

04

707 e.

Die
Herstellung wägbarer Mengen von Blutplättchen
bei den Säugethieren und die
wirklichen Blutplättchen des Frosches.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines

Doctors der Medicin

verfasst und mit Bewilligung

Einer Hochverordneten Medicinischen Facultät
der Kaiserlichen Universität zu Jurjew
zur öffentlichen Vertheidigung bestimmt

von

Simon Druebin,

Arzt.

Ordentliche Opponenten:

Dr. med. A. Lunz. — Prof. Dr. A. Rauber. — Prof. Dr. D. Barfurth.

Jurjew.

Schnakenburg's Buchdruckerei.

1893.

18.10.87

Печатано съ разрѣшеніа Медицинскаго Факультета Императорскаго
Юрьевскаго Университета.

Референтъ: Профессоръ Докторъ Дидрахъ Дидриховичъ Варфуртъ.
Юрьевъ, 10 Сентября 1893.

№ 742.

Декавъ: С. Васильевъ.

Meinen theuren Eltern
in
Liebe und Dankbarkeit
gewidmet.

118922

Ich komme einer überaus angenehmen Pflicht nach, wenn ich beim Scheiden von der alma mater Herrn Professor Dr. A. Rauber, der das Interesse für wissenschaftliches Streben in mir geweckt und stets die regste Theilnahme meiner medicinischen Ausbildung entgegengebracht hat, das Gefühl tiefster Ehrfurcht und innigster Dankbarkeit an dieser Stelle ausspreche.

Dem Herrn Geheimrath Professor C. Ludwig in Leipzig danke ich für die liebenswürdige Unterstützung bei der Abfassung vorliegender Arbeit.

Dem Herrn Referenten Professor Dr. D. Barfurth bin ich für sein freundliches Entgegenkommen zu herzlichem Dank verpflichtet.

Motto:

„Der Weg der Blutuntersuchung ist nicht mit Rosen bepflanzt; das haben auch die vielen unter meinen Schülern an sich erfahren, welche sich der Bearbeitung der von mir gestellten Fragen unterzogen. Wenn man im Dunkel immer nur Einen Schritt weit vor sich sehen kann, so ist es kein Wunder, dass man im Zickzack geht und nur mit Mühe die allgemeine Richtung einhält.“

Alexander Schmidt „Zur Blutlehre.“

Es gereicht mir zur besonderen Ehre, sagen zu können, die vorliegende Arbeit sei unter Leitung des Altmeisters der Wissenschaft, des Herrn Prof. Dr. C. Ludwig im physiologischen Institute zu Leipzig zu Stande gekommen. Nicht allein die Vorzüglichkeit des Institutes war es, was meine Bewunderung im hohen Maasse erregte, sondern ganz besonders das Interesse, welches der fast 80jährige, noch rüstige Greis all' den Experimenten und Untersuchungen entgegen zu bringen pflegte. Dieser Umstand veranlasst mich auch daher, an orster Stelle dem Herrn Prof. Dr. Ludwig meinen tiefempfundenen Dank auszusprechen. — Ursprünglich sollten zwar die Experimente mit den Blutplättchen auf ihre Betheiligung bei der Gerinnung hin ausgeführt werden, aber eines besonderen Umstandes wegen, den ich hier nicht nennen will, unterblieben dieselben, habe aber, wie mir scheint, trotzdem keinen Grund, mit den Resultaten dieser Experimente, die ich hier niederlege, unzufrieden zu sein. Etwas Abweichendes in der Zusammenstellung dieser

Arbeit erlaubte ich mir insofern, als ich die Hinweise auf die Litteratur zur Blutplättchenfrage auf der letzten Seite angeführt habe und nur, wo es mir von ganz besonderer Wichtigkeit erschien, führte ich, manchmal sogar recht ausführlich, Citate in der Arbeit selbst an. Gleichfalls suchte ich mir den historischen Ueberblick über diese Sache zu sparen. Eine Arbeit besonders findet häufiger Erwähnung, weil die meine gewissermaassen eine Fortsetzung derselben ist. Es ist dies die im physiologischen Institut zu Leipzig von einem früheren Assistenten daselbst, Herrn Dr. Mosen ausgeführte Arbeit mit der Betitelung „Herstellung wägbarer Mengen von Blutplättchen“, und ich glaube daher richtig zu handeln, wenn ich dieselbe auch für meine Arbeit beibehalte. Und das mit um so grösserem Rechte, als die Wägung dieser Gebilde mir nach einem später, zu schilderndem Verfahren in Wirklichkeit gelungen ist, was Herr Mosen nicht ausgeführt hatte und ihm bei seinem Verfahren auch nicht gelungen wäre. Während ich mit den Resultaten der Wägung zufrieden sein zu können glaube, kann ich ein Gleiches von der misslungenen Zählung nicht behaupten. Ferner glaube ich etwas Neues in dieser Arbeit in Bezug auf das dritte Formelement des Frosches bringen zu können, Angaben, die den jetzt vorwaltenden Anschauungen entgegengesetzt sind. Die den letzten Punkt betreffenden Resultate werde ich getrennt von den übrigen besprechen, da ich sonst keinen passenden Ort für Einflechtung derselben finde, es sei denn bei der Beschreibung der Plättchengestalt der Warmblüter, speciell des Hundes und Kaninchens; glaube aber auch dadurch den Zusammenhang zu stören. Als ein grosser Fortschritt muss ferner die Anwendung der Centrifuge für den Zweck der Elementensonderung des Blutes angesehen werden, denn wenn man an die Zeit, in welcher überhaupt die Existenz der Plättchen angezweifelt wurde, zurückdenkt und wenn man nun die grossen Mengen dieser Gebilde, deren habhaft zu werden jetzt gelungen ist, in Er-

wägung zieht, so kann man hoffen, dass dieses vielleicht die Möglichkeit geben wird, diese Gebilde genauer in genetischer und chemischer Beziehung zu erforschen. Das Hauptverforderniss bei diesen Experimenten, das Blut nicht gerinnen zu lassen, wurde durch Anwendung des Ammoniumoxalats erfüllt. Einem Liter physiol. Natriumchloridlösung wurde 20,0 Ammoniumoxalat hinzugesetzt, also eine 2% Ammoniumoxalatlösung hergestellt, eine Menge, welche für die ganze Experimentirzeit hinreichte. Von dieser Flüssigkeit wurde nun je nach der Blutmenge die entsprechende Quantität genommen. Abgesehen von einigen Versuchen, welche den Zweck hatten, die Grenzen festzustellen, unter welche das Ammoniumoxalatpercent nicht heruntergehen darf, wenn keine Gerinnung eintreten soll, wurde gewöhnlich in der Weise verfahren, dass auf 100 Cbcm. Blut 10 Cbcm. der 2% Ammoniumoxalatlösung kamen; es muss aber gleich hinzugefügt werden, dass dies nicht die äusserste Grenze ist, bis zu welcher man gehen kann. In der ersten Zeit wurde mit Kaninchenblut, später fast nur mit Hundeblood experimentirt. Bei beiden Thierspecies wurde das Blut nur aus der Carotis entnommen und zwar bald aus einer, bald aus beiden Carotiden gleichzeitig, mit Ausnahme eines einzigen Males (femoralis). Die zu diesem Zwecke üblichen Glaseanülen werden in gewöhnlicher Art und Weise in die Carotis eingebunden, und nachdem dieses geschehen, wird die Glaseanüle mit einem ca. 20 Cm. langen winklig gebogenen Glasrohr verbunden, welches in das mit Ammoniumoxalat versehene Messglas eingeführt wird, und zwar so, dass das strömende Blut noch eine kleine Strecke dem Messglase entlang zu fliessen hat, wobei das Glas sofort nach der Füllung und Bedeckung mit der Hand einige Mal umgeschüttelt wird; inzwischen wird von einem Anderen ein zweites Glas zum Hineinfließen des Blutes gehalten und dasselbe ebenfalls umgeschüttelt, u. s. w. Dies alles

muss schnell ausgeführt werden, das Blut muss schnell aus der Arterie fliessen, denn anderen Falles gerinnt es oft und dieses ist auch der Grund, warum von den Thieren das Blut nicht in grösstmöglicher Menge dazu verwendet werden konnte; der Rest nämlich wurde immer vernachlässigt. Die Ausbeute selbst bei sehr grossen Hunden pflegte höchstens 800 Cbcm. auszumachen. Gewöhnlich wurden auch noch das winklig gebogene Glasrohr und die Canüle zuerst mit Ammoniumoxalatlösung ausgespült. Aus dem Messcylinder kommt das Blut in einen gewöhnlichen Glascylinder, und dieser wird mit Stanniol bedeckt, zur Centrifuge gebracht. In der ersten Zeit meiner Versuche wurde so lange centrifugirt, bis die von Mosen beschriebenen Schichten sich gebildet hatten. Dazu pflegten gewöhnlich 3—4 Stunden nöthig zu sein, unter Umständen aber auch 5—6 Stunden. Ueber die Beschaffenheit des abcentrifugirten Blutes äussert sich Mosen folgendermaassen: „Wird das Blut der Centrifuge entnommen, so zeigt sich in der Regel sehr schön eine 4fache Schichtung. Ueber der Schicht abgesetzter rother Blutkörper zeigt sich je nach der Blutmenge eine bis 5 mm. dicke, grauröthliche Lage, über dieser, wie eine zarte Decke ausgebreitet, eine weissliche Schicht; auf diese folgt dann, wenn die Plättchen vollständig abcentrifugirt sind, ein klares Plasma. Heben wir vorsichtig mit einer feinen, lang ausgezogenen Saugpipette einen Theil der weissen Schicht ab und untersuchen ihn unter dem Mikroskop, so erhalten wir ein von Leukocyten und Blutkörpern vollständig freies, aber von Gestalten übersätes Gesichtsfeld, welche durch constante und charakteristische Eigenschaften von rothen und weissen Blutkörpern wohl unterschieden und zweifellos mit den Hämatoblasten Hayem's und den Blutplättchen Bizzozero's identisch sind. Die darunter liegende graurothe Schicht enthält ebenfalls eine ausserordentliche Menge jener Elemente, daneben aber vorzugsweise Leukocyten und bereits zahlreiche rothe Blutkörperchen“. Gegen diese von

Herrn Mosens gemachte Angaben möchte ich, nach dem was ich selbst beobachtet, manche Einwendungen erheben. Erstens möchte ich nicht die Beschreibung einer 4fachen Schichtenbildung gelten lassen, sondern nur die einer 3fachen: 1) einer rothen; 2) einer Plasmaschicht und 3) einer zwischen diesen beiden befindlichen weisslichen, aus Plättchen und weissen Blutkörperchen bestehenden Schicht; denn ich kann es nicht recht begreifen, wie Herr Mosens eine so scharfe Sonderung der Schichten sogar nach Millimetern gelungen ist; mit demselben Rechte könnte ich von 5 Schichten sprechen, würde ich die zwischen der hellrothen und weissen Schicht liegende dunkelrothe Schicht, welche aus einem Gemisch von rothen und weissen Blutkörperchen bestehen muss, berücksichtigen. Jeder, der diese Experimente machen wird, kann sich, wenn er das Blut vollständig abcentrifugiren lässt, dann von der {mehr theoretischen, als in der Wirklichkeit möglichen Sonderung überzeugen. Ist das Blut einmal so vollständig abcentrifugirt, dass das Plasma ganz klar und fast plättchenlos geworden ist, dann sind auch die Plättchen derartig mit der weissen Blutkörperschicht zusammengeklebt, dass man nicht einmal von einem grau-röthlichen und weisslichen Farbenunterschiede sprechen darf, viel weniger noch von einem Abheben eines Theiles der weissen Schicht, in welchem nur Blutplättchen wahrzunehmen wären. Ob es dem Herrn Mosens nach vollständigem Abcentrifugiren mit dem Quecksilbersaugapparat und Pipette wirklich gelungen ist, einen Theil der weissen Schicht ohne rothe, geschweige weisse Blutkörper abzuheben, will ich noch dahingestellt sein lassen. Denn nach den Erfahrungen, die ich gehabt, ist die Klebrigkeit der Plättchen und die Verbackung dieser mit den Leukocyten nach vollständiger Schichtenbildung eine so starke, dass es selbst bei Aufwand der grössten Sorgfalt und Geduld kaum gelingt mit einer Pipette und dem Quecksilbersaugapparat einen Flocken aus dieser gemeinsamen weissen Schicht herauszu-

reissen, ohne rothe Blutkörper mitzusaugen, viel weniger eine reine Plättchenmasse ohne Leukocyten. Wirklich reine Plättchen pflögte ich nur zu bekommen, wenn ich mit der Pipette aus einer der weissen Schicht zunächst gelegenen Plasmaschicht Proben entnehmen konnte, denn in dieser Region sind, wenn auch nicht so massenhaft, im Senken begriffene Plättchen, welche mit Intaktlassung der weissen Schicht angesogen werden können. Gerade die hochgradige Klebrigkeit und die daraus resultirende Verbackung unter einander und mit den Leukocyten ist ein Umstand, welcher mich in der ersten Zeit der Arbeit die Unmöglichkeit der Wägung dieser Gebilde ohne Bethöiligung der anderen Elemente einsehen liess, und ich muss zugleich sagen, dass der complicirte Quecksilbersaugapparat gleichfalls nicht dazu geeignet war, wirklich wägbare Massen von Plättchen erlangen zu lassen, auch nicht einmal nach einer Verbesserung dieses Apparates. Ich stellte mir daher einen viel einfacheren und leicht handlichen Apparat dar: Eine apfelgrosse Glaskugel, von welcher 2 sechs Cm. lange, ungefähr kleinfingerdicke Glasröhren abgingen und von denen eine winklig gebogen und mit einem ca. 40 Cm. langen Gummischlauch verbunden war; am anderen Ende dieses Schlauches befindet sich ein Glasmundstück. Die andere Röhre der Glaskugel wurde durch ein Stückchen Gummirohr mit einer ca. 15 Cm. langen Pipette verbunden; das dünne Ende der Pipette war abgebogen, damit keine Wirbel entstehen, wenn die Pipettenspitze in der Höhe der weissen Schicht gehalten wird. Die Aufsaugung der Plasma- und Plättchenmassen geschah mit Hilfe des Mundes unter gleichzeitiger Controle mit dem Auge. Also sowohl der Apparat, als auch ganz besonders die Art und Weise des Centrifugirens und der Schichtenbildung, wie sie Mosen angiebt, hätten mich nicht zu meinem Ziele, d. h. der Wägung der Plättchen geführt, wenn nicht ein besonderer Zufall nach einer grösseren Zahl von Versuchen mich auf ein besonderes Verfahren

hingewiesen hätte. Als ich nämlich gleich nach dem Auffangen des Blutes in Ammoniumoxalat eine geringe Quantität von diesem Gemische entnommen hatte, um auch eine mikroskopische Untersuchung des nicht centrifugirten Blutes vorzunehmen, musste ich zu dem Zwecke natürlich das Blut verdünnen. Ich that daher zu einem Tropfen Blut etwas Natriumchloridlösung hinzu, fertigte mir ein mikroskopisches Präparat an, wobei dann die mikroskopische Untersuchung viele rothe und weisse Blutkörper und Plättchen ergab. Mittlerweile zum Gefäss zurückgekehrt, in welchem das Oxalatblut vorhanden war, bemerkte ich, dass in dem Gefäss das Blut eine Zweischichtung erfahren hatte, nämlich eine rothe und eine Plasmaschicht. Neugierig auf diese Erscheinung, entnahm ich von dieser Plasmaschicht, welche eine weisslich trübe Beschaffenheit hatte, eine Probe zur mikroskopischen Untersuchung und da zeigte es sich, dass das ganze Gesichtsfeld besät war mit Blutplättchen in besonders schöner Form, wie ich sie bis zu diesem Momente nicht gesehen hatte, nur dass auch viele Leukocyten zugegen waren. Bereits nach einer halben Stunde hatte die Plasmaschicht ungefähr die Höhe von $1\frac{1}{2}$ Cm., diese liess sich mit einer Pipette sehr leicht abheben, ohne dabei rothe Blutkörper mitzunehmen; auch jetzt waren Leukocyten bei der mikroskopischen Untersuchung wahrnehmbar. Diese Beobachtung war es nun, welche mich auf den Gedanken brachte, ob es nicht vielleicht möglich wäre, durch ein kurze Zeit dauerndes Centrifugiren eine reichlichere Plättchenausbeute zu erhalten, ohne aber Leukocyten in der Plasmaschicht und Plättchen in der rothen Schicht zurückzulassen. Denn es ergab nach der Schichtenbildung des nicht centrifugirten Oxalatblutes auch die rothe Schicht noch ziemlich viele Blutplättchen, was beim abcentrifugirten Blute nicht stattfindet, denn hier ergiebt die Untersuchung nur vereinzelte Plättchen. In der That war es mir auch nach mehreren Versuchen gelungen, die Zeitdauer aus-

findig zu machen, in welcher alle die erwähnten Postulate erreicht waren. Es war dies nämlich eine 1½ stündige Dauer. Diese ist von besonderer Wichtigkeit, wenn man ein von Leukocyten und rothen Blutkörpern freies Plasma erhalten will, in welchem zugleich fast die Gesamtmenge der Plättchen enthalten sein soll. Ein Zuviel oder Zuwenig des Centrifugirens bringt schon Nachtheile mit sich, die bald erwähnt werden sollen. Ferner habe ich gefunden, dass für das Centrifugiren des Oxalatblutes und gute Schichtenbildung ein 200 Cbcm. fassender Glascylinder am geeignetsten ist.

Obwohl man schon aus den einzelnen Versuchen ersehen kann, wie die Experimente auszuführen sind, so halte ich es dennoch nicht für überflüssig, wenn ich der besseren Uebersicht wegen einen Versuch vom Anfang bis zu Ende mit den daran zu knüpfenden Bemerkungen schildere, welche erläutern, was nothwendig ist, um das Experiment als gelungen anzusprechen. Da die Ausbeute an Blutplättchen am grössten und die Experimente am besten bei grösseren Blutmengen auszufallen pflegten, so stellte ich besonders die letzten Versuche in der Weise an, dass ganz grosse Hunde zum Verbluten verwendet wurden, denn dann hat man grössere Blutquanta, ohne darauf angewiesen zu sein, die letzten Blutmengen, wenn das Blut langsamer zu fliessen beginnt, mit aufzufangen. Auch ein Uebergiessen des Oxalatblutes aus dem Messcylinder in einen Cylinder, welcher auf die Centrifuge gebracht wird, kann besser unterlassen werden, namentlich bei den ersten 400 Cbcm., während bei den anderen 3–400 ein Auffangen im Messcylinder à 50 und 100 Cbcm. und dann erst ein Umgiessen zu empfehlen ist. Da die grössten Cylinder, welche mir zur Verfügung standen, nur 200 Cbcm. fassten, so wurden diese mit je 20 Cbcm. Ammoniumoxalat versehen und das Blut dann direkt aus der Carotis in den Cylinder aufgefangen, letzterer darauf rasch 2–3mal umgeschüttelt, mit Stanniol bedeckt und sogleich auf die

Centrifuge gebracht, welche durch einen Gasmotor in Rotation versetzt wurde. Nach $1\frac{1}{2}$, höchstens $1\frac{3}{4}$ stündigem Centrifugiren wurde die Centrifuge durch ruhiges Auslaufenlassen zum Stehen gebracht. Da die Centrifuge sich im Kellerraum befand, und die Cylinder mit dem abcentrifugirten Oxalatblute nach oben ins Laboratorium geschafft werden mussten, so hatte dieser Umstand die üble Folge, dass beim Tragen die Schichten sich gegeneinander verrückten, was ich aber durch die Plasmaabhebung an Ort und Stelle später vermeiden konnte. Entfernt man solch' einen Cylinder mit abcentrifugirtem Oxalatblute von der Centrifuge so sieht man folgendes: Eine sehr hohe aus rothen Blutkörpern bestehende Säule, dann eine dünne, kaum angedeutete gräuliche Schicht und darüber eine 6–8 Cm. hohe Plasmaschicht. Die Plasmaschicht bietet nicht dieselbe Beschaffenheit, wie beim vollständigem Abcentrifugiren dar, denn sie ist nicht strohgelb, serumartig und scharf von der grauen Schicht getrennt, sondern das Plasma hat ungefähr das Ansehen eines cystitischen Harns, es ist trübe, graugelblich. Wenn der Versuch sehr gut gelingt, so sieht man in der Plasmaschicht einen schönen, grauen Kegel, welcher mit der Basis über der rothen Schicht den ganzen Umfang des Cylinders einnimmt, während die etwas stumpfe Spitze des Kegels bis zum obersten Niveau des Plasmas heranreicht; in der Umgebung der Kegelspitze und etwas darunter hat das Plasma bereits die Serumfarbe. Solch' ein Cylinder wird unter Vermeidung jeglicher Erschütterung in ein Holzgestell hineingesetzt, und nun wird mit der bereits oben angegebenen Glaskugel die Plasmaschicht abgehoben, und in einen daneben stehenden Cylinder von gleichem Cubikinhalte hineingeschüttet. Unerlässliche Bedingung ist, vorsichtiges Ansaugen von nur kleinen Quantitäten, ganz besonders, wenn die Hälfte der Plasmaschicht bereits entfernt ist. Ferner wolle man nicht alles Plasma entfernen, und zwar aus folgenden Gründen: Während hier das

Abheben der Plättchenplasmaschicht wegen Abwesenheit jeder Verklebung und Vertheilung dieser Gebilde auf einen grösseren Raum leicht von statten geht, so kommt dennoch auch hier eine Strecke vor, in welcher das Abheben nicht so leicht geschieht. In einer $\frac{1}{5}$ Cm. hohen Entfernung von der rothen Schicht beginnt die Gefahr, dass selbst bei Anwendung der grössten Vorsicht nicht nur weisse, sondern auch rothe Blutkörper aufgenommen werden, weil hier die Klebrigkeit und das Zusammenbackensein bereits stark ist. Also es muss auch hier mit einem geringen Verlust an Plättchen gearbeitet werden, will man keine anderen Elemente des Blutes mitbekommen. Jedesmal wurde die abgehobene Plasmaschicht, bevor der Versuch fortgesetzt wurde, mikroskopisch untersucht, um zu constatiren, ob nicht auch andere Elemente beigemischt waren, und in der That waren auch keine anderen Elemente dabei vorhanden. Die abgehobene Plasmaplättchenmasse wurde bei den ersten Versuchen mit der 4fachen Menge einer 7% (chemisch reinen) Natriumchloridlösung versetzt, später aber verwandte ich nur eine 3% Lösung und nur die doppelte Menge davon. Der mit einem solchen Gemisch versehene Cylinder wurde sofort auf die Centrifuge gebracht und durchschnittlich 5 Stunden centrifugirt, eine Zeit, die nöthig ist, damit alle Plättchen sich vollständig senken, denn geschieht dieses nur kurze Zeit, so lassen sich in der Natriumchloridplasmaschicht Plättchen nachweisen. Entfernt man solch' einen Cylinder von der Centrifuge, so kann man folgendes sehen: eine am Boden des Glascylinders befindliche weisse, wenn gut gelungen, fast perlmutterglänzende Masse mit glatter Oberfläche, welche Masse der Glaswand fest adhärirt, darüber eine etwas gelblich opalescirende, hohe Natriumchloridplasmaschicht; diese Schicht, welche deutlich Eiweissreaktion zeigt, wird in der Weise abgehoben, dass mit demselben Apparat (Glaskugel) zuerst etwas rascher gesogen wird; der Plättchenmasse genähert, wird das Saugen zur

Vermeidung der Wirbelbewegung vorsichtig ausgeführt, am besten lässt man eine kleine Natriumchloridplasmaschicht über der weissen Plättchenmasse nach. Jetzt wird mit einem Glasstabe die dem Gefässe anklebende Plättchenmasse durch Umrühren abgelöst, was aber bei der grossen Klebrigkeit dieser Gebilde nur in Form von grossen Fetzen geschieht. Nun wird in denselben Cylinder abermals eine ungefähr gleiche Menge chemisch reiner Natriumchloridlösung hinzugegeben, nochmals mit dem Glasstabe umgerührt und abermals auf die Centrifuge gebracht. Die Dauer des Centrifugirens ist eine ungefähr gleiche. Man erhält jetzt dasselbe, nur mit dem Unterschiede, dass die Natriumchloridplasmaschicht nicht mehr gelblich opalescirend, sondern kaum weisslich aussieht, und die Eiweissreaktion kaum angedeutet ist. War dies nicht der Fall, so wurde die Auswaschung mit Natriumchloridlösung wiederholt. Auch das letzte Mal wird die Natriumchloridschicht mit Hinterlassung einer geringen Quantität derselben abgehoben. Auch hier wird mit einem Glasstabe die Plättchenmasse umgerührt. Diese Masse, welche bei der mikroskopischen Untersuchung Plättchenconglomerate aufweist, ist jetzt wägbar, und wird dieses in folgender Weise ausgeführt. Ein kleiner Platintiegel wird durch einen Bunsenbrenner erst ausgeglüht, dann für eine halbe Stunde in einen Exsiccator gestellt, worauf derselbe mittelst einer sehr empfindlichen Waage gewogen und darauf auf ein Wasserbad, über welchem ein Thondreieck sich befindet, gestellt wird. Die im Glascylinder befindliche Plättchenmasse wird einem Glasstabe entlang, der über dem Tiegel gehalten wird, in letztern hineingegossen; der zurückbleibende, an der Glaswand klebende Rest wird durch Hineingiessen einer geringen Quantität destillirten Wassers und Umrühren mit einem Stabe gelockert und wieder dem Stabe entlang in den Tiegel hineingethan. Der Tiegel mit Inhalt bleibt so lange über dem Wasserbade, bis alles Flüssige verdampft und nur der Trockenrest zurückbleibt. Dies dauert ca. 10—12

Stunden. Darauf wird der Tiegel mit dem Trockenrückstand in einen Trockenschrank gestellt, dessen Temperatur auf 103° C. gebracht wird und daselbst ca. 3 St. stehen gelassen, nur muss man zusehen, dass die Temperatur nicht zu hoch steige. Ist dieses geschehen, so wird der Tiegel in den Exsiccator gebracht und nach ½ Stunde gewogen unter Beobachtung aller Vorsichtsmaassregeln. Der Tiegel kommt jetzt zum 2 Male in den Trockenofen, dann wieder in den Exsiccator und wieder zum Wägen, wobei das Gewicht der zweiten Wägung bei der Bestimmung in Betracht kommt. Nach vollzogener Wägung wird der Plättcheninhalt durch einen Bunsenbrenner zum Veraschen gebracht; dies muss recht gut ausgeführt werden, damit nichts von Organischem zurückbleibt. Der Tiegel kommt dann wieder in den Exsiccator, und dann wird wieder das Gewicht desselben sammt anorganischem Inhalte bestimmt. Auch hier wird das Glühen und Wägen der Genauigkeit halber nochmals wiederholt. Alle diese Bestimmungen erfordern sowohl Zeit als auch Geduld. Die bei dem Wägen gewonnenen Resultate sind aus den Versuchen XXV, XXVI, XXVII, zu ersehen.

Nachdem ich alle die Manipulationen, die zur Herstellung von wägbaren Blutplättchenmengen und schliesslicher Wägung dieser Gebilde geführt hatten, geschildert, werde ich nun die morphologische Seite dieser Gebilde einer näheren Betrachtung unterziehen. Nur die Form und Eigenschaft, wie sie die Plättchen nach Behandlung mit der gerinnungsverhindernden Ammoniumoxalatlösung besitzen, bin ich zu schildern berechtigt, um diese dann mit Beschreibungen der Plättchen wie sie nach Beobachtungen im circulirenden Blute gemacht, zu vergleichen; denn ein gering wirkender Einfluss dieser Substanz auf so zarte Gebilde kann ja nicht ganz ausgeschlossen werden.

Während bei den ersten Versuchen, welche mit einem mehrstündigen Abcentrifugiren und einer Sonderung in Schichten im Sinne Mosens einhergingen, meist nur die Formbeschaffen-

heit dieser Gebilde sowohl im gefärbten, als auch im ungefärbten Zustande berücksichtigt wurde, war bei den letzten Versuchen das Wichtigste, grössere und tadellose Blutplättchenmassen zu gewinnen; trotzdem wurde auch die Formbeschaffenheit jedesmal genau studirt und gerade bei den letzten Versuchen erlangte ich manches Aufklärende nach dieser Seite hin. Ferner kann ich, was die Bethheiligung der Plättchen an der Gerinnung betrifft, aus den Ergebnissen meiner Versuche nur das bemerken, dass die gerinnbare Lymphe keine Plättchen besitzt und dass die Gerinnung in einem reinen Plättchenpräparat ausbleibt, wenn zu demselben ein Kalksalz hinzugesetzt wird. Sehr wichtig für die mikroskopische Untersuchung gerade der Plättchen ist ein gutes Zeiss'sches Mikroskop, das mir auch zur Verfügung stand. Mit wenigen Ausnahmen gebrauchte ich gewöhnlich Correctionslinsen, Apochromaten, während Immersion nur zur Controlle in gewissen Fällen verwendet wurde.

Sehr wichtig ferner ist auch der Gebrauch der neueren Zeiss'schen Irisblende, welche bei Beobachtung der feineren Strukturverhältnisse, besonders der Zerfallsprodukte der Plättchen sehr gute Dienste leistet.

Die Plättchen des Kaninchenblutes differiren im Grossen und Ganzen wenig von denen des Hundebutes, nur dass sie etwas kleiner und die Strukturverhältnisse vielleicht in etwas weniger prägnanter Weise ausgesprochen sind. Die ersten Untersuchungen geschahen am Kaninchenblute in der Weise, dass mit einer Pipette bis zu der weissen Schicht eingegangen und ein Stückchen von dieser Schicht durch Saugwirkung herausgerissen wurde, was aber in den meisten Fällen durch Mitbetheiligung der rothen Schicht vereitelt wurde. Geling das erstere aber, so wurde solch' ein Flöckchen auf einen Objectträger gebracht, mit einem Deckglase bedeckt, und man erhielt bei der mikroskopischen Untersuchung Bilder dieser Art: Fein granulirte Massen, eingebettet in einer hellen, homogenen Substanz. Die Granula heben sich durch eine etwas

dunklere Farbe von der letztgenannten Substanz ab. Dass diese Massen aus Plättchenconglomeraten bestehen, kann nur nach Beobachtung des peripheren Theiles erschlossen werden, denn hier sind die Begrenzungen der Plättchen deutlich, sie haben hier eine runde oder ovale Form und zeigen deutlich Granulirung, welche ein sehr feiner Saum homogener Substanz umgiebt. Neben diesen grösseren, zusammenhängenden Plättchenmassen sind auch Gruppen von 3 bis 5 Plättchen, sowie auch alleinstehende Gebilde vorhanden, an welchen Form- und Strukturverhältnisse am besten studirt werden können. Neben diesen Gebilden, welche den Namen Plättchen mit Recht verdienen, kommen auch Gebilde von sternförmiger Gestalt vor. Es sind das Plättchen, welche eckig verzogen sind und bei denen der Glanz ein viel stärkerer ist. Auch ist bei ihnen Granulirung fast garnicht zu erblicken, denn sie haben mehr die Farbe der Plättchengrundsubstanz, in welcher die Granula eingebettet sind; sie sind mit einem Worte homogen. Die Grösse dieser Gebilde ist eine variable, manche sind sehr klein, manche ziemlich gross, immer aber sind sie kleiner als die rothen und weissen Blutkörper. Jedoch beobachtete ich im Kaninchenblute Plättchen, welche homogen und dennoch nicht eckig waren. Die Plättchen sind, wenn nicht destruirte, scharf contourirte Gebilde, haben eine geradezu wunderbare Klebrigkeit und damit auch die Eigenschaft, zu Gruppen zu verschmelzen. Diese Eigenschaft eben machte auch alle Versuche, diese Gebilde zu zählen, illusorisch. Je mehr man die Entnahme fern von der weissen Schicht macht, so dass keine Flocken gewonnen werden, um so eher hat man die Möglichkeit, einzelnstehende Gebilde zu erhalten und die Plättchene complexe sind dann kleiner. Am besten erreicht man dieses, wenn die Probe aus der Plasmaschicht selbst entnommen wird, denn diese enthält, wenn das Centrifugiren nicht sehr lange gedauert, noch immer geringe Mengen von Plättchen, wovon man sich auch überzeugen kann, wenn man nach Entfernung des Cylinders von der Centri-

fuge den Cylinder mit Inhalt auf Eis stellt. Hier kann man nach einigen Stunden sehen, dass das Plasma ein weiss gesprenkeltes Aussehen erhält; es sind das Flocken von Plättchen, die durch die mikroskopische Untersuchung constatirt werden können. Fast jedesmal wurden nach Beobachtung von ungefärbten Präparaten auch gefärbte hergestellt. Wie aus den Versuchen zu erschen ist, wandte ich verschiedene Färbemittel an, jedoch blieb während der ganzen Untersuchungszeit das Methylviolett das am häufigsten gebrauchte, denn bei keinem anderen Mittel erhielt ich so schöne und deutliche Bilder. Bringt man einen Tropfen Plasma oder einen Flocken von der weissen Schicht auf einen Objektträger, und setzt man mit einer Pipette einen Tropfen Methylviolett hinzu, so sieht man, nachdem dieses Präparat mit einem Deckgläschen versehen wird, unter dem Mikroskop die Plättchen im gefärbten Zustande. Es empfiehlt sich aber, wenn man besonders schön gefärbte Bilder haben will, noch folgendes: Ist das Deckglas nach Hinzufügung von einem Tropfen Methylviolett zu den Plättchen auf den Objektträger gelegt, so lasse man mit der Pipette einige Tropfen der Methylviolettflüssigkeit auf den Objektträger in der Nähe des Deckgläschens fallen und halte an der entgegengesetzten Seite desselben ein Stückchen Fliesspapier bis der Farbstoff durch Capillarattraction durch das Plättchenpräparat hindurchdringt. Ungefärbte und gefärbte Präparate zeigen ziemlich viele Unterschiede. Die gefärbten Plättchen erscheinen im Allgemeinen grösser, die Granulirung ist eine ganz andere, denn die Granula haben eine ganz andere Anordnung, sind grösser und deutlicher. Während bei den nicht gefärbten Präparaten die Granula in den Plättchen ziemlich gleichmässig in den centralen Partien mit Hinterlassung eines schmalen, homogenen Saumes angeordnet sind, halten die Körnchen diese Lokalisation in den gefärbten Präparaten nicht mehr ein. Hier sind sie in Form eines Häufchens bald mehr central, umgeben von einem grösseren, homogenen Saum, gelegen,

bald haben sie die Form einer Sichel, welche an der Peripherie gelegen ist, bald endlich sind sie kreisförmig angeordnet, während der centrale Theil ganz körnchenlos und homogen bleibt. Die Granula selbst sind stark dunkelblau, während die übrige homogene Substanz einen hellblauen Schimmer besitzt. Die eckigen Plättchenformen sind nach der Färbung nicht mehr zu beobachten, die gefärbten Plättchen aber zeichnen sich durch sehr scharfe Contouren aus; Fortsätze konnte ich bei denselben nur höchst selten beobachten. Auch im gefärbten Zustande sind sie einzeln, wie auch in kleineren und grösseren Gruppen zu beobachten.

Einen kleinen Nachtheil hat die intensivere Färbung, wie sie nach dem Durchziehen des Farbstoffes mit dem Fliesspapier erhalten wird, dadurch, dass ein grosser Theil der Plättchen dabei weggeschwemmt wird. Davon kann man sich leicht überzeugen, wenn man ein und dasselbe Präparat zuerst ungefärbt, dann gefärbt mikroskopisch betrachtet. Wer sich rasch von all' den genannten Eigenschaften der Plättchen überzeugen will, verfährt am besten in folgender Weise: Blut wird in der bereits angegebenen Weise in Ammoniumoxalat aufgefangen und ca. 25 Minuten stehen gelassen. Dieses genügt bereits, damit sich über einer rothen eine graugelbliche Plättchenschicht bildet; man hebe dann mit einer Pipette einen Tropfen aus der Plasmaschicht ab und mache sich daraus ein mikroskopisches Präparat.

Bei diesen Beobachtungen war es mir auch möglich, die Ueberzeugung zu gewinnen, dass die Plättchen auch mit Recht diesen Namen tragen. Lässt man das Oxalatblut in der oben geschilderten Weise $1\frac{1}{2}$ Stunden centrifugiren, und nimmt man, nachdem das Plasma abgehoben worden, davon mit einer Pipette ein gewisses Quantum und lässt davon einen recht grossen Tropfen auf den Objektträger fallen, soviel dass, nachdem das Deckglas auf denselben gebracht, das Plasma über die Grenze des Deckgläschens hinaustritt, so kann man, wenn man dieses Präparat jetzt

mikroskopisch betrachtet, folgendes bemerken: Plättchen in geradezu immenser Zahl, von verschiedener Gestalt und Grösse bedecken fast das ganze Gesichtsfeld, wobei das am meisten Auffallende die starke Strömung und die damit verbundene Wanderung der Plättchen ist. Während die eckig verzogenen Formen meist unbeweglich sind, durchziehen die wirklichen Plättchen in sehr raschem Tempo und sehr grosser Zahl das ganze Gesichtsfeld und zwar von oben nach unten, und bei dieser Strömung lässt sich auch das Aussehen der Plättchen am vorteilhaftesten studieren. Die Stäbchen mit abgerundeten Enden, die Stäbchen, die kommaartig gebogen sind und ebenfalls abgerundete Enden besitzen, sind nichts anderes als auf den Rand gestellte Plättchen, denn verfolgt man ein Plättchen auf einer grösseren Strecke seiner Bewegung, so sieht man, dass das anfangs flächenhaft gelegene Plättchen plötzlich auf den Rand geworfen wird, das Plättchen rollt jetzt eine kleine Strecke, dann aber fällt es wieder auf die Fläche, u. s. f. In letzterem Falle kann man das Plättchen von allen Seiten beobachten, und würde man sie als Gebilde von ovaler oder runder Form meist mit parallelen Flächen beschreiben, zuweilen zeigen die Plättchen jedoch Vertiefungen, so dass dieselben ein biconcaves Ansehen erhalten. Viele haben die Neigung, sich der Fläche nach zu krümmen; solche haben, auf den Rand gestellt, die Form von Kommastäbchen. In solchen Präparaten sind die sternförmigen Plättchen in der Minderzahl; und unter diesen sind nicht einmal alle sternförmig, weil sehr viele bipolare oder spermatozoenförmige Gestalt besitzen. Während diese Gebilde stark glänzen oder homogen sind, haben die wirklichen Plättchen Granulirung, und zwar sind in ungefärbten Präparaten die etwas dunkleren Granula auch hier, wie oben beschrieben, in einer homogenen Grundsubstanz gleichmässig vertheilt mit Hinterlassung eines feinen homogenen Saumes in der Peripherie. Gefärbte Präparate erleiden auch hier die

bereits beschriebenen Veränderungen. Ungefärbte und nicht eingeschlossene Präparate zeigen nach einem Tage keine Spur mehr von all dem Beschriebenen, sondern einzig und allein Körnchen, welche häufig zu Häufchen nach Coccenart angeordnet sind; schliesst man aber die Präparate, nachdem sie mit Methylviolett gefärbt sind, mit Canada-balsam gleich ein, so kann man die Plättchen nach 8—14 Tagen schön erhalten finden, nach ca. einem Monate aber gehen sie dennoch zu Grunde, indem nur Häufchen von Körnchen nachbleiben. Aus dem eben Gesagten geht hervor, dass die Hunde- und Kaninchenblutplättchen die Eigenschaft besitzen, rasch zu zerfallen, zwar ist bei ihnen die Vergänglichkeit nicht in so hohem Maasse vorhanden, wie sie den Plättchen des Frosches zukommt, aber ein gewisser Grad dieser Eigenthümlichkeit kann, wie die Erfahrung mich gelehrt, ihnen dennoch nicht abgesprochen werden. Was es mit den sternförmigen, spermatozoenartigen und bipolaren Formen, welche ebenfalls Plättchen sind, für eine Bewandniss hat, ist mir unverständlich. Werden die Präparate gefärbt, so verschwinden diese Formen auch hier und es bleiben dann nur die ovalen und runden Formen mit den scharfen Contouren zurück, in welchen die Körner in der bereits beschriebenen Weise ihre Vertheilung finden.

An dieser Stelle nun mögen noch die Beschreibungen über Gestalt und Eigenschaft der Plättchen, wie sie von Forschern, welche sich besonders eingehend mit dem Studium dieser Elemente beschäftigt, ihren Platz finden. Nach M. Schultze messen die Kügelchen höchstens 1—2 μ im Durchmesser und finden sich auch isolirt im Blute; „viel häufiger sind sie zu locker zusammenhängenden, nicht scharf umschriebenen Gruppen vereinigt, zu denen eine feinkörnige Masse sie unter einander verklebt. Die Kügelchen selbst sind ganz farblos, homogen, oder wenig feinkörnig und in der Art ihrer Lichtbrechung von der umgebenden Blutflüssigkeit nur wenig unterschieden, daher blass

und schon ihrer geringen Grösse wegen, welche 6—8 μ geringer ist als die der rothen Blutkörper, nur mit guten starken Linsen einzeln zu erkennen. Aber nicht immer stellen sie einzelne Kugeln dar, oft sind sie eckig verzogen, besitzen dann meist etwas schärfere Contouren“.

Hayem findet sie immer sofort nach dem Aderlass im Blute und hält sie deswegen für normale, im Blute präformirte Elemente. „Sie sind 40mal zahlreicher als die weissen, $\frac{1}{20}$ der rothen Blutkörperchen, rund, etwas verlängert, biconcav, hämoglobinhalting, flavescent, schwach gekörnt und schwach lichtbrechend. Ihr Durchmesser beträgt 1,5—4,5 μ . Sie finden sich bei allen oviparen Thieren; eine sie charakterisirende Eigenschaft ist eine starke Klebrigkeit, welche dazu Anlass giebt, dass sie leicht zu Haufen verschmelzen und auf diese Weise im entleerten Blutropfen die Ranvier'schen Rosetten darstellen. Durch Zusammentreten mehrerer „Hämatoblasten“ bilden sich Riesenzellen ähnliche Körper. Alsbald nach dem Austritt aus den Gefässen verlieren sie Hämoglobin.“

Bizzozero findet im strömenden Blute des Säugthieres neben den rothen und weissen Blutkörpern „dünne Plättchen mit parallelen Flächen, seltener linsenförmig, rund oder oval und 2—3 mal kleiner als die rothen Blutkörperchen. Sie sind farblos; grösstentheils finden sie sich im circulirenden Blute isolirt vor, manchmal jedoch auch zu Haufen vereinigt“. Die Häufchenbildung soll nach Bizzozero das Zeichen beginnender Alteration sein. Im extravasculären Blute sind sie sehr hinfällig, nach einigen Stunden sind sie schon alterirt und zu Haufen zusammengetreten, sie werden zackig. Die Plättchen sind kernlos. Sie bestehen aus einer blassen Substanz, welcher Körnchen eingebettet sind.

(Bizzozero). „Beobachtet man unter starker Vergrößerung den Blutkreislauf in den kleinen Gefässen der Säugthiere, so gelangt man bald zu dem unerwarteten Ergebniss, dass darin ausser den rothen und farblosen Blutkörperchen

noch ein drittes Formelement circulirt. Dasselbe wird dargestellt durch sehr blasse, farblose, ovale oder runde Scheiben oder linsenförmige Plättchen von 2 mal geringerem Durchmesser als die rothen Blutkörperchen, unter welchen jene zerstreut circuliren. Die Plättchen sind auch im ganz frisch entzogenem Blute sichtbar; sie erscheinen grösstentheils um die farblosen Blutkörper gehäuft. Der Vergleich zwischen dem entzogenen und dem circulirenden Blute löst die bisher offen gebliebene Frage von den sogenannten Körnchenhaufen des Blutes, die von den meisten Autoren als wahre von dem Zerfall der farblosen Blutkörperchen herrührende Körnchenhaufen aufgefasst werden, während andere (z. B. Hayem) sie von Umwandlung eigenen, im Blute präformirt enthaltender Plättchen ableiten. — Nun handelt es sich in der That um Plättchen. — Doch hat Hayem in Betreff ihrer Praeexistenz nur eine Hypothese ausgesprochen, da er nicht das circulirende Blut der Säugethiere untersucht hat. Auch beschrieb und deutete er die Plättchen irrthümlich, indem er sie als biconcave Scheibchen schilderte und für Elemente hielt, die in rothe Blutkörper sich zu verwandeln bestimmt waren, weshalb er sie mit dem Namen Hämatoblasten belegte. Indessen bestehen die besagten Gebilde aus einer vom Stroma der rothen Blutkörperchen sehr verschiedener Substanz und enthalten niemals Hämoglobin“.

Im Grossen und Ganzen stimmen die Beobachtungen, die ich gemacht, mit den Angaben und Beschreibungen dieser 3 Forscher in Bezug auf Plättchen überein, nur in Betreff des Hämoglobingehaltes der Plättchen sind die Ansichten auseinandergehend. Schultze thut dessen keine Erwähnung, Hayem schreibt ihnen Hämoglobin zu, Bizzozero bestreitet dieses direkt, was ich nach all' dem, was ich gesehen, nur bestätigen kann, denn mir ist niemals gelungen, diesen Farbstoff bei den Plättchen zu beobachten.

Auf Wunsch des Herrn Prof. O. Ludwig untersuchte ich auch das Froschblut, indem ich auch hier das Blut mit Ammoniumoxalat behandelte, und wie aus den Versuchen 21, 22, 24 zu ersehen ist, war mir ausser den Gebilden, wie sie von Hayem, Eberth und Schimmelbusch, etc. beschrieben worden, nichts zu entdecken gelungen. Da die Blutregenerationsverhältnisse des Frosches und die verschiedenen Jahreszeiten in einem gewissen Zusammenhange stehen wie von Marquis (Dissertation: „Das Knochenmark der Amphibien in den verschiedenen Jahreszeiten“ Dorpat 1892) besonders betont wurde, so sehe ich mich veranlasst, hier ausdrücklich hervorzuheben, dass meine Untersuchungen in der eben angegebenen Weise in den Monaten April und Mai gemacht wurden. Eberth und Schimmelbusch, die sich besonders eingehend mit dem dritten Formelement des Froschblutes, den Plättchen, beschäftigt haben, äussern sich in einer Abhandlung: „Experimentelle Untersuchungen über Thrombose“ und in einer Original-Mittheilung „die Thrombose beim Frosch“ folgendermaassen: „Zur Ermittlung der verschiedenen Circulationsverhältnisse ist zwar der Frosch sehr geeignet, als ungeeignet dazu aber erweist er sich, sobald es sich darum handelt, festzustellen, welchen Antheil an den verschiedenen Circulationsstörungen das dritte Formelement des Blutes — das Blutplättchen — nimmt. Dennoch ist es ja fraglich, welche Theile des Froschblutes wir als gleichwerthig mit den Blutplättchen der Säuger annehmen dürfen, und ob die Abwesenheit mit diesen völlig übereinstimmender Gebilde im Froschblute sichergestellt ist“. Weiter heisst es:

„Die spindeligen Elemente, die hier sichtbar werden, sind sehr auffällige Bestandtheile des Froschblutes; sie sind bei einigermaassen genauer Betrachtung weder mit den farblosen, noch mit den rothen Blutkörpern zu verwechseln. Von den ersteren trennt sie ihre eigenthümliche Gestalt; sie sind viel schmaler als die meist kugelrunden Leukocyten;

von den letzteren trennt sie vor allem das Fehlen des Häoglobins. Ein genaues Studium dieser Bestandtheile im strömenden Blut ist jedoch kaum ausführbar, da sie sich bald verändern und dicht zusammenlagern (bei der Thrombose). Besser gelingt dieses an kleinen Capillaren, die gerade weit genug sind, um einzelne Blutkörper passiren zu lassen, in denen diese sich nicht übereinander schieben und gegenseitig verdecken können. Hier sieht man nun, dass die in Frage stehenden Gebilde, die spindelförmig erscheinen, auch wohl die Gestalt von Keulen haben, d. h. an einem Ende breiter als an dem anderen sind, doch meist oval und leicht abgeplattet sind, und demnach eigentlich den Namen einer Spindel nicht verdienen. Bei entsprechender Vergrößerung nimmt man fast in allen einen grossen, feinkörnigen Kern wahr, der die Zelle fast ganz einnimmt, so dass um ihn nur ein sehr schmaler homogener Saum von Protoplasma vorhanden ist. Es folgt weiter: „Jene Forscher, welche zuerst die Blutplättchen der Säuger eingehend beschrieben, Hayem und Bizzozero, haben auch diese Spindeln beim Frosche als dessen Blutplättchen angesehen. Wir wollen aber nicht verschweigen, dass von anderer Seite dieselben keineswegs mit den Blutplättchen identificirt werden und zwar von Seite jener, welche merkwürdiger Weise noch nicht an die Präexistenz der Plättchen der Säuger glauben, und diese als Globulin- und Fibrin-Niederschläge etc. ansehen (Löwit)“. Diese von Eberth und Schimmelbusch gemachten Bemerkungen zeigen deutlich, dass das dritte Element des Froschblutes als ein von den Plättchen des Säugethierblutes durchaus abweichendes anzusehen ist, und wenn ich die eigenen Beobachtungen, die dem ganz Widersprechendes enthalten, hier niederschreibe, so geschieht dies auf Grund von vielen Versuchen, die ich angestellt und die von Herrn Prof. Ludwig controlirt und bestätigt wurden. Die grosse Umständlichkeit, die das Aufsuchen der Aorta und besonders der Lingualis des Frosches und das Einbinden einer

Canüle in diese Gefässe mit sich bringen, veranlassten mich zum Zweck der Blutgewinnung das Herz selbst zu benutzen. Während ich in den Versuchen 21, 22, 24 eine stark verdünnte Ammoniumoxalatlösung verwendete, gebrauchte ich später direkt die 2%ige und verfuhr in folgender Weise: Nachdem der Frosch befestigt worden war, schnitt ich mit einer Scheere in der Herzgegend den Thorax so auf, dass eine schlitzartige Oeffnung entstand; war dieses geschehen, so konnten die Herzcontractionen wahrgenommen werden. Nach Fröffnung des Herzbeutels schlüpfte gewöhnlich das Herz bei der Diastole von selbst durch die Schnittöffnung hindurch. Unter die Herzspitze wurde ein kleines Gefäss gehalten, während das Brettchen, auf welchem der Frosch ruhte, schief gestellt wurde, damit das Blut nach Anschneiden der Herzspitze bequem in das Gefäss fiesse. Die Gefässchen zum Auffangen des Blutes liess ich nach eigener Angabe anfertigen, eben so auch die sehr kleinen und feinen Pipetten. Die Gefässchen haben die Gestalt eines Bechers, fassen ca. $\frac{1}{2}$ Cbcm. und sind zur besseren Handhabung mit einem Stiele versehen. Die Pipetten haben eine Länge von ca. 5 Cm., sind sehr fein und in der Mitte spindelförmig aufgetrieben. Bei den geringen Blutmengen, die hier erhalten werden, sind auch Gebilde von dieser Kleinheit nothwendig. Die kleinen Becher wurden fast zur Hälfte mit 2% Ammoniumoxalatlösung gefüllt und so unter das Froschherz gebracht, dass dasselbe in die Lösung gewissermaassen eintauchte. Nun wurde das Herz rasch durch einen Scheerenschnitt eröffnet. Das Blut fliesst dann direkt in diese Flüssigkeit hinein. Man warte aber nicht, bis eine maximale Blutmenge erlangt wird, sondern ein bis zwei Contractionen genügen, um das gewünschte Quantum zu erhalten. Das Gefässchen enthält jetzt eine gleichmässig hellrothe Flüssigkeit. Wird nun gleich nach dem Auffangen des Blutes ein mikroskopisches Präparat hergestellt, so sieht man folgendes: Grosse Mengen wohlerhaltener rother und in geringerer

Zahl weisser Blutkörper, daneben die bekannten, bereits oben angeführten, spindelförmigen Elemente, gleichzeitig aber in stattlicher Zahl Gebilde, die den Blutplättchen der Säuger fast ganz identisch sind. Es genügt eine kurze Zeit von ca. 5 Minuten das Oxalatblut stehen zu lassen, um bereits eine Schichtbildung wahrzunehmen. Auch hier bilden sich eine gelbliche und eine rothe Schicht. Hebt man mit der feinen Pipette einen Tropfen dieser Plasmaoxalatschicht ab und untersucht ihn mikroskopisch, so findet man, dass das ganze Gesichtsfeld bedeckt ist von Gebilden, die ich als das dritte Element des Froschblutes ansprechen will. Nur selten findet man unter ihnen auch dann und wann ein weisses Blutkörperchen. Bei noch längerem Stehen erhält man auch hier eine dritte Schichtung und zwar eine rothe und, wie ein feines Häutchen darüber ausgebreitet, liegt eine weisse Schicht, darauf eine hellgelbe klare Flüssigkeitsschicht. Wird von der letztgenannten Schicht jetzt eine Probe zur mikroskopischen Untersuchung entnommen, so erhält man mehr keine Plättchen, weil letztere zusammen mit den weissen Blutkörpern sich in Form eines feinen, weissen Häutchens auf die rothe Schicht niedersenken. Lässt man dagegen die Pipette bis zur weissen Schicht herantreten, so dass man auch von dieser etwas mitnimmt, so findet man meist weisse Blutkörper, Spindelemente und Plättchen in geringer Zahl. Dieser letzte Umstand ist darauf zurückzuführen, dass ein Untergang der Plättchen bereits stattgefunden, denn die Vergänglichkeit dieser Gebilde ist, wie die vielen Beobachtungen mich gelehrt, eine geradezu frappante; es kommt zuweilen vor, dass wenn das Experiment des Blutauffangens aus dem Herzen langsam gemacht wird, wobei wahrscheinlich noch andere Momente concurrirend hinzutreten, überhaupt keine Plättchen nachgewiesen werden können. Namentlich fielen die Versuche quoad Plättchen dann immer gut aus, wenn die Herzspitze die Oxalatflüssigkeit berührte und das Einschneiden der Herzspitze mir rasch

und gut gelang, und es scheint mir daher auch, dass selbst ein, minimale Zeit dauernder, Lufteinfluss bereits auf diese Gebilde verderblich einwirken kann. Dieser Einfluss macht sich gleichfalls stark geltend bei Herstellung mikroskopischer Präparate; denn umrandet man die Präparate nicht, so sind diese Gebilde schon nach ca. $\frac{1}{4}$ Stunde verschwunden, während, wenn man die Präparate mit Canadabalsam umrandet, sie viel längere Zeit vor Zerfall geschützt werden können. Man ist wirklich berechtigt, gerade bei diesen Froschplättchen von einem blitzartig schnellen Zerfall zu sprechen, während die Spindeln diese Eigenschaft nicht im Mindesten aufweisen. Ich erwähnte oben, dass bei diesen Manipulationen eine 2%ige Ammoniumoxalatlösung gebraucht wurde habe aber auch mit viel dünneren Lösungen, so z. B. mit einer $\frac{1}{2}$ %, 1%, u. s. w. gearbeitet. Die Resultate waren aber in Bezug auf Plättchen negativ; woran das liegen mag, weiss ich nicht, trotzdem das Blut auch hier nicht zu gerinnen pflegte.

Was das Aussehen und die Form der Plättchen des Froschblutes betrifft, so stimmen diese zwar in sehr vielen Punkten überein mit denen des Säugethierblutes, doch dieses nur bis zu einem gewissen Grade, denn ihnen kommen gewisse Eigenschaften zu, welche dort vermisst werden, und trotzdem wird ein jeder, der diese Gebilde mikroskopisch untersucht und vergleicht, über die Identität dieser mit denen der Säuger nicht im mindesten im Zweifel sein. Die Plättchen des Froschblutes sind sehr lichtschwache Elemente und dieses in viel höherem Grade, als die Plättchen des Säugethierblutes, sie sind viel kleiner, als die weissen Blutkörper und Spindeln und haben ungefähr $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{4}$ der Grösse der rothen Blutkörper. Sie sind im ungefärbten und ganz frischen Zustande durchaus homogen und sehr scharf contourirt, zerfallen ungeheuer schnell, viel schneller als die im Säugethierblut, nehmen nicht die zackige Form, wie im Hunde- und Kaninchenblute an, sondern fliessen, resp. kleben

zusammen und gehen dann Veränderungen ein. Die Beobachtungen, die ich stundenlang mikroskopisch fortgesetzt, lassen mich den Zerfall in folgender Weise schildern: stellt man sich ein mit Canadabalsam eingeschlossenes Präparat her, so sieht man die anfangs von einander getrennten und scharf contourirten Gebilde zu dreien und mehreren zusammenfliessen und die Homogenität der einzelnen Gebilde schwinden. In jedem dieser Gebilde differenzirt sich dann eine starke lichtbrechende Substanz von dem schwächer lichtbrechenden übrigen Theile. Die stärker lichtbrechende Substanz wird auf Kosten des übrigen Theiles immer grösser, nimmt eine zackige oder richtiger gesagt, schollige Beschaffenheit an. Ist dieser Zustand erreicht, so verschwinden die Grenzen der einzelnen Plättchen, bis nach langer Beobachtung schliesslich nur sehr feine Granula nachbleiben, die dann die Form von Coccen besitzen. Bei diesen Beobachtungen muss die Irisblende besonders häufig zu Hilfe genommen werden, denn je weiter die Veränderungen vorrücken, um so kleiner muss das Loch der Irisblende gemacht werden. Die Plättchen des Frosches nehmen analog den Plättchen der Säuger stark Farbstoff spec. Methylviolett auf, eine Färbungsmethode, wie sie zuerst von Bizzozero für diese Gebilde in Anwendung gebracht wurde. Färbt man diese Gebilde mit dem eben genannten Farbstoff, so sieht man auch hier Granulirung auftreten; dieselbe ist aber hier viel feiner als bei denen der Säuger, ferner verlieren die Plättchen nach der Färbung in geringem Maasse ihre scharfen Contouren. Die Grösse ist eine variable. Neben grösseren findet man auch sehr kleine, ganz so, wie es bei den Säugethierblutplättchen der Fall ist; auch ihnen fehlt das Hämoglobin. Sie sind in viel grösserer Zahl als die weissen Blutkörper und die Spindeln enthalten, dagegen übertrifft die Zahl der rothen Blutkörper die der Plättchen um ein bedeutendes. Die Form dieser Gebilde, bevor sie Veränderungen eingehen, ist immer eine runde. Eine Verwechslung mit den anderen Elementen

des Froschblutes ist bei Berücksichtigung aller genannten Eigenschaften ausgeschlossen.

Beim Schluss der Arbeit kann ich nicht umhin, eine Abhandlung meines hochverehrten Lehrers, des Herrn Prof. A. Schmidt, in etwas ausführlicher Weise, vielleicht sogar zu ausführlich zu erwähnen. Die Gründe, die mich dazu veranlassen, sind verschiedener Art; zum Theil sind es Meinungsverschiedenheiten, welche über den Standpunkt herrschen den A. Schmidt zur Blutplättchenfrage einnimmt, zum Theil sind es Vermuthungen, die A. Schmidt in einer Arbeit ausgesprochen hat, die von Wenigen gekannt ist oder garnicht berücksichtigt worden ist, die aber für mich von besonderem Interesse gewesen sind. Welcher Meinung A. Schmidt über die Bethheiligung der Blutplättchen bei der Gerinnung ist, lasse ich hier dahingestellt sein, denn dies berührt nicht meine Arbeit, wohl aber bin ich berechtigt zu der Annahme, dass die Existenz der Plättchen Herrn A. Schmidt schon sehr lange bekannt war, wie aus den Folgendem ersichtlich sein wird, wengleich auch die Benennung der Gebilde eine andere gewesen ist. Meiner Meinung nach war auch Leon Lilienfeldt im Archiv für Physiologie von 1892 zu folgender Auslassung keineswegs berechtigt: „Alex. Schmidt und seine Schüler nehmen an, dass in dem sogenannten „dritten Formbestandtheil des Blutes“ bloss Zerfallsprodukte der Leukocyten zu suchen sind“. Wenn Herr A. Schmidt die Plättchen in Wirklichkeit nur für Zerfallsprodukte der Leukocyten hält, dann bleiben mir wiederum die Befunde und Deutungen, die Prof. Schmidt im 11. Band des Pflüger'schen Archivs von 1875 gemacht, räthselhaft. Es sollen hier daher seine Aeusserungen der Reihe nach angeführt werden: „Ich begnüge mich für's Erste damit, zu sagen, dass ein beträchtlicher Theil der farblosen Blutkörperchen vor der Gerinnung des Blutes zu Grunde geht. Man würde dieselben annähernd „schätzen können, wenn nicht zwei Umstände in Betracht kamen, welche eine

solche Rechnung illusorisch machen, von mir aber früher nicht berücksichtigt wurden, weil ihre Tragweite in dieser Hinsicht mir unbekannt war. Vor allem sind zuerst jene in meiner vorläufigen Mittheilung erwähnten Zwischenformen zwischen den farblosen und rothen Blutkörpern anzuführen, welche Dr. G. Semmer mittlerweile in seiner Dissertation beschrieben hat. Diese Körperchen stehen ebenso, wie die farblosen Blutkörperchen in inniger Beziehung zur Faserstoffgerinnung, sie unterliegen aber alle dem Zerfall. Ich werde auf dieselben weiterhin zurückkommen, hier erwähne ich nur, dass ich mich neuerdings davon überzeugt habe, dass ihre Menge viel grösser ist als ich anfangs glaubte“.

In einer „Ueber gewisse im Säugethierblute vorkommenden Uebergangsformen der farblosen Blutkörperchen zu den rothen“, betitelten Abhandlung äussert sich Prof. Schmidt folgendermaassen: „Nachdem ich gefunden, dass wenigstens ein grosser Theil der farblosen Blutkörperchen unmittelbar nach der Entfernung des Blutes aus dem Körper während der Dauer des Gerinnungsaktes zu Grunde geht, erschien es mir möglich, dass der Versuch, Zellenformen aufzufinden, welche geeignet wären, die Kluft zwischen den farblosen und rothen Körperchen des Säugethierblutes zu überbrücken, nur deshalb noch von keinem entscheidenden Erfolg begleitet gewesen ist, weil diese Formen, wenn sie existiren, auch möglicher Weise in so weit noch die Natur der farblosen Blutkörperchen an sich tragen, als sie gleichfalls während des Gerinnungsaktes zu Grunde gehen.“ Weiter sagt Schmidt in der Annahme, dass die Semmer'sche Dissertation nicht so verbreitet sein dürfte, folgendes: „Ich citire wörtlich Semmer's Beschreibung der von mir im Pferdeblut gefundenen und als Uebergangsform gedeuteten Zellen: „Bringt man (wenige Minuten nach dem Aderlass) einen aus der obersten Schicht des (gekühlten) Blutes entnommenen Tropfen Plasma unter das Mikroskop, so findet man in demselben ausser einigen rothen, die ver-

schiedenen Formen von farblosen Blutkörpern, unter welchen man neben den als typische Formen der farblosen bezeichneten, die rothen nur wenig an Grösse übertreffenden, grösseren fein- und grobgranulirte erkennen kann; ausserdem ist aber noch constant eine Form von Zellen vertreten, welche sich sowohl durch ihre Grösse, als auch ihre Färbung wesentlich von den farblosen Blutkörpern unterscheidet“.

„An den letzteren erkennt man einen zarten Contour, der einen scheinbar, nur aus dichtgedrängten, rothen, scharf contourirten Körnchen bestehenden Leib begrenzt, in welchem zunächst ein Kern nicht wahrnehmbar ist. Die Form dieser Zellen stimmt ganz mit den farblosen überein; ihre Zahl unterliegt grossen Schwankungen, da man dieselben bisweilen in sehr beträchtlicher Menge, in anderen Fällen weniger zahlreich findet. Die Form der Zellen werde ich in der Folge mit dem Namen rothe Körnerkugeln bezeichnen. Die rothen Körner in den Körnerkugeln geben bei schwächeren Vergrösserungen, welche die einzelnen Körner weniger scharf hervortreten lassen, der ganzen Zelle eine röthlich gelbe Farbe, so dass sie durchweg gefärbt erscheint. Bei stärkeren Vergrösserungen erkennt man jedoch in diesen Zellen eine homogene farblose Grundsubstanz, in welche die rothen Körner eingebettet sind“.

„Die rothen Körnerkugeln senken sich im Plasma fast ebenso langsam wie die farblosen Blutkörper, besitzen also nahezu das gleiche relativ geringe specifische Gewicht“.

„Die rothen Körnerkugeln zerfallen während des Gerinnungsaktes unter Entfärbung und die Zerfallsprodukte lösen sich im Plasma auf. Setzt man nämlich die mikroskopische Betrachtung des Plasma des abgekühlten Pferdeblutes fort, so findet man sehr bald nach dem Aderlass neben ganz unveränderten, schon zahlreiche, weniger intensiv gefärbte rothe Körnerkugeln, dabei verlieren sie ihre Kugelform, indem sie unter Auseinanderrücken der rothen, durch eine fast unsichtbare Zwischensubstanz zusammengehaltenen

Körner sich mit mehr oder weniger unregelmässiger Abgrenzung in die Fläche ausbreiten. Daneben treten theils grössere, theils kleinere Häufchen von kugelförmig oder ganz unregelmässig zusammengeballten, gleichfalls in einer kaum erkennbaren Zwischensubstanz eingebetteten, farblosen Körnern auf; die Grösse dieser farblosen Körner, welche als kleine scharf contourirte Kügelchen bezeichnet werden können, entspricht ganz der der rothen Körner in den Körnerkugeln. Im ganz frischen Plasma kommen die farblosen, grobkörnigen Körnerhaufen fast garnicht vor, ihre Zahl wächst aber allmählich, während die der rothen Körnerkugeln in demselben Maasse abnimmt. Bei anhaltender Beobachtung eines Tropfens Plasma lässt sich der allmählich eintretende Zerfall der rothen Körnerkugeln und ihr Uebergang in jene farblosen Körnerhaufen bequem unmittelbar wahrnehmen; Semmer beschreibt die von ihm beobachteten Veränderungen einer dieser Zellen folgendermaassen: Zunächst schwindet der scharfe Contour der rothen Körnerkugeln, die Peripherie wird durch die an derselben schärfer hervortretenden Körner unregelmässig, gezackt, die runde Form geht verloren, und sie nehmen meist eine längliche Gestalt an; die Körner verlieren ihre rothe Farbe, werden allmählich immer blasser, und schliesslich zerfällt die Zelle in Häufchen dicht bei einander liegender farbloser Körner, welche durch eine kaum erkennbare Zwischensubstanz zusammengehalten werden; bei einigen Zellen ist ein Theil der Zellenhülle noch als feine Begrenzungslinie erhalten. Auch die Contouren der Körner werden mit der Zeit immer undeutlicher; sie scheinen in einander zu fliessen und sind zuletzt kaum mehr zu erkennen“.

„Auffallende Verschiedenheiten zeigt die Geschwindigkeit des Zerfalles der rothen Körnerkugeln zu farblosen Körnerhaufen; in einzelnen Fällen geschah dieses schon im Laufe einer Stunde, in anderen Fällen, dehnte sich der ganze Process über längere Zeit aus. Semmer hat bemerkt, dass sie

sich um so länger erhalten, je früher nach dem Aderlass das mikroskopische Präparat angefertigt wird. Abgesehen von der Möglichkeit, dass ursprüngliche Verschiedenheiten der Zellen selbst für die Geschwindigkeit ihres Zerfalles maassgebend sind, erscheint dieselbe vor Allem abhängig von dem Zutritt der Luft resp. des Sauerstoffes. Bei sorgfältigem Verschluss der Präparate durch Verkittung der Deckgläschen erhalten sich die eingeschlossenen rothen Körnerkugeln noch länger“.

„Die leichte Oxydirbarkeit des an die rothen Körnerkugeln gebundenen Farbstoffes würde aber zugleich besagen, dass derselbe kein Hämoglobin oder noch kein Hämoglobin ist. Dagegen sah er (Semmer) hier constant die auch von Max Schultze beschriebenen Körnerhaufen, die theils kreisförmig, theils unregelmässig in die Länge gezogen erschienen und in ihrem äusseren Ansehen ganz mit denen übereinstimmten, deren Entstehung aus den rothen Körnerkugeln er beim Pferdeblut unmittelbar beobachtete“.

„Nach diesen Beobachtungen erscheint es wohl als unzweifelhaft, dass die rothen Körnerkugeln, abgesehen von dem Farbstoffe aus derselben Zellsubstanz aufgebaut sind, wie die farblosen Blutkörperchen, dass sie also vor Allem als Protoplasmazellen anzusehen sind; dann glaube ich es aber auch für ebenso unzweifelhaft ansehen zu dürfen, dass ihr Untergang unmittelbar nach Entfernung des Blutes aus dem lebenden Körper ebenso in Beziehung steht zur Faserstoffgerinnung wie die farblosen Blutkörperchen. Ihre rothe Farbe aber lässt sie als Uebergangsform zu den ausgebildeten rothen Blutkörperchen erscheinen, wie sie andererseits in ihrer Eigenschaft als rothe Protoplasmazellen, als die der rothen Blutkörperchen der Wirbelthiere homogenen Elemente des Säugethierblutes erscheinen und dadurch die Kluft ausfüllen, welche bisher zwischen den ausgebildeten rothen Blutkörperchen der Säugethiere und der niederen

Wirbelthiere bestand, und die Deutung ihrer morphologischen Beziehungen zu einander erschwert“.

„Semmer hat endlich auch noch Zellformen im Blutplasma beobachtet, welche den Uebergang von den farblosen Blutkörperchen zu den rothen Körnerkugeln zu vermitteln scheinen. Er fand nämlich neben den gewöhnlichen, fein- und grobgranulirten grösseren, vollkommen farblosen Zellen im Blute noch grobgranulirte Zellen, welche eine deutliche Gelbfärbung der Körnchen zeigten und doch noch keine rothen Körnerkugeln darstellten, aus welchen er sich durch Vergrösserung der ganzen Zelle und der einzelnen Körnchen unter fortschreitender Rothfärbung, die rothen Körnerkugel hervorgehend denkt. Die auffallende Aehnlichkeit der rothen Blutkörperchen mit den durch Einwirkung sehr schwachen Säuren in den rothen Körnerkugeln erzeugten centralen rothen Gebilden erweckt die Vermuthung, dass das ausgebildete rothe Blutkörperchen der Säugethiere ein Gebilde darstellt, in welchem die contractile Substanz mit den eingebetteten rothen Körnern (Zoid) sich um den Kern verdichtet hat, und mit diesem verschmolzen ist, während die entfärbte Peripheriemasse der Zelle (Oikoid) sich entweder ganz auflöst, oder sich zusammenzieht, atrophirt, so dass ihre Grenzschicht mit derjenigen des rothen centralen Theiles der ursprünglichen Zelle verwächst. Das rothe Säugethierblutkörperchen wäre in diesem Falle weder als gefärbter Zellkern zu betrachten, noch als eine Zelle im früheren Sinne, sondern als Elementarorganismus ganz eigener Art. Eine solche Entstehungsweise würde auch den grossen Unterschied im specifischen Gewicht der ausgebildeten rothen Säugethierblutkörperchen und der rothen Körnerkugel erklären; ich brauche aber wohl kaum zu wiederholen, dass das Ganze nur die Bedeutung einer Vermuthung hat“.

Aus all' den gemachten Beobachtungen und Auseinandersetzungen des Prof. A. Schmidt glaube ich mit Bestimmtheit den Schluss ziehen zu können, dass die von ihm

beschriebenen Körnerkugeln wahrscheinlich nichts Anderes waren, als Plättchen des Pferdeblutes, und wundert es mich ferner, dass die von Bizzozero und Hayem erst 2 Jahre später erschienenen Arbeiten dieses nicht einmal erwähnen.

Es dürfte daher sehr lohnend sein, Untersuchungen des Pferdeblutes, eines Blutes, welches sich durch schwerere Gerinnbarkeit von anderen Blutarten auszeichnet, von neuem auf Plättchen vorzunehmen, und ich glaube, dass selbst der Hämoglobingehalt der Körnerkugeln, welche Schmidt beschrieben, sich bestätigen dürfte, wenn man bedenkt, dass bei denjenigen Versuchen, bei welchen das Blut mit Ammoniumoxalat behandelt wurde, Letzteres auf diesen Farbstoff vielleicht auflösend eingewirkt haben könnte.

Die Bedeutung der Plättchen liegt nicht nur in der ihnen zugeschriebenen Rolle, welche sie bei der Gerinnung spielen, was von Schmidt und anderen Forschern zur Genüge nachgewiesen worden, sondern auch in der Beziehung, welche sie zu den rothen Blutkörperchen haben, als deren Vorstufen sie für ein postembryonales Stadium von manchen Forschern angenommen werden, zumal die Entstehung der rothen Blutkörperchen ein bis jetzt noch streitiger Punkt ist, und die Vermuthung, welche A. Schmidt über das Verhältniss der Körnerkugeln zu den rothen Blutkörpern ausspricht, sollte daher eine Veranlassung sein für weitere Forschungen nach dieser Richtung hin.

Versuch I.

20 Cbcm. Ammoniumoxalat werden in 1000 Cbcm. phys. Kochsalzlösung aufgelöst und dieses filtrirt, davon 5 Cbcm. mit dem Blute aus der Carotis des Kaninchens zusammengebracht, rasch ungerührt und zum Centrifugiren abgegeben. Dauer des Centrifugirens 7 Stunden. Das centrifugirte Blut zeigt 3 Schichten:

1) rothe; 2) weisse und 3) milchig trübe Plasmaschicht.

Die Entnahme aus der Plasmaschicht mit einer Pipette oberhalb der 2. weissen Schicht ergab Blutplättchen, welche deutlich contourirt, homogen, rund oder oval sind; manche klein, manche gross, einzelne mit Ausläufern versehen.

Versuch II.

50 Cbcm. Hundeblut werden in derselben Weise wie im ersten Versuch behandelt. Die Plasmaschicht zeigt sich hier viel klarer, nur etwas flockig, was aber beim Aufbewahren auf Eis schwindet, indem sich die Flocken auf die zweite weisse Schicht niedersinken.

Untersuchung der Flocken ergab reichliche Mengen von zusammengeklebten Plättchen, welche besonders hervortreten, wenn man die Ränder der Plättchenconglomerate betrachtete. Die jetzt ganz klare Plasmaschicht zeigt nur selten Plättchen.

Sowohl aus dem Kaninchen- als auch dem Hundeblut werden noch am darauffolgenden Tage Proben aus der oberhalb der weissen Schicht gelegenen Plasmaschicht genommen. Ergebniss: grössere Mengen von Plättchen, welche mit Calciumchlorid behandelt und mikroskopisch untersucht, keine Gerinnung aufweisen.

Zu gleicher Zeit wird auch eine grössere Menge von dem Hundeblutplasma genommen und dieses ebenfalls mit Calciumchlorid versetzt, jedoch entsteht auch hier keine Gerinnung, sondern nur eine Trübung. Werden die Flocken aus der 2. Schicht entnommen und mit Methylviolett gefärbt, so erscheinen die Plättchen deutlicher.

Versuch III.

43 Cbcm. Kaninchenblut werden mit 15 Cbcm. Ammoniumoxalat zusammengebracht und centrifugirt. Die Untersuchung, welche erst nach 2 Tagen stattgefunden, ergab Blutplättchen in grösserer Zahl.

Versuch IV.

Bei einem grossen Hunde von 70 *kg* wird nach Curarisirung desselben der Halslymphstamm aufgesucht und in denselben eine Canüle eingebunden. Die Lymphe, welche ziemlich schnell strömt, wird in 5 Gefässe, welche je 5 Cbcm. einer 4‰igen Ammoniumoxalatlösung enthalten, aufgefangen und nun wird in jedes Gefäss ebenfalls je 5 Cbcm. Lymphe hineingelassen.

Zu gleicher Zeit werden auch 3 Gefässe mit je 2 Cbcm. einer 2‰ Ammoniumoxalatlösung versehen, in die man je 8 Cbcm. Lymphe hineinströmen lässt. Die 5 ersten mit je 5 Cbcm. Lymphe enthalten alle klare Lymphe, von den 3 letzten aber mit ca. 8 Cbcm. Lymphe blieb nur ein Gefäss klar, während die beiden anderen mit Blut tingirt waren. Dass Fliessen der Lymphe wird bei diesem Versuche durch Druck auf das Abdomen und Pumpbewegungen mit den Beinen beschleunigt. Ferner werden aus der Carotis dieses Hundes 300 Cbcm. Blut in 3 Gläser à 100 Cbcm. entnommen; in jedes Glas kommen 10 Cbcm. Ammoniumoxalat. Sowohl das Blut, als auch die Lymphe werden auf die Centrifuge gebracht. Ein Theil der letzteren aber auch uncentrifugirt auf Plättchen untersucht.

Resultat negativ.

Die centrifugirte Lymphe zeigt eine leicht opalescirende Farbe, von Schichten nur eine sehr dünne Calciumschicht mit einer darüber befindlichen sehr dünnen rothen Schicht. Es wurden aus der Lymphe sowohl, welche mit verdünnter Ammoniumoxalatlösung, als auch mit concentrirter behandelt wurden, Proben entnommen. Die Proben werden aus der

Schicht dicht oberhalb der rothen und aus der Mitte der opalescirenden Flüssigkeit selbst genommen. Diese werden in numerirte Blockschälchen hineingethan.

Lympe Nr. 1a von der oberhalb der rothen befindlichen Schicht.

Lympe Nr. 1b direkt aus der tiefsten Schicht = rothe + Calciumschicht.

Lympe Nr. 2a. Hier kommt beim Ansaugen mit der Pipette Blut in dieselbe hinein.

Lympe Nr. 2b. Hier gelingt es, aus der obersten Schicht eine Probe zu entnehmen, in welcher kein rother Bestandtheil vorhanden war. Bei allen Untersuchungen konnten keine Blutplättchen gefunden werden. Es wurden die Lymphpräparate gefärbt und ungefärbt untersucht.

Versuch V.

50 Cbcm. Blut werden einem Kaninchen aus der Carotis entnommen und wie gewöhnlich behandelt. Ein kleinerer Theil von dem Oxalatblut wird zurückbehalten, der grössere Theil sofort zum Centrifugiren abgegeben. Der zurückbehaltene Theil wird einige Minuten stehen gelassen, die zur Senkung der rothen Blutkörperchen und zur Entstehung einer etwas getrübbten Plasmaschicht genügen.

Die mikroskopische Untersuchung ergibt hier reichliche Mengen von Plättchen in schönster Form und Deutlichkeit.

Die Plättchen zeigen Granulirung mit helleren Randzonen, haben Fortsätze in Ein- und Mehrzahl. Es wurden gefärbte und ungefärbte Präparate hergestellt. An demselben Tage wurde auch das centrifugirte Blut auf Plättchen untersucht, und zwar die weisse Schicht, und war das Ergebniss folgendes: Plättchen in geringer Zahl, sehr selten ein weisses und gar kein rothes Blutkörperchen. Die Plättchen haben ovale oder runde Form, sind etwas kleiner als die aus dem nicht centrifugirten Blute und ohne Fortsätze.

Versuch VI.

Am selben Tage wird Blut (40 Cbcm.) einem Kaninchen entnommen und mit Ammoniumoxalat behandelt. Auch hier wird zuerst nicht centrifugirtes Blut untersucht, und auch hier waren Plättchen mit Fortsätzen. Der Rest wird zum Centrifugiren gegeben. Nach dem Centrifugiren wird das Oxalatblut auf Eis aufbewahrt. Die Untersuchung findet erst am darauffolgenden Tage statt und waren hier Plättchen, von denen viele bereits verändert waren, sichtbar.

Versuch VII.

Von einem grossen Hunde wurden 100 Cbcm. Blut entnommen und centrifugirt. Die mikroskopische Untersuchung ergibt sehr viele und schön geformte Plättchen. Viele von den Plättchen zeigen deutliche Granulirung, sind oval oder rund, deutlich contourirt, viele aber mit Fortsätzen versehen, bei denen Granulirung nicht wahrzunehmen ist.

Versuch VIII.

Blut eines Hundes ca. 800 Cbcm., werden in gewöhnlicher Weise behandelt und zum grössten Theil auf die Centrifuge gebracht. Ein geringerer Theil des nicht centrifugirten Blutes wird ca. 2 Stunden stehen gelassen, und nach Bildung zweier Schichten die Plasmaschicht auf Plättchen untersucht. Letztere enthielt Plättchen in ungeheurer Zahl. Proben, welche aus der oberhalb der weissen Schicht befindlichen Plasmaschicht des centrifugirten Blutes entnommen wurden, zeigen geringere Mengen von Plättchen. Am darauffolgenden Tage bilden sich im uncentrifugirten Blute sogar 4 Schichten: eine ganz klare, eine etwas trübe, eine hellrothe und eine dunkelbraune Schicht. Von allen diesen werden Proben entnommen.

Resultat: Schicht I und II enthalten Blutplättchen, wobei in der 1. weniger als in der 2. vorhanden waren. Schicht III nur sehr wenig Plättchen und viele weisse Blut-

körper. Schicht IV sehr viele rothe Blutkörper, vereinzelt Plättchen und weisse Blutkörperchen. Von diesen wurden mit Methylviolett gefärbte Präparate nach Umrandung mit Canadabalsam zur Aufbewahrung niedergelegt. Nach einigen Tagen zeigte die Untersuchung dieser Präparate zwar noch erhaltene, aber etwas veränderte Plättchen.

Versuch IX.

Ein 42 Pfund schwerer Hund wird zur Lymphentnahme in der üblichen Weise vorbereitet. Die Lymphe wird sowohl aus dem Hals- als auch Brustlymphstamm entnommen, im Ganzen etwa 18 Cbcm. 2 Cbcm. Ammoniumoxalat werden zuerst mit der gleichen Menge reiner Halslymphe zusammengebracht, dann in 2 Gläser, welche je ca. 2 Cbcm. Ammoniumoxalat enthalten, je 8 Cbcm. Brustlymphe aufgefangen. Es findet zuerst eine mikroskopische Untersuchung uncentrifugirter und ungefärbter und dann gefärbter Lymphe statt.

Resultat: Vereinzelt Blutplättchen neben wenigen rothen und weissen Blutkörpern, welche letztere in ungefähr gleicher Zahl vorhanden waren. Die centrifugirte Hals- als auch Brustlymphe enthielt keine Blutplättchen. An dem darauffolgenden Tage ergab die Untersuchung ebenfalls keine Plättchen.

Trotz unter antiseptischen Cautelen ausgeführter Operation konnte Eiterung an der Operationsstelle dennoch nicht verhindert werden; ausserdem fand in den darauffolgenden 3 Tagen eine Blutung aus der Jugularvene statt. Es tropfte Blut in sehr geringer Quantität beständig aus der Operationswunde. Dieses war Grund für die Tödtung des Hundes und zwar geschah dieses in der Weise, dass dem Lymphhunde zuerst 100 Cbcm. Blut aus der Arteria femoralis entnommen wurde; darauf wird der Hund durch 3 volle Spritzen Curare umgebracht. Jetzt wird der Halslymphstamm durch Präparation freigelegt und doppelt unterbunden, dann ein kleines Stück herausge-

schnitten, dieses wird über einem Blockschälchen welches mit 3 Tropfen Ammoniumoxalat versehen war, durchgeschnitten, so dass mehrere Tropfen der Lymphe in das Schälchen hineinfließen. Nach Entfernung des Thorax und der Brusteingeweide wird der Ductus thoracicus aufgesucht und, wie oben angegeben, doppelt unterbunden und mit dem herausgeschnittenen Stücke in derselben Weise verfahren.

Ergebniss: Ductus Thoracicuslymphe lieferte weisse und rothe Blutkörperchen in ungefähr gleicher Zahl.

Die Lymphe aus dem Halslymphstamm zeigte rothe und weisse Blutkörper; an letzteren Veränderungen, indem die Ränder derselben zerklüftet waren; ausserdem waren Gebilde zweifelhafter Natur vorhanden, welche von Professor Ludwig als Fetttropfen angesprochen wurden. Blutplättchen waren jedoch weder im gefärbten noch ungefärbten Zustande wahrzunehmen. Das Hundeblut wird nach Schichtenbildung auf Plättchen untersucht und konnten diese im gefärbten und ungefärbten Zustande in grosser Menge nachgewiesen werden. Auffallend waren hier die weissen Blutkörper mit ihren grossen Kernen, 2—4 an Zahl. Die Kerne, welche auch im ungefärbten Zustande sich von der granulirten Grundsubstanz der weissen Blutkörper abheben und von verschiedener Grösse und ebenfalls granulirt sind, treten ganz besonders hervor in den gefärbten Präparaten. Während die Kerne als intensiv dunkelblau gefärbte Gebilde erscheinen und dabei die Granulirung einbüssen, ist die Grundsubstanz der weissen Blutkörper viel heller und die Granulirung deutlicher erhalten. Daneben liegen in Haufen und einzeln Plättchen in grosser Zahl, welche bei Erhaltung ihrer Granulirung viel weniger intensiv als die Kerne der weissen Blutkörper gefärbt sind. Am darauffolgenden Tage hatten sich in dem aus der Art. femoralis entnommenen uncentrifugirten Blute aus den 2 Schichten sogar 3 Schichten gebildet und zwar: 1) rothe; 2) weisse und 3) eine hellere, klare Plasmaschicht. Aus den letzteren 2 Schichten werden

Proben entnommen. In Schicht III sind nur vereinzelte weisse Blutkörper, daneben die runden, deutlich granulirten Blutplättchen, wenn auch nicht in so grosser Menge, wie am 1. Tage (gefärbt). In Schicht II, d. h. der über der rothen befindlichen Schicht sind Unmengen weisser Blutkörper und vereinzelte rothe, ausserdem Plättchen, welche dieses Mal auch im gefärbten Zustande sehr deutlich granulirt und scharf contourirt sind. Auffallend ist, dass die weissen Blutkörper, welche am 1. Tage die schön gefärbten, dunkelblauen Kerne zeigten, auch ungefärbt in ihrem Inneren Gebilde, 1—4 an der Zahl, wahrnehmen lassen; diese letzteren haben ganz dasselbe Aussehen wie die daneben liegenden Plättchen, d. h. sind granulirt, von derselben Grösse und heben sich im Innern der weissen Blutkörper als etwas dunklere und schärfer contourirte Gebilde von der ebenfalls granulirten Grundsubstanz der weissen Körper ab. Sieht man sie so im ungefärbten Zustande, so erhält man die Meinung, die eingeschlossenen Gebilde seien identisch mit den daneben liegenden Blutplättchen. Ein mit Methylviolett gefärbtes Präparat zeigt dieselben Verhältnisse in Bezug auf Grosskörnelung wie am Tage vorher, nur dass die Identität der Kerne mit den Plättchen verwischt wird, weil die Granulirung der Kerne durch hochgradige Blaufärbung schwindet.

Versuch X.

Von einem Kaninchen werden aus der Carotis 60 Cbcm. Blut in 2 Gefässe aufgefangen; in einem Gefässe befindet sich eine sehr verdünnte Ammoniumoxalatlösung und nur 15 Cbcm. Blut. In diesem Falle tritt Gerinnung ein und das untersuchte Serum ergiebt hier keine Plättchen; die anderen 45 Cbcm. wurden im gewöhnlichen Verhältniss mit Ammoniumoxalatlösung zusammengethan und zum Centrifugiren abgegeben. Die darauffolgende Untersuchung ergiebt Plättchen von gewöhnlicher Form; wenn gefärbt, so Granula, aber keine Fortsätze, wenn ungefärbt, sehr lichtschwach,

viel kleiner als die gefärbten und mit Fortsätzen versehen. Die mit Fortsätzen versehenen zeigen aber keine Granulirung.

Versuch XI.

Die von einem Kaninchen entnommenen und wie gewöhnlich behandelten 50 Cbcm. Blut zeigen im uncentrifugirten Zustande, nach einer Stunde untersucht, Plättchen in ungeheurer Zahl. Die Präparate, welche hier angefertigt, wurden aus der hier entstandenen Plasmaschicht entnommen. Die Plättchen werden gefärbt und ungefärbt untersucht, im letzteren Zustande erscheinen die Plättchen als lichtschwache, zum Theil mit Fortsätzen, ausgestattete Gebilde.

Versuch XII.

50 Cbcm. Hundeblut werden nach der gewöhnlichen Behandlungsweise 6 Stunden centrifugirt, wobei dieses Mal nicht die Plasma- oder weisse Schicht auf Plättchen untersucht wird, sondern nach vollständiger Entfernung dieser beiden Schichten mit einer Pipette wurden Proben aus der rothen Schicht entnommen und diese jetzt auf Plättchen untersucht.

Ergebniss: Selten ein weisses Blutkörperchen, selten ein Plättchen mit Fortsätzen neben ungeheuren Mengen von rothen Blutkörpern (Stechapfelform). Die Untersuchung des Blutes wurde hier erst nach Verdünnung mit physl. Kochsalzlösung vorgenommen.

Die vor 14 Tagen hergestellten mit Canadabalsam umrandeten Plättchenpräparate zeigen bei einer jetzt vorgenommenen mikroskopischen Untersuchung noch reichliche Mengen von Plättchen, wobei aber die aus Hundeblut hergestellten Präparate in grösserer Zahl Plättchen enthielten, als die des Kaninchenblutes.

Versuch XIII.

50 Cbcm. Hundeblut in gewöhnlicher Weise behandelt und ca. 15 Minuten stehen gelassen, wird auf Plättchen unter-

sucht. Es werden zuerst ungefärbte Präparate hergestellt. Bei der mikroskopischen Untersuchung sieht man Gebilde von vieleckiger Form, die fast homogen sind. Setzt man zu einer mit der Pipette frisch aus der Plasmaschicht entnommenen Probe 1 Tropfen Calciumchloridlösung hinzu, so sieht man bei der mikroskopischen Betrachtung sofort ein Zusammenschiessen der Plättchen zu Haufen, indem die Plättchen unter einander verschmelzen, und nun treten die Haufen als Granulirungen, eingebettet in einer schwach-lichtbrechenden Substanz, auf. Zum 2. Male wird ein ungefärbtes Präparat nach Entnahme derselben aus der Plasmaschicht hergestellt zum Studium der verschiedenen Plättchenformen und man erhält dann folgende Bilder: Spermatozoenartige, keulenförmige Form, viele sind 3 und 4 eckig, Granulirung ist nur in den seltensten Fällen bei diesen wahrzunehmen. Dieses ungefärbte Präparat wird nun mit Methylenblau gefärbt und da zeigt es sich, dass die eben beobachteten vielgestaltigen Gebilde nicht mehr wahrnehmbar sind. An Stelle dieser waren scharf contourirte und mit blauen Granulis ausgestattete Gebilde aufgetreten. Die dunkelblauen Granula der Plättchen haben verschiedene Anordnung: bald sind sie in Form eines Häufchens mehr central, bald in Form eines Halbmondes mehr peripher, bald endlich als Saum im ganzen Umfange des Plättchens angeordnet. Die Granula sind bei gut ausgeführter Färbung intensiv blau, während die übrige Substanz von homogener Beschaffenheit mit einem leichten Stich ins Bläuliche erscheint. Im Allgemeinen sind sie rund und fast ohne Fortsätze.

Versuch XIV.

Zur Zählung der Plättchen wurden 50 Cbcm. Hundeblood nach der gewöhnlichen Weise behandelt und centrifugirt und nach eingetretener Schichtenbildung das gesammte Plasma abgehoben. Davon nur 10 Cbcm. genommen und 5fach verdünnt, zuerst auf Plättchen untersucht, aber das

Resultat war bei Abwesenheit derselben ein negatives. Es wird inzwischen eine 2. Probe aus dem 5fach verdünnten Plasma genommen, um die Untersuchung zu wiederholen. Da geschah es, dass das Plasma gerann. Ich bemerkte früher, dass das Plasma abgehoben worden sei, es blieb also die weisse Plättchenschicht zurück. Diese Schicht wird nun mit einer Pipette und einem complicirten Quecksilbersaugapparat abzuheben versucht, was jedoch jedesmal misslingt, denn die rothe Schicht wird hierbei immer mit angesogen. Die mikroskopische Untersuchung dieser entnommenen Proben ergiebt auch ein Gemenge von rothen und weissen Blutkörperchen und zahlreichen Plättchen. Gelingt es, mit der Pipette nur einzelne Flocken ohne Beimengung der rothen Schicht aus der weissen gewissermaassen herauszureissen, werden diese dann mit physiol. Kochsalzlösung nach starkem Schütteln verdünnt, und mikroskopisch untersucht, so erhält man folgendes Bild: fest zusammengeballte Haufen von Plättchen und weissen Blutkörperchen; ausser den gewöhnlichen vieleckigen Plättchen noch Gebilde, die Stäbchenansehen besitzen.

Versuch XV.

100 Cbcm. Blut vom Hunde wird nach der gewöhnlichen Behandlungsweise mehrere Stunden centrifugirt. Nun werden ca. 25 Cbcm. Plasma abgehoben, welches anfangs klar ist, und auf Plättchen untersucht, indem sowohl gefärbte als auch ungefärbte Präparate angefertigt werden. In diesem Falle aber waren keine Plättchen wahrzunehmen. Nach der Entfernung des Plasmas war nun die deutlich abgegrenzte weisse Plättchenschicht zurückgeblieben. Da diese Schicht in toto von der rothen Schicht entfernt werden kann, ohne letztere und die weisse blutkörperhaltige Schicht mit anzusaugen, so wurde in der Weise verfahren, dass die ganze weisse Schicht mit einer gewissen Menge der rothen Schicht zusammen mit

der Pipette abgehoben wurde. Die mit Blut abgehobene Plasmaplättchenschicht wird der Zählung wegen nochmals zum Centrifugiren abgegeben, und man erhielt, wie früher, die 3 Schichten, aber mit dem Unterschiede, dass die rothe Schicht eine sehr schmale war. Der Versuch, hier die Plättchenschicht von der oberen rothen zu entfernen, misslingt auch dieses Mal, denn die Pipette saugt rothe Blutkörper an. Dieses Gemenge wird mikroskopisch untersucht, und war das Ergebniss:

Ausser rothen Blutkörpern viele zu Haufen angeordnete und verschieden gestaltete Blutplättchen; die Grösse der letzteren ist eine sehr variable. Viele dieser Plättchen sind häufig um die weissen Blutkörper in Form eines Hofes gruppiert und kann man ferner bei vielen auch im ungefärbten Zustande 2 Substanzarten, und zwar Granula und homogene Masse unterscheiden.

Die Granulirung ist bei den ungefärbten Plättchen derartig angeordnet, dass ein sehr dünner, homogener Saum in der Peripherie zurückbleibt und die Granulirung einen mehr centralen Sitz hat, jedoch ist trotz dieser Lokalisation der Granula keine Verwechslung mit einem wirklichen Kern möglich. Nachdem das noch immer mit Blut gemischte Plasma wiederholt abcentrifugirt worden war, und die Schichten vom Neuen entstanden waren (3 Schichten) wird die Procedur wiederholt, d. h. es werden wieder die sehr geringe Plasma- und weisse Schicht abgehoben, wobei aber wieder Blut hineinkommt. Alle diese Manipulationen führen trotz Verdünnung und Schüttelung mit physiol. Kochsalzlösung zum Zwecke der Aufhebung der zusammengeklebten Blutplättchenhaufen nicht zum Ziele, denn die Zusammenklebung der Plättchen ist eine so innige, dass ein Auseinanderbringen derselben unmöglich ist, und daher wird, da eine Zählung unter diesen Umständen unmöglich war, dieselbe aufgegeben.

Versuch XVI.

Es wird jetzt zur Wägung der Plättchen geschritten, und zwar in folgender Weise: Einem Hunde von ca. 20 # werden 150 Cbcm. Blut in 3 Gefässen à 50 Cbcm., die Ammoniumoxalat enthalten, entnommen. Diese 3 Portionen werden sogleich auf die Centrifuge gebracht und nach 5stündigem Centrifugiren wird die Plasmaschicht abgenommen, während die weisse Schicht zurückbleibt. Man erhält im Ganzen 30 Cbcm. Plasma, welches in 2 Portionen zu je 15 Cbcm. getheilt wird; jede dieser wird mit 140 Cbcm. 7% chemisch reiner Natriumchloridlösung vermischt und zum Centrifugiren abgegeben. Nach mehrstündigem Centrifugiren erhält man jetzt einen sehr feinen Bodensatz einer stark klebrigen Masse, welche beim Durchrühren mit einem Glasstäbchen sich in feine Flocken auflöst. Die zähe Masse hat die Eigenschaft, fest am Boden des Cylinders zu haften. Es wird jetzt die Natriumchloridplasmaschicht abgehoben, während der flockige Rückstand mit Calciumchlorid zur Erzeugung von Gerinnung zusammengebracht wird. Dieses Gemisch wird in ein Uhrschälchen geschüttet und am darauffolgenden Tage untersucht. Es zeigte sich, dass die erwünschte Gerinnung nicht eingetreten war, was auch durch Herstellung von mikroskopischen Präparaten bestätigt werden konnte, denn die Plättchen waren in sehr grosser Zahl und besonders schöner Form vorhanden. Von anderen Blutelementen war keine Spur, nur waren hie und da Fäserchen wahrnehmbar. Die Anordnung der Plättchen ist eine haufenweise, zum Theil aber sind sie auch einzeln vorhanden. An den einzelnen Plättchen ist die Struktur besonders deutlich: homogene Grundsubstanz, Granulirung, welche bald central, bald peripher in Sichelform gelegen ist. Die Präparate werden in Canadabalsam eingeschlossen. Ausserdem werden noch Präparate hergestellt, bei denen Doppelfärbung angewandt wurde: Methylviolett und Lugol'sche Lösung; bei

solcher Färbung sind die Contouren der Plättchen sehr scharf, die Grundsubstanz ist hier grünlich, die Granula schwarz. Bei der Eosinfärbung erhält man eine hellrosa Färbung der Grundsubstanz und eine dunkelrosa der Granula. Besonders schön treten bei der Eosinfärbung die in manchen Präparaten vorhandenen Fasern hervor, längs welchen zuweilen die Plättchen perlschnurähnlich angeordnet sind. Die Hämatoxilin-färbung giebt im Allgemeinen keine bessere Bilder als die Methylviolett-färbung.

Versuch XVII.

Von einem ca. 40 Pfund schweren Hunde werden 500 Cbcm. Blut erhalten, dieses mit Ammoniumoxalat, wie gewöhnlich, behandelt und centrifugirt. Dieses Mal wird das Oxalatblut schon nach 1½ stündigem Centrifugiren entfernt, von diesem 140 Cbcm. Plasma erhalten, diese Menge wird in 2 gleiche Theile getheilt, jeder Theil mit 100 Cbcm. reiner 7% Natriumchloridlösung versetzt und wieder zum Centrifugiren abgegeben. Die Abnahme von der Centrifuge geschieht nach ungefähr 4 Stunden. Man erhält auch hier einen sehr geringen Bodensatz, mit welchem nichts Besonderes vorgenommen wird.

Versuch XVIII.

Einem 22 Pfund schweren Hunde werden 100 Cbcm. Blut entnommen, diesem in der üblichen Weise Ammoniumoxalat hinzugefügt und dann centrifugirt. Nach 3 stündigem Centrifugiren wird das Plasma abgehoben, mit Natriumchlorid versetzt, und wieder centrifugiren gelassen. In diesem Falle war kein Bodensatz vorhanden.

Versuch XIX.

Von einem ca. 20 Pfund schweren Hunde werden 120 Cbcm. Blut gewonnen; nachdem dieses mit Ammoniumoxalat behandelt und kaum 1½ Stunden centrifugirt wird, bekommt man eine gute, trübe Plasmaschicht, welche Plättchen

in reichlicher Menge und keine weissen Blutkörperchen ergibt. Diese Schicht wird abgehoben, mit Natriumchloridlösung (3%) versetzt, ca. 4 Stunden centrifugiren gelassen, und dann Natriumchlorid und Plasmaschicht abgehoben. Es bleibt jetzt eine am Boden des Gefässes klebende Masse zurück, welche mit Calciumchlorid versetzt wird. Dann wird dieses Gemisch mit einem Glasstäbchen zur Ablösung dieser Masse von den Gefässwänden umgerührt. Weiteres wird hier nicht vorgenommen.

Versuch XX.

Von einem 50 Pfund schweren Hunde werden 200 Cbcm Blut gewonnen, die Ammoniumoxalatbehandlung geschieht in gewöhnlicher Weise, und nach etwa 2½stündigem Centrifugiren wurde das in grosser Menge vorhandene Plasma abgehoben. Plättchen waren in demselben nur in geringer Zahl vorhanden; daher wird auch nach Zusatz von Natriumchlorid zu demselben und erneuerten Centrifugiren ein kaum merkbarer Bodensatz erhalten. Grund hierfür ist das zu lang ausgedehnte Centrifugiren.

Versuch XXI.

Aus der Aorta des Frosches wird nach Einbindung einer Glascanüle in derselben ca. ½ Cbcm. Blut gewonnen. Dieses Blut wird in 30 Cbcm. einer physiol. Kochsalzlösung, welcher einige Tropfen Ammoniumoxalatlösung hinzugesetzt worden, aufgefangen. Die mikroskopische Untersuchung dieses Blutes ergibt weisse und rothe Blutkörper, aber keine Plättchen im gewöhnlichen Sinne. Nur wurden vereinzelte Gebilde gefunden, welche den von Hayem beschriebenen und als Plättchen angesprochenen Gebilden entsprechen und das Aussehen von Spindeln oder Keulen besitzen. Die Merkmale derselben sind folgende:

1) sind sie kleiner als die weissen und rothen Blutkörper;

2) enthalten sie kein Hämoglobin;

3) haben sie eine fein granulirte Beschaffenheit des peripheren Theiles, d. h. des Theiles, welcher um den als Kern imponirenden Theil gelegen ist;

4) haben sie einen grobgranulirten Theil, welcher mehr central gelegen ist, wobei die Granula derartig gruppirt sind, dass das Ganze den Eindruck eines Kernes macht. Manche von diesen Gebilden sind bipolar, manche unipolar, manche oval. Nach einiger Zeit schwindet das Hämoglobin der rothen Blutkörper und bekommen diese jetzt annähernd das Aussehen von Plättchen, jedoch konnten auch jetzt noch die Plättchen, welche in geringer Zahl vorhanden waren, von den rothen Blutkörpern unterschieden werden.

Versuch XXII.

Blut aus der Frosehaorta, in Natriumchlorid und Ammoniumoxalatlösung aufgefangen und untersucht, ergiebt rothe Blutkörper von gewöhnlicher Beschaffenheit, welche aber nach einiger Zeit sich in der Weise verändern, dass das Hämoglobin sich nach dem Kern zurückzieht und die Peripherie entfärbt bleibt. Später entfärbt sich auch der Kern, so dass dadurch die anfangs vereinzelt sichtbaren als Plättchen angenommenen Gebilde der Aehnlichkeit mit den entfärbten rothen wegen vermehrt erscheinen. Ausserdem finden sich Gebilde zu Haufen gruppirt, zwischen welchen fibrinartige Fäden hinziehen. Die Gebilde machen den Eindruck von weissen Blutkörpern.

Versuch XXIII.

Einem 60 Pfund schweren Hunde wurden aus der Carotis 600 Cbcm. Blut unter Hinzufügung von Ammoniumoxalat entnommen. Davon gerann aber die Hälfte, so dass nur ca. 300 Cbcm. zum 1½stündigen Centrifugiren abgegeben wurden. Die Ausbeutung an Plasma war eine gute, denn es wurden 130 Cbcm. desselben gewonnen, welche mit ca.

80 Cbcm. einer 7% Natriumchloridlösung vermischt, durchgeschüttelt und zum Centrifugiren abgegeben wurden. Sogleich nach dem Abheben des Plasmas wurde von diesem eine kleine Portion entnommen und mikroskopisch auf Plättchen untersucht. Das Ergebniss — eine grosse Zahl von Plättchen. Diese wurden mit Methylviolett gefärbt und man erhielt folgende Bilder: Die Granula der verschiedenen grossen Plättchen sind bald gleichmässig vertheilt, bald in Form einer Sichel an die Peripherie gerückt, bald central angehäuft (Aussehen eines Kernes). Weisse und rothe Blutkörper waren nicht zu sehen. Manche von den Plättchen haben Fortsätze, was aber höchst selten vorkommt. Betrachtet man die Plättchen im ungefärbten Zustande und unterlässt man dabei das bei der Färbung zur Erlangung einer grösseren Intensität derselben nöthige Durchziehen des Farbstoffes mittelst Fliesspapier, so sind die Plättchen in geradezu ungeheurer Zahl zu erblicken. Das Auffallende hierbei ist, dass sehr zahlreiche Stäbchen von verschiedener Form vorhanden waren. Wenn Strömung eintritt, sieht man deutlich wie diese Stäbchen zu Plättchen werden. Zuweilen gelingt es auch bei genauerem Betrachten eine Biconcavität bei diesen Gebilden wahrzunehmen. Ferner sieht man ausser den wirklichen Plättchen, die rund oder oval oder scharf contourirt sind, Gebilde von spermatozoenartigem Aussehen. An vielen lassen sich auch zahlreiche Fortsätze nachweisen. Es gehen also die im ungefärbten Zustande wahrnehmbaren Ausläufer bei der Methylviolett-färbung fast ausnahmsweise verloren. Nach Entfernung des mit Natriumchloridlösung vermischten Plasmas von der Centrifuge konnte man einen deutlichen Bodensatz wahrnehmen. Das Natriumchloridplasma wurde nach entstandenem Bodensatz und nach Abhebung desselben auf Plättchen untersucht. Es sollte dadurch die Abwesenheit der Plättchen in dieser Flüssigkeit constatirt werden, widrigenfalls ein längeres Centrifugiren nöthig gewesen wäre, und in der That konnten auch hier Blut-

plättchen in geringer Zahl nachgewiesen werden. Es genügt also ein 3stündiges Centrifugiren nicht. Erreicht wird dieses meist schon durch ein 5stündiges, dann haben sich alle Plättchen zu Boden gesenkt. Der Bodensatz wird nach Entfernung des Natriumchloridplasmas mit einer 3% Natriumchloridlösung versetzt, der Bodensatz mit einem Glasstäbchen von den Wandungen abgelöst und zum Centrifugiren abgegeben. Man lässt diese Plättchenmasse zusammen mit der Natriumchloridlösung ca. 5 Stunden centrifugiren, und nach Bildung eines Bodensatzes wird die darüber befindliche Natriumchloridschicht auf Eiweiss untersucht. Da die Untersuchung positiv ausfällt, so wird der Bodensatz nach Abhebung der Natriumchloridschicht mit einer neuen Natriumchloridlösung von derselben Concentration versetzt: und wieder 2 Stunden centrifugiren gelassen. Auch jetzt wird auf Eiweiss untersucht. Es konnten dieses Mal nur Spuren desselben nachgewiesen werden.

Versuch XXIV.

Aus der Lingualis des Frosches wird etwas Blut gewonnen, und dieses in einer 7% Natriumchloridlösung, welcher einige Tropfen Ammoniumoxalatlösung hinzugefügt worden waren, aufgefangen. Die mikroskopischen Präparate zeigen sehr viel grosse, weisse Blutkörper, unzählige rothe und ausserdem die Plättchen, wie sie von Hayem und Eberth beschrieben und abgebildet wurden. Im Verhältniss zu den rothen und weissen Blutkörpern sind diese in sehr geringer Zahl vorhanden.

Versuch XXV.

Von einem ca. 70 μ schweren curarisirten Hunde werden 350 Cbcm. Blut gewonnen, und mit Ammoniumoxalat versetzt, dann dieses Oxalatblut in 2 Theile getheilt und centrifugiren gelassen. Nach 1½ Stunden wurde das Plasma, welches durch Hämoglobinauflösung etwas röth-

lich gefärbt war (vielleicht Curareeinwirkung?) abgehoben. Man erhielt ca. 90 Cbcm. desselben, dieses wird nach Theilung in gleiche Hälften mit einer 7% Natriumchloridlösung versetzt, und zwar kommt auf jeden Theil ein gleich grosser Theil der Natriumchloridlösung. Dieses wird zum 4stündigen Centrifugiren abgegeben. Nach entstandenem Bodensatz wird die Plasmanatriumchloridschicht abgehoben, und, nachdem sie sich als eiweisshaltig erwiesen hatte, der Bodensatz vom Neuen mit einer Natriumchloridlösung versetzt, wieder zum 5stündigen Centrifugiren abgegeben, und auch hier nach entstandenem Bodensatz die flüssige Schicht auf Eiweiss untersucht: Da die Reaction nur Spuren desselben ergab, wird die Natriumchloridplasmaschicht bis auf einen kleinen Bruchtheil entfernt. Ein Platintiegel im Knallgasgebläse längere Zeit geglüht, wird mit einer Zange gefasst und in einen Exsiccator auf $\frac{1}{2}$ Stunde hineingethan. Der Exsiccator wird in das Zimmer gebracht, in welchem sich die Waage befindet, dann wird der Tiegel aus dem Exsiccator auf die Waagschaale gebracht und nach den üblichen Regeln gewogen, dann wieder in den Exsiccator gestellt. Gewicht des Tiegels **10,9660** gr. Nun wird der mit etwas Natriumchloridlösung zurückgebliebene Plättchenbodensatz mit einem Glasstabe umgerührt und in den auf einem Thondreieck über einem Wasserbade befindlichen Tiegel hineingethan. Der zurückgebliebene Rest wird durch Nachspülen mit destillirtem Wasser und Umrühren mit einem Glasstabe zur Entfernung des Restes zubereitet. Die ganze Masse nun wird dem Glasstabe entlang in den Tiegel hinein geschüttet. Auf dem Wasserbade bleibt der Tiegel so lange stehen, bis der flüssige Theil verdampft und ein Trockenrückstand nachbleibt. Dauer 10—12 Stunden. Darauf wird der Tiegel in den Trockenschrank, welcher auf 103° 2—3 Stunden lang erwärmt wurde hineingethan, so dass der Tiegelinhalt ganz trocken wurde. Darauf kommt der Tiegel auf $\frac{1}{2}$ Stunde wieder in den Exsiccator und dann erst auf die

Waage. Gewicht des Tiegels und des Substanzinhalts **11,0874** gr. Diese Zahl giebt das Gewicht nach der 2. Wägung an, denn nach der 1. Wägung wird der Tiegel und Inhalt auf eine Stunde zum 2. Male in den Trockenschrank gestellt, denn zwischen der 1. und 2. Wägung sind immer sehr minimale Differenzen vorhanden. Jetzt wurde der Tiegel über einen Bunsenbrenner gehalten, und der Inhalt verascht und zwar so lange, bis ein glasiger Rest zurückbleibt. Darauf kommt der Tiegel auf $\frac{1}{2}$ Stunde wieder in den Exsiccator, und wird dann wieder gewogen. Gewicht **11,0450** Grm. Plättchengewicht also = **0,0424** Grm.

Versuch XXVI.

Einem Hunde von ca. 80 μ werden 800 Cbcm. Blut entnommen und in der gewöhnlichen Weise behandelt in Cylinder à 200 Cbcm. vertheilt; von den 4 Cylindern wird nach stattgehabter Centrifugirung das Plasma abgehoben, und der Gesamtgewinn in 2 Cylinder zusammengethan, mit gleichen Theilen Natriumchloridlösung zusammengebracht und zum erneuten Centrifugieren abgegeben. Es bildet sich ein sehr schöner Bodensatz, welcher nach Abheben der Plasmanatriumchloridschicht wieder mit einer 3% Natrumchloridlösung zusammengebracht und wieder zum Centrifugieren abgegeben wird, wobei auch zum 2. Male eine Eiweissuntersuchung stattfindet. Jetzt folgt die Behandlungsweise, wie sie im Versuche XXV bereits angegeben worden ist. Dieses Mal war das Gewicht des Tiegels **10,9654** Gr. Das Gewicht des Tiegels und der Plättchensubstanz nach stattgehabter Wasserbadbehandlung und Trocknung **11,3025** Gr. Nach Veraschung war das Gewicht **11,0499**, Gr. also Gewicht der Plättchen **0,2526** Grm.

Versuch XXVII.

Nachdem ein ca. 80 μ schwerer Hund curarisirt worden war, wurden demselben zuerst aus dem Halslymphstamm 20 Cbcm. Fettlymphe entnommen, indem dieselbe in eine Ammoniumoxalatlösung (1 Cbcm.) aufgefangen und dann

zum Centrifugiren abgegeben wurde. Nach stattgehabtem Centrifugiren zeigt die Lymphe 4 Schichten und zwar: 1) eine dünne Rahmschicht; 2) eine ziemlich hohe blassgelbe Schicht; 3) darunter eine feine kreideweisse Schicht und 4) schliesslich noch eine sehr zarte rothe Schicht. Es folgt die mikroskopische Untersuchung der Schichten.

1. Schicht — feinste Fetttröpfchen.

2. Schicht — ebenfalls Fetttröpfchen, aber nicht in so dichter Anordnung wie in der 1. Schicht.

3. und 4. Schicht — enthalten keine Plättchen, sondern nur viele rothe und ungeheure Mengen von weissen Blutkörperchen. Demselben Hunde wurde noch 2 mal Blut in verschiedener Weise entnommen. Zuerst wurde eine kleinere Menge zur Transfusion, und der Rest von 750 Cbcm. durch Verblutenlassen des Thieres gewonnen, zum Centrifugiren abgegeben und dann ebenso wie bei den früheren Versuchen verfahren, d. h. das Plasma abgehoben und dieses dann nach 3 mal stattgehabter Centrifugirung und Hinzufügung von 3% Natriumchloridlösung zum Wägen vorbereitet. Das Plättchengewicht war diesmal 0,2720 Grm. Bevor dem Hunde aus Versuch XXVII die 750 Cbcm. Blut entnommen wurden, ging folgendes Experiment voraus.

Versuch XXVIII.

Die in der Carotis des 80 Pfund schweren Hundes eingebundene Glascanüle wurde, nachdem bei einem kleinen Hunde die Jugularis freigelegt und in dieser ebenfalls eine Canüle eingebunden war, durch ein Gummirohr mit der letzteren verbunden, indem noch zuerst das Gewicht des kleinen Hundes bestimmt wurde = 6370 Grm. Der kleine Hund befindet sich also auf der Decimalwaage, diesem nun sollten von dem grossen Hunde 450 Cbcm. Blut transfundirt werden. Durch ein kleines Versehen wurden aber nur etwas über 400 Cbcm. transfundirt. Nach Entfernung der Fesseln erbrach der kleine Hund sehr stark, und die Conjunctiva und das Abdomen waren hochgradig geröthet. Die Wunde

des kleinen Hundes wird zugenäht und 3 Tage lang 2 mal täglich beobachtet; Befinden gut. Die Röthung am Abdomen und an der Conjunctiva ist in den ersten zwei Tagen noch sehr deutlich, später aber findet ein Abblassen statt. Am 4. Tage wurde diesem Hunde 25 Cbcm. Blut aus der freigelegten Carotis entnommen, indem dasselbe in 3 Cbcm. Ammoniumoxalat aufgefangen wird; dieses Blut wird dann centrifugirt. Nach 1½ Stunden erhält man eine ca. 6 Cbcm. messende Plasmaschicht, welche auf Plättchen untersucht, dieselben wohl erhalten und in keiner Art und Weise verändert zeigt. Auch hier wurden gefärbte und ungefärbte Präparate hergestellt. Die 6 Cbcm. Plasma wurden mit 10 Cbcm. einer 3% Natriumchloridlösung vermischt und zum Centrifugiren abgegeben. Es entstand ein der Plasma menge entsprechender Plättchenbodensatz, welcher nochmals nach Auswaschen mit einer Natriumchloridlösung zum Centrifugiren gebracht wird. Nachdem das Plasma von der rothen Schicht entfernt worden war, fand auch eine Untersuchung der rothen Schicht statt, indem ein Tropfen derselben mit physiol. Kochsalzlösung verdünnt, mikroskopisch untersucht wurde. Es ergab die Untersuchung grosse Mengen von rothen Blutkörpern, welche biconcave Stechapfelform zeigten. Gleichzeitig mit der Entnahme der 25 Cbcm. Blut wird auch eine kleine Quantität zur Hämoglobinbestimmung genommen. Ergebniss bei 2maliger Bestimmung 15,5 und 15,7. Dem zur Transfusion gebrauchten Hunde wird noch Blut in der Weise entnommen, dass ein mit Spindeln versehenes und ganz steriles Rohr mit der in der Carotis des Hundes befindlichen Canüle verbunden wurde. Nach Füllung dieses Rohres wurden die beiden Enden zugeschmolzen. Zur mikroskopischen Untersuchung wurden die einzelnen Spindeln abgebrochen und ein Tropfen ihres Inhaltes auf ein Deckglas gebracht. Dieser Tropfen wurde zuerst mit einer 7‰, später auch mit einer 2% Natriumchloridlösung verdünnt und untersucht.

Resultat: Neben der biconcaven und Stechapfelform waren noch zerklüftete Gebilde, die von Prof. Ludwig als veränderte rothe Blutkörper angesprochen wurden.

Demselben Hunde wird noch Blut zu einer 2. Hämoglobinbestimmung entnommen.

Ergebniss: 14,0 und 14,6.

Literatur-Verzeichniss.

1. Zimmermann, Zur Blutkörperchenfrage. Virchow's Archiv. XVIII. 1860.
2. Beale, Quarterly journal of micr. sc. 1864 Jan. 32 ff.
3. Donné, De l'origine des globules du sang, de leur mode de formation et de leur fin. Compt. rend. 1842 Tome XIV.
4. Max Schulze, Ein heizbarer Objektisch. Archiv für mikr. Anatomie. Band I. 1865. S. 36 ff.
5. Ranvier, Technisches Lehrbuch der Histologie. Leipzig 1888. S. 203 ff.
6. Hayem, Recherches sur l'évolution des hématies dans le sang de l'homme et des vertebres. Arch. de physiol. normale et pathologique. II sér. Tom. V 1878/79.
7. Bizzozero, a) Centralblatt für die medicinische Wissenschaft. 1882. S. 117 ff., 161 ff., 353 ff., 563 ff
b) Centralblatt, 1883. Nr. 30. S. 529.
c) Virchow's Archiv. Band XC. S. 261 ff. Ueber einen neuen Formbestandtheil des Blutes und dessen Rolle bei der Thrombose und Blutgerinnung. 1882.
8. A. Schmidt, Die Beziehungen der Faserstoffgerinnung zu den körperlichen Elementen des Blutes. Pflüger's Archiv. Bd. IX und XI. 1874. S. 356.
9. Hlava, Die Beziehungen der Blutplättchen Bizzozero's zur Blutgerinnung und Thrombose. Ein Beitrag zur Histiogenese des Fibrins. Archiv für experimentelle Pathologie. Bd. XVII. 1882.
10. Eberth und Schimmelbusch, a) Die Blutplättchen und die Blutgerinnung. Virchow's Archiv. Bd. CI. 1885.
b) Experimentelle Untersuchungen über Thrombose. Virchow's Archiv. Bd. CIII.
11. Löwit, Mittheilung über die Bedeutung der Blutplättchen. Sitzungsber. der Academ. d. Wissenschaften. 1884. XC. S. 80.

12. Lilienfeld, a) Ueber die chemische Beschaffenheit und Abstammung der Plättchen. Centralblatt für allg. Pathol. und pathol. Anatomie. Bd. II. 1891.
b) Ueber Leykocyten und Blutgerinnung. Verh. der physiologischen Gesellschaft zu Berlin. 1892. 8. April.
c) Hämathologische Untersuchungen. Ibidem. 1892.
13. Bizzozero, Ueber Blutplättchenzählung. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. 1892.
14. Mosen, Herstellung wägbarer Mengen von Blutplättchen. Archiv für Physiologie. II. Leipzig 1893.
15. Marquis, Das Knochenmark der Amphibien in den verschiedenen Jahreszeiten. Dissertation. Dorpat 1892.
16. Eliasberg, Experimentelle Untersuchung über die Blutbildung in der Milz der Säugethiere. Dissertation. Dorpat 1893.
17. Schumacher, Pharmakologische Studien über die Auswanderung farbloser Blutkörperchen. Dissertation. Dorpat 1892.
18. A. Schmidt, Zur Blutlehre. 1892.
19. Slevogt, Ueber die im Blut der Säugethiere vorkommenden Körnchenbildungen. Dorpat 1893.

Thesen.

1. Die Entstehung der fertigen rothen Blutkörper der Säugethiere aus ihren kernhaltigen Vorstufen ist noch nicht klargestellt.
2. Die Herstellungsmöglichkeit grösserer Plättchenmengen giebt zugleich die Möglichkeit, die chemische Natur derselben näher zu erforschen.
3. Die Blutplättchen des Frosches sind andere Gebilde als die von Hayem, Bizzozero, Eberth und Schimmelbusch beschriebenen, also nicht identisch mit den sogenannten Spindeln.
4. Die Aetiologie des Kropfes ist vollständig dunkel.
5. Die puerperale Eklampsie beruht auf einer Intoxikation des Organismus mit einem gewissen, in demselben entstehenden Stoffe.
6. Die Morphinum-Chloroformanwendung bei der Eklampsie ist nicht zu empfehlen.

