

zellen. c Atrophische Parenchymzellen. d Unverändertes Stroma. System 7, Ocul. 3 Hartnack.

Fig. 15. Aus der Marksicht der Nebenniere. a Parenchymzellen. b Amyloide Gerüstfäden. c Normale Stellen in den Knotenpunkten des Gerüsts. System 4, Ocul. 3 Hartnack.

VIII.

Kleinere Mittheilungen.

1.

Ueber ein Verfahren zur Darstellung der Hämoglobinkrystalle.

Von Prof. Dr. C. Wedl in Wien.

Bekanntlich geht es eine Menge von Methoden, um die Hämoglobinkrystalle darzustellen, welche Methoden mitunter complicirter Art sind und sodann in ihrer Anwendung mehr Schwierigkeiten darbieten. Manche Autoren sprechen sich geradezu dahin aus, dass es nicht so leicht gelinge, die besagten Krystalle aus dem Blute von manchen Thieren und insbesondere von Menschen zu erhalten. Es mag mir darum gestattet sein, ein höchst einfaches Verfahren anzugeben, um die Krystalle in grosser Menge und von grösseren Dimensionen zu erzeugen. Die bezügliche Literatur findet sich in den Handbüchern der physiologischen Chemie, in Gscheidlen's physiologischer Methodik und insbesondere in der Monographie von Rollett (46. Bd. der Wiener akad. Sitzungsberichte), wo auch die werthvollen krystallographischen und optischen Untersuchungen über Hämoglobinkrystalle von V. v. Lang aufgenommen sind.

Ich habe die Einwirkung der Pyrogallussäure auf frische rothe Blutkörperchen von Vertebraten einem eingehenden Studium unterzogen (64. Band der Wiener akadem. Sitzungsber.). Diese Körperchen quellen in der Säure auf, verlieren dabei ihre röthliche Färbung und napfförmige Vertiefung, und es erscheint an allen eine scharf doppelt begrenzte Corticalschicht (Membran). Im Innern des Körperchens bildet sich ein Präcipitat, das nach der Berstung der Membran hervorquillt. Mit Wasser behandelte, rothe verblasste Blutkörperchen und die aus der menschlichen Leiche gewonnenen zeigen diese Erscheinungen nicht mehr, wenn sie ihren Farbstoff durch Diffusion nahezu verloren haben. Die Pyrogallussäure hat aber noch eine andere merkwürdige Eigenschaft, die ich erst jüngst kennen gelernt habe, nemlich die, die Krystallisation des Hämoglobins zu veranlassen. Die Resultate meiner Untersuchungen sind folgende:

Wählt man frisches menschliches Blut, so kann man aus dem flüssigen Tropfen grosse Krystalle erhalten, wenn man mit destillirtem Wasser den rothen Blutkörper-

chen den Farbstoff entzieht, so dass unter dem Mikrospectroskop die zwei Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins erscheinen. Es geht auch an, eine Desoxydation des letzteren mit einem Tropfen Schwefelammonium einzuleiten, was im Verlaufe von wenigen Minuten geschieht; es erscheint der bekannte breite Absorptionsstreifen rechts von der D-Linie. Ich pflege einen, beiläufig 0,2—0,3 Mm. dicken Glasstreifen an die eine Seite des, auf die eine oder andere Art behandelten Blutropfens zu legen, um demselben nach dem Auflegen des Deckgläschens eine keilförmige Gestalt mit von einer zur anderen Seite zunehmender Dicke zu geben. Man erleichtert hierdurch die Untersuchung mit dem Mikrospectroskop und hat nebstbei den Vortheil, wenn man eine concentrirte Lösung von Pyrogallussäure durch Lüftung des Deckgläschens von der Kante des keilförmigen Tropfens her einwirken lässt, grosse Krystalle von Hämoglobin zu erhalten. Dieselben bilden sich aber erst nach Ablauf von ungefähr drei Stunden und geben sich in einer Zone, wo die Pyrogallussäure eine Coagulation bewirkte, bei einem gewissen Volumen schon dem unbewaffneten Auge zu erkennen. Die grösseren Exemplare, vorausgesetzt dass sie eine gewisse Dicke und eine ebene Oberfläche besitzen, zeigen unter dem Mikrospectroskop den breiten Absorptionsstreifen des desoxydirten Blutfarbstoffes. Mit einem Nicol'schen Prisma nach dem Vorgange von V. v. Lang untersucht, werden die Krystalle bei der Umdrehung des Prismas um 360° zweimal hell und dunkel, zwischen zwei Nicols zeigen sie die doppelt brechende Eigenschaft und Pleochromasie.

Ich will gleich hier erwähnen, dass, um sicher zu geben und nicht etwa Nebenproducte des Blutes mit Hämoglobinkrystallen zu verwechseln, es nothwendig ist, auf die Krystallgestalt und die optischen Erscheinungen zwischen zwei Prismen oder mit einem Nicol'schen Prisma die Aufmerksamkeit zu richten.

Die concentrirte Lösung von Pyrogallussäure eignet sich ganz gut, um Hämoglobinkrystalle aus dem Leichenblut von Menschen (ich untersuchte Blut aus 5 Leichen) im Verlaufe von wenigen Stunden zu erzeugen. Sind die rothen Blutkörperchen wenigstens theilweise verblasst, so ist es selbstverständlich, dass man den Zusatz von destillirtem Wasser nicht mehr braucht und die Säure entweder vom Rande des Deckgläschens her einwirken lässt oder dieselbe mit einem Tropfen Leichenblut mengt. In ein Fläschchen mit Leichenblut wirft man eine entsprechende Menge von Krystallen der Pyrogallussäure; sieht man nach etwa 24 Stunden nach, so findet man allenthalben eine Unzahl winziger und grösserer Krystalle von der charakteristischen Gestalt. Dieselben finden sich auch ebenso vor, wenn sich ein schwacher ammoniakalischer Geruch im Blut bemerkbar gemacht hat.

Zweckmässig ist die Anwendung von trichterförmigen, mit einem Schnabel versehenen sogenannten Spitzgläsern, in welche das mit concentrirter Pyrogallussäure erzeugte Blutsediment verdünnt mit destillirtem Wasser gegossen wird. Durch sanftes Schütteln mit der Hand oder besser in einer Eprovette der Centrifugalmaschine färbt sich die Flüssigkeit gleichmässig tief blutroth. In den Spitzgläsern fallen die grösseren Krystalle zu Boden und können leicht mittelst eines Pinsels herausgeschafft werden.

Ich habe auch Versuche mit eingetrocknetem frischem Blut des Menschen angestellt und gefunden, dass, wenn man Tropfen solchen Blutes auf Objectträgern eintrocknen lässt und am folgenden oder nach mehreren Tagen mit destillirtem

Wasser aufweicht, bis der Blutfarbstoff sich gleichmässig gelöst hat, und sodann concentrirte Pyrogallussäure einwirken lässt, Hämoglobin nach wenigen Stunden herauskrystallisirt.

Meine Erfahrungen über Hämoglobinkrystalle aus Blut von Säugethieren beschränken sich auf wenige. Ich wählte Blut von solchen Thieren, wo die Hämoglobinkrystalle schwerer darzustellen sind oder wenigstens nach den Angaben in den Handbüchern allem Anschein nach nicht untersucht wurden; auch Blut im Beginn der Fäulniss wurde untersucht.

Bei den Versuchen mit Blut vom Kaninchen, Hasen, Hirsch, Schwein, Schaf, Schafembryo schien es mir am zweckdienlichsten, frisches thierisches Blut entweder mit oder ohne Zugabe von destillirtem Wasser etwa 24—48 Stunden in einem Fläschchen verschlossen stehen zu lassen und sodann erst krystallisirte Pyrogallussäure zuzugeben. Nach abermaligen 24 Stunden hatten sich meist schon zahlreiche Krystalle gebildet. War die Zersetzung des Blutes so weit gediehen, dass zahlreiche Tripelphosphatkrystalle erschienen, so habe ich doch noch ein Resultat durch Filtriren des mit destillirtem Wasser verdünnten Blutes und Einwirkung von Pyrogallussäure erzielt.

Die Krystalle sind in dem, durch Einwirkung der Säure entstandenen Blutsediment oder in der Flüssigkeit über demselben, soweit meine bisherigen Erfahrungen reichen, ganz gut haltbar, nur nehmen sie bei intacter Krystallgestalt eine etwas dunklere Färbung an.

Der Umstand, dass man häufig Gruppen von rothen Blutkörperchen nach Einwirkung von Pyrogallussäure antrifft, wo der intensiv rothe, durch Wasser nicht mehr extrahirbare Farbstoff festgehalten wurde, bestimmte mich, die rothen Blutkörperchen des Frosches einer näheren Untersuchung zu unterziehen.

Sind die rothen Blutkörperchen überhaupt in einem Faserstoffcoagulum eingeschlossen, so gelingt es wahrscheinlich wegen Behinderung der moleculären Strömungen nicht, durch Wasser ihnen den Farbstoff vollständig zu entziehen. Die Pyrogallussäure hält das Hämoglobin in den Körperchen fest.

Ich nahm coagulirtes frisches Blut vom Frosch und liess destillirtes Wasser 24 Stunden einwirken, gab sodann Pyrogallussäure zu. Der erwünschte Erfolg trat nach 2—3 Tagen nicht ein; erst nachdem ich die entsprechenden Präparate mit vielen, das Hämoglobin in Gestalt eines rothen Klümpchens festhaltenden Blutkörperchen einige Tage in der Feuchtkammer liegen liess, war das Hämoglobin in denselben entschieden krystallisirt, theils in Form von einzelnen Nadeln und Büscheln, theils in Gestalt, von den Innenraum des Körperchens nahezu vollständig erfüllenden, gelbröthlichen Krystallplättchen. Natürlich sind für diese Beobachtungen starke Vergrösserungen nothwendig. Krystalle von Hämoglobin wurden von Kölliker (Mikroskopische Anatomie. II. S. 585) in den rothen Blutkörperchen der *Perca fluviatilis* gesehen und abgebildet. Es empfiehlt sich demnach nach meinem Dafürhalten die Methode durch die Leichtigkeit, Hämoglobinkrystalle in grosser Menge und von verschiedenen Dimensionen für eine gewisse Zeit (wenigstens mehrere Wochen) zu erhalten und sie auch aus frischem und eingetrocknetem Blut binnen wenigen Stunden darstellen zu können.