

## XII.

### Untersuchungen über die Blutplättchen.

Von

Dr. Deetjen,

Assistenten am physiologischen Institut zu Kiel.

(Hierzu Taf. VII.)

Die Frage nach dem Wesen und der Bedeutung des dritten Formbestandtheiles des Blutes, der sogenannten Blutplättchen, hat seit der Zeit, wo Hayem <sup>1)</sup> und später Bizzozero <sup>2)</sup> ihre eingehenden Untersuchungen über diese kleinsten Elemente des Blutes veröffentlichten, eine ganze Anzahl von Forschern beschäftigt. So zahlreich aber die Untersuchungen sind, ebenso verschieden fast sind die Ansichten über die Natur dieser eigenthümlichen Gebilde geblieben.

Es wird nicht nöthig sein, hier noch einmal die Literatur über diesen Gegenstand anzuführen, da dieselben in den grösseren Arbeiten über die Blutplättchen, welche in den letzten Jahren erschienen sind, so besonders in den Abhandlungen von Arnold <sup>3)</sup> und Determann <sup>4)</sup> eine eingehendere Berücksichtigung gefunden hat<sup>5)</sup>. Diejenigen von den bisherigen Untersuchungen, welche ganz besonders von Wichtigkeit zu sein scheinen für die in vorliegender Arbeit vertretenen Anschauungen, werde ich noch am Schlusse anzuführen haben.

Die grössere Anzahl der Untersucher will die Blutplättchen

<sup>1)</sup> Hayem, Recherches sur l'évolution des hématies. Archives de Physiologie. S. II. T. V. 1878.

<sup>2)</sup> Bizzozero, Dieses Archiv. Bd. 90. 1882.

<sup>3)</sup> Arnold, Zur Morphologie und Biologie der rothen Blutkörper, Dieses Arch. Bd. 145. 1896.

<sup>4)</sup> Determann, Klinische Untersuchungen über die Blutplättchen. Deutsches Arch. f. Klin. Med. Bd. 61. 1898.

<sup>5)</sup> Am Ausführlichsten ist die Literatur in der neuerdings erschienenen Arbeit von Schwalbe („Untersuchungen zur Blut-Gerinnung“. Braunschweig, Vieweg. 1901) enthalten.

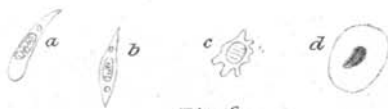
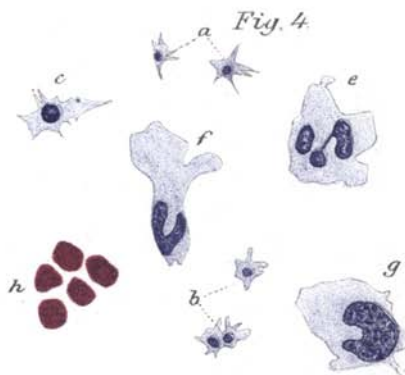
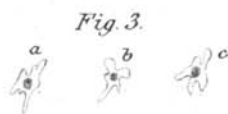
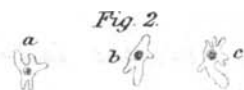
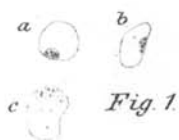
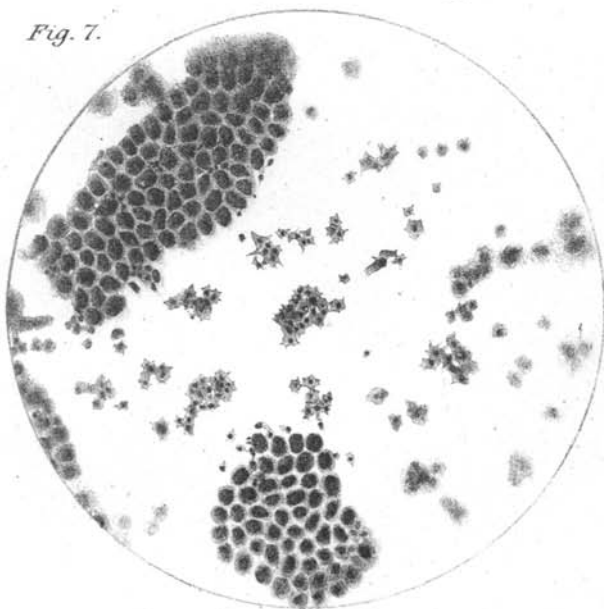


Fig. 7.



als Degenerations-Producte, entweder der Leukocyten oder der rothen Blutzellen aufgefasst wissen; einige wollen in ihnen überhaupt nur Kunstproducte sehen, nur wenige betrachten sie als mehr selbständige Gebilde, ohne aber etwas Sicheres über ihre Natur und Bedeutung angeben zu können.

Wenn ich in der vorliegenden Arbeit zu einem in Manchem von den bisherigen Anschauungen abweichenden Resultate gekommen bin, das sich kurz darin zusammenfassen lässt, dass die Blutplättchen aus Kern und Protoplasma bestehen, und lebhafter amoeboider Bewegung fähig sind, so liegt das wesentlich daran, dass ich eine besondere, bisher nicht übliche Methode der Blut-Untersuchung anwandte. Die Untersuchungen, über deren Ergebnisse ich zum Theil schon vor etwa einem Jahre im Physiologischen Verein zu Kiel berichten konnte, wurden in der Hauptsache im Pathologischen Institute zu Kiel ausgeführt, und dann im Physiologischen Institut beendet. Ich benutze gern die Gelegenheit, an dieser Stelle meinem hochverehrten früheren Chef, Herrn Professor Heller, sowie meinem jetzigen Chef, Herrn Professor Hensen, für das grosse Interesse und für das freundliche Entgegenkommen, welches sie mir bei der Ausführung der Arbeit bewiesen, meinen Dank auszusprechen.

Zur Untersuchung der Blutplättchen wurde ich im Verlaufe einer Arbeit über die Leukocyten veranlasst. Es lag mir damals daran, womöglich eine Methode ausfindig zu machen, welche es gestattete, die lebhaften Gestalts-Veränderungen, welche die weissen Blutkörperchen des Menschen zeigen, wenn sie ausserhalb des Körpers auf dem erwärmten Objecttisch untersucht werden, unmittelbar am Deckglase zu fixiren. Die Schwierigkeit bestand dabei darin, das Blut gleichzeitig in dünner Schicht auszubreiten, und es dennoch vor dem Antrocknen zu schützen. Um dies zu erreichen, ging ich so vor, dass ich den Blutstropfen nicht auf Glas, sondern auf eine Schicht von Agar brachte, und dann mit einem Deckglase bedeckte. Ich benutzte dabei zunächst einen Agar, der in ähnlicher Weise, wie es in der bakteriologischen Technik gebräuchlich ist, mit Zusatz von Fleischwasser hergestellt war. Die Fixirung gelingt dann leicht, wie später genauer beschrieben werden wird, mit Hülfe von

Osmiumsäure. Bei der Durchsicht der auf solche Weise fixirten und dann gefärbten Präparate fiel es auf, dass bisweilen neben den Leukocyten in ihren mannigfachen Bewegungszuständen noch zahlreiche kleinste Körperchen sichtbar waren, an welchen eine durch Kernfarben färbbare Substanz und ein zartes Protoplasma unterschieden werden konnte.

Die verschiedenen Formen dieser Gebilde mit ihren zarten Ausläufern und Fortsätzen liessen darauf schliessen, dass es bewegungsfähige Körperchen sein müssten, wie sich dann auch durch Beobachtung des frischen Präparates bestätigte. Ihre Zahl, ihre Grösse und ihr ganzes Aussehen kurz nach Entnahme des Blutes machten es unzweifelhaft, dass sie identisch waren mit den sogenannten Blutplättchen. Von diesen weiss man aber, dass sie für gewöhnlich ausserhalb des Kreislaufes in sehr kurzer Zeit zu Grunde gehen, indem sie unter Quellungs-Erscheinungen zu blassen, kaum sichtbaren Protoplasmaschollen sich umwandeln. Wenn sie daher auf dem Agar ganz anders sich verhielten, wenn sie dort als zellige Gebilde mit Kern und Protoplasma und amoeboider Beweglichkeit erschienen, so konnte das nur daran liegen, dass durch die Untersuchung auf Agar irgendwelche günstige Bedingungen geschaffen waren, welche das rasche Absterben verhinderten.

Es lag mir daran, diese Bedingungen genauer kennen zu lernen, weil die Resultate, welche man bei der Anwendung des Fleischwasser-Agars erhielt, doch recht ungenügend waren. Die Bewegungen der Plättchen konnten nicht immer mit Sicherheit beobachtet werden, und auch die Färbung der fixirten Präparate blieb häufig unvollkommen. Eine Anzahl von Beobachtungen, auf die im Einzelnen einzugehen zu weit führen würde, legte die Vermuthung nahe, dass die Anwesenheit gewisser Salze, und zwar vor Allem von Phosphaten, für die Erhaltung der Lebensthätigkeit der Plättchen von Bedeutung sein müsse.

Die ersten Untersuchungen, die ich in dieser Richtung anstellte, indem ich zu einem Agar, dem ich ausser NaCl noch Salze der Orthophosphorsäure zusetzte, fielen negativ aus. Da aber möglicherweise die Ursache hiervon in der theilweisen Ausfüllung der Phosphate in Folge des Kalkgehaltes des Agars liegen konnte, machte ich einen Versuch mit der Anwendung

von metaphosphorsaurem Natron,  $\text{NaPO}_3$ , wobei diese Fällung vermieden wurde. Das Ergebniss war, wenn genügende Menge des Salzes zugesetzt wurde, ein überraschend gutes; die Erhaltung der Blutplättchen gelang vollkommen.

Es zeigte sich später, dass diese besondere Eigenschaft, die Plättchen vor dem Untergang zu schützen, nur dem Metaphosphat zukommt, während die übrigen Phosphor-Verbindungen, auch wenn ihre Ausfällung verhindert wird, nicht den raschen Zerfall der Blutplättchen aufhalten können.

Um die Wirkung des metaphosphorsauren Natrons kennen zu lernen, wird es zweckmässig sein, zunächst das Verhalten der Blutplättchen auf einem Agar, dem nur  $\text{NaCl}$  zugesetzt ist, zu beobachten. Man bereitet sich zunächst eine etwa einprocentige Agar-Lösung, in welcher nach dem Filtriren 0,6 pCt.  $\text{NaCl}$  gelöst werden. Von dieser Lösung lässt man einige Tropfen auf einen Objectträger fliessen und wartet, bis der Agar erkaltet ist. Auf die erstarrte Schicht bringt man dann ein aus der Fingerspitze entnommenes Bluttröpfchen, das mit einem Deckglase bedeckt wird. Wenn man dann das Präparat auf dem erwärmten Objecttisch untersucht, so sieht man, wie das Blut sich zu einer dünnen Schicht ausgebreitet hat, in welcher alle einzelnen Elemente deutlich zu erkennen sind. Die Leukocyten beginnen sehr bald ihre amoeboiden Bewegungen, die sie für längere Zeit beibehalten.

Die Blutplättchen sind zu Anfang sehr leicht als rundliche oder elliptische Scheiben, die vielfach in grösseren Haufen zusammenliegen, zu erkennen. Aber schon sehr bald, nach 1 bis 2 Minuten, verändern sie sich, indem sie sich in eine stärker lichtbrechende Substanz und in eine diese umgebendes hyalines Plasma differenziren. Weiterhin schwillt dieses letztere mehr und mehr an und wird immer zarter und blasser, während die stärker lichtbrechende Masse sich zu Körnern auflöst, die meist peripherisch gelagert sind (Fig. I a, b u. c). Die Blutplättchen sind also unter Quellungs-Erscheinungen zu Grunde gegangen.

Wesentlich anders verhalten sich die Blutplättchen, wenn zu demselben Agar noch 0,6 g Natriummetaphosphat zugesetzt werden. Zweckmässig ist es ausserdem noch, etwa 0,3 g Dikaliumphosphat  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  hinzuzufügen, da dann die zu beo-

bachtenden Bewegungen der Leukocyten und Blutplättchen lebhafter sind. Doch ist für die Erhaltung des Lebens der Blutplättchen nur die Anwesenheit des Metaphosphates maassgebend, wie nachher gezeigt werden wird. Untersucht man auf einem solchen Agar das Blut in derselben Weise, wie vorher, so sieht man, wie schon sehr bald nach Entnahme die Leukocyten anfangen sich zu bewegen, und schon nach etwa 5 Minuten kann man beobachten, wie sie auf das Lebhafteste umherkriechen, wobei sie häufig mit grosser Energie zwischen den ihnen im Wege stehenden Blutzellen sich einen Weg bahnen.

Meist zu derselben Zeit, manchmal aber auch etwas früher oder später nimmt man Veränderungen an den Blutplättchen wahr, welche in den ersten Augenblicken als rundliche oder ovale Scheibchen sehr leicht und in grosser Zahl zu erkennen sind. Indem sie diesen Zustand der Ruhe, der vergleichbar ist mit der Kugelform, welchen die Leukocyten während der Contraction zeigen, aufgeben, werden sie breiter und lassen zwei verschiedene Substanzen deutlich werden, einen stärker lichtbrechenden Innenkörper von rundlicher Gestalt und grünlichem Glanze, und ein mehr blasses Protoplasma. Dieses Protoplasma wechselt in der Folge ausserordentlich lebhaft seine Gestalt, indem es in Form von rundlichen oder spitzen Pseudopodien ausgestreckt wird, die in beständiger Bewegung sind, indem sie bald an dieser, bald an jener Stelle sich ausstrecken oder wieder einziehen, so dass die äusseren Umrisse des ganzen Plättchens fortwährend wechseln. In Fig. 2, a, b, c u. Fig. 3 a, b, c habe ich versucht, einige solcher Bewegungen und Gestalts-Veränderungen, wie sie an solchen Körperchen in weniger als einer halben Minute vor sich gingen, nachzuzeichnen. Doch kann von einem wirklichen Nachzeichnen nicht die Rede sein, da wenigstens dann, wenn die Zusammensetzung des Agars günstig war, die Veränderungen viel zu lebhaft dafür sind. Häufig sieht man auch die Plättchen während dieser Bewegungen langsam auf dem Agar dahinwandern. Es sind ganz unzweifelhaft amoeboide, selbständige Bewegungen, welche hier von den Blutplättchen ausgeführt werden.

Sowohl die kleinsten, wie die grössten Formen zeigen die Fähigkeit, sich zu bewegen. Doch sind nicht immer alle Körper-

chen in Thätigkeit. Während einige lebhaft ihre Gestalt verändern können, bleiben andere im Ruhezustand, ähnlich wie das auch bei den weissen Blutkörperchen zu beobachten ist. Hat man das Präparat vor Verdunstung geschützt, so kann man an einem und demselben Blutplättchen meist noch nach Stunden, (bis zu 4 Stunden nach Entnahme), die Bewegungen verfolgen. Für gewöhnlich gehen die beständigen Veränderungen der Form zu Beginn noch langsam vor sich, um dann im Verlaufe der ersten halben Stunde immer lebhafter zu werden, und erst ganz allmählich, nach 2 bis 3 Stunden, wenn die ersten Absterbe-Erscheinungen auftreten, wieder träger zu werden. Doch beobachtet man auch bisweilen, dass ein Blutplättchen, zu Anfang lebhaft beweglich, schon sehr bald wieder erlahmt, und sich zur ursprünglichen Scheibenform zusammenzieht.

Wesentlich länger können sowohl die Leukocyten, wie die Blutplättchen am Leben erhalten werden, wenn man das Präparat nicht bei Körpertemperatur, sondern bei Zimmerwärme stehen lässt. Noch nach mehr als 24 Stunden nach Entnahme des Blutes habe ich, nachdem der Objectträger nach dieser Zeit unter das erwärmte Mikroskop gebracht war, Blutplättchen deutlich sich bewegen sehen. Wenn man bedenkt, wie rasch, innerhalb weniger Minuten, die Blutplättchen unter gewöhnlichen Bedingungen zu Grunde gehen, muss diese lange Dauer der Erhaltung des Lebens, die nur abhängig ist von der Gegenwart von  $\text{Na PO}_3$ , sehr auffällig sein. Sie spricht dafür, dass es thatsächlich amoeboide Bewegungen sind, welche hier zur Beobachtung kommen, und nicht etwa durch Strömungen der umgebenden Flüssigkeit oder Diffusionsvorgänge hervorgerufene Gestalts-Veränderungen, ganz abgesehen davon, dass die ganze Art der Bewegungen, das Wandern auf dem Agar, eine solche Möglichkeit ausschliesst.

Die Lebhaftigkeit der Bewegungen ist von einer Reihe von Bedingungen abhängig, sowohl physikalischen, wie vor Allem chemischen. Obwohl auch bei Zimmertemperatur das Motilitäts-Vermögen der Plättchen beobachtet werden kann, so ist es doch zweifellos lebhafter, bei einer Temperatur, die der Bluttemperatur gleich kommt, und scheint bei etwas höheren Wärmegraden, bei ca.  $40^\circ$ , am stärksten zu sein.

Noch grösseren Einfluss hat die Concentration der Salze auf die Lebensthätigkeit. Ein zu hoher Gehalt an NaCl beeinträchtigt die Bewegungen, während geringere Grade eher begünstigend wirken, wenn sie nicht bis unter ein gewisses Maass (etwa 0,4 pCt. NaCl), wobei Quellung eintritt, herunter sinkt. Von  $K_2HPO_4$  kann sowohl zu wenig, wie zu viel die Bewegungen verlangsamen. Für  $NaPO_3$  gilt, dass ein zu wenig sofort die Veranlassung wird, dass die Plättchen zu Grunde gehen. Das Minimum des Gehaltes ist etwa 0,4 pCt., das Maximum etwa 1 pCt. Setzt man noch mehr zu, so zeigen die Plättchen fast gar keine Veränderungen mehr, sondern behalten dauernd den Zustand der Contraction, den sie gleich nach Entnahme des Blutes zeigen. Ebenso kann noch eine Reihe von weniger controllirbaren Momenten, deren Ursache wohl in der Zusammensetzung des Blutes selbst zu suchen ist, auf die Erhöhung oder Herabsetzung der Beweglichkeit von Einfluss sein, ähnlich, wie das für die Leukocyten schon länger bekannt ist.

Die Erscheinungen des Absterbens zeigen sich an den Blutplättchen entweder in derselben Weise, wie bei der Untersuchung auf Kochsalz-Agar, also dadurch, dass sie blass werden und quellen, oder aber, dass sie zu langgezogenen Protoplasma-Fetzen sich umwandeln, wobei die lichtbrechende Substanz sich in Körnchen auflöst. Bisweilen sind auch Vacuolen zu erkennen, die noch viel zahlreicher in den degenerirenden Leukocyten-Leibern auftreten.

Die Fixirung der Bewegungszustände der Blutplättchen gelingt leicht nach der schon angedeuteten Methode. Entweder kann man so vorgehen, dass man ein Stückchen Fliesspapier, welches man, ehe das Deckglas aufgelegt wurde, neben den Agarstreifen gebracht hatte, mit Osmiumsäure tränkt und so die Dämpfe wirken lässt, oder indem man einfach vom Rande her irgend eine Fixierungsflüssigkeit zufließen lässt. Von allen Fixierungslösungen hat sich mir bisher die Osmiumsäure oder die Osmiumgemische (Flemming'sche Lösung) sowohl hinsichtlich der Conservirung, wie der Färbung am Besten bewährt. Für gewöhnlich verwende ich eine 1 pCt. Osmiumsäure-Lösung. Lässt man diese vom Rande her zufließen, so kann man direct unter dem Mikroskop die Art ihrer Einwirkung beobachten. Die



Osmiumsäure diffundirt langsam vom Rande nach der Mitte des Präparates hin, indem sie überall bei ihrem Vordringen die Bewegungen der Plättchen und weissen Blutkörperchen momentan lähmt. Während also die Leukocyten am Rande schon getödtet sind, sieht man sie weiter nach der Mitte noch genau in derselben Weise wie vorher umherkriechen, bis sie auch hier plötzlich wie erstarrt liegen bleiben, ohne dass irgend welche Schrumpfung zu sehen wäre. Die Fixirung ist so gut, dass es dem nicht Geübten bisweilen nur dadurch möglich wird, zu unterscheiden, ob ein weisses Blutkörperchen oder ein Plättchen noch lebend oder schon todt ist, dass er beobachtet, ob das betreffende Körperchen noch Bewegungen ausführt oder nicht. Aehnlich gut werden auch die rothen Blutzellen erhalten, nur wird ihre Farbe ein wenig blasser.

Etwa 3 bis 5 Minuten nach Beginn des Osmium-Zusatzes sind alle körperlichen Elemente des Blutes fixirt. Man kann dann das Deckglas abheben und irgend ein Farbmittel darauf einwirken lassen.

Sehr gute Färbungen erhält man mit allen Anilinfarben. Für Dauerpräparate ist aber Färbung mit Hämatoxylin oder Hämatoxylin und Eosin vorzuziehen.

An gut erhaltenen Präparaten kann man bei Hämatoxylin-Färbung das Vorhandensein zweier verschiedener Substanzen in den Blutplättchen feststellen, einen Innenkörper, der deutlich durch Hämatoxylin tingirt wird, und eine protoplasmatische Substanz, welche stärker die Protoplasma-Farben annimmt. Der Innenkörper, welcher der mehr lichtbrechenden Substanz, die am lebenden Object sichtbar war, entspricht, färbt sich nur dann leicht und intensiv mit Hämatoxylin, wenn noch keinerlei Absterbe-Erscheinungen vorhanden sind, wenn auch äusserlich die Plättchen vollkommen das Bild gut erhaltener Zellen darbieten. An solchen guten Präparaten ist der Innenkörper von runder Form, bisweilen central oder ein wenig peripherisch gelegen. (Fig. 4 a, b). Sein Verhalten gegen Hämatoxylin, sowie gegen Anilinfarben, bei deren Anwendung er denselben Farbenton annimmt, wie der Kern der Leukocyten, sprechen dafür, dass er aus Kernsubstanz besteht. Schwieriger ist die Frage zu entscheiden, ob wir es mit einem wahren Kern oder nur einer

Anhäufung von Chromatinsubstanz zu thun haben, wie es von Mosen<sup>1)</sup> angenommen wird. Was die Deutung der Befunde erschwert, ist einmal die Kleinheit der Objecte, welche natürlich das Studium etwaiger feinerer Structurverhältnisse des Kerns sehr beeinträchtigt, und zweitens die geringe Widerstandsfähigkeit der Plättchen, und vor Allem gerade der Nucleinsubstanz gegen äussere Einflüsse. Dadurch werden wir genöthigt, sehr vorsichtig zu sein in der Auslegung des Gesehenen, denn nicht immer wird es leicht sein, mit Sicherheit zu sagen, was normal und was schon pathologisch verändert ist.

Trotzdem glaube ich die Frage, ob der Innenkörper wirklich als Kern aufzufassen ist, bejahend beantworten zu müssen, und zwar zunächst auf Grund der Untersuchung der lebenden Blutplättchen. Wenn wir nemlich an diesen den Innenkörper, der durch seinen grünlichen Glanz auffallend ist, bei stärkerer Vergrösserung uns ansehen, so zeigt sich deutlich, dass er aus zwei Substanzen besteht, einer stärker und einer schwächer lichtbrechenden. Die stärker brechende Substanz scheint in Form eines Gerüstwerkes angeordnet, welches in seinen Maschen die geringer brechende einschliesst. (Taf. VII Fig. 5.)

Wenn ich von einem Gerüstwerk spreche, so soll damit nur gesagt werden, dass eine bestimmte Anordnung der brechenden Substanz zu erkennen ist, die in Wirklichkeit aus nebeneinander gereihten Körnchen zu bestehen scheint. Doch ist, wie schon gesagt, gerade die Entscheidung über den feineren Bau und Zusammensetzung dieser Substanz sehr schwierig.

Sie wird auch nicht erleichtert durch die Untersuchung gefärbter Präparate, welche nur soviel sicher sagen lässt, dass in dem Kernkörper sich eine stärker färbbare, also chromatinreichere Substanz von einer weniger färbbaren differenziren lässt, wobei die stärker färbbaren Partien den durch ihre grössere Lichtbrechung sich auszeichnenden der lebenden Objecte entsprechen.

Wir finden also eine Anordnung der Innensubstanz, welche derjenigen, welche auch sonst in grösseren Zellen sich findet,

<sup>1)</sup> Mosen, Die Herstellung wägbarer Mengen von Blutplättchen. Arch. f. Physiol. 1893.

ähnlich ist, und die Auffassung unterstützt, dass wir es wirklich mit einem Kern zu thun haben. Der Nachweis des Chromatin-Gerüsts in den fixirten Zellen ist nicht ganz leicht, weil die Maschen der weniger tingiblen Zwischensubstanz sehr eng sind und bei geringer Ueberfärbung ganz verschwinden. Am Besten gelingt die isolirte Färbung der Chromatin-Fäden resp. -Körner, nach Fixirung mit Flemming'scher Lösung, mit Methylenblau oder auch mit Eisen-Hämotoxylin nach der Heidenhain'schen Methode.

Eine weitere Frage wäre die, ob eine Kernmembran vorhanden ist. Obwohl der Kern ziemlich scharf von dem Protoplasma abgegrenzt ist, so habe ich doch nichts sehen können, was auf die Anwesenheit einer Membran deuten könnte. Gegen das Vorhandensein einer solchen könnte vielleicht auch der Umstand sprechen, dass man so häufig an degenerirenden Zellen einen Austritt von Kernsubstanz in das Protoplasma in Gestalt von feinsten Körnchen findet. Ueberhaupt wird man wohl annehmen können, dass der Kern der Plättchen viel labiler zusammengesetzt ist, als z. B. der Kern der weissen Blutkörperchen, von dem er sich auch durch sein stärkeres Lichtbrechungsvermögen unterscheidet. Der wenig feste Aufbau der Kernsubstanz zeigt sich in der geringen Resistenz derselben gegenüber äusseren Einwirkungen, welche dahin führen, dass auch schon in den Anfängen der Degeneration wesentliche Veränderungen des Kerns in seiner chemischen, wie physikalischen Zusammensetzung eintreten. So hat man bisweilen Schwierigkeiten, gute und deutliche Kernfärbungen zu bekommen, trotzdem der Kern zur Zeit der Fixirung noch sichtbar war. Man muss nach meinen Erfahrungen annehmen, dass dann schon eine äusserlich nicht erkennbare Umwandlung der Chromatinsubstanz eingetreten ist. Wirklich vollkommen gut erhaltene Kerne nehmen bei der angewandten Fixirungsmethode das Hämotoxylin immer rasch und leicht an. Bei weiter fortgeschrittener Degeneration des Plättchens, wenn die ersten Quellungs-Erscheinungen am Protoplasma auftreten, verliert der Kern seine runde Gestalt, er wird eckig und kantig. Schliesslich löst er sich anscheinend ganz in feinste Körnchen auf, welche sich im Protoplasma vertheilen.

Da bei gut erhaltenen Plättchen die Kernfärbung nicht schwierig ist, so müsste man annehmen, dass in einem gewöhnlichen Ausstrich- und Trockenpräparat des Blutes der Kern ebenfalls leicht nachweisbar wäre. Merkwürdigerweise finden sich aber fast gar keine Angaben darüber, dass in Trockenpräparaten mit Hilfe von Hämatoxylin Kernfärbung der Plättchen erzielt wäre. Nur Hayem giebt an, dass es ihm gelungen sei, mit Hämatoxylin einen Kern nachzuweisen. Seine Methode ist aber nicht ganz einwandfrei, da er die Anweisung giebt, das Präparat sehr lange in der Farblösung zu lassen. Er widerruft dann auch in einer späteren Abhandlung seine frühere Behauptung.

Ich finde nun aber, dass es durchaus nicht schwer ist, auch im Trockenpräparat die Kerne der Blutplättchen zu färben. Es kommt im Wesentlichen nur auf die Art und vor Allem auf die Dauer der Fixirung an. Sowie man zu lange das Fixierungsmittel einwirken lässt, gelingt die Färbung nicht mehr. Im Allgemeinen wird man aber wohl immer Deckglaspräparate zu lange fixirt haben, weil das Hämoglobin der rothen Blutzellen, um sich gut färben zu lassen, einer längeren Fixirung bedarf, als der Kern. Das ist der Grund, weswegen man in Ausstrichpräparaten, die durch zweistündige Erhitzung auf  $120^{\circ}$  fixirt wurden, von den Blutplättchen so gut wie garnichts zu sehen bekommt.

In folgender Weise erhalte ich an Ausstrichpräparaten immer sehr deutliche Kernfärbung der Plättchen. Fixirung in Alkohol 96 pCt. 1 bis 2 Minuten; Lufttrocken werden lassen; Nachfixiren in  $\frac{1}{2}$  pCt. Formalin-Lösung 3 bis 5 Min.<sup>1)</sup>, Abspülen in Wasser (ohne vorher wieder trocken werden zu lassen). Färben mit Hämatoxylin nach Ehrlich oder Delafield. Die Kerne der Blutplättchen sind dann deutlich blau. Bei Doppelfärbung mit Hämatoxylin und Eosin kann man um den Kern noch eine schmale, durch Eosin gefärbte Protoplasma-Zone erkennen. Details sind natürlich bei der ungemeinen Kleinheit der Blutplättchen in ihrem Contractions-Zustand nicht sichtbar. Mit Methylenblau

<sup>1)</sup> Am Besten nimmt man ältere Lösung, die einige Wochen am Licht gestanden hat.

und anderen Anilinfarben lassen sich die Plättchen nach dieser Methode ebenfalls sehr intensiv färben.

Die Ursache, warum in den Agar-Präparaten der Kern als solcher noch leichter zu erkennen ist, ist darin zu suchen, dass auf Agar die Plättchen sich ausgebreitet haben und so den Unterschied zwischen Kern und Protoplasma viel besser hervortreten lassen.

Das Protoplasma der Blutplättchen ist sehr zart und durchsichtig. An gefärbten Präparaten kann man bisweilen feinste Körnchen, ähnlich den Granulis der Leukocytenkörper in ihm erkennen, sowie eine sehr zarte und feine Streifung.

Es wurde schon gesagt, dass die Grösse der Blutplättchen sehr wechselnd ist. In Fig. 4 und Fig. 7 (letztere eine Photographie nach einem mit Hämatoxylin gefärbten Präparat), sind die verschiedensten Formen wiedergegeben. Natürlich sind die Plättchen im Bewegungszustand viel grösser, als in der Ruhe. Sie können dann die rothen Blutzellen an Ausdehnung übertreffen. Vergleicht man sie aber mit den Leukocyten, die sich auch gestreckt haben, so ist der Unterschied sehr in die Augen fallend. Ganz vereinzelt kommen allerdings Riesenformen vor, welche in ihrer Grösse von den uninucleären Lymphocyten sich nicht sehr unterscheiden. (Fig. 4 c). Diese grossen Elemente zeichnen sich aus durch ihre Beweglichkeit, auch sind sie etwas widerstandsfähiger, als die kleineren Formen. Aber dennoch sind sie von den kleinsten weissen Blutkörperchen, denen sie an Grösse nahekommen, wohl geschieden durch ihr ganzes Aussehen und ihr Verhalten, dass sie zwar als sehr grosse, aber doch typische Blutplättchen erkennen lässt, wie ich später noch ausführen werde. Solche Riesenplättchen scheinen bei krankhaften Zuständen häufiger vorzukommen.

Aus den so gewonnenen Resultaten der Beobachtung des lebenden Blutes, zusammen mit denen, welche die Untersuchung des fixirten Präparates ergibt, kommen wir zu dem Schluss, dass die Blutplättchen Zellen sind, die aus Kern und Protoplasma bestehen und amoeboider Bewegung fähig sind.

Ferner zeigte sich, dass die Blutplättchen ausserhalb des Körpers rasch zu Grunde gehen, besonders dann, wenn sie auf

einem Agar untersucht werden, welchem nur Kochsalz zugefügt ist, dass sie dagegen für längere Zeit am Leben erhalten werden können, wenn der Agar ausser Kochsalz noch metaphosphorsaures Natron enthält. Zunächst ist noch zu bemerken, dass es nicht unbedingt nöthig ist, die Untersuchung auf Agar vorzunehmen, wenn man sich von der Bedeutung des Metaphosphats für die Erhaltung der Blutplättchen überzeugen will. Auch in einer mit  $\text{NaPO}_3$  versetzten Kochsalzlösung bleiben die Plättchen lange Zeit lebensfähig; nur sind ihre Bewegungen dann deshalb schwerer zu erkennen, weil sie, innerhalb der Flüssigkeit schwimmend, ähnlich wie die weissen Blutkörperchen, nach allen Seiten sehr kurze Fortsätze ausstrecken, während sie in der dünnen capillaren Schicht auf dem Agar nur in einer Ebene ihre Bewegungen ausführen können. Die Veränderungen der kurzen Fortsätze in der Lösung sind dann noch besonders deshalb so schwer zu verfolgen, weil kleinste Strömungen, durch welche die Blutplättchen um ihre Axe gerollt werden, nicht zu vermeiden sind. Es wird dann fast unmöglich zu entscheiden, was selbständige Formänderung ist, und was der äusseren Bewegung zugeschrieben werden muss.

Es wurde schon erwähnt, dass mit keinem anderen Salz bisher eine ähnliche Wirkung, wie mit dem Metaphosphat erzielt werden konnte. Besonders untersuchte ich die verschiedenen Phosphate auf ihren Einfluss auf die Blutplättchen. Aber weder Ortho- und Pyrophosphate, noch die Salze der phosphorigen und unterphosphorigen Säure waren im Stande, das Leben der Plättchen zu erhalten. Da bei einigen der Salze bei Zusatz zum Agar eine Ausfällung derselben als Kalksalze eintritt, so z. B. bei Dinatriumphosphat, ging ich so vor, dass ich zunächst etwas  $\text{NaPO}_3$  (0,1 pCt.) und dann erst  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  zufügte. Dadurch kann die Fällung vermieden werden. Der Untergang der Blutplättchen würde aber auch so nicht verhindert; im Gegentheil, sie starben rascher ab, als auf dem Kochsalzagar.

Die Abhängigkeit der Lebenserscheinungen gerade von der metaphosphorsauren Verbindung ergibt sich am Deutlichsten daraus, dass ein vorher gut wirkender Agar durch Kochen sehr bald unbrauchbar wird und die Blutplättchen rasch zu Quellung bringt. Beim Kochen geht nemlich ein Theil des Metaphos-

phats in das Salz der Orthophosphorsäure über. ( $\text{NaPO}_3 + \text{H}_2\text{O} = \text{NaH}_2\text{PO}_4$ ).

Es fragt sich nun, wie wir uns etwa diese ganz besondere Wirkung des metaphosphorsauren Natrons erklären können.

Die mikroskopische Untersuchung weist darauf hin, dass die Erhaltung des Lebens durch die Unversehrtheit des Kerns bedingt zu sein scheint, da die ersten Degenerations-Erscheinungen an diesem auftreten, noch bevor die Zelle ihre volle Beweglichkeit eingebüsst hat.

Man könnte deshalb an eine Beziehung der Metaphosphorsäure zur Kernsubstanz denken. Nun hat vor einiger Zeit Liebermann<sup>1)</sup> die Hypothese aufgestellt, dass die Nucleine Verbindungen der Eiweisskörper mit Metaphosphorsäure sind. Schliesst man sich dieser Annahme an, so wäre es wohl möglich, sich vorzustellen, dass bei der Thätigkeit der Blutplättchen ein rascher Umsatz der Nuclein-Substanz stattfindet, deren Neuaufbau nur bei Gegenwart der Metaphosphorsäure möglich wäre. Nicht widersprechen würde dieser Auffassung die Beobachtung, die schon von Hayem gemacht wurde, dass die Blutplättchen bei niedrigen Temperaturen lange Zeit unverändert erscheinen. Denn in diesem Fall sind die Lebens-Aeusserungen, und damit auch wohl der Umsatz der Kernsubstanz, sehr gering. Dasselbe wird eintreten, wenn durch gerinnungshemmende Mittel, wie Blutegel-Extract, die zugleich lähmend auf die amoeboiden Bewegungen wirken, die Blutplättchen conservirt werden. Fraglich muss es noch bleiben, ob auch im Körper die Gegenwart metaphosphorsaurer Salze die Blutplättchen vor Zerfall schützt. Nach Halliburton<sup>2)</sup> ist es noch ungewiss, ob die Phosphate des Plasma meta- oder orthophosphorsaure Salze sind.

Möglicher Weise können hier aber auch ganz andere Körper die Assimilation vermitteln, für welche nur ausserhalb des Kreislaufes das Metaphosphat ersatzweise eintreten kann.

Eine andere Erklärung für die Wirkung des  $\text{NaPO}_3$  könnte vielleicht in der eigenthümlichen Erscheinung gesucht werden, dass metaphosphorsaures Natron die Gerinnung des Blutes ver-

<sup>1)</sup> Ber. d. d. chem. Gesellschaft. 21. 598—600.

<sup>2)</sup> Halliburton und Kaiser. „Lehrbuch der chemischen Physiologie und Pathologie“ Heidelberg. 1893. S. 268.

hindert. Mit der Untersuchung der Verhinderung der Faserstoffbildung bin ich noch beschäftigt und deshalb ausser Stande, schon jetzt zu sagen, in wie weit die Gerinnungshemmung für die Erhaltung des Lebens der Blutplättchen in Betracht kommt. Man kann ja auch daran denken, dass das Ausbleiben der Fibrinbildung die Folge der Erhaltung der Blut-Elemente ist. Dadurch wird die Frage nicht unerheblich complicirt.

Mit dem Nachweis, dass die Blutplättchen kernhaltige, bewegungsfähige Zellen sind, wurde von vorneherein eine Reihe von Anschauungen über das Wesen dieser Gebilde, wie sie bisher noch vielfach vertreten wurden, hinfällig. So muss die Hypothese, dass die Blutplättchen nichts weiter als Kunstproducte, Niederschläge aus dem Plasma seien, wie sie z. B. von Loewit<sup>1)</sup> und Wooldridge<sup>2)</sup> aufgestellt wurde, natürlich verlassen werden.

Ebenso wenig aber scheint es möglich zu sein, die Lehre, welche noch so viele Anhänger hat, dass die Blutplättchen als Degenerations-Producte entweder der rothen, oder der weissen Blutzellen anzusehen sind, aufrecht zu halten. Hiergegen spricht der Nachweis eines in bestimmter Structur aufgebauten Kerns, und der Verlust dieses Aufbaus der Nuclein-Substanz bei geringer Veränderung des Gehaltes an anorganischen Salzen in der Untersuchungsflüssigkeit. Schon degenerirte Zellen pflegen viel weniger empfindlich zu sein gegen äussere Einflüsse, wie die noch intacte Zelle. Es ist deshalb gerade die leichte Veränderlichkeit, und das Absterben bei Fehlen eines bestimmten Salzes ein Beweis des Lebens der Blutplättchen, wie dies schon von Hayem<sup>3)</sup> erkannt wurde, wenn er von diesen sagt:

„C'est même un des plus vivants, peut-être le plus vivant des éléments anatomiques, à en juger par son extrême vulnérabilité“.

Schwieriger ist die Frage zu entscheiden, ob die Blutplättchen möglicherweise Abkömmlinge oder Vorstufen der rothen oder weissen Blutkörperchen sind. Bei der Beobachtung der

<sup>1)</sup> Dieses Archiv Bd. 117.

<sup>2)</sup> Wooldridge. Die Gerinnung des Blutes. Leipzig 1891.

<sup>3)</sup> Hayem. Archives de Physiologie normale et pathologique, III. S. II. 1883. S. 372.



lebenden Plättchen wird man zunächst an eine Verwandschaft mit den weissen Blutkörperchen denken, nach ihrem allgemeinen Verhalten und Aussehen. Trotzdem unterscheiden sie sich, wie wir schon gesehen haben, in manchen Punkten so wesentlich von ihnen, dass wir sie nicht als identisch mit jenen, etwa als sehr kleine Leukocyten ansehen könnten. Schon das starke Lichtbrechungsvermögen des Kernes, das diesem einen eigenthümlichen grünlichen Glanz verleiht, ist für die Plättchen sehr charakteristisch, und schützt sie einigermaassen vor einer Verwechslung mit den kleinsten Lymphocyten, vor denen sie auch durch grössere Beweglichkeit sich auszeichnen. Am wichtigsten ist das Verhalten gegen  $\text{Na PO}_3$ . Auch die kleinsten weissen Blutkörperchen zeigen nicht diese Abhängigkeit von der Zusammensetzung der Salzlösung in Bezug auf Erhaltung des Lebens und der Bewegung. Sie bleiben zwar auch länger und besser erhalten bei Anwesenheit von  $\text{Na PO}_3$ , können aber auch ohne dasselbe noch längere Zeit existiren.

Noch weniger Aehnlichkeit haben die Blutplättchen mit den rothen Blutzellen. Ich habe nie auch nur eine Andeutung von Hämoglobin in den von mir beschriebenen Formen der Plättchen sehen können. Ich will deshalb nicht die Richtigkeit der Beobachtung von Arnold<sup>1)</sup> und anderen Autoren bestreiten, welche behaupten, dass rothe Blutzellen in kleinere, runde, Hämoglobin-haltige Scheiben zerfallen können. Nur haben diese Zerfalls-Producte, wie sie unter mancherlei künstlichen Bedingungen, vielleicht aber auch im kreisenden Blute vorkommen können, ausser in ihrer Grösse und Form keine Aehnlichkeit mit den Elementen, welche ich als Blutplättchen bezeichne, und welche augenscheinlich identisch sind mit dem von Hayem und Bizzozero zuerst beschriebenen dritten Formbestandtheile des Blutes. Für diesen ist vor Allem charakteristisch Grösse und Aussehen im Ruhezustand; die Plättchen sind kleiner als die rothen Blutzellen, sie sind von runder oder häufiger elliptischer Gestalt; ferner ist ihre Zahl bedeutend grösser, als die der weissen Blutkörperchen, sie haben die Neigung, unter sich und an anderen Gegenständen fest-

<sup>1)</sup> Dieses Archiv Bd. 145. 1896.

zukleben, sie sind sehr wenig widerstandsfähig und zerfallen deshalb rasch nach Entnahme des Blutes. Alle diese Eigenschaften zeigen auch die von mir beschriebenen Elemente. Als besondere Merkmale wären nur hinzuzufügen ihr Verhalten gegen  $\text{Na PO}_3$ , ihre Fähigkeit, amoeboide Bewegungen auszuführen, und das Vorhandensein eines Kerns.

Ich neige dazu, auf Grund dieser charakteristischen Eigenschaften, die Blutplättchen für ganz selbständige Gebilde zu halten. Doch lässt sich darüber etwas Sichereres natürlich so lange nicht aussagen, als nicht ihre Entwicklung genauer bekannt ist. Die bis jetzt hierüber vorliegenden Untersuchungen sind nicht ganz einwandfrei, da sie sich zu sehr auf eine gewisse äussere Aehnlichkeit der beobachteten Formen mit den Plättchen stützen. Bei der Kleinheit der Objecte ist aber eine Verwechslung mit anderen Körpern zu leicht möglich. Nur eine differentielle Färbung würde Aussicht auf Erfolg geben können.

Die vorstehenden Untersuchungen beziehen sich zunächst nur auf die Blutplättchen des Säugethierblutes, vohrnehmlich des Menschen. Bei den Thieren mit kernhaltigen rothen Blutzellen kommen im Blute Zellen vor, die sogenannten „Spindeln“, welche von einigen Forschern als den Plättchen analoge Gebilde angesehen werden, trotzdem sie durch ihre Grösse und den leicht sichtbaren Kern von jenen sich unterscheiden. Meine Untersuchungen, die ich an den Spindeln des Froschblutes angestellt habe, scheinen mir sehr für eine solche Annahme zu sprechen, ohne dass ich aber schon jetzt ein festes Urtheil abgeben möchte.

Was bisher vor Allem die Anschauung, dass die Spindeln den Plättchen verwandte Zellen seien, unterstützte, war die Aehnlichkeit, welche sie in ihrem Verhalten ausserhalb des Kreislaufes mit den Blutplättchen zeigen, vor Allem ihre Vergänglichkeit und Neigung, unter sich und an anderen Gegenständen festzukleben. Beobachtet man Froschblut unmittelbar nach Entnahme, indem man aus dem eröffneten Herzen das Blut auf einem Deckglase auffängt und dann möglichst rasch unter dem Mikroskop ansieht, so wird man für einige Augenblicke neben den rothen und weissen Blutkörperchen noch sehr zahlreich die charakteristischen Spindeln erkennen, die durch

ihre langgestreckte ovale Form und ihren grossen Kern sofort auffallen und mit nichts anderem zu verwechseln sind (Fig. 6 a u. b). Lässt man das Blut in einer Capillare aufsteigen, die etwas Osmiumsäure enthält, so kann man sie leicht dauernd in dieser Form conserviren. Eine gewisse Aehnlichkeit mit den Blutplättchen der Säugethiere, wenn diese in derselben Weise fixirt werden, die dann auch in der Mehrzahl längliche, an den Enden zugespitzte Körperchen darstellen, lässt sich nicht verkennen. Frisch untersucht verlieren die Spindeln des Frosches rasch ihre ovale Gestalt, indem sie rundlicher werden, und indem zugleich das Protoplasma, das Anfangs scharf nach aussen abgegrenzt schien, jetzt in Form eines zarten Saumes mit unregelmässigen Rändern und kurzen Fortsätzen den grossen Kern umgiebt (Taf. VII, Fig. 6 b). In dieser Form verhalten sich die Zellen meist einige Zeit, äusserlich wenig verändert, nur wird das Plasma blasser, der Kern glänzender und seine feine Zeichnung undeutlicher, ein Zeichen der fortschreitenden Degeneration. Nach etwa einer Stunde, oft aber auch schon früher, ist das Aussehen der Spindeln aber schon wesentlich anders. Oberflächlich betrachtet, sieht man nur einen ganz homogenen, glänzenden Körper, den Kernrest. Das Protoplasma ist erst bei genauerem Zusehen als eine zarte, von einer überaus feinen Contour begrenzte, gequollene Scheibe zu erkennen (Taf. VII, Fig. 6 b). Einzelne Kern-Partikelchen findet man bisweilen losgebröckelt vom Kern in diesem Protoplasma liegen (Tafel VII, Fig. 6 e). Auch in dieser Form haben die Spindeln viel Aehnlichkeit mit den blasig gequollenen Blutplättchen der Säugethiere (Tafel VII, Fig. 1 a, b, c). Untersucht man nun Froschblut auf  $\text{Na Cl Agar} + \text{Na PO}_3$ , so verlieren die Spindeln ebenfalls rasch ihre ovale Gestalt und nehmen ein Aussehen an, wie es als erste Veränderung am frisch untersuchten Blut beschrieben wurde. Man kann dann weiterhin beobachten, wie das Protoplasma seine Bewegungen durch Ausstrecken kurzer Pseudopodien wechselt. Allerdings sind diese Bewegungen viel träger und langsamer, als an den Blutplättchen des Menschen. Aber auch die Leukocyten zeigen nur sehr geringe Beweglichkeit. Wahrscheinlich muss die Zusammensetzung des Agars, wenn sie günstig sein soll, für das Froschblut anders gewählt werden als für Säugethierblut. Was aber

leichter zu sehen ist und zugleich beweist, dass auch die Degeneration der Spindeln durch  $\text{Na PO}_3$  aufgehalten wird, das ist, dass der Kern für lange Zeit seine zarte Structur behält und nicht zu einer homogenen Masse umgewandelt wird.

Dieses Verhalten gegen  $\text{Na PO}_3$  scheint mir sehr für die Anschauung zu sprechen, dass die Spindeln Gebilde sind, die eine gleiche Stellung, wie die Blutplättchen der Säugetiere einnehmen. Es ist zu wünschen, dass eine Methode gefunden wird, durch welche die Spindeln besser und länger am Leben erhalten werden. Bei ihrer Grösse liesse sich dann eher hoffen, auch über ihre Abstammung und Bedeutung etwas zu erfahren, als an den kleinen und schwer zu beobachtenden Blutplättchen der Säugethiere.

#### Frühere Angaben über Kern und amöboide Bewegungen der Blutplättchen.

Bei der grossen Anzahl von Arbeiten über die Blutplättchen wäre es merkwürdig, wenn nicht schon von anderen Forschern gelegentlich die amöboiden Bewegungen gesehen sein sollten. Vor Allem werden wir Angaben über das Vorhandensein eines Kernes erwarten dürfen. In der That ist auch einer ganzen Reihe von Untersuchern die Aehnlichkeit der Plättchen mit den Leukocyten und besonders deren Kernen aufgefallen. Zum Theil werden sie als Kernreste oder zerfallende Kerne von rothen und weissen Blutkörperchen angesehen (M. Schultze<sup>1)</sup>, Czermak<sup>2)</sup>, Hlava<sup>3)</sup>, Gibson<sup>4)</sup>, Howell<sup>5)</sup> u. A.). Laker<sup>6)</sup> lässt die Frage offen, ob die Plättchen „Untergangs-Stadien der weissen Blutkörperchen oder gar Fortbildungs-Stadien“ sind. Lilienfeld<sup>7)</sup> lieferte den chemischen Nachweis von Nuclein-Substanz in den Plättchen. Er schlägt wegen des hohen Gehaltes an „Nucleo-Albumin“ den Namen „Nucleinplättchen“ für diese Ele-

<sup>1)</sup> Arch. f. mikrosk. Anatomie. Bd. 1, 1865.

<sup>2)</sup> Arch. f. mikrosk. Anatomie. Bd. 42, 1894.

<sup>3)</sup> Arch. f. experiment. Pathol. und Pharmakologie. Bd. 17, 1882.

<sup>4)</sup> The Journal of anatomy and physiology normal and pathological. Vol. 20, 1886.

<sup>5)</sup> Journal of Morphology. Vol. 4, 1891.

<sup>6)</sup> Sitzungsber. d. k. Acad. d. Wissensch. III. Abth., 1882.

<sup>7)</sup> Arch. f. Anatomie und Physiologie 1892.

mente vor. Hayem<sup>1)</sup>, der zuerst die Anwesenheit eines Kernes bestreitet, giebt an einer Stelle an, dass ihm die Färbung mit Hämatoxylin gelungen sei, um dann zuletzt<sup>2)</sup> doch wieder die Beobachtung als unsicher hinzustellen. Bestimmter sprechen sich Mondino und Sala<sup>3)</sup> aus. Bei Säugethieren haben sie Kerne bei den grösseren Formen der Plättchen beobachtet, welche als die jüngere Generation angesprochen werden. Bei den älteren Individuen soll sich der Kern in Granula theilen, die sich nach der Peripherie begeben, ein Vorgang, wie er bei den rothen Blutzellen stattfinden soll. Bei den jüngeren kernhaltigen Formen wollen sie auch eine Theilung der Plättchen und des Kernes durch Stenose gesehen haben. Mosen<sup>4)</sup> findet ebenfalls in den Plättchen eine kern-ähnliche Substanz. Interessant ist es, dass er, um die Gerinnung zu verhindern, die aus Oxalat-Blut durch Centrifugiren getrennten Plättchen untersuchte, und dieselben auf diese Weise augenscheinlich viel länger am Leben erhielt, als gewöhnlich. An den gewonnenen Plättchen unterscheidet er auch eine mehr central gelegene, stärker lichtbrechende Substanz, und eine diese umgebende, stumpfe Fortsätze bildende Masse. Bei Einwirkung von Anilinfarben färben sich seine Präparate gut. Er sagt dann (S. 357): „Die färbbare Masse liegt meist kern-artig in der Mitte, und zeigt bisweilen so scharfe, runde Contouren, dass sie ohne Weiteres als Kern angesprochen wird. In anderen Fällen ist sie in Form von Körnchen durch die ganze Substanz vertheilt, oder liegt auch, zwei- oder mehrfach getrennt, an der Peripherie vertheilt“. In letzterem Falle sind also anscheinend schon Veränderungen der Plättchen vor sich gegangen, wie auch bei der Art der Behandlung nicht anzunehmen ist, dass alle Plättchen gut conservirt bleiben. Ein Chromatingerüst konnte Mosen nicht nachweisen, auch hat er keine amöboiden Bewegungen wahrnehmen können. Er kommt zu keinem definitiven Schluss, doch giebt er an, dass die Blutplättchen keineswegs den Eindruck absterbender Gewebs-

<sup>1)</sup> Archives des Physiologie normale et pathologique III., S. T. I, 1883, S. 372.

<sup>2)</sup> Hayem, Du Sang. Paris 1889.

<sup>3)</sup> Arch. ital. de biolog. T. XII, 1889.

<sup>4)</sup> Arch. f. Physiologie 1893.

theile, sondern im Gegentheil äusserst lebensfähiger, aber sehr empfindlicher Gebilde machen.

Die amöboiden Bewegungen der Plättchen scheinen bisher noch nicht beobachtet worden zu sein. Zwar sind von verschiedenen Autoren Gestalts-Veränderungen der Plättchen beschrieben worden, doch wurde ihnen nicht die Bedeutung von vitalen Bewegungs-Erscheinungen zugesprochen. So beschreibt Hayem<sup>1)</sup> die beobachteten Veränderungen folgendermaassen: „Peu à peu sans qu'il y ait de courant intérieur appréciable dans la préparation, les hémato blastes se rapprochent les uns des autres, comme s' ils étaient attirés par la rétraction de filaments invisibles, les reliant les uns aux autres. Au bout d'une demi-heure ils sont encore à peine modifiés, et, bienqu' ils changent souvent de forme, on ne peut voir dans ce phénomène la preuve de l'existence d'une contractilité analogue a celle des globules blancs.“

Er hatte das Blut in diesem Fall bei 1,5° untersucht. Bei einer so niedrigen Temperatur wird die Gerinnung des Blutes verhindert, und auch die Quellungs-Erscheinungen der Plättchen werden für längere Zeit zurückgehalten. Es ist nun nicht zu verwundern, wenn Hayem die beobachteten Veränderungen nicht als amöboide Bewegung deuten kann, da bei dieser Temperatur die Bewegungen so langsam und träge sind, dass bei so kleinen Objecten eine sichere Erkennung und Deutung schwer fallen muss.

In seiner Abhandlung über Blutgerinnung giebt Schimmelbusch<sup>2)</sup> eine Zeichnung von den Form-Veränderungen der Blutplättchen, wie sie innerhalb von 5 Minuten beobachtet und von Eberth gezeichnet wurden. Sie stimmen sehr überein mit den von mir beobachteten Gestalt-Veränderungen. Schimmelbusch sagt über seine Beobachtung Folgendes: Sehr auffallend ist es, dass man manchmal an den sternförmigen Plättchen mit den schärfsten Linsen einen deutlichen Wechsel der einzelnen Fortsätze bemerkt. Es zieht sich ein Strahl etwas ein, ein anderer streckt sich mehr aus und spitzt sich zu, und so wechselt in kurzer

<sup>1)</sup> Hayem, Recherches sur l'évolution des hématies. Arch. de Physiol. S II. T. V. 1878, S. 797.

<sup>2)</sup> Dies. Arch. Bd. 61, 1884.

Zeit das Bild . . . Ich möchte, wie Hayem, in diesem Formwechsel nicht amöboide Bewegungen sehen, sondern bin auf Grund der mitgetheilten, äusserst dehnbaren und weichen Beschaffenheit der homogenen Substanz mehr geneigt, diese Veränderungen auch in äusseren mechanischen Ereignissen, wie Fibrin-Anlagerungen und Flüssigkeits-Strömen zu suchen.“

Die von Schimmelbusch angegebenen Erklärungsgründe fallen bei unseren Versuchen fort, da keine Fibrin-Abscheidung stattfindet, auch keinerlei Flüssigkeits-Strömungen vorhanden sind, welche auch nur irgendwie die so lebhaften und langdauernden, nur von chemischen Bedingungen beeinflussten Bewegungen veranlassen könnten.

#### Methode der Untersuchung.

Da die von mir benutzte Methode der Untersuchung des Blutes bisher wohl kaum angewandt wurde, wird es zweckmässig sein, noch etwas genauer auf dieselbe einzugehen.

Bei der Herstellung des Agars verfahre ich folgendermaassen: 5 gr Agar-Agar werden in 500 gr destillirtem Wasser durch etwa halbstündiges Kochen gelöst, und die heisse Flüssigkeit dann durch ein Faltenfilter filtrirt, durch welches sie auch ohne Anwendung eines Dampftrichters leicht durchfliesst.

Zu je 100 ccm des Filtrates setzt man 0,6 gr NaCl, 6—8 ccm einer 10 pCt. Lösung von  $\text{NaPO}_3$ , und 5 ccm einer 10 pCt. Lösung von  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ .

Das metaphosphorsaure Natron kann durch Merck in Darmstadt bezogen werden, oder man stellt es sich selbst her durch Glühen von Natriumammoniumphosphat,  $\text{NH}_4\text{PO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}^1$ ). Man erhält so unter Abgabe von  $\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{NH}_3$  die sogenannte glasige Modification des unterphosphorsauren Natrons von der Formel  $\text{NaPO}^3$  bzw.  $\text{Na}_3\text{P}^6\text{O}_{13}$ .

Das Salz darf nicht durch Kochen gelöst werden, da sonst eine theilweise Umsetzung in Orthophosphat stattfindet. Nach Zusatz von  $\text{NaPO}_3$  zum Agar wird derselbe klarer, als vorher, keinesfalls darf eine Trübung auftreten. Statt  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  kann man auch  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  als Zusatz nehmen, doch scheint das Kalium-

<sup>1)</sup> Vgl. Fleitmann und Henneberg. Ann. Chem. Pharm. (Liebig) 65, 306.

salz, besonders auch für die nachträgliche Färbung, günstiger zu wirken.

Zur Untersuchung des Blutes wird ein wenig von der Agarlösung auf einen Objectträger ausgegossen und erstarren gelassen. Darauf schneidet man aus der erkalteten Masse einen, etwa 2 mm breiten Streifen aus, auf den man das aus der Fingerspitze entnommene Bluttröpfchen bringt, welches man mit einem Glase bedeckt.

Will man fixiren, so lässt man entweder vom Rande des Agars die Fixirungsflüssigkeit (am besten 1 pCt. Osmiumsäure) mit Hülfe eines Glasstabes unter den überstehenden Rand des Deckglases fließen, oder man legt vor dem Auflegen des Deckglases ein hufeisenförmig ausgeschnittenes Stückchen Fliesspapier um den Agarstreifen, den man dann mit Osmiumsäure trinkt. Nach wenigen Minuten ist dann das Blut fixirt, wie man an der blasseren Farbe der Blutzellen erkennen kann. Dann kann man das Deckglas abheben, an welchem alle Blutelemente festhaften, mit Wasser abspülen, kurze Zeit (1 Min.) in Alkohol 96 pCt. bringen, und mit Hämatoxylin-Eosin färben.

Gelingt die Färbung des Kerns der Blutplättchen auf diese Weise nicht, so wird das meist daran liegen, dass schon degenerative Veränderungen aufgetreten waren. Dies kann oft der Fall sein, wenn die Lösung des Metaphosphates nicht mehr ganz frisch war, oder wenn es sich in einem zu heissen Agar zersetzte. Man muss sich dann eine neue Lösung herstellen, oder mehr von dem Salz zusetzen.

Die Bewegungen der Blutplättchen sind gewöhnlich sehr deutlich zu sehen, auch bei schwächeren Vergrösserungen (Zeiss, D. Ocul. 4). Es wird aber gut sein, zu Anfang sich die grösseren Formen der Blutplättchen einzustellen, um sich zunächst einmal eine Anschauung von der Art der Veränderungen zu bilden. Ich habe schon angegeben, dass die Veränderungen nicht immer gleich lebhaft sind, da die Blutplättchen so äusserst empfindlich gegen eine Reihe von äusseren Einflüssen sind. So kann z. B. bisweilen eine geringe Aenderung in dem Gehalt an Kaliumphosphat die Bewegungsfähigkeit ändern. Es kann daher vorkommen, dass man zwar die Erhaltung der Blutplättchen deutlich erkennt, nicht aber in gleicher Weise die Motilität, ohne



dass es immer gleich gelingt, die Ursache hierfür anzugeben. Man wird sich daher nicht mit einer Untersuchung begnügen dürfen.

Bei günstigster Zusammensetzung des Agar müssen, wie schon angegeben, die Bewegungen so lebhaft sein, dass ein Nachzeichnen nicht möglich ist.

Für die Färbung des Kernes der Blutplättchen im Ausstrichpräparat verweise ich auf die oben angegebenen Vorschriften.

#### Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die Blutplättchen der Säugethiere bestehen aus Kern und Protoplasma und sind der amöboiden Bewegung fähig.

Die Untersuchung der Lebens-Erscheinungen der Blutplättchen gelingt am Besten mit Hülfe von Agar.

Auf einem Agar, dem nur NaCl zugesetzt ist, gehen die Blutplättchen rasch unter Quellungs-Erscheinungen zu Grunde, sie bleiben aber am Leben bei Gegenwart von  $\text{NaPO}_3$  und zeigen lebhafteste Gestalts-Veränderungen wenn noch weiterhin  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  zugefügt wird.

Durch Färbung mit Hämatoxylin, sowie durch die Beobachtung der lebenden Objecte kann nachgewiesen werden, dass die Blutplättchen eine in Form eines Kerngerüstes aufgebaute Nuclein-Substanz enthalten.

Die Bedeutung des metaphosphorsauren Natron für die Erhaltung des Kernes und des Lebens der Blutplättchen kann möglicherweise erklärt werden durch die von Liebermann aufgestellte Hypothese, dass das Nuclein als eine Verbindung von Metaphosphorsäure und Eiweiss aufzufassen ist. (Vielleicht ist auch die Verhinderung der Gerinnung durch  $\text{NaPO}_3$  von Bedeutung.) In welcher Beziehung die Blutplättchen zu den übrigen Elementen des Blutes stehen, ist noch fraglich. Keinenfalls sind sie Degenerations-Producte. Wahrscheinlich müssen sie als ganz selbständige, lebende Elemente angesehen werden.

Die „Spindeln“ der Thiere mit kernhaltigen rothen Blutzellen sind allem Anschein nach analoge Gebilde, wie die Blutplättchen der Säugethiere.

### Erklärung der Abbildungen auf Tafel VII.

- Fig. 1. a, b u. c. Degenerirte, gequollene Blutplättchen vom Menschen. (Zeiss D, Ocul. 4.)
- Fig. 2 u. 3. Gestalts-Veränderungen von Blutplättchen innerhalb  $\frac{1}{2}$  Min., beobachtet auf Agar + NaCl + NaPO<sub>3</sub> + K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. (Zeiss D. Ocul. 4.)
- Fig. 4. Blut vom Menschen. Agarpräparat mit Osmiumsäure fixirt. (Zeiss,  $\frac{1}{2}$  homog. Immers., Ocul. 2.)  
a u. b Verschiedene Formen von Blutplättchen, während der Bewegung fixirt. Der Kern ist deutlich durch Hämatoxylin gefärbt. c Riesenform eines Blutplättchens. e, f, g Leukocyten. h rothe Blutzellen.
- Fig. 5. Blutplättchen auf Agar bei stärkerer Vergrößerung. Im Kern ist eine Art Gerüstwerk, aus einer stärker und einer schwächer lichtbrechenden Substanz bestehend, zu erkennen. (Zeiss,  $\frac{1}{2}$  homog. Immers., Ocul. 4.)
- Fig. 6. Froschblut. a u. b „Spindeln“, kurz nach Entnahme. c Spindel a nach 5 Minuten. d Spindel a nach 1 Stunde. e Spindel b nach 1 Stunde.
- Fig. 7. Lithographie nach einer Photographie mit Osmiumsäure fixirten, mit Hämatoxylin gefärbten Agarpräparat.  
Gruppen von Blutplättchen in verschiedensten Formen, mit stark gefärbten Kernen.

## XIII.

### Ueber Fett-Farbstoffe.

(Aus dem städtischen Krankenhause Gitschinerstrasse. Dirigirender Arzt:

Prof. Dr. M. Litten.)

Von

Dr. Leonor Michaelis, Assistenzarzt.

Es giebt einige organische Farbstoffe, welche in der Technik gebraucht werden, um Fette, Pomaden, Kerzen u. dergl. zu färben. Das sind u. A. das Alkannin in Form des Alkanna-Extractes und eine Reihe von Azofarbstoffen, unter denen das