chemische Natur der künstlich hervorgebrachten Randzone der farblosen Zellen zu ziehen³⁾. Wie es scheint, waren Virchow's, Güterbock's und and. (p. n. 34), vor allem aber M. Schulze's (28 p. 58) Arbeiten Rovida nicht bekannt, da Schulze unter mehr oder weniger normalen Bedingungen ebenfalls eine äussere hyaline Protoplasmaschicht beobachtet hatte⁴⁾. Miescher (20 p. 441), der nur Rovida's Arbeit kannte, bestätigt⁵⁾ die Bildung eines hyalinen Saums bei den Eiterkörperchen zuweilen an dem ganzen Umfang, häufig aber in Gestalt einseitiger halbkugeliger Vorsprünge und Fortsätze. Bei fernerer Be-

¹⁾ Aus Stricker's Mitteilung, aus dem Italienischen übersetzt.

²⁾ „Aus den Furchungskugeln der Froscheier treten die Tröpfchen gleichfalls unter den bereits beschriebenen Umständen aus; doch kommt es hier auch vor, dass sich eine hyaline Randzone bildet, welche analoge Erscheinungen bietet, d. h. sie verschwindet allmählig“ (22 p. 609).

³⁾ „Der Umstand, dass die Tröpfchen in der zehnpersentigen Kochsalzlösung allmählig verschwanden, oder, was richtiger ist, gelöst wurden, legte die Vermuthung nahe, dass sie aus Myosin beständen. Ein gleiches gilt für die Randzone der Furchungskugeln, welche in der genannten Lösung erscheinen und wieder verschwinden. Auf Grundlage der nun folgenden Beobachtung muss ich jedoch hinzufügen, dass uns das Aussehen der hyalinen Randzone noch keinen

Anhaltspunkt bietet, um auf ihre chemische Beschaffenheit Schlüsse zu ziehen“ (22 p. 609).

⁴⁾ „Ich habe an verschiedenen Orten darauf aufmerksam gemacht, dass das Protoplasma einer Zelle eine sehr verschiedene Dichtigkeit haben kann. . . . Bei der kleineren Furchung der Embryonalzellen springt die Rinde als hyaline, körnchenfreie Schicht über die körnchenhaltige Substanz vor“ (28 p. 58; s. auch p. 6 u. folg.).

⁵⁾ Miescher (20 p. 444) beruft sich auf Rovida folgendermaassen: „Sitzungsbericht der Wiener Akademie. Bd. 56 u. a. a. O.“, wobei indessen in Miescher's Schrift Rovida's weder früher noch später erwähnt wird. Mich damit nicht begnügend, habe ich sowohl den Anzeiger der Sitzungsber. d. Wien. Ak. als auch andre ähnliche Anzeiger und Berichte durchgesehen, aber ausser der von uns angeführten Schrift in Bd. 56 d. Sitzungsberichte nichts über die Leukocyten gefunden, was mit Rovida's Namen verknüpft wäre.

obachtung derselben in Chlornatrium bemerkte Miescher, dass die hyaline Portion an Umfang zunahm, deren Umrisse schwächer wurden und endlich ganz verschwanden, während der innere körnige Teil bei einigen Körperchen erhalten blieb, bei anderen zerfiel. Beim Umschütteln verteilt sich die geléeartige Masse in der Chlornatriumlösung nicht gleichmässig, dennoch fällt Wasser diese Gallerte in Gestalt von Flocken (ib. p. 445) aus; wie lange letztere auch unter Wasser bleiben, sie lösen sich darin nicht auf (ib. p. 444). Miescher zieht daraufhin den Schluss: „folglich kann die h y a l i n e S u b s t a n z (!) in Wasser nicht löslich sein, wie Rovida annimmt“¹⁾, spricht aber auf derselben Seite etwas weiter (ib. p. 445) von dieser Substanz als von einer wohlbekanntem: „die sogenannte hyaline Substanz (Rovida) der Eiterzellen“, obgleich wir dem Ausdruck „hyaline Substanz“ hier zum ersten Mal begegnen. Aus dem Dargelegten ersehen wir, dass sowohl diese Benennung als auch der darunter gemeinte Körper, weder vom historischen noch vom chemischen Standpunkte aus, ein Recht auf selbständige Existenz besitzt und zwar aus folgenden Gründen: 1) Rovida stellte, soviel mir bekannt ist, eine solche Benennung nicht auf, und wenn dieselbe mit dem Namen irgend eines Gelehrten verknüpft werden soll, so hat Virchow jedenfalls ein grösseres Recht darauf (p. n. 35). 2) Rovida entschloss sich nicht einmal zu irgend einer Voraussetzung über die chemische Natur der Substanz, welche einen Bestandteil des durchsichtigen Randes bildet. 3) Den obenerwähnten Angaben Miescher's gemäss sind unter „hyaliner Substanz“ in chemischer Beziehung die durch Auswaschen mit Natriumsulfat von dem Eiterplasma (Serum) befreiten Eiterkörperchen zu verstehen, die in der Folge unter dem Einfluss des Kochsalzes das Aussehen einer schleimigen, gallertartigen Masse angenommen haben. 4) Sowohl Virchow als Rovida sprechen sogar von der vollen Löslichkeit nicht nur des durchsichtigen Teils sondern auch des Kerns (Virchow p. n. 35). 5) Miescher selbst leugnet schliesslich nicht ab, dass bei dem Versuch, die obenerwähnte geléeartige Masse zu filtriren, durch den Filter eine Flüssigkeit läuft, welche unzweifelhaft einen Proteinkörper enthält, obgleich sie von Wasser nicht getrübt wird, was, Miescher's Ansicht nach, der Fall sein würde, wenn dieser Körper Myosin wäre²⁾. Dessenungeachtet beobachtete Miescher Spuren von Trübung, schrieb diese aber den Überresten vom Serum, welches nach dreifachem Waschen der Körperchen mit Glaubersalz übriggeblieben war (20 p. 442), zu. 6) Ausserdem fand Miescher, dass diese Gallerte in Natriumcarbonat $\frac{1}{2}\%$ — 1% und in Chlorwasserstoffsäure 1% löslich sei, was nur in Bezug auf leichtlösliche Globuline bekannt ist. 7) Ferner weist die Fähigkeit, in Salzen bis zum Verlust ihrer Umrisse aufzuquellen, in Wasser zusammenzuschumpfen und wieder zu einer schleimigen oder geléeartigen Masse aufzuquellen, nicht nur auf Eigenschaften hin, die diesen

¹⁾ „Die als Endproduct dieser Einwirkung erhaltene schleimige Masse vertheilt sich niemals gleichmässig in überschüssiger ClNa-Lösung; auch nach noch so oft wiederholtem Schütteln ballt sie sich immer wieder in schleimige Klumpen zusammen. Durch Wasser wird die Gallerte in Fetzen gefällt. Man erkennt zwischen den körnigen unverändert gebliebenen Zellresten eine faserig membranöse Masse, welche in reichlicher Menge die Zellreste zusammenkittet.—offenbar nichts anderes als die vorher gequollene Substanz. Dieses Bild ist auch nach tagelanger Einwirkung von viel destillirtem Wasser unverändert. Die hyaline Substanz kann also unmöglich,

wie Rovida behauptet, in Wasser löslich sein. Die gefällten Fetzen und Flocken gaben mit Salzlösungen wieder die vorige Gallerte“ (20 p. 444—5).

²⁾ „Ich habe mich nun oft vergeblich bemüht, durch Filtration aus der ClNa-Gallerte eine Lösung zu erhalten, welche Myosinreactionen gäbe. Es lief fast immer eine ziemliche Menge Flüssigkeit durch, dieselbe gab aber, in Wasser getropft, keine Trübung, höchstens in seltenen Fällen eine geringe Spur, die man immer noch einer unvollständigen Auswaschung des Serums zuschreiben könnte“ (20 p. 445).

Körper dem Globulin nähern, sondern auch noch darauf, dass, wenn Miescher die Eiterkörperchen noch länger in der Salzlösung gehalten hätte, dieselben sich aufgelöst haben würden. Dies kann auf Grund des von uns Mitgeteilten und Virchow's und Rovida's Beobachtungen sowohl, als auch derjenigen der Vorgänger und Nachfolger genannter Autoren, endlich auch auf Grund unserer eignen Untersuchungen behauptet werden. 8) Ausserdem gelang es Miescher nicht, diese „hyaline Substanz“ aus der Zelle auszuschleiden. Die dargelegten Beobachtungen Miescher's, Rovida's und Virchow's haben mehr histologische Bedeutung.

Unter den späteren Autoren ist es interessant Kühne (1866, 15 p. 188) zu nennen, der zur chemischen Untersuchung der farblosen Körperchen vorschlug sich der sogenannten Entzündungsmembran zu bedienen, oder solche in der Kälte abgestandenem Pferdeblut zu entnehmen, wobei die weissen Blutkörperchen, die erst später ausfallen, an der Grenze zwischen der Schicht der roten Blutkörperchen und dem Plasma sich sammeln. Desgleichen empfiehlt auch A. Schmidt (1874, 24 p. 354), in der Voraussetzung, dass die fibrinoplastische Substanz ihren Ursprung den farblosen Blutkörperchen (ib.) verdankt, gleich Kühne, behufs künstlicher Darstellung der fibrinoplastischen Substanz (24 p. 355; 25 p. 533) des Seroglobins, die farblosen Körperchen aus abgekühltem Blut zu sammeln.

Hier wollen wir auch Plosz's (21 p. 373) Beobachtungen erwähnen. Um die Leberzellen von den übrigen, wenn auch ziemlich spärlichen Gewebestandteilen der Leber zu isoliren, hat Plosz die vom Blut befreite Leber zerschnitten und durch nicht zu dichtes Leinen geknetet. Der Zellenbrei wurde hierauf mit 0,75%-iger NaCl-Lösung versetzt und zur Senkung der Zellen hingestellt. Extrahirt man die isolirten und mit Wasser oder 0,75-procentiger NaCl-Lösung erschöpften Zellen mit 10% NaCl-Lösung, so bekommt man reichliche Mengen eines bei 75° C. coagulirenden Eiweisskörpers in Lösung. Derselbe ist durch viel Wasser, sowie durch concentrirte NaCl-Lösung im Ueberschuss, oder Eintragen von NaCl-Stückchen fällbar. Der Körper wäre demnach, meinte Plosz (ib. p. 377), den globulinartigen Eiweisskörpern zuzurechnen.

Ferner bedient sich Wooldridge (1881, 31 p. 395) zur Abtrennung der weissen Blutkörperchen, wie er es schon mit den roten gethan hatte (p. n. 27—8), der Centrifuge. Um bei irgend einer der vorgeschlagenen Manipulationen dem Gerinnen vorzubeugen, lässt Wooldridge das Blut aus den Blutgefässen unmittelbar in das nämliche Volum halbgesättigter Magnesiumsulfatlösung einfließen. In einem anderen Falle injicirte Wooldridge, um Blutgerinnung zu verhüten, nach Schmidt-Mühlheim's (27 p. 33) und Fano's (5 p. 277) Methode eine Peptonlösung in die Blutgefässe der Tiere. In beiden Fällen wurde die Flüssigkeit mit Aether bis zur Extraction des Hämatoglobins behandelt, wobei im letzteren Falle Magnesiumsulfatlösung zugesetzt werden musste, weil sonst das Blut gerann, sobald der Aether zugegossen wurde. Nach der Zerstörung der Körperchen durch den Aether wurde das Blut in beiden Fällen mehrere Stunden centrifugirt, wobei sich ein farbloses Gerinnsel in Gestalt einer Scheibe ausschied, welches aus Kernen, zerrissenem Protoplasma und kaum wahrnehmbaren Fäden (31 p. 395) bestand.

Es ist interessant, dass Wooldridge überzeugt ist, er habe hier—in dieser Scheibe—nur farblose Blutkörperchen erhalten, die er deshalb mit ätherhaltigem Wasser auswäscht. Allein der Zweifel, ob die Zellen hier keinen materiellen Schaden erlitten haben, was nur ausgeschlossen sein würde, wenn dieselben lebendig geblieben wären, veranlasst Wooldridge zur Gewinnung der farblosen Körperchen ein anderes Verfahren zu suchen.

Es bedarf wohl kaum der Bestätigung, dass das soeben beschriebene Ve-

fahren in keinem Falle eine Gewinnungsmethode der farblosen Körperchen aus dem Blute genannt werden könne. Als Argument zu Gunsten des Nichtvorhandenseins von Stromata der roten Blutkörperchen in den oben beschriebenen Niederschlägen führte Wooldridge an, dass durch Aetherzusatz die Stromata so stark aufquellen, dass die Centrifugalkraft sie aus der Flüssigkeit nicht mehr auszuscheiden vermag¹⁾!! Volle Beachtung aber verdient die Gewinnung der Körperchen aus den Lymphdrüsen. Wooldridge (31 p. 397) empfiehlt die Drüsen von Hunden oder Kälbern (ib. p. 404) mit 0,5%-iger Kochsalzlösung zu waschen, zu zerschneiden und dann die Zellen durch Leinwand durchzupressen. Alles durch die Leinwand Durchgelaufene wurde mit 0,5%-iger Kochsalzlösung versetzt und centrifugirt. Die unter der Einwirkung halbgesättigter Magnesiumsulfatlösung oder des Plasma peptonisirten Blutes ausgeschiedenen Körperchen zerfallen, wobei die Kerne sich nicht verändern, der übrige Teil der Zellen sich aber in eine fibrinähnliche Masse verwandelt (31 p. 397 u. 404). Die auf solche Weise gereinigten Körperchen lösen sich weder in Chlorwasserstoffsäure 2‰ noch in wässrigen Chlornatrium- oder Magnesiumsulfatlösungen, werden aber leicht von verdünnten Alkalien aufgelöst (ib. p. 399). Doch findet Wooldridge, dass der aus Lymphzellen bestehende Niederschlag in 2‰-iger Chlornatrium- oder Magnesiumsulfatlösung in einigen Minuten sich in ein gemeinsames Coagulum verwandelt, welches, mit einem Glasstäbchen gehoben, das Aussehen eines zähen Schleimes hat. In Wasser eingebracht, fällt das Coagulum in Gestalt einer weissen Masse zu Boden. Nicht genug: sogar 0,5%-ige Kochsalzlösung extrahirt aus den Körperchen soviel Proteinsubstanz, dass durch grössere Wassermengen nicht nur Trübung sondern auch Membranen erzeugt werden (ib. p. 404)! Im allgemeinen glaubt Wooldridge, in den Zellen der Lymphdrüsen seien Substanzen enthalten, welche zur Bildung von Fibrin dienen können (ib. p. 410). Hier verdient auch noch das Verfahren Erwähnung, dessen zuerst Samson-Himmelstjerna (1885, 11 p. 15), später Schwartz (1888, 29 p. 6) zur Abtrennung der farblosen Körperchen aus dem Blute sich bedienten, welches aber, den Worten des ersteren nach, ihrem Lehrer Al. Schmidt gehört. 100 cc. rasch abgekühltes Pferdeplasma wurden in die 80-fache Menge (8 Liter) Eiswasser gebracht und 24 Stunden an einem kalten Orte stehen gelassen. Dann wurde die trübe Flüssigkeit von dem Niederschlage abgossen, dieser mit neuen 8 Litern Eiswasser ausgewaschen, und so bis 3-mal (23 p. 15). Dann wurden circa 15 cc. des Niederschlags behufs besserer Abtrennung der Körperchen in 2 Probirröhrchen centrifugirt. Unter dem Mikroskop ersah man, dass der auf diese Weise gesammelte Niederschlag ausschliesslich (?) aus farblosen Körperchen bestand; ein Teil derselben war garnicht verändert, die andern hatten eine ganz glatte Oberfläche, wie homogene Kügelchen sie haben, und waren vergrössert, doch waren hie und da auch freie Körnchen zu bemerken. So beschreibt den Gewinnungsprocess dieser Körperchen Samson-Himmelstjerna (ib. p. 15—16). Ebenso verfuhr Schwartz; obgleich er nur die 70-fache Menge Eiswasser im Vergleich zum Plasma nahm, spricht er sich schon bestimmter auch darüber aus, dass neben den farblosen Körperchen unter dem Mikroskop stets eine feinkörnige Masse beobachtet wird, welche, wie auch schon Krüger erwähnte hatte, aus Seroglobulin besteht (29 p. 6). Abgesehen davon, dass während des Abstehens des Pferdeblutes die Hauptmasse

¹⁾ „Ferner wäre an eine Verunreinigung der farblosen Zellen durch Stromata der rothen Scheiben zu denken. Vor diesem Fehler kann man sich leicht schützen durch einen Zusatz von

Aether zu den zum Auswaschen benützten Flüssigkeiten; hierdurch quellen die Stromata zu stark, um durch die Centrifugalkraft aus der Flüssigkeit abscheidbar zu werden“ (31 p. 398—9).

der weissen Körperchen auf die Schicht der roten sich niederschlug und ein Teil derselben in der Masse der Blutkörperchen eingeschlossen war, bewirkt, wie wir gesehen, die Verdünnung auch des Serums nicht nur des Plasma, wie wir sehen werden, mit weit kleineren Wassermengen als 70—80 Vol., Ausscheidung von Globulin (p. n. 101 *N.N.* 48—60). Es ist klar, dass auch dieses Verfahren dazu nicht dienen kann von anderen Bestandteilen des Blutes freie farblose Blutkörperchen zu gewinnen.

Um blutfreie Lymphdrüsen zu erhalten, spülte Halliburton (1888, 9 p. 255) das Tier mit 0,75%-iger Kochsalzlösung durch die Blutgefässe bis zur Entfärbung der Gewebe aus, schnitt dann die Bauchdrüsen heraus und spülte sie nach Entfernung der Hüllen behufs Abscheidung der Zellen durch. Letztere wurden mit 0,75%-iger Kochsalzlösung mittels der Centrifuge gewaschen und nach der Abtrennung von den Waschwässern in concentrirteren Kochsalzlösungen aufgelöst. Als bestes Lösungsmittel sieht Halliburton jedoch mit 9 Vol. Wasser verdünnte gesättigte Magnesiumsulfatlösung an. Wenn Halliburton in dieser Lösung auch 4 verschiedene Körper (Nucleoalbumin, Albumin und 2 Globuline) unterscheidet, so giebt er dennoch den Globulinen den Vorrang, obgleich diese nur durch ihre Geringerungstemperatur sich unterscheiden lassen. Einen solchen Unterschied nicht anerkennend (s. Kap. XI), sehen wir in Halliburton's Arbeiten eine Bestätigung der Beobachtungen älterer Autoren über die Gegenwart von Globulin in den farblosen Körperchen.

Lilienfeld (1894, 18 p. 474) stellte sich zur Aufgabe, die Leukocyten in möglichst grosser Reinheit aus den Lymphdrüsen und der Thymusdrüse zu isoliren. Zu diesem Zwecke wurden die aus dem Schlachthause gebrachten Drüsen von den Blutgefässen und dem anhängenden Fett sorgfältig befreit, in kleine Stücke geschnitten und in Colirtücher aus grobmaschigem festem Hanf geschlagen, danach wurde die ganze Masse in einer Presse stark gepresst und der abfliessende Saft centrifugirt. Hierbei muss die Gegenwart von Wasser sorgfältig vermieden werden. Der Saft, welcher sich mikroskopisch als farbloses Serum mit darin suspendirten vollständig erhaltenen Lymphocyten darstellt, wird durch die Centrifuge in eine weisse Bodenschicht und eine darüber stehende Flüssigkeit zerlegt.

Gewinnung aschenfreien Cytoglobins. Sowohl die Anzahl der Arbeiten über diesen Gegenstand als auch deren Wert leiten uns zu dem Schluss, dass die Leukocyten wesentlich aus einem complicirten Stoffe bestehen, den Schmidt „Cytoglobin“ (26 p. 258) nannte, wir aber das Globulin dieses Stoffes „Cytoglobin“ nennen wollen. Diese Schlüsse werden auch durch unsere eigenen Beobachtungen bestätigt.

Lymphdrüsen von Hunden, Kälbern und Schafen wurden in Stücke geschnitten und diese in 0,5%-ige Kochsalzlösung gebracht, wo sie umgeschüttelt und sachte mit den Fingern gedrückt oder mit weichen Haarpinseln geklopft wurden. Nach der Entfernung der Reste des Drüsengerüsts wurde das Präparat mit einer bedeutenden Menge derselben Kochsalzlösung begossen. Flüssiger Eiter—*pus bonum et laudabile*—oder von Verbänden genommener wurde unmittelbar in 0,5%—1%-ige Kochsalzlösung gebracht, wobei die Verbände zur Abtrennung der Körperchen gleichfalls in Salzlösungen abgespült wurden. Als Material zur Gewinnung von Leukocyten bedienen wir uns auch der Ochsenmilzen, wobei aber zuerst die roten Blutkörperchen entfernt werden mussten; da letztere in diesem Organ sich auf dem Wege, den das Blut nimmt, befinden, so rinnt ein Strom mittels einer Glascanüle in die Milzarterie gebrachter 1%-iger Kochsalzlösung durch das Organ und reisst die freien Elemente, die er auf seinem Wege trifft, durch die Vene mit sich fort. Wenn die Waschwässer die Gegenwart roter Blutkörperchen nicht mehr anzeigen, und die Milz ganz weiss geworden ist, wird sie zerschnitten, worauf die farblosen

Elemente ebenfalls mit 1^o/_o-iger Kochsalzlösung abgespült werden. In allen 3 Fällen wurden die Flüssigkeiten mit den darin suspendirten Leukocyten entweder in weite flache Schalen oder in hohe enge Cylinder gebracht. Das Umrühren geschah in den Schalen mit einem Gänsefederbart, in den Cylindern—durch langsames Umstürzen bald auf den Boden, bald auf die obere Oeffnung; darauf überliess man die Gemenge 8—12—24 Stunden sich selbst und ersetzte dann die durch Decantiren entfernten früheren Lösungen durch neue. Wir beschränkten uns auf 3-maliges Auswaschen. Die ausgewaschenen Leukocyten wurden abfiltrirt und die Flüssigkeit entweder durch einfaches Abgiessen oder mittels Fließpapierschachteln entfernt (p. n. 93 № 41—7). Die so erhaltene feuchte Masse wurde in Salzen, Alkalien und Säuren aufgelöst. Zur Auflösung in Salzen verrieb man die Leukocyten mit einer abgewogenen Menge Kryställchen und Pulver folgender Salze: Chlornatrium, Chlorammonium, Natrium-, Ammonium- oder Magnesiumsulfat, auch anderer neutraler Salze, die allmählig zugegeben wurden. Bei sorgfältiger Verreibung erhält man eine weisse, ziemlich homogene Masse, die nunmehr schon mit Wasser verrieben wird, dessen man allmählig, bis zum gewünschten Procentgehalt an Salz in der dabei sich bildenden Lösung zugiebt. Gewöhnlich brachte ich die Concentration bis 10—15 Teile Salz auf 100 Teile Wasser. Sowohl bei der Sättigung mit Salzen als auch bei der Verdünnung mit Wasser scheidet die etwas trübe Lösung einen Niederschlag aus, der die allgemeinen Eigenschaften des Globulins besitzt. Die Lösungen der Leukocyten in Aetznatron 1^o/_{oo} oder Natriumcarbonat 2^o/_{oo}—1^o/_{oo} geben bei der Neutralisation mit verdünnten Säuren Niederschläge, welche den Charakter des Globulins besitzen. Den geringsten Aschengehalt weist das Cytoglobulin auf, entweder bei unmittelbarer Auflösung der auf erwähnte Weise gereinigten Leukocyten oder bei Auflösung des nach einer der früher beschriebenen Methoden erhaltenen Cytoglobins in Chlorwasserstofflösung 2^o/_{oo}—1^o/_o und Dialyse dieser Lösung in gefalteten Filterdialysoren, wobei die ausgeschiedenen geléeartigen Massen oder Flocken alle Eigenschaften des sog. Globulins besaßen.

L I T E R A T U R.

- 1) **Babington**.—Jahrbuch. Schmidt's. 1840, Bd. 27. 2) **Denis**.—Nouvelles études chimiques, physiologiques etc. Paris. Bailliére. 1856. 3) **Dumas & Cahours**.—Ann. de chim. & phys. 1846, Série 5, t. 14. 4) **Dumas & Prévost**.—Ib. 1823, t. 23. 5) **Fano**.—Arch. du Bois. 1881. 6) **Gruby & Delafond**.—Comp. rend. 1843, t. 16. 7) **Güterbock**.—De pure et granulatione. Berolini. 1834. 8) **Id.**—Notizen Froriep's. 1836, Bd. 4. 9) **Halliburton**.—Proceed. London. 1888, vol. 44. 10) **Henle**.—Zeitschr. rat. Med. 1844, Bd. 2. 11) **Samson-Himmelstjerna**.—Ueber leukämisches Blut. etc. Dorpat. Diss. 1885. 12) **Hofmann**.—Lehrbuch d. Zoochemie. Wien. 1883. 13) **Hoppe-Seyler**.—Handbuch d. physiol. u. pathol.—chemisch. Analyse. Berlin. 1865. 2. Aufl. 14) **Id.**—Untersuch. med.—chem. 1867—71. Hft. 1—4. 15) **Kühne**.—Lehrbuch der physiolog. Chemie. Berlin. 1866—68. 16) **Lehmann**.—Lehrbuch d. physiolog. Chemie. 1853, Bd. 3. 17) **Lehmann & Messerschmidt**.—Arch. f. Heilkunde. 1842. Jahrg. 1. 18) **Lilienfeld**.—Zeitschr. f. physiol. Chemie. 1893, Bd. 18. 19) **Mandl**.—Comp. rend. 1837, t. 5. 20) **Miescher**.—Untersuch. med.—chem. 1867—71, Hft. 1—4. 21) **Ploetz**.—Arch. Pflüger's. 1873, Bd. 7. 22) **Rovida**.—Sitzungsb. Wien. 1867. Abth. 2, Bd. 56. 23) **Schmidt**.—Arch. du Bois. 1862. 24) **Id.**—Arch. Pflüger's. 1874, Bd. 9. 25) **Id.**—Ib. 1875, Bd. 11. 26) **Id.**—Centrbl. Physiol. 1890, Bd. 4. 27) **Schmidt-Mühlheim**.—Arch. du Bois. 1880. 28) **Schultze**.—Das Protoplasma etc. Leipzig. 1863. 29) **Schwartz**.—Ueber die Wechselbeziehung zwischen Haemoglobin und Protoplasma. Dorpat. Diss. 1888. 30) **Virchow**.—Gesammelte Abhandlungen etc. Frankfurt a. M. 1856. 31) **Wooldridge**.—Arch. du Bois. 1881.
-