

Propriétés coagulantes d'hémolysats érythrocytaires

Laboratoire de physiopathologie (Dir.: Prof. J. Vandenbroucke), Faculté de Médecine
Université de Louvain, Belgique

V. Desmet, M. Verstraete*), et J. Vandenbroucke

Shinowara (1) a décrit en 1951 l'influence d'extraits érythrocytaires sur la coagulation sanguine. L'étude des propriétés coagulantes des érythrocytes a ensuite été reprise par différents auteurs au cours des dernières années (2, 3, 4, 5, 6, 7).

Dans cette étude nous nous proposons de préciser les propriétés et le mode d'action de ce ou ces facteur(s) érythrocytaire(s).

Réactifs et techniques

Préparation de l'hémolysat. Afin d'étudier l'activité coagulante des érythrocytes, nous avons employé dans les tests de la coagulation une solution d'érythrocytes hémolysés, appelée dans le texte „hémolysat“.

La technique employée pour la préparation de l'hémolysat est en grandes lignes celle décrite par A. J. Quick (8).

9 ml. de sang veineux sont recueillis sur 1 ml. de citrate de sodium 0,1 M dans un tube silicé.

Le sang est centrifugé à 1.000 tours/min. pendant 5 minutes et le plasma surnageant, riche en plaquettes, est décanté ainsi que la couche superficielle des érythrocytes. On restitue le volume initial de 10 ml en ajoutant une solution de NaCl à 0,85 g⁰/. Cette centrifugation lente est répétée deux fois. Les globules rouges sont ensuite lavés trois fois dans du NaCl à 0,85 g⁰/ et centrifugées à 4.000 tours/min. pendant 15 minutes. Après chaque centrifugation, on prélève non seulement le liquide surnageant, mais également la couche supérieure des érythrocytes, afin d'éliminer le maximum de thrombocytes.

Les globules rouges sont suspendus après la dernière centrifugation dans la quantité nécessaire de NaCl à 0,85 g⁰/ afin d'obtenir une suspension de 5.000.000 globules rouges par mm³.

Cette suspension est congelée pendant douze heures à - 20° C. Une fois décongelée, cette solution d'érythrocytes complètement hémolysés est considérée comme „hémolysat“.

Activité coagulante de l'hémolysat. L'activité coagulante de l'hémolysat peut être démontrée en étudiant son influence sur le temps de récalcification d'un plasma normal, pauvre en plaquettes. Ce plasma est obtenu par centrifugation rapide (4.000 tours/min. pendant 15 min.).

Le temps de récalcification est déterminé sur 0,1 ml de plasma après incubation pendant 3 minutes à 37° C avec 0,01 ml d'hémolysat, et récalcification du mélange avec 0,1 ml de CaCl₂ 0,025 M. Le tableau n° 1 montre l'activité de différentes dilutions d'hémolysat.

Le raccourcissement du temps de récalcification est déterminé, non seulement par l'activité de l'hémolysat, mais également par les propriétés du plasma même sur lequel l'action de l'hémolysat est étudié. C'est ainsi qu'une préparation d'hémolysat peut avoir une activité variable si différents plasmas sont testés.

Il est néanmoins intéressant d'estimer approximativement l'activité moyenne d'un hémolysat normal, exprimée en raccourcissement du temps de récalcification. Ce raccourcissement a été calculé en pourcent du temps de contrôle où l'on substitue l'hémolysat par du NaCl à 0,85 g⁰/.

*) Associé du Fonds National de la Recherche Scientifique.

Tableau n° 1 : Temps de récalcification d'un plasma normal citraté, pauvre en plaquettes, en présence de dilutions progressives d'hémolysat. Test de contrôle avec du NaCl à 0,85 g⁰/o.

Dilution de l'hémolysat	1/1	1/10	1/100	1/1000	Contrôle avec du NaCl à 0,85 g ⁰ /o
Temps de Récalcification (en sec.)	70"	82"	142"	150"	164"

La moyenne arithmétique de 52 expériences est un raccourcissement de 57⁰/o des temps de récalcification.

La majorité des hémolysats ont une activité coagulante plus importante, vu que le „mode“ (ou le résultat le plus fréquent) est 64⁰/o. (Figure n° 1).

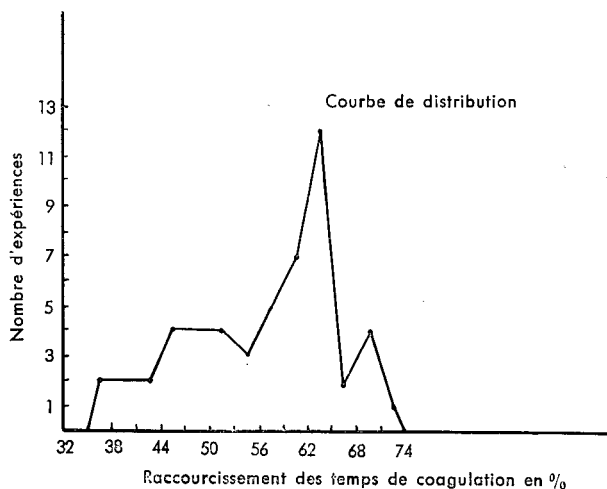


Fig. 1 : Courbe de distribution. Abscisse: nombre d'expériences. Coordonné: raccourcissement du temps de récalcification, calculé en pourcent du temps de contrôle (avec du NaCl à 0,85 g⁰/o), en présence d'hémolysat normal non dilué.

L'activité coagulante de l'hémolysat peut être démontrée dans le test de la tolérance à l'héparine.

Puisque ce test est l'étude de la coagulabilité globale du plasma en présence d'un anti-coagulant, il est logique d'anticiper une tolérance augmentée du plasma en présence d'hémolysat (Tableau N° 2).

Dans le test de la tolérance à l'héparine on incube pendant 3 minutes 0,5 ml de plasma et 0,1 ml d'hémolysat à 37° C. 0,1 ml d'une solution d'héparine contenant 5 Un./ml et 0,5 ml d'une solution de CaCl₂ 0,025 M. sont ensuite ajoutés.

Tableau n° 2 : Test de la tolérance à l'héparine d'un plasma normal citraté en présence de dilutions progressives d'hémolysat. Test de contrôle avec du NaCl à 0,85 g⁰/o.

Dilution d'hémolysat (3 préparations: A. B. C.)	1/1	1/10	1/100	Contrôle avec du NaCl à 0,85 g ⁰ /o
Temps de Coagulation	A. 1' 30"	2' 53"	3' 19"	6' 17"
	B. 1' 40"	2' 58"	3' 42"	6' 47"
	C. 1' 23"	4' 20"	5' 20"	7' 38"

L'emploi de l'hémolysat dans le temps de récalcification, le test de la tolérance à l'héparine, ainsi que dans le test de la formation de la thrombine, nous permet de conclure à une activité coagulante marquée de l'hémolysat.

Etude critique de l'activité de l'hémolysat

L'activité coagulante de l'hémolysat étant démontrée, il reste à prouver que cette propriété ne peut pas être attribuée aux thrombocytes qui contaminent encore la préparation d'hémolysat. Plusieurs arguments réfutent cette objection.

Le fait même que la suspension érythrocytaire est lavée six fois suggère que la contamination plaquettaire ne peut pas être importante.

En plus, nous n'avons compté que 2.000 à 5.000 plaquettes par mm^3 dans la suspension érythrocytaire avant la congélation.

L'activité d'une suspension plaquettaire, contenant approximativement 800.000 plaquettes/ mm^3 , a été comparée à l'activité d'un hémolysat normal dans le temps de récalcification du plasma pauvre en plaquettes (Tableau N° 3).

Tableau n° 3 : Comparaison de l'activité d'un hémolysat normal et d'une suspension plaquettaire (contenant 800.000 thrombocytes/ mm^3) dans le temps de récalcification d'un plasma normal citraté pauvre en plaquettes.

Dilution	1/1	1/10	1/100	Contrôle avec du NaCl à 0,85 g ⁰ /o
Hémolysat	1' 07"	1' 23"	2' 07"	3' 10"
Suspension de plaquettes ($\pm 800.000/\text{mm}^3$)	1' 48"	2' 05"	2' 12"	3' 10"

De ces expériences il résulte que l'activité de l'hémolysat dépasse même celle de la suspension plaquettaire concentrée. La présence de 2.000 à 5.000 plaquettes par mm^3 ne peut donc pas expliquer l'activité importante de l'hémolysat.

Ces expériences peuvent être confirmées en préparant un hémolysat provenant de malades thrombocytopeniques. Dans ces préparations, le nombre des thrombocytes, comptés dans la suspension érythrocytaire avant la congélation, était toujours inférieur à 1.000/ mm^3 .

L'activité coagulante de ces hémolysats thrombocytopeniques n'est pas différente des hémolysats normaux (Figure N° 2).

L'hypothèse que l'activité coagulante de l'hémolysat serait causée par des facteurs de thrombocytes lysés, et adsorbés à la surface des érythrocytes, fut ensuite considérée.

C'est pourquoi l'activité d'une suspension d'érythrocytes lavés avant et après congélation a été étudiée (Tableau N° 4).

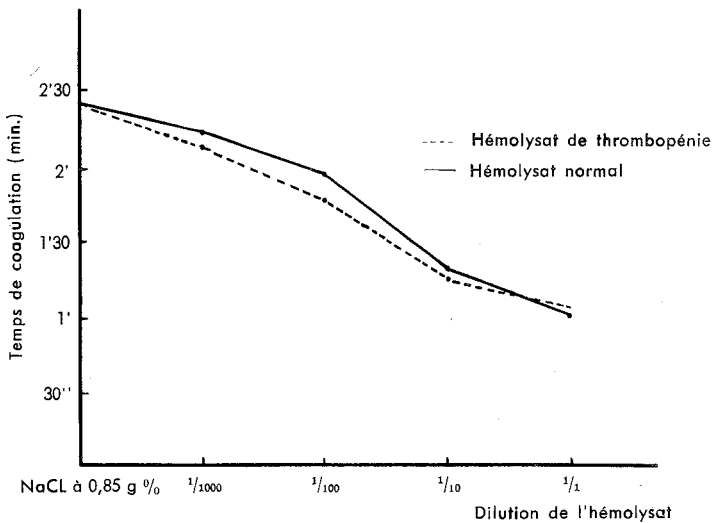


Fig. 2 : Comparaison de l'activité d'hémolysats préparés à partir de sang normal ou thrombocytopénique et testés sur des temps de récalcification. Les résultats donnés sont les moyennes de six expériences.

Tableau n° 4 : Comparaison de l'influence d'une suspension érythrocytaire avant et après congélation sur le temps de récalcification d'un plasma normal citraté. Test de contrôle avec du NaCl à 0,85 g/o.

Dilution	1/1	1/10	1/100	Contrôle avec du NaCl à 0,85 g/o
Hémolysat	1' 06"	1' 29"	1' 55"	2' 18"
Suspension érythrocytaire	2' 09"	2' 10"	2' 14"	2' 18"

On peut conclure de ces expériences que l'activité de l'hémolysat n'est pas retrouvée dans la suspension d'érythrocytes lavés avant la congélation.

De l'ensemble de ces expériences on peut conclure que l'action coagulante d'hémolysats érythrocytaires n'est pas causée par contamination plaquettaire, mais réellement par une substance coagulante présente dans les globules rouges et libérée par hémolyse.

Propriétés physico-chimiques de l'hémolysat. L'activité de l'hémolysat diminue rapidement par chauffage à 60° C pendant 15 minutes. Il subsiste néanmoins une légère activité coagulante après chauffage pendant 30 min. à une température de 100° C.

Faisant usage d'une préparation d'hémoglobine purifiée, nous avons pu démontrer que l'activité des hémolysats érythrocytaires n'est pas liée à l'hémoglobine elle-même.

En effet, l'hémoglobine reste sans influence sur le temps de récalcification, sur le test de la tolérance à l'héparine et sur la consommation de la prothrombine du plasma thrombocytopénique. Différentes techniques de purification ou d'isolement, telles que l'ultracentrifugation, le fractionnement par le $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$, l'adsorption au Ba SO_4 , la dialyse ou électrophorèse n'ont pas permis de préciser les caractéristiques physico-chimiques du facteur coagulant responsable de l'activité des hémolysats érythrocytaires.

Mode d'action de l'hémolysat dans la Coagulation sanguine

L'hémolysat cause une légère accélération de la transformation du fibrinogène en fibrine. Il s'agirait d'un accélérateur de la thrombine, vu qu'aucune propriété de la thrombine elle-même ne peut être démontrée dans les hémolysats.

L'hémolysat est débarrassé de prothrombine et de facteur VII, mais est par contre légèrement contaminé par le facteur V. Les thrombocytes possèdent également une activité identique au facteur V du plasma (fraction 1 des thrombocytes). L'origine plasmatique de ce facteur semble actuellement prouvée (9); il s'agirait d'une adsorption de plasma à la surface des thrombocytes.

Il est probable que les traces de facteur V, retrouvées dans l'hémolysat, proviennent également du plasma adsorbé à la surface des érythrocytes.

L'activité des hémolysats érythrocytaires se manifeste surtout dans la première phase de la coagulation sanguine: la formation de la thromboplastine.

La thromboplastine plasmatique est le résultat de l'interaction de certains facteurs cellulaires et plasmatiques: la fraction thromboplastinique des plaquettes, le facteur antihémophilique, le facteur IX, et d'autres facteurs plasmatiques plus récemment décrits („Stuart factor“, P.T.A. . .).

Nous avons pu démontrer qu'il existe une interaction entre le facteur cellulaire (érythrocytaire) de l'hémolysat, et certains facteurs plasmatiques.

Tel qu'il a été mentionné plus haut, le temps de récalcification d'un plasma pauvre en plaquettes raccourcit en présence d'hémolysat après incubation de ces réactifs à 37°C pendant 3 minutes.

En prolongeant progressivement le temps de préincubation du plasma et de l'hémolysat, on constate que le temps de récalcification du mélange devient de plus en plus court jusqu'à une certaine limite, qui est atteinte après 2 à 3 minutes (Figure 3).

Cette observation suggère qu'il existe une interaction progressive entre un facteur érythrocytaire et certains facteurs plasmatiques qui mène à la formation d'un „principe coagulant“ endéans un temps limite.

Tel qu'il a été démontré par d'autres expériences, ce „principe coagulant“ est la thromboplastine plasmatique.

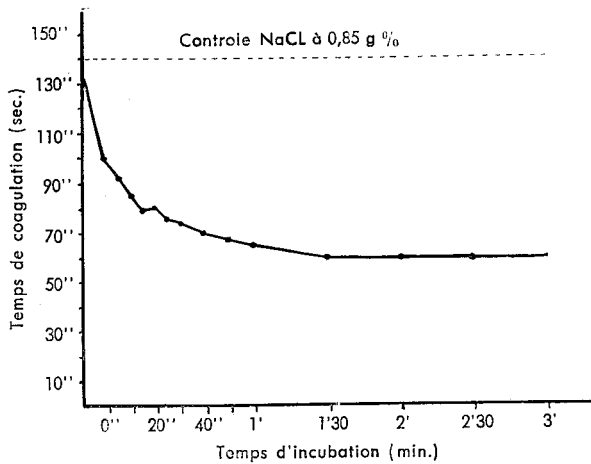


Fig. 3 : Raccourcissement du temps de récalcification d'un plasma pauvre en plaquettes en présence d'hémolysat, après incubation progressive du mélange à 37° C.

On a pu démontrer que l'hémolysat améliore la consommation de la prothrombine des plasmas de malades atteints de thrombocytopenie ou d'hémophilie du type A ou B.

Si l'hémolysat pouvait corriger ce retard dans la consommation de la prothrombine, on serait tenté de conclure que le facteur érythrocytaire interviendrait dans la formation de la thromboplastine endogène.

Afin de préciser le rôle du facteur érythrocytaire dans la thromboplastinogénèse, nous avons substitué les différents réactifs du test de la formation de la thromboplastine de Biggs et Macfarlane par l'hémolysat (10).

On obtient aucune activité thromboplastique en substituant respectivement le facteur V, le facteur antihémophilique ou le sérum par une préparation d'hémolysat. L'hémolysat érythrocytaire n'est donc pas contaminé substantiellement par ces facteurs.

Ce n'est qu'en substituant la suspension de thrombocytes par l'hémolysat qu'on obtient une réelle formation de thromboplastine, bien que retardée (100% de l'activité normale après 12 minutes; normalement cette activité est obtenue après 6—7 minutes) (Tableau N° 5).

Tableau n° 5 : Formation de la thromboplastine dans le test de Biggs et Macfarlane
Substitution des thrombocytes par l'hémolysat.

Thrombo- cytes	Réactifs			Formation de la thromboplastine en % après incubation des réactifs à 37° C pendant											
	Plasma BaSO ₄	Sérum		1'	2'	3'	4'	5'	6'	7'	8'	9'	10'	11'	12'
nl	nl	nl		4,8	52	95	100	120	122	95	90	85	84	82	70
Hémolysat	nl	nl		3	6,5	8,5	10,7	14,5	18,8	45	60	73	90	105	108

En concordance avec les données de Leopold (11), on a pu observer un gain d'activité thromboplastique de l'hémolysat par dilution progressive.

Les meilleurs résultats furent obtenus avec des préparations diluées 1/10 à 1/20 avec du NaCl à 0,85 g⁰/o (Tableau N^o 6).

Tableau n^o 6 : Formation de la thromboplastine dans le test de Biggs et Macfarlane ; Substitution des thrombocytes par l'hémolysat (dilutions progressives).

Thrombo- cytes	Réactifs Plasma BaSO et sérum	Formation de thromboplastine en % après incubation des réactifs à 37° C pendant											
		1'	2'	3'	4'	5'	6'	7'	8'	9'	10'	11'	12'
nl	nl	2	2	14	37	70	100	105	105	108	90	90	102
Hémolysat	nl	2	2	2	3	3,2	3,5	6,2	15	40	74	90	72
Hémolysat dilué 1/10	nl	2	4	4,5	97	100	86	94	76	68	64	64	68
Hémolysat dilué 1/20	nl	2	4,6	32	72	85	100	68	73	76	67	65	56
Hémolysat dilué 1/50	nl	2	3	8	32	54	55	49	52	49	46	32	32

La conclusion de cette étude est que l'action coagulante des hémolysats érythrocytaires est localisée surtout dans la première phase de la coagulation sanguine: la thromboplastinogénèse.

Le facteur des globules rouges semble avoir une action équivalente à celle des thrombocytes, en ce sens qu'il réagit comme facteur cellulaire avec différents facteurs plasmatiques avant de former la thromboplastine endogène plasmatique.

Le fait que la dilution de l'hémolysat augmente l'activité thromboplastique permet deux hypothèses (11). La présence d'un anticoagulant dans l'hémolysat, qui serait plus sensible à la dilution que le facteur thromboplastique; moins probable serait l'hypothèse d'une concentration optimale du facteur thromboplastique, ayant comme conséquence qu'un taux plus élevé aussi bien qu'abaissé causerait une thromboplastinogénèse déficiente.

Différentes préparations d'hémolysat érythrocytaire ont été étudiées.

Tel que mentionné par Künzler (12), nous avons constaté que les hémolysats, préparés du sang du cordon ombilical, ont une activité coagulante plus prononcée que ceux préparés d'érythrocytes d'adultes.

Ces deux hémolysats ont été testés dans le temps de récalcification d'un plasma normal, pauvre en plaquettes (Tableau N^o 7).

On arrive à la même conclusion testant les deux hémolysats dans le test de la tolérance du plasma à l'héparine. Ici encore, l'hémolysat préparé du sang du cordon ombilical montre une activité coagulante plus importante.

Tableau n° 7 : Comparaison de l'influence de préparations d'hémolysat du sang normal et du cordon ombilical, testées sur le temps de récalcification d'un plasma normal, pauvre en plaquettes. Le raccourcissement est calculé en pourcent du temps de contrôle où l'on substitue l'hémolysat par du NaCl à 0,85 g/o.

Nombre d'expériences	Raccourcissement du temps de récalcification d'un plasma			
	normal, en présence d'hémolysat d'adultes		d'hémolysat du cordon ombilical	
	non dilué	dilué 1/100	non dilué	dilué 1/100
1	51,8 ^o /o	31 ^o /o	55,6 ^o /o	38 ^o /o
2	50 ^o /o	9 ^o /o	61 ^o /o	32,5 ^o /o
3	56 ^o /o	21 ^o /o	60 ^o /o	35 ^o /o
4	64,5 ^o /o	40 ^o /o	67 ^o /o	45 ^o /o
5	60 ^o /o	35 ^o /o	68 ^o /o	46 ^o /o
6	51 ^o /o	25 ^o /o	55 ^o /o	50 ^o /o
7	65 ^o /o	17 ^o /o	65 ^o /o	38 ^o /o

Il en est tout autrement quand on emploie l'hémolysat du cordon ombilical dans le test de la formation de la thromboplastine. Fait contradictoire: l'activité thromboplastique se montre ici beaucoup moins importante que celle d'hémolysats d'adultes. Ces observations restent toujours inexplicables.

En comparant l'activité coagulante d'hémolysats d'érythrocytes provenant de différents animaux, on a pu constater qu'une activité maximale est obtenue quand l'hémolysat est testé sur le plasma de la même espèce (Tableau N° 8).

Tableau n° 8 : Comparaison de l'activité d'hémolysats préparés à partir de différents animaux et testés sur le temps de récalcification du plasma de ces mêmes animaux. Raccourcissement calculé en pourcent du temps de contrôle où l'on substitue l'hémolysat par du NaCl à 0,85 g/o.

Origine du plasma	Raccourcissement du temps de récalcification			
	Origine de l'hémolysat			
	homme	singe	chien	lapin
homme	68 ^o /o	59 ^o /o	57 ^o /o	30 ^o /o
singe	48 ^o /o	57 ^o /o	45 ^o /o	30 ^o /o
chien	55 ^o /o	48 ^o /o	57,5 ^o /o	29,5 ^o /o
lapin	53 ^o /o	38 ^o /o	46 ^o /o	44 ^o /o

Dans le test de la formation de la thromboplastine, on obtient des résultats similaires.

Il semble donc qu'il existe une spécificité dans les hémolysats tout comme pour les facteurs plasmatiques des différentes espèces, en ce sens que l'interaction des facteurs cellulaires et plasmatiques atteint un effet maximal quand ils proviennent tous de la même espèce.

L'étude de l'activité thromboplastique des hémolysats préparés d'érythrocytes d'hémophiles du type A ou B montre que cette activité est égale à celle

d'hémolysats normaux. Ce fait peut expliquer, comme le suggère Q u i c k (13), la différence qui existe dans la consommation de la prothrombine pendant la coagulation du plasma riche en plaquettes et le sang total d'un hémophile du type A.

La consommation de la prothrombine est plus grande pendant la coagulation du sang total en présence d'érythrocytes.

Selon Q u i c k , on peut admettre qu'une petite fraction du facteur érythrocytaire est libérée par les différentes manipulations (13).

L'hémolysat de malades atteints d'anémie hémolytique a une activité normale. On serait dès lors tenté d'admettre que certaines complications thrombo-emboliques des états hémolytiques aigus peuvent être causées par le facteur thromboplastique des globules rouges, libéré par hémolyse intravasculaire.

L'hémolysat ne contenant aucun facteur coagulant influencé par les dérivés coumariniques (comme la prothrombine, le facteur VII, le facteur IX, le Stuart factor), il n'est guère étonnant que l'hémolysat préparé à partir du sang de malades traités aux dérivés coumariniques est normal.

Discussion

L'étude des propriétés coagulantes d'hémolysats érythrocytaires démontre qu'on ne peut plus considérer les thrombocytes comme les seuls éléments figurés du sang ayant une activité thromboplastique.

La thromboplastine plasmatique est formée par l'interaction de facteurs coagulants plasmatiques et cellulaires, qu'on retrouve également dans les érythrocytes.

Ce nouveau principe coagulant pourrait être important particulièrement dans les états d'hémolyse intravasculaire. Il n'est pas rare de trouver dans la littérature des complications thrombo-emboliques pendant une crise hémolytique aigue.

Le rôle exacte joué par ce facteur érythrocytaire dans la pathogénèse de ces thromboses n'a néanmoins pas encore été distinctement établi.

Tel que l'a suggéré Q u i c k (13), ces données pourraient élucider certains problèmes de la pathologie des états hémolytiques aigus, tout comme les crises d'anémies hémolytiques et les chocs transfusionnels par incompatibilité sanguine.

Ceci est d'autant plus important parce que le même auteur a pu démontrer que le facteur thromboplastique des érythrocytes peut réagir avec les facteurs plasmatiques (comme le facteur antihémophile) sans que ces derniers soient activés par une trace de thrombine (ceci en opposition avec le facteur thromboplastique des thrombocytes). Le facteur érythrocytaire pourrait donc réagir dès sa libération par hémolyse intravasculaire.

Conclusions

1. L'hémolysat érythrocytaire possède une activité coagulante, démontrée dans les tests globaux de la coagulation.
2. Cette activité ne peut pas être expliquée par une contamination plaquettaire des préparations d'hémolysat.
3. L'hémolysat ne contient pas de thrombine, de prothrombine, facteur VII, facteur anti-hémophilique, ni de facteur IX. Il est par contre légèrement contaminé par le facteur V, probablement d'origine plasmatique.
4. L'activité de l'hémolysat est située surtout dans la première phase de la coagulation sanguine, c. à d. la formation de la thromboplastine. Son rôle est à peu près identique à celui du facteur thromboplastique des thrombocytes.
5. L'hémolysat préparé à partir du sang du cordon ombilical montre une activité très prononcée, qui n'est pas retrouvée dans le test de la formation de la thromboplastine.
6. Les hémolysats préparés du sang de différents animaux sont les plus actifs sur les plasmas de la même espèce.
7. Les hémolysats préparés du sang d'hémophiles du type A ou B, de malades atteints d'anémies hémolytiques, et de malades traités aux dérivés coumariniques ont une activité coagulante normale.

Summary

1. When erythrocytes are hemolyzed, they liberate an agent(s) which promotes blood clotting as measured in overall coagulation tests.
2. The clot promoting activity cannot be explained by contamination of platelets in the hemolysate.
3. No thrombin, antihemophilic globulin neither factor IX activity could be demonstrated in the hemolysate. Some contamination with factor V of plas-matic origin is noted.
4. The activity of the erythrocyte factor(s) interferes chiefly in the first phase of bloodcoagulation, the generation of plasma thromboplastin. This activity is very similar to the action of platelet factor 3.
5. The hemolysate prepared from newborn red cells has a high activity which, however, could not be demonstrated in the thromboplastin generation test.
6. The hemolysate liberated upon hemolysis of erythrocytes of various ani-mals has the highest activity upon the blood of the same species.
7. Hemolysates prepared from erythrocytes of hemophiliacs (type A or B) or patients with hemolytic anemia or persons treated with coumarin derivatives, have the same activity.

Zusammenfassung

1. Erythrozytenhämolysat besitzt eine gerinnungsfördernde Wirkung, die in Global-Gerinnungstesten gemessen werden kann.

2. Diese Aktivität kann nicht durch eine Verunreinigung des Hämolysats mit Plättchenmaterial erklärt werden.

3. Das Hämolysat enthält weder Thrombin noch Prothrombin oder die Faktoren VII, VIII und IX. Es ist etwas mit Faktor V verunreinigt, der wahrscheinlich aus dem Plasma stammt.

4. Das Hämolysat greift in die erste Phase der Blutgerinnung, das ist in die Bildung der Thrombokinese, ein. Seine Aktivität ist weitgehend identisch mit der des Plättchen Faktor 3.

5. Das Hämolysat, das aus Nabelschnurblut bereitet werden kann, besitzt eine viel stärkere Aktivität, welche allerdings nicht im Thromboplastin-Generation-Test nachgewiesen werden kann.

6. Hämolysate, die aus dem Blut verschiedener Tiere hergestellt wurden, sind am aktivsten mit dem artgleichen Plasma.

7. Hämolysate, die aus dem Blut von Patienten mit Hämophilie A oder B, mit hämolytischer Anämie oder nach Behandlung mit Cumarin-Derivaten hergestellt wurden, zeigen normale Aktivität.

Literature

- (1) Shinowara, G. Y.: Enzyme studies on human blood. The isolation and characterization of the thromboplastic cell and plasma components. *J. Lab. clin. Med.* 38, II. (1951).
- (2) de Vries, S. T., Kettenborg, H. K., Vanderpol, E. T.: Verband tussen een factor uit de rode bloedcellen en de vorming van thromboplastine. *Ned. T. Geneesk.* 99, IV, 2967 (1955).
- (3) Gollub, S.: Thromboplastic potency of whole blood components. *Fed. Proc.* 12, 54 (1953).
- (4) Izarn, P., Hussey, C. V., Quick, A. J.: Le temps de la consommation de la prothrombine en présence d'hémolysat. Son application au diagnostic et au traitement de l'hémophilie. *Sang* 7, 633 (1955).
- (5) Ottaviani, P., Dettori, A. G., Manai, G.: Attivita thromboplastica nelle emazie. *Arch. Sci. med.* 98, I (1954).
- (6) Quick, A. J.: Erythrocytin, a new clotting factor from erythrocytes. Its value in the stud of hemophilia. *J. Lab. clin. Med.* XII (1955).
- (7) Quick, A. J., Hussey, C. V.: Hemophilia; quantitative studies of the coagulation defect. A modified prothrombin consumption test using erythrocytin. *Arch. intern. Med.* 97, 524 (1956).
- (8) Georgatsos, J. G., Hussey, C. V. and Quick, A. J.: Nature and action of a new clotting factor obtained from erythrocytes. *Amer. J. Physiol.* 181, 30 (1955).
- (9) Owren, P. A.: The biochemistry of thromboplastin, its formation and action. 5th. Int. Congr. Haem. Paris 172, 1954.

- (10) Biggs, R., Douglas, A. S., Macfarlane, R. G.: The formation of thromboplastin in human blood. *J. Physiol. (Lond.)* 119, 89 (1953).
- (11) Leopold, R.: Zur thromboplastischen Wirkung der Erythrozyten. *Schweiz. med. Wschr.* 911 (1955).
- (12) Kunzer, W.: Zur Gerinnungsaktivität des Nabelschnurerythrozytenhämolysates. 5. Kongr. Europ. Gesellsch. Hämat. Springer Verlag (Berlin, Göttingen, Heidelberg) 169, 1956.
- (13) Quick, A. J., Georgatsos, J. G. and Hussey, C. V.: The clotting activity of human erythrocytes; theoretical and clinical implications. *Amer. J. med. Sci.* 298, 207 (1954).