

34. Kassowitz: Die normale Ossifikation u. s. w. Wien 1882—85.
35. Virchow, Rud.: Rachitis foetalis, Phocomelie und Chondrodystrophia. Dieses Archiv Bd. 166.
36. Kaufmann, Ed.: Untersuchungen über die sogen. fötale Rachitis. Berlin 1892.
37. Marchand, F. und Kirchberg, A.: Über die sogen. fötale Rachitis (Mikromelia chondromalacia). Zieglers Beitr. V. 1889.
38. Schwarzwäller: Über sogen. fötale Rhachitis. Zeitschr. f. Geburtshilfe und Gynäkologie. XXIV. 1892. S. 90.
39. Lampe, R.: Über zwei Fälle von sogen. foetaler Rachitis. Inaug.-Diss. Marburg 1895.
40. Stoeltzner und Salge: Beiträge zur Pathologie des Knochenwachstums. Berlin 1901.

---

## II.

### Über die Bedeutung der Blutkörperchen für die Blutgerinnung und die Entzündung einiger Arthropoden und über mechanische Einwirkungen auf das Protoplasma dieser Zellen.

(Aus dem Marine Biological Laboratory, Woods Holl, Mass, und dem pathologischen Laboratorium der McGill University, Montreal Canada.)

Von  
Leo Loeb.

---

Im folgenden sollen einige Beobachtungen und Versuche über die Blutgerinnung und das Verhalten der Blutkörperchen bei der Entzündung einiger Arthropoden mitgeteilt werden.<sup>1)</sup> Diese Versuche wurden an *Limulus polyphemus*, *Homarus americanus*, *Platyonychus ocellatus* und einigen anderen Tieren ausgeführt. Bei diesen Tieren liegen drei verschiedene Typen der Blutcoagulation vor. Zuerst soll die makroskopische und mikroskopische Erscheinungsweise der normalen Koagulation, sodann

<sup>1)</sup> Die Versuche wurden Ende Sommer 1901 im Biologischen Laboratorium zu Woods Holl, Mass. begonnen und diesen Sommer (1902) dort weitergeführt und im pathologischen Laboratorium der McGill University abgeschlossen.

der durch verschiedene Agentien beeinflussen Gerinnung beschrieben werden. Darauf werden Versuche über Beeinflussung einer bestimmten Phase der Koagulation des Hummerblutes mitgeteilt. Weiterhin wird über das Verhalten der Blutkörperchen gegenüber in *Limulus* eingeführten Fremdkörpern berichtet, und zuletzt auf gewisse Analogien hingewiesen, die zwischen den hier beschriebenen Vorgängen und normalen und pathologischen Zell- und Gewebsvorgängen bei Wirbeltieren bestehen. Kurze Mitteilungen über die Blutkoagulation von verschiedenen wirbellosen Tieren liegen vor von L. Frédéricq, P. Geddes, der die Syncytiumbildung beschrieb, E. A. Schäfer, der auf das Vorkommen einer der Säugetierblutkoagulation ähnlichen Gerinnung neben der Syncytiumbildung hinwies, ferner von Pouchet, sowie von Haycraft und Carlier. Ausführlichere Mitteilungen liegen vor von Halliburton, M. Loewit und W. B. Hardy. In einer früheren Arbeit beschrieb ich<sup>1)</sup> die an den Blutzellen nach dem Verlassen des Körpers eintretenden Veränderungen, insbesondere die Beziehungen zwischen den Veränderungen der Granula und der übrigen Zellbestandteile, ferner den Einfluß verschiedener Substanzen, wie Säuren und Alkalien auf die Blutzellen, sowie das Verhalten der letzteren gegen in den Körper eingeführte Fremdkörper.

Nachdem diese Arbeit der Hauptsache nach abgeschlossen war, erhielt ich Kenntnis von einem Autoreferat einer Arbeit P. Bottazzis<sup>2)</sup> über Blutgerinnung bei Crustaceen, sowie einer Mitteilung Gautiers<sup>3)</sup> über den Charakter mechanisch hervorgerufener Eiweißgerinnung.

### Der normale Verlauf der Gerinnung des Blutes.

Sobald das Blut bei gewöhnlicher Temperatur den Tierkörper verläßt, setzen innerhalb weniger Sekunden Veränderungen ein, die zur Gerinnung führen. Viele Zellen werden schon verändert, während das Blut herausfließt. Die Geschwindigkeit des herausströmenden Blutes ist am größten in einem erwachsenen

<sup>1)</sup> On the blood lymphcells and inflammatory processes of limulus. The Journal of Med. Research. Vol. II. 1902. (Siehe hier Literatur.)

<sup>2)</sup> Centralblatt f. Physiologie 1902. No. 13.

<sup>3)</sup> Comptes rendus de l'Académie des Sciences 1903. Vol. 135. No. 3.

Limulus; das Blut fließt langsamer im jungen, einige Monate alten Limulus heraus, jedenfalls kann hier die Menge des centralen, nicht mit dem Gewebe und der Außenfläche des Tieres in Berührung kommenden Blutes nur klein sein; ebenso langsam in dem Hummer, und oft nur tropfenweise in Libinia. Am leichtesten ist daher das Blut, insbesondere das Verhalten der Blutzellen und der Gerinnung experimentell am erwachsenen Limulus zu beeinflussen. Bei den anderen Tieren geht das Blut schon Veränderungen ein, bevor es der experimentellen Beeinflussung zugänglich ist. Fängt man nun das Blut in Schalen auf, so sieht man, falls Limulus benutzt wurde, das Blut im Laufe der ersten Minuten zu einer gelatinösen Masse werden. Der Vorgang beginnt, sobald das Blut den Körper verläßt. Dann retrahiert sich allmählich im Laufe der nächsten Stunden das gebildete gelatinöse Coagulum mehr und mehr und preßt das Serum aus; und am nächsten Tage hat sich gewöhnlich das voluminöse Coagulum auf einen ganz kleinen, runden Fibrinkörper retrahiert, welcher in seinem physikalischen Verhalten ganz dem Faserstoff der Säugetiere gleicht.

Beim Erwärmen mit Alkalien quillt das Fibrin auf, mit Säuren hingegen nicht. Bei stärkerem Erhitzen wird es weiß und undurchsichtig, also findet wohl eine Gerinnung statt. Eine Kupferoxyd reduzierende Gruppe konnte durch Kochen mit 5 pCt. Kaliumhydroxyd während einer Stunde, in während dieser Zeit wiederholt entnommenen Proben nicht nachgewiesen werden. Also chemisch ist diese im Anfang schleimig erscheinende Masse nicht ein Mucin.<sup>1)</sup> Häufig nun findet man, nachdem dieses erste Coagulum sich schon größtenteils retrahiert hat, ringsherum lockere gallertige Massen dem centralen Pfropf sich anschließen. Meist sind diese sekundären Gerinnsel nicht sehr bedeutend, zuweilen aber sind sie doch so massig, daß das ganze ausgedrückte Serum wiederum von diesem zweiten Coagulum eingeschlossen wird, sodaß dann außer der ersten Koagulation nach einigen Stunden noch einmal eine vollständige zweite Koagulation des ausge-

<sup>1)</sup> Einige dieser Versuche führte ich in dem unter der Leitung von Herrn Dr. O. Folin stehenden physiologisch-chemischen Laboratorium des McLean Hospital in Waverley aus. Herrn Dr. Folin bin ich für seine Freundlichkeit zu großem Dank verpflichtet.

schiedenen Serums stattfinden kann. Während also bei *Limulus* diese Nachgerinnung gewöhnlich sehr unbedeutend ist, und gleich im Beginn die Bildung einer massigen Gallerte stattfindet, ist beim Hummer die erste Gerinnung geringfügig. Gewöhnlich bildet sich in einer größeren Menge Flüssigkeit ein Fibrinnetz, das sich herausfischen läßt. Hier findet gewöhnlich keine gallertige Gerinnung direkt nach dem Ausfließen des Blutes statt. Zuweilen wird aber auch hier gleich im Anfang die Gerinnung massiger. Es findet aber beim Hummer in sehr deutlicher Weise eine Nachgerinnung statt, die, wie wir sahen, bei *Limulus* gewöhnlich eine sehr unbedeutende Rolle spielt. Gewöhnlich kann man die Fäden der ersten Gerinnung durch Schütteln der Schale, in der das Blut aufgefangen wird, leicht sammeln. Dieses erste Gerinnsel ist beim Hummer an Masse gewöhnlich im Vergleich zu der zurückbleibenden Flüssigkeit unbedeutend. Dann aber tritt hier im Gegensatz zum *Limulus* eine sehr ausgesprochene Nachgerinnung ein. Nach verschieden langer Zeit, die von etwa 10 Minuten bis zu Stunden variieren kann, gerinnt diese restierende Flüssigkeit zu einer gelatinösen Masse, die sich nur langsam retrahiert. In seltenen Fällen kann diese Nachgerinnung ganz ausbleiben. Bei den Krebsen (*Libinia*, *Platyonychus*) gleicht die erste Gerinnung der ersten Koagulation des Hummers, eine zweite Gerinnung hingegen sah ich hier nie eintreten, die restierende Flüssigkeit veränderte ihren Zustand nicht weiter.

#### Die mikroskopischen Veränderungen während der Blutgerinnung.

Verfolgen wir das Verhalten der Blutkörperchen unter dem Mikroskop, so sieht man sofort bei dem Auffallen des Blutes auf den Objektträger verschiedene Veränderungen der Blutzellen vor sich gehen. Dieselben wurden zum großen Teil in einer früheren Arbeit beschrieben. Hier soll daher nur auf gewisse Punkte eingegangen werden. Im wesentlichen finden wir die gleichen Verhältnisse bei allen untersuchten Arthropoden. Gleich im Auffallen zerfließen eine Anzahl von Blutkörperchen. Eine mehr oder weniger weitgehende Verminderung der Oberflächenspannung vieler Zellen, und eine verschieden starke Mischung des Zellprotoplasmas mit der umgebenden Flüssigkeit findet statt.

Dies geht in manchen Fällen soweit, daß nichts darauf hindeutet, daß Zellen vorhanden waren als Granula, die hier und da zerstreut zu sehen sind. Da wir aber wissen, daß sehr viele Granula schwinden und zwar sehr oft mit großer Schnelligkeit, so haben wir vorläufig kein Mittel, um abzuschätzen, wie viele Blutkörperchen etwa spurlos aufgelöst wurden. In anderen Fällen tritt die Mischung zwischen umgebender Blutflüssigkeit und Zellen unter Vakuolenbildung ein. Nicht selten wird durch die Bewegung des Blutes eine ganze Zelle zu einem Faden ausgezogen. Im Anfang ist in einem solchen Falle der Kern zuweilen noch in der Mitte als eine kleine Anschwellung zu sehen. Granula schwinden auch hier größtenteils; doch werden häufig manche in den Faden mit einbezogen und mögen hier für längere Zeit erhalten bleiben. In anderen Fällen verwandelt sich die Zelle, ohne sich direkt mit der umgebenden Flüssigkeit zu mischen, in eine formlose, körnchenhaltige Protoplasmamasse, die lang ausgezogen werden kann, ohne aber wohlentwickelte Fäden zu bilden. Man hat oft Schwierigkeit, diese Umwandlung nachzuweisen; auch hier weisen die übriggebliebenen Granula auf die stattgefundene Auflösung der Zellen hin. Aber auch die Konturen vieler Zellen bleiben nicht unverändert. Es treten nämlich allmählich aus den Zellen, welche im Tierkörper oval und flach sind, und Granula führen, die meist ganz in der Peripherie der Zelle gelegen sind, hyaline Pseudopodien aus. Diese können alle Formen annehmen und sich auch in Form von runden Tropfen um die Zelle bewegen. Zusatz verschiedener Lösungen zu dem Blut (Alkalien, destilliertes Wasser, Säuren), sind von Einfluß auf die Formveränderungen der Zelle. Tropfenbildung um die Zellen tritt besonders in verdünnten Alkalien und in destilliertem Wasser auf. Eine weitere Erscheinung, die bei manchen Zellen zu beobachten ist, besteht darin, daß die Peripherie der Zelle an einer Stelle reißt oder aufgelöst wird und daß sodann eine nicht immer gleich große Masse Zellprotoplasma mit Granula hervortritt. Dieser Vorgang wurde von Loewit sehr genau untersucht und als Plasmoschise bezeichnet. Wir sehen zuweilen anscheinend typische Pseudopodien an der Spitze oder nahe der Spitze ein Körnchen tragen; ein solcher ein Körnchen tragender Fortsatz tritt sehr schnell aus der Zelle aus. Die Plasmos-

schise ist also wohl ein Vorgang, bei dem die peripherischen Teile der Zelle gesprengt oder aufgelöst werden und ein Teil des Zellprotoplasmas durch die so geschaffene Öffnung hervortritt, wobei meist einzelne Granula erhalten bleiben. Bei der Pseudopodienbildung findet wahrscheinlich ein etwas langsamerer Auflösungsprozeß des peripherischen Zellprotoplasmas unter Verminderung der Oberflächenspannung an dieser Stelle statt, wobei der Ausbreitung des Zellprotoplasmas ein Schwund der Granula parallel geht. Der oben erwähnte Fall stellt eine Zwischenstufe zwischen Plasmoschise und Pseudopodienbildung dar. Auch sonst geht die Auflösung (Verflüssigung) eines Teiles des Zellprotoplasmas und der Granula nicht parallel, falls die Mischung zwischen Zellprotoplasma und Blutflüssigkeit sehr schnell („explosiv“) stattfindet. In diesem Falle bleiben sehr oft die Granula erhalten. Andererseits kann, z. B. in schwachen Säuren, die Zellkontur sehr gut erhalten bleiben und die Granula können alle schwinden. Sonst entspricht die Auflösung der Granula meist einer Auflösung des Protoplasmas. Außerhalb der Zellen (nach stattgefundener Auflösung derselben) scheint die Existenz der erhalten gebliebenen Granula gesicherter zu sein, wie im Innern derselben.

Nachdem wir so eine Übersicht über die Haupttypen der anzutreffenden Zellveränderungen gegeben haben, sollen nun einige Angaben über den zeitlichen Verlauf der im Blute nach dem Ausfließen aus dem Körper stattfindenden Veränderungen gegeben werden. Hierbei soll auf manche der eben geschilderten Veränderungen keine weitere Rücksicht genommen werden; es sollen nur die leicht ins Auge fallenden Vorgänge hierbei berücksichtigt werden.

Beobachtet man schnell einen aus der Wunde auf den Objektträger auffallenden Blutstropfen unter dem Mikroskop, so schwimmen die im ersten Augenblick noch ovalen, granulären Blutzellen infolge der Bewegung des Tropfens frei umher. Schon im Laufe der ersten halben Minute fangen einzelne Blutkörperchen an sich abzurunden, und eine große Zahl der Granula ist bereits geschwunden. Nach Ablauf der ersten zwei Minuten sind fast alle Blutkörperchen rund. Bald nachdem die Abrundung begonnen hat, fangen auch einzelne Zellen an, Pseudopodien auszusenden, und am Ende der ersten drei Minuten haben fast alle

Blutzellen Pseudopodien ausgestreckt. Soweit war die Bewegung der Blutkörperchen eine passive. Nun bleiben allmählich die Blutkörperchen, welche Pseudopodien ausgestreckt haben, sobald sie während der Bewegung zusammentreffen, aneinander kleben. Allmählich aber, und zwar schon im Laufe der ersten Minuten, werden auch Blutkörperchen, die noch keine Pseudopodien ausgestreckt haben, wie durch unsichtbare Fäden mit anderen, oft in beträchtlicher Entfernung sich befindlichen Zellen verbunden, wobei bei manchen Zellen eine vorausgegangene direkte Berührung als Ursache dieser Fadenbildung sich nicht nachweisen läßt. Nach zwei bis vier Minuten wird die Bewegung der Blutkörperchen immer beschränkter, benachbarte Zellen können sich nicht mehr unabhängig voneinander bewegen, und nach vier bis sechs Minuten steht der Blutstropfen auf dem Objektträger still, er fängt an eine Art Gelatine zu bilden. Unter dem Mikroskop sehen wir die untersten Lagen der Blutkörperchen auf dem Objektträger fixiert, die oberen Schichten sind noch mehr oder weniger beweglich. Gewöhnlich sind die benachbarten Blutkörper miteinander verbunden, und zwar besonders die in einer Ebene gelegenen Zellen. Bewegen wir nun ein Blutkörperchen mit einer Nadel, so bewegen sich viele andere mit. Doch können solche Verbindungsfäden reißen, und dann sieht man Zellen frei umherschwimmen, es ist also zu dieser Zeit nicht eine etwa alle Zellen einschließende Gallerte vorhanden, jedenfalls nicht eine Gallerte, welche die Bewegung einzelner Blutkörperchen verhindern würde. Doch kann bei Betrachtung mit dem bloßen Auge und bei Bewegung des Tropfens mit einer Nadel das Blut auf dem Objektträger zu dieser Zeit schon gelatinös erscheinen. Es bestehen hier wohl auch Unterschiede zwischen den verschiedenen Blutarten. Das Blut von *Libinia* (Spinnenkrebs) gerinnt weniger gelatinös, wie das von *Limulus*.

In den nächsten fünf Minuten nach Ausfließen des Blutes findet nun eine Annäherung der Zellen statt; die Zellen werden in Bündel und in Züge vereinigt, zwischen denen Flüssigkeit sichtbar wird. Zwischen den Zellen werden jetzt nicht selten lange Fasern deutlich. Gleichzeitig nun beginnt eine weitere Veränderung einzutreten. Es war schon oben darauf hingewiesen worden, daß die unteren Zellreihen am wenigsten beweglich

sind. Dies beruht darauf, daß die in Berührung mit dem Glase tretenden Blutkörperchen an diesem festkleben. Wir können nun beobachten, wie die am Objektträger klebenden Zellen allmählich anfangen sich auszubreiten.

Bei den meisten Zellen unterscheiden wir im Anfang einen dunklen Innenkörper, welcher den Kern und die erhaltenen Granula einschließt, und eine hyaline exoplasmatische Zone, zu der die Pseudopodien gehören. Vielfach ist aber der endoplasmatische kontrahierte Teil von einer der Pseudopodien-substanz ähnlichen hyalinen Zone vollständig umgeben. Im Laufe der nächsten Stunden findet nun eine allmähliche Vergrößerung der exoplasmatischen Zone statt. Der endoplasmatische Teil fängt nämlich auch an, sich auszubreiten, seine Körner werden kleiner und rücken auseinander; so nimmt das Protoplasma auch im Innenkörper allmählich eine hyaline Beschaffenheit an. Die Körner bewegen sich ebenfalls; sie fließen oft weit aus in die Pseudopodien und können zuletzt so gelagert sein, daß sie zwischen den Zellen zu liegen scheinen; dies kommt dadurch zu stande, daß Teile des Protoplasmas weit von dem Zellkern und dem Innenkörper wegfließen. Für lange Zeit ist in vielen Zellen der Innenkörper von der exoplasmatischen Zone durch eine scharfe Grenzlinie, eine Art Membran, getrennt. Diese Membran, innerhalb welcher der Zellkern liegt, schließt nur einen kleinen Teil des ursprünglichen Zellprotoplasmas ein. Gleichzeitig mit diesen Ausbreitungserscheinungen finden noch andere Veränderungen statt. Tropfen verschiedener Größe treten in dem Protoplasma auf; diese sind zuweilen ähnlich gelagert wie die Granula. Möglicherweise sind manche dieser Tropfen durch Verflüssigung der Granula entstanden, die meisten wohl durch Verflüssigungsvorgänge in dem Protoplasma. Bewegung des Blutes mit einer Nadel kann bewirken, daß diese Tropfen in eine größere Masse zusammenfließen, um später dann allmählich wieder sich in kleine Tropfen zu zerteilen und zuletzt zu schwinden. Wo die zuerst deutlichen Granula lagen, sieht man zuletzt nur ganz kleine Andeutungen von Körnchen, die später ebenfalls vollständig schwinden können. Wenn wir also sehen, daß diese Veränderungen zu einer Ausbreitung der Zellen



führen, so finden daneben auch langsame, sowohl wie ruckweise Ortsveränderungen der Blutkörperchen selbst statt und zugleich ein fortwährender Wechsel der Pseudopodien; einzelne werden eingezogen, an anderer Stelle werden neue ausgestreckt. Zugleich treten oft Vakuolen im Innern des hyalin werdenden Protoplasmas auf, diese Vakuolen können ebenfalls ihre Gestalt verändern und eine größere kann sich zum Beispiel in zwei kleinere Vakuolen spalten. Alle diese Vorgänge führen nun dazu, daß die vorher durch Kontraktion des Fasersystems in Haufen und Strängen zusammengedrängten Zellen sich sekundär weit ausbreiten, sodaß nach einer bis zwei Stunden, wenn die Verdunstung des Blutes verhindert wird, ein Netz von Zellen, die sich weit ausbreiten und deren pseudopodienartige Ausläufer fast alle in Verbindung miteinander stehen, vorhanden ist. An anderen Stellen führt der Vorgang dazu, daß im Anfang getrennte Zellhaufen nach etwa 20—30 Minuten zu einer Zellmasse vereinigt wurden. Ich habe mich nun bemüht, festzustellen, ob diese Ausbreitungserscheinungen nur an den in Berührung mit dem Glase befindlichen Zellen stattfinden, oder auch in den höheren Schichten. Man kann beobachten, daß allmählich durch ihre Schwere die oberen Zellballen ebenfalls zu Boden sinken und daß hier dann sofort diese Zellen festkleben; sogar solche Zellen, welche in den höheren Teilen der allmählich zu Boden sinkenden Zellballen gelegen sind, bleiben, sobald sie durch herabsinkende Pseudopodien mit dem Glas in Berührung kommen, mit diesem verbunden. Pseudopodien sind, wie oben erwähnt, sehr bald in fast allen Zellen vorhanden. Eine Ausbreitung jedoch, wie sie in den in Berührung mit dem Glase befindlichen Zellreihen stattfindet, konnte ich in den oberen Reihen nicht beobachten. Doch findet wohl auch hier eine Auflösung von Zellen statt, wie insbesondere in Sublimat fixierte Präparate zeigen. Außer diesen Zellhaufen nun sehen wir sehr bald Fäden der verschiedensten Dicke sichtbar werden. Allmählich werden die Zellen mehr und mehr durch Fäden ersetzt. Wenn wir Blut über Nacht stehen lassen und am nächsten Morgen untersuchen, finden wir sehr dicke Fadensysteme, teilweise durchsetzt mit den Resten von Zellen, insbesondere mit Zellkernen. Die Zeit, in der die Zellen schwinden, scheint in verschiedenen Fällen

verschieden zu sein. Zuweilen waren schon nach wenigen Stunden im Blut von Libinia fast alle Zellen geschwunden und nur mehr ein Fadensystem vorhanden. Zuweilen waren die Zellreste noch am nächsten Tage vorhanden. Dieser schnelle Untergang der Zellen mag vielleicht teilweise durch die Anwesenheit von Bakterienprodukten bedingt sein. Aber wenn wir in Erwägung ziehen, daß schon in dem frischen Blute so eingreifende Zerfließungserscheinungen an dem Zellprotoplasma stattfinden, so wird wohl der Hauptfaktor in dem Charakter der Blutflüssigkeit gegeben sein.

Die Bildung von Fasern soll später im Zusammenhang besprochen werden. Hier soll nur erwähnt werden, daß auch in dem oben beschriebenen, durch Ausbreitung der Zellen entstehenden Netze Fasern sichtbar werden können, und zwar in dem exoplasmatischen Teil, ferner daß die Fäden Granula einschließen können, welche vorher aus dem Zelleib herausgeflossen sind. Bewegung bewirkt eine sehr ausgesprochene fibrilläre Umwandlung des Zellprotoplasmas. Sehr deutlich wird dieses in Stücken, die in Sublimat fixiert waren und dann nach Einbettung in Paraffin nach verschiedenen Methoden gefärbt werden. Hämatoxylin und Eosin, van Gieson, Mallorys Bindegewebsfärbung und Weigerts Fibrinfärbung wurden angewandt. Mit diesen Färbungen sehen wir deutlich, daß an manchen Stellen das ganze Protoplasma sich in Fasern auflöst. Vielfach wird jedoch nur der exoplasmatische Teil fibrillär. Der endoplasmatische Anteil mit dem Kern wird sehr oft von einer Membran eingeschlossen, die sich ebenso färbt, wie die exoplasmatischen Fasern. Wir sehen in solchen Präparaten deutlich, daß das Protoplasma einer Zelle sich in viele Fibrillen auffasern kann. Diese, aus Zellen entstandenen Fasern färben sich nach Mallory wie Bindegewebe blau, nach Weigert leicht blau<sup>1)</sup>. An vielen Stellen sind die Zellen regelmäßig nach Art epithelialer oder endothelialer Zellen aneinandergereiht, wobei sie nur durch die agglutinative Substanz ihres eigenen Zelleibes verbunden sind. An anderen Stellen sind diese Zellen in Intercellularsubstanz verwandelt, indem teilweise auf die oben beschriebene Weise fibrilläre

<sup>1)</sup> Für einige sehr schöne Präparate bin ich Herrn Dr. Movers in dem MacLean Hospital zu Danke verpflichtet.

Strukturen aus dem ganzen Zellprotoplasma und insbesondere auch aus dem Exoplasma entstehen, oder auch indem die ganzen Zellen als solche zu Fasern ausgezogen werden. Über die Herkunft anderer Fasern soll später gesprochen werden. An verschiedenen Stellen haben wir Gewebe, das dem reticulären Bindegewebe ähnlich sieht: Multipolare Zellen sind durch lange Ausläufer netzförmig verbunden. Ein ähnliches Bild wird ja allein schon durch die früher beschriebene Ausbreitung der Zellen auf dem Objektträger hervorgebracht. Diese in Sublimat fixierten Präparate sind insofern wertvoll, als sie viele untergehenden Zellen und Kerne in verschiedenen Stadien der Auflösung fixieren. Wir können so feststellen, daß in der Tat in verschiedenen Zeiten nach dem Ausfließen des Blutes Zellen am Zugrundegehen sind und ganz verschwinden, ferner, daß oft Fasern an ihrer Stelle zurückbleiben, und daß die Kerne meist auf dem Wege der Karyorrhesis zu Grunde gehen.

P. Geddes führte die Koagulation des Blutes vieler wirbellosen Tiere auf die Bildung von Plasmodien zurück: Die Zellen strecken Pseudopodien aus, die sich mit Pseudopodien anderer Zellen verbinden; auch die Zellkörper der sich aneinanderlegenden Zellen selbst sollen verschmelzen. Der Vorgang wird von Geddes mit der bei Mycetozoen bekannten Plasmodienbildung verglichen. Demgegenüber weisen Pouchet und Cuénot darauf hin, daß eine eigentliche Verschmelzung nicht stattfindet, sondern daß die Zellgrenzen sichtbar bleiben. Es verhält sich nun in der Tat so, daß der endoplasmatische Teil der Zellen, der leicht als die ganze Zelle erscheinen könnte (und der ja auch durch eine Art Membran scharf begrenzt wird), bei der gewöhnlichen Gerinnung gewöhnlich nicht mit den benachbarten Zellen verschmilzt; daß hier lediglich die Membranen sich fest aneinander schließen; daß aber der exoplasmatische Teil mehrerer Zellen eine einzige Masse bildet, in der die den einzelnen Zellen zugehörigen Teile nicht voneinander unterschieden werden können.

Nachdem wir nun die gewöhnlichen Gerinnungserscheinungen wenigstens in den Hauptzügen beschrieben haben, sollen Untersuchungen über die experimentelle Beeinflussung der Gerinnung und insbesondere über das Verhalten der Blutkörperchen unter experimentell gesetzten Bedingungen mitgeteilt werden.

## Über den Einfluß von Salzlösungen auf die Gerinnung.

Die Versuche wurden hauptsächlich an *Limulus* angestellt, da hier wegen des starken und schnellen Ausströmens des Blutes die sichersten Resultate erhalten wurden. Beim Hummer, den kleinen Krebsen, ebenso wie beim ganz kleinen *Limulus* läßt sich die Einwirkung der Salzlösungen aus den oben angegebenen Gründen nicht so deutlich nachweisen, selbst wenn das Blut nach Eintauchen in die Lösung in dieser direkt aufgefangen wurde. Ein gewisser schwächerer Einfluß der Salzlösungen war jedoch auch bei diesen Tieren vorhanden, sodaß wir annehmen können, daß der Unterschied zwischen *Limulus* und den anderen Tieren nur auf dem oben angegebenen Umstand der Verschiedenheit, der in der Schnelligkeit des Ausfließens besteht, beruht. Darauf weist auch die Tatsache, daß, wenn das Blut des *Limulus* im Herausströmen etwas verzögert wurde, auch hier die Gerinnung nicht mehr beeinflusst werden konnte. Aus diesen Verhältnissen geht hervor, daß eine genaue quantitative Bestimmung des Einwirkens der Salzlösungen nicht möglich ist, sondern daß es sich nur um untereinander annähernd vergleichbare Werte handeln kann. Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß 20—30 ccm der betreffenden Lösungen in Schalen gegossen, dann von der ventralen Seite aus das Tier geöffnet und nun ein kleiner Teil des ausfließenden Blutes in den in einer Reihe stehenden Schalen schnell aufgefangen wurde.

Folgende Salze wurden untersucht: Natrium carbonat, Natriumchlorid, Natriumnitrat, Natrumsulfat, Kaliumchlorid, Kaliumnitrat, Kaliumsulfat, Kaliumchlorid, Kaliumjodid, Ammoniumsulfat, Lithiumchlorid, Lithium carbonat, Calciumchlorid, Bariumchlorid, Strontiumchlorid, Magnesiumsulfat, Kaliumoxalat, Natriumcitrat, Kalium- und Natriumtartrat, Aluminiumammoniumsulfat, Ferrocyankalium, Cyankalium, Kupfersulfat.

Es kommen nun von vornherein nur die ganz bis halbgesättigten Lösungen in Betracht. Ausgeschieden werden von diesen Untersuchungen Kaliumjodid, Ammoniumsulfat, Lithiumchlorid, Calcium-, Barium-, Strontiumchlorid, Cyankalium und Kupfersulfat. In diesen Lösungen nämlich entstand auf Zufügen des Blutes ein so starker Niederschlag, daß eine Untersuchung der Gerinnung und des Verhaltens der Blutkörperchen aus-

geschlossen war. Bei den übrigen waren Niederschläge entweder garnicht sichtbar oder doch nicht so bedeutend, daß die Einwirkung auf die Gerinnung dadurch verdunkelt worden wäre. Alle übrigen Substanzen haben einen hemmenden Einfluß auf die Gerinnung des Limulusblutes, doch ist derselbe nicht gleich stark bei allen diesen Substanzen. Vergleichen wir gesättigte Lösungen, so haben die genannten Natriumsalze einen stärkeren Einfluß, wie die Kaliumsalze. Ferrocyankalium hat nur einen geringen hemmenden Einfluß. Aluminiumammoniumsulfat hat einen ausgesprochen hemmenden Einfluß. Auch Natriumcarbonat hat einen stark hemmenden Einfluß, obwohl es nicht neutral reagiert. Doch kam es hier vor, daß nach einiger Zeit in der Natriumcarbonat-Lösung sich das Blut zu einer syropösen Masse löste.

So war in einem Versuch in der gesättigten  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung nach 15 Minuten langem, ruhigem Stehen keine Koagulation vorhanden. Noch nach 20 Minuten trat nach Schütteln keine Koagulation ein, doch war das Blut jetzt schon nicht mehr so leichtflüssig. Nach 50 Minuten hat das Blut eine syrupartige Konsistenz angenommen. Die Blutkörperchen lagen in einem Schleim eingebettet, aber dieser war in der gesamten Flüssigkeit verteilt und hinderte die Blutkörperchen nicht an freier Bewegung. In anderen Fällen jedoch hinderte die Natriumcarbonat-Lösung die Gerinnung viel länger.

Gesättigte Lithiumcarbonat-Lösungen hatten keine ausgesprochen hemmenden Wirkungen. Doch zeigte sich ein starker Einfluß dieser Lösungen auf die Zellen darin, daß die Zellgranula unter dem Einfluß von Lithiumcarbonat in großer Zahl erhalten blieben. Magnesiumsulfat hatte einen ausgesprochenen hemmenden Einfluß auf die Gerinnung, ebenso Natriumnitrat. In Natriumnitrat war gewöhnlich kein nennenswerter Niederschlag zu sehen. Auch in Magnesiumsulfat und in Aluminiumammoniumsulfat war kaum ein Niederschlag vorhanden. Die Menge des Niederschlags war im übrigen außerordentlich wechselnd. Jedenfalls konnte keinerlei Beziehung zwischen der gerinnungshemmenden Eigenschaft dieser Salze und einer etwaigen Fällung des Fibrinogens festgestellt werden. Eine besondere Aufmerksamkeit wurde den Salzen zugewandt, welche eine spezifische

Wirkung auf das Blut vieler Wirbeltiere haben, nämlich dem Kaliumoxalat und den Citraten. Diese wirken nun beide ebenso wie das Tartrat nur unter denselben Bedingungen, wie die übrigen Salze, nämlich in gesättigter bis halbgesättigter Lösung. In schwächerer Lösung sind sie ganz unwirksam. Auch wenn 10—15 ccm 4,5 pCt. Kaliumoxalat-Lösung in einen Limulus injiziert wurden und 10 Minuten später das Blut entzogen wurde, fand Gerinnung des Blutes statt. Wir können daraus schließen, daß die Wirkung des Oxalats nicht auf seiner Calcium fällenden Eigenschaft beruht, sondern daß es nur wie alle anderen Neutralsalze wirkt.

Es hängt nun in allen diesen Fällen der Grad der Gerinnungshemmung von gewissen Nebenumständen ab. Ist die Menge des in die Lösung einfließenden Blutes zu groß, so gerinnt dasselbe, besonders das in der Mitte des Blutstromes befindliche Blut, das nicht sofort mit der Lösung in Berührung kommt. Aber auch sonst ist die Gerinnungshemmung nicht immer eine absolute. An den Seiten, in Berührung mit den Glaswänden des Gefäßes, mag ein kleiner Teil des Blutes gerinnen; Bewegung hat häufig, besonders im Anfang, einen gewissen die Gerinnung beschleunigenden Einfluß. Soweit ich bisher sehen konnte, ist dieser Einfluß der Bewegung in diesen Lösungen nicht immer gleich deutlich und verschwindet, nachdem das Blut einige Zeit mit der Lösung vermischt war. Die Gerinnungshemmung ist aber in den meisten Lösungen zeitlich beschränkt. Nach einigen Stunden oder einem Tage findet meist doch etwas Fadenbildung in den Lösungen statt; wir finden in dieser Zeit am Boden des Gefäßes einen dünnen Belag, der aus aneinanderklebenden Blutkörperchen mit mehr oder weniger Fäden vermischt, besteht.

Macht man nun entsprechende Versuche mit verdünnten Lösungen, so bemerkt man, daß bereits Zusatz des halben Volums Wasser zu der gesättigten Salzlösung die Wirkung der Salzlösungen schwächt, noch mehr geschieht dies bei Zusatz eines gleichen Volums Wasser.

Als Beispiele mögen einzelne Versuche im besonderen angeführt werden; nicht jeder Versuch läßt in allen Einzelheiten die oben angegebenen Gesetzmäßigkeiten erkennen, hierzu ist ein genauer Vergleich einer Reihe von Versuchen nötig.

Fange in Schalen auf:

In a) 20 ccm Kaliumoxalat-Lösung, b) 15 ccm derselben Lösung + 5 ccm destil. Wasser, c) 15 ccm derselben Lösung + 15 ccm dest. Wasser.

In a bildet sich Präcipitat in den ersten Minuten, in b sehr wenig, in c kein deutliches Präcipitat. In allen ausgesprochene Gerinnungshemmung.

d, e, f sind die entsprechenden Lösungen von Natrium-Kalium-Tartrat. Lösung d und e zeigen kaum Gerinnung, Lösung f zeigt bald etwas Gerinnung, aber ein Teil des Blutes gerinnt hier nicht; Natrium-Kalium-Tartrat hat also einen gerinnungshemmenden Einfluß. In den Oxalat- und Tartratlösungen sind im allgemeinen die Zellen oval, wohl erhalten, meist mit Granula versehen. In Lösung d bildet sich bald ein Präcipitat, in e und f kaum Niederschlag.

g, h, i sind die entsprechenden Lösungen von Natriumsulfat, j, k, l von Kaliumsulfat. In j bildet sich etwas mehr Gerinnung wie in g (in j bildet sich ein Spinnwebennetz von Coagulum; daneben sind Häufchen agglutinierten Zellen makroskopisch sichtbar). In den Lösungen i, k und l mehr Gerinnung, Zellen in Häufchen vereinigt. In den Sulfatlösungen werden die Zellen im Lauf der ersten Stunde rund, senden sodann stachelige Pseudopodien aus, in Lösungen i und l mehr Pseudopodien ausgestreckt, wie in den anderen Lösungen. Nach  $1\frac{3}{4}$  Stunden ist der gerinnungshemmende Einfluß der beiden verdünnten Tartratlösungen deutlich, in e kaum Niederschlag vorhanden, sehr wenig Gerinnung. In den Oxalatlösungen ist jetzt am Boden der Schalen eine fibrinartige, fädige Masse ausgebreitet. In den Kaliumsulfatlösungen ist zu dieser Zeit das Blut geronnen, in der stärkeren Natriumsulfat-Lösung nicht.

Ein Versuch, in dem insbesondere die Wirkung von Kaliumchlorid und Natriumchlorid verglichen wurde: Limulusblut wurde in der üblichen Weise entzogen und aufgefangen (etwa 5—10 ccm), in a) 20 ccm gesättigter Natriumnitrat-Lösungen. b) 15 ccm derselben Lösung + 5 ccm dest. Wasser. c) 15 ccm derselben Lösung + 15 ccm dest. Wasser. d) 20 ccm gesättigter Natriumchlorid-Lösung. e) 35 ccm derselben Lösung + 7 ccm dest. Wasser, f) 15 ccm derselben Lösung + 15 ccm dest. Wasser. g) 20 ccm

Kaliumchlorid. h) 15 ccm derselben Lösung + 7 ccm dest. Wasser. i) 15 ccm derselben Lösung + 15 ccm dest. Wasser. Im Laufe der ersten Minuten: in a Gerinnung am Rande des Glases, der größere Teil ungeronnen. b Halb als Spinnwebennetz, halb in Flockenform geronnen (Gerinnungen in Flocken stellt einen geringeren Grad der Gerinnung dar, da hier die einzelnen geronnenen Teile, die Flocken, unter sich unverbunden bleiben, während bei der Bildung eines spinnwebenartigen Netzes in der Flüssigkeit alle Teile verbunden sind). c Größtenteils als Spinnwebennetz geronnen. d Erst nach einigen Stunden am Boden des Glases kleinflockige Gerinnung. e Gleich im Anfang ein wenig spinnwebenartige Gerinnung, nach einigen Stunden am Boden wie Spinnwebennetz geronnen; jedoch ein Teil ungeronnen. f Schon im Anfang mehr spinnwebenartige Gerinnung, wie in e, nach einigen Stunden das ursprüngliche Gerinnsel in der Flüssigkeit schwebend, der Rest der Zellen am Boden. g Gleich im Anfang mehr Gerinnung wie in d, fast so viel wie in e. h zeigt sofort mehr Gerinnung wie g. Nach einigen Stunden etwas in der Flüssigkeit schwebendes Gerinnsel, der größte Teil des Blutes am Boden festklebend. i Gleich Gerinnung.

Durch frühere Versuche war bereits festgestellt worden, daß Kaliumnitrat, wenn es überhaupt irgend einen Einfluß, nur einen sehr schwachen hat. In Natriumnitrat hingegen gelang es oft, das Blut tagelang größtenteils ungeronnen zu erhalten. Ebenso in Magnesiumsulfat-Lösungen wochenlang. Vielfach aber kleben auch in diesen Lösungen nach Ablauf von zwei oder mehr Stunden viele Zellen am Boden des Gefäßes, ohne das zwischen ihnen Fibrin zu sehen wäre. Die Zellen können gewöhnlich leicht wieder durch eine Nadel voneinander getrennt werden.

Wir sehen also, daß eine größere Anzahl von Salzen eine gerinnungshemmende Wirkung haben. Halliburton fand Natriumchlorid und Magnesiumsulfat wirksam, fand aber Natriumsulfat wirkungslos. Weiterhin sehen wir, daß das oxalsaure Salz nur in ebenso starker Konzentration wirkt, wie die übrigen Salze. Wir können daraus schließen, daß die Wirkung des Oxalates wahrscheinlich nicht auf der Präcipitation von Calcium beruht. Auch wenn Oxalsäurelösungen (20—30 ccm einer 4 pCt. Lösung)



dem Tiere eingespritzt wurden, bevor das Blut entnommen wurde, wurde die Gerinnung des Blutes nicht aufgehoben. Dieser Versuch war nötig, weil die Gerinnung so schnell außerhalb des Körpers eintritt, und deshalb der Einwand gemacht werden könnte, daß auch schwächere Oxalatlösungen wirksam wären, wenn sie früher mit Blut vermischt würden.<sup>1)</sup> Wie wirken diese Lösungen nun auf die Blutkörperchen ein? Sie bewahren dieselben größtenteils vor den oben beschriebenen Veränderungen, d. h. sie verhindern nicht ganz, aber doch in sehr hohem Grade das Austreten von Protoplasma aus den Zellen, die Bildung eines exoplasmatischen Teiles um den mit einer Membran umgebenen endoplasmatischen, die Plasmoschise, das Vermischen ganzer Zellen mit der umgebenden Flüssigkeit, das Ausziehen einzelner Zellen zu Fäden. Die Blutkörperchen bleiben jedoch nicht ganz konserviert. Ein Teil der Granula geht immer verloren. Sehr stark präservierend auf die Granula wirkt, wie schon oben angegeben, das Lithiumcarbonat; aber ein Teil der Granula bleibt gewöhnlich erhalten; die ovale Form bleibt ebenfalls mehr oder weniger erhalten. Doch ließ sich hier ein interessanter Unterschied feststellen. Die Nitrate und Chloride und auch Natrium und Lithiumcarbonat erhielten mehr oder weniger die ovale Form, in Natrium- und Kaliumsulfat aber wurden die Zellen im Verlauf der ersten Stunde rund, und streckten dann Pseudopodien aus, obwohl ja auch Natriumsulfat einen entschieden gerinnungshemmenden Einfluß hat. Kaliumsulfat verändert die Zellen stärker wie Natriumsulfat, wie es ja auch weniger gerinnungshemmend wirkt. Wenn man die oben angegebenen Verdünnungen der Salzlösungen anwendet, so werden entsprechend der angewandten Verdünnung die Veränderung der Blutkörperchen (Austreten von Protoplasma, Pseudopodien) stärker. Ferner kleben in den konzentrierten Salzlösungen auch die Blutkörperchen nur wenig oder garnicht zusammen. Dies ist jedoch verschieden,

<sup>1)</sup> Kürzlich untersuchte auch Botazzi, wie ich aus einem in dem Centralblatt f. Physiologie, 1902, No. 13 erschienenen Autoreferat ersehe, die Wirkung von Oxalaten und Pepton auf das Crustaceenblut. Er fand, wie ich, daß Oxalate nur in sehr starker Konzentration wirksam sind. Ob er die Oxalatwirkung der Kalkpräcipitation zuschreibt oder nicht, ist aus dem Referat nicht zu ersehen.

entsprechend der größeren oder geringeren Gerinnungshemmung der Lösungen. Viele Blutkörperchen mögen ganz frei umherschweben, viele andere aber können, wenn die Gerinnungshemmung nicht vollständig war, Häufchen bilden. Wir erwähnten schon oben, daß das Blut ganz kleiner Limuli oder Hummerblut und das Blut kleinerer Krebse so langsam herausfließt, daß nur eine geringe Einwirkung der Salzlösungen stattfindet. In einem solchen Falle nun konnte ich unter dem Mikroskop beobachten, daß die Zellen der *Libinia*, in gesättigter Magnesiumsulfat-Lösung auf dem Objektträger aufgefangen, allmählich sich abrundeten, und Pseudopodien ausstreckten; sie schwammen währenddem frei umher. Wo sie aber einander trafen, blieben sie mit ihren Pseudopodien kleben, und so kam die Bildung von Zellflocken zu stande, auf Grund der Klebrigkeit des Protoplasmas.

Da die Salzlösungen die Veränderungen an den Blutkörperchen verlangsamen oder ganz aufheben, so sind die in Salzlösungen befindlichen Blutkörperchen geeignet zu Beobachtungen über den Einfluß von mechanischen und anderen Einwirkungen auf diese Zellen. Wir können nun beobachten, daß die hyaline Ausbreitung der Blutzellen, wie sie oben am normalen Blute außerhalb des Körpers beschrieben wurde, hier nicht stattfindet. Die Blutkörperchen, die am Boden der Schale sich ansammeln und dort locker zusammenkleben, oder auch in distinkten kleinen Flocken lagern, zeigen dieses Phänomen nicht. Hingegen sind die Blutkörperchen nicht merkbar verändert in ihrem Verhalten gegen mechanische Einflüsse. Schon wenn wir das Salzblut auf den Objektträger bringen, können wir beobachten, daß eine Anzahl der Zellen explodieren, und sich am Boden weit ausbreiten. (Das ist ein von der sekundären hyalinen Ausbreitung verschiedener Vorgang.) Eine Reihe von Zellen kann sich in diesem Zustand flächenhaft oder in Zügen aneinanderlegen und, viele der Granula können erhalten bleiben. Noch besser können wir diese „Explosion“ infolge mechanischer Beeinflussung durch Auflegen eines zweiten Objektträgers auf den ersten hervorbringen. Besonders in dem Lithiumcarbonatblut, in dem die Granula gut erhalten bleiben, konnte nach Auflegen eines zweiten Objektträgers beobachtet werden, daß eine sehr große Anzahl von Blutkörperchen gesprengt wurden. Das Protoplasma mit den Granula trat

aus und bildete eine diffuse Masse, wie leicht an der Verteilung und der Bewegung der Granula zu sehen war. Es war nun interessant, daß nahe der Stelle, wo die „Explosion“ stattfand, das Protoplasma noch eine zähere Masse bildete, weiter weg aber das Protoplasma wohl durch seine Mischung mit der umgebenden Flüssigkeit viel leichtflüssiger geworden war, und daß hier die Granula sich überall in der Flüssigkeit verteilten. In Alaunblut konnte ich sehr deutlich beobachten, wie Druck eine Zelle zum Bersten bringen kann; ein Teil des Protoplasmas tritt aus. Die Zelle schließt sich aber sofort wieder, und dann glaubt man eine unversehrte, wenn auch etwas kleinere Zelle vor sich zu haben, während die Zelle in Wirklichkeit einen bedeutenden Teil ihres Protoplasmas an die Außenflüssigkeit abgegeben hat. Ferner treten hierbei einzelne Granula aus und solche Körner, die von der Zelle weit entfernt sind, sind durch unsichtbare Fäden des ausgetretenen Zellprotoplasmas mit der Zelle verbunden. Wird ein peripherisch gelegenes, ausgetretenes Granulum mit einer Nadel von der Zelle weggezogen, so werden alle anderen ausgetretenen Granula in derselben Richtung von der Zelle weg bewegt.<sup>1)</sup> Im Anfang können also die Zellen in Salzlösungen ihre physikalischen Eigenschaften mehr oder weniger beibehalten. Nach einiger Zeit aber schrumpfen sie etwas zusammen und werden wahrscheinlich weniger dehnbar. Doch konnte noch nach 16 Stunden in dem Alaunblut beobachtet werden, daß durch geringe mechanische Einflüsse Zellen zu sehr langen Fäden ausgezogen werden können. Da dasselbe mechanische Moment, welches die Zellen auszieht, sich gewöhnlich über ein weites Gebiet der Flüssigkeit erstreckt, so ordnet es auch mehrere Zellen in der Längsrichtung aneinander. Die Zellen verlieren dabei oft, aber nicht immer, die Granula. Die Kerne sind im Anfang noch in der Mitte sichtbar. Die Zellfäden werden nach der Peripherie zu dünner. Eine einzelne Zelle kann außerordentlich stark ausgezogen werden.

Verdünnen wir solche Blutsalzlösungen mit einem Überschuß von destilliertem Wasser, so verschwinden meist die noch er-

<sup>1)</sup> Bei ähnlichen Versuchen mit Blut in Natriumsulfat-Lösungen fand ich, daß an infolge von Stoß aus Zellen ausgetretenem Protoplasma andere Zellen kleben, und wenn auch in geringem Umfang ähnliche Bilder zustande kommen, wie bei der Gerinnung des Blutes.

halten gebliebenen Granula der Zellen, aber im übrigen bleiben viele Zellen scheinbar unverändert. Oft, aber nicht immer, tritt nun noch Faserbildung in dem nachträglich verdünnten Salzblut auf. Auch wenn wir Glycerin oder gesättigte Rohrzuckerlösungen zu diesen Salzlösungen zusetzen, schwinden die Granula und Zellen gehen dabei zu Grunde. Einigemal trat dies auch ein nach Zusatz von Rohrzucker in Substanz zu der Lösung. In anderen Fällen hatte aber ein solcher Zusatz von einem Stückchen Zucker keinen Einfluß.

Da bei Zusatz von konzentrierten Lösungen der Erdalkalichloride auf das Blut ein so starker Niederschlag entsteht, daß die spezifische Einwirkung dieser Lösungen nicht sicher festzustellen ist, so versuchte ich durch geringen Zusatz einer konzentrierten Lösung eines solchen Salzes zu in Natriumnitrat-Lösung aufgefangenem Blut über die Wirkung dieser Lösungen Aufschluß zu gewinnen. Dabei wurde so verfahren, daß eine geringe Menge des in Natriumnitrat-Lösung präservierten Blutes auf einen Objektträger getropft wurde. Neben diese Natriumnitrat-Lösung wurde ein Tropfen Strontiumchlorid gebracht. Der Niederschlag bei Berührung beider Tropfen trat erst spät ein und konnte das Resultat nicht verdunkeln. Bei Berührung beider Tropfen traten Gerinnungserscheinungen sofort auf, Zellen gingen zu Grunde und runde, von Zellen gebildete Protoplasmatropfen schwimmen umher. Fäden wurden bald zwischen vielen Zellen sichtbar. Ohne daß die Möglichkeit einer anderen Entstehungsart eines Teiles der Fasern geleugnet werden soll, konnte an vielen Stellen die Entstehung dieser Fäden auf folgende Weisen beobachtet werden: 1. Zellen werden ausgezogen; hierbei bleibt der Kern oft als eine Anschwellung im Centrum sichtbar. 2. Zellen explodieren, ihr Protoplasma mit den eingelagerten Granula breitet sich flächenförmig aus. Unter geeigneten mechanischen Bedingungen verwandelt sich dieses Protoplasma in Fäden. 3. Durch Plasmoschise werden Zellen zum Teil zerstört; ein Teil ihres Protoplasmas tritt aus; dieses wird durch die Bewegung der Zellen zu Fäden ausgezogen, an denen andere Zellen adhärieren. So werden die früher in der Natriumnitrat-Lösung frei beweglichen Zellen unter dem Einfluß des Strontiumchlorids unbeweglich und größere Zellballen entstehen. In der Mitte dieser Ballen

werden größere Fasern sichtbar. Man kann sehen, wie einzelne Zellen in diesen Ballen aufgelöst werden. Es ist interessant, daß die Fasern im Allgemeinen in der Richtung liegen, in der das Strontiumchlorid in die Blutlösung diffundiert. Die Flüssigkeit bestimmt durch ihre mechanische Einwirkung die Richtung der Fasern. Es kann unter den verschiedensten Bedingungen beobachtet werden, daß mechanische Einflüsse ganz leichter Art nicht nur die Lage schon gebildeter Fibrinfasern bestimmen, sondern auch die Richtung sich erst bildender Fasern. Wir sehen also, daß Strontiumchlorid und, wie ich aus andern Beobachtungen schließen kann, Calciumchlorid und Bariumchlorid die gerinnungshemmende, zellerhaltende Funktion anderer Salzlösungen nicht haben. In Calciumchlorid kann von den Blutkörperchen in kurzer Zeit nur mehr eine Schale zurückbleiben. Viele andere Blutzellen werden hyalin. Im Hummerblut treten in vielen dieser Salzlösungen stärkere Niederschläge ein, wie im Limulusblut. Doch haben dieselben Salze auch hier meist dieselbe präservierende Wirkung auf die Zellen. Sie verhindern gewöhnlich nicht die Zusammenballung derselben zu kleinen Haufen, haben aber doch oft einen schwach hemmenden Einfluß auf den Grad der Agglutination, und die gelatinöse Gerinnung des Hummerblutes unterbleibt unter ihrem Einfluß. Dieselben Unterschiede bestehen in der Wirkung von Chloriden und Sulfaten auf die Form der Zellen im Hummerblut wie bei Limulusblut.

#### Einwirkung einiger organischer Substanzen.

Es wurde weiterhin die Einwirkung einiger organischer Substanzen auf die Gerinnung untersucht:

1. Pyrrhol, Hydrochinon und Resorcin üben alle, ohne die Gerinnung ganz aufzuheben, a) einen hemmenden Einfluß aus, sodaß ein Teil des Blutes ungeronnen bleibt oder die Gerinnung wenigstens verzögert wird.

Man kann zuweilen beobachten, daß einige Zeit nach dem Auffangen des Blutes dasselbe ungeronnen bleibt, dann aber infolge von Bewegung der Flüssigkeit die Blutkörperchen in kleinen Häufchen zusammenkleben und nun zu Boden sinken; in anderen Fällen bleibt die Mehrzahl der Blutkörperchen einige Zeit frei, dann

aber sinken dieselben zu Boden und kleben zusammen. Beim Resorcin wurde beobachtet, daß es eine ganz kurze Zeit die Gerinnung aufzuheben schien, dann jedoch das Blut vom *Limulus* in Form einer gelatinösen Masse gerann.

Es kommen also hier Variationen vor.

b) die Blutkörperchen werden mehr oder weniger präserviert. Sie bleiben gewöhnlich groß und behalten entweder ihre ovale Form oder werden rund. Viele derselben behalten einen großen Teil ihrer Granula. Die Blutkörperchen bleiben weich. Diese Beobachtungen konnten bei dem Blute aller untersuchten Tiere gemacht werden.

In den kleineren Arthropoden ist auch hier die Einwirkung oft weniger ausgesprochen; wir mögen z. B. bei *Libinia* nach kurzer Zeit viele Blutkörperchen mit Pseudopodien versehen finden. Es wurden zu diesen Versuchen sowohl Lösungen der betr. Substanzen in Seewasser, wie in destilliertem Wasser verwendet. Pyrrhol ist nur sehr wenig löslich; doch genügte oft die geringe in Lösung gehende Menge, um einen deutlichen Einfluß auszuüben. Von Hydrochinon und Resorcin wurden 2—6pCt. Lösungen verwandt. In der Mehrzahl der Fälle wirkte Hydrochinon am besten präservierend auf die Zellen. Pyrrhol wirkte zuweilen nicht merklich ein, zuweilen jedoch deutlich. Ein Niederschlag trat früher oder später ein, jedoch nicht schnell genug, um die spezifische Einwirkung undeutlich zu machen. Das Blut wurde bei diesen Versuchen, wie bei den früheren in Schalen oder auf Objektträgern in der betreffenden Flüssigkeit direkt aufgefangen.

Keine dieser Substanzen war im stande, die nach kurzer Zeit im Hummerblut beim Auffangen auf dem Objektträger stattfindende gelatinöse Umwandlung (zweite Gerinnung) zu verhindern; in stärkeren Lösungen unterblieb die hyaline Ausbreitung der Zellen. In ganz schwachen Resorcinlösungen jedoch und in Pyrrhollösungen konnte dieselbe beobachtet werden. Doch sollen hierüber noch weitere Versuche angestellt werden. Da die Zellen unter der Einwirkung dieser Substanzen gewöhnlich weich-elastisch bleiben, so konnten auch hier durch mechanische Einwirkungen die Zellen verändert werden. Zellen können verletzt werden, wobei Protoplasma austritt; Granula können mechanisch

aus den Zellen abgelöst werden; durch Bewegung mit einer Nadel oder durch Auflegen eines zweiten Objektträgers können Zellen, die frei waren, zur Agglutination veranlaßt werden. Diese agglutinierten Zellhaufen können zuweilen alle Granula verlieren, sodaß dann Häufchen granulöser runder Zellen vorliegen, wie ich sie schon in meiner früheren Arbeit als charakteristisch für schwache Säurewirkung beschrieben habe.

In 5 pCt. Karbolsäure aufgefangen, bleiben die Blutkörperchen nicht vor den beschriebenen Veränderungen ganz bewahrt; auch wird die Gerinnung nicht verhindert.

Weiterhin wurde die Einwirkung einiger Alkaloide, wie Atropin, Pilocarpin, ferner die Wirkung von Adrenalin<sup>1)</sup> geprüft. Es wurden hierzu zum Teil Lösungen der Substanzen in einer Konzentration von 1:300 in Seewasser oder in destilliertem Wasser benutzt, ferner wurde eine Adrenalinlösung von 1:1000 unter Zusatz von Chloreton versucht. Die letztgenannte Lösung gab einen starken Niederschlag mit dem Blut. Hierbei fand zuweilen die Gerinnung in einzelnen Flocken oder in Form eines zusammenhängenden Fadensystems statt. Also war auch hierbei wohl eine geringe Gerinnungshemmung vorhanden. Auch in dem reinen Adrenalin (1:300) fand eine Gerinnungshemmung statt, wenn der Blutstropfen schnell auf den mit der Lösung bedeckten Objektträger auffiel. Hier werden zuweilen nur Flocken statt eines zusammenhängenden Netzes gebildet, es lag dann also eine Gerinnungshemmung vor. Kam der Tropfen etwas langsamer heraus, wie das besonders beim Hummer und den Krebsen gewöhnlich der Fall ist, so gerann der größte Teil des Blutes in der gewöhnlichen Weise. Aber auch beim Auffangen des Blutes in Schalen, welche die Lösungen von Pilocarpin, Adrenalin, Atropin (1:300) enthalten, trat meist eine spinnwebige Gerinnung ein. Fängt man das Blut auf dem Objektträger in diesen Lösungen auf, so treten gewöhnlich am Rande des Bluttröpfens, da wo die Lösung leicht einwirken konnte, gewisse Veränderungen der Zellen ein, die von Interesse sind. Die Zellen wurden gewöhnlich sehr groß, und häufig kubisch. Doch kamen auch runde und

<sup>1)</sup> Diese Substanzen wurden mir in freundlicher Weise von Herrn Dr. McClintock, Leiter des biologischen Laboratoriums von Parke, Davis u. Co. zur Verfügung gestellt.

etwas kleinere Zellen vor. Die normalen Granula verschwanden meist. Man sah entweder granuläre Zellen oder Zellen, welche größere Tropfen enthielten, die in der Peripherie der Zellen dicht unter einer äußeren Schicht lagen; diese äußere Schicht, die das Aussehen einer Membran hatte, bestand wohl aus derselben Substanz, wie das übrige Zellprotoplasma, unterschied sich aber wohl dadurch von diesem, daß sie sich unter dem Einfluß einer größeren Oberflächenspannung befand; nicht selten wurde jedoch auch der peripherische Teil der Zelle selbst in distinkte Tropfen aufgelöst. Zuweilen erschienen auch im Innern der Zelle deutliche Vakuolen, die den Kern auf eine Seite drückten. Manche Zellen waren völlig undurchsichtig. Das war der Fall in Zellen, deren Protoplasma zum größten Teil in dicht aneinandergelagerte Tropfen umgewandelt war. Diese Zellen selbst waren gewöhnlich rund und kontrahiert. Zusatz von Alkali löste die intracellulären Tropfen auf. Die Größe der Zellen in diesen Lösungen und die durch diese Lösungen bewirkte, wenn auch nur schwache Gerinnungshemmung, machte die Blutkörperchen in Adrenalin zu Beobachtungen sehr geeignet. Bemerkenswert ist, daß die Zellen hier häufig in längeren oder kürzeren Reihen zusammenkleben. Man kann hier deutlich sehen, daß die Zellen, ohne von irgend einer gelatinösen Masse umhüllt zu sein, mit ihrem eigenen Protoplasma zusammenkleben in Form von Reihen, die eine vollständig epitheliale Struktur zeigen. Dieses Zusammenkleben konnte so weit gehen, daß die Grenzen zwischen zwei aneinanderliegenden Zellen ganz schwinden konnten und die beiden Zellen ein Ganzes bildeten. Die erste Zelle einer solchen Reihe mochte am Objektträger festkleben und die anderen mit dieser verbundenen Zellen konnten vollständig frei in der Flüssigkeit schweben. Zuweilen waren auch mehrere Reihen in dieser Weise zu kleineren oder größeren epithel- oder endothelartigen Zellplatten vereinigt. Die Beschaffenheit des Protoplasmas solcher Zellen war dem noch nicht kontrahierten Blutfaserstoff durchaus ähnlich. Das Protoplasma war klebrig. Es klebte am Objektträger fest, und andere Blutzellen, die in Berührung mit dem Protoplasma solcher fixierten Blutkörperchen kamen, klebten ebenfalls fest. Das Protoplasma war weich und



dehnbar und konnte zu langen Fäden ausgezogen werden. Es war elastisch. Zellen, die mit einer Nadel ausgezogen wurden, schnellten beim Nachlassen des Zuges in ihre Lage zurück. Über weitere Versuche, die mit diesen Zellen angestellt wurden, soll nachher berichtet werden. Hier konnte in anderen Fällen wieder sehr deutlich beobachtet werden, daß zuweilen Protoplasma mit den Granula aus den Zellen heraustrat und daß an diesem ausgetretenen Protoplasma andere Zellen hängen blieben. Hier konnte auch beobachtet werden, daß, wenn man die überschüssige Flüssigkeit von dem Objektträger abfließen ließ, diese geringe mechanische Einwirkung genügend war, um viele Zellen in lange Fäden auszuziehen, die alle in derselben Richtung angeordnet waren. Schon während des Auffallens des Tropfens konnten viele Zellen eine ähnliche Umwandlung zu Fasern erleiden.

Der Kern war auch weich und dehnbar. Es konnte beobachtet werden, daß der Kern in der Mitte einer solchen Faser sehr lang ausgezogen wurde, sodaß er bald im Innern der Faser ganz unsichtbar wurde. Wahrscheinlich unterliegt er ebenfalls später Auflösungsprozessen, wie das in anderen Fällen schon oben an den gefärbten Präparaten gezeigt werden konnte. Zuweilen blieb der Kern als eine kleine Kugel im Centrum der Faser zurück, indem er dort eine kleine Anschwellung bewirkte. Die Vakuolen, die unter dem Einfluß dieser Substanzen entstehen, können ebenfalls langgestreckt werden. Die Blutzellen auf dem Objektträger können auch Pseudopodien ausstrecken, falls die Wirkung des Adrenalins nicht zu stark war; am Rande des Blutstropfens pflegte dies nicht der Fall zu sein, da hier die volle Wirkung des Adrenalins zur Geltung kam. Üben wir auf solche Zellen einen Zug aus, so ordnen sich die erhaltenen Granula in Reihen an, und eine fibrilläre Struktur der Zellen wird deutlich. Adrenalin zeigt die bisher beschriebene Einwirkung deutlicher wie Pilocarpin und Atropin. Doch ist sie am Rande des Blutes auch hier vorhanden.

Die Wirkung von Adrenalin ist aber insofern spezifisch, als es (in geringem Maße) gerinnungshemmend wirkt. Im übrigen sind die beschriebenen Veränderungen nur der Wirkung von Wasser

oder sehr verdünntem Alkali zuzuschreiben, Wirkungen, die zum Teil wohl lediglich auf osmotischen Vorgängen beruhen und zu einem Aufschwellen und zu tropfenförmigen Auflösungsvorgängen in der Zelle führen. Aber gerade die Kombination der Wasserwirkung mit einer gewissen Gerinnungshemmung macht Adrenalin sehr geeignet zu Versuchen mit den Blutzellen. Die oben beschriebene Hydrochinonlösung bewahrt die Zellen viel besser vor Auflösung, aber zugleich bewirkt sie, daß die Zellen weniger reaktionsfähig werden, Pilocarpin und Atropin haben eine noch schwächere gerinnungshemmende Wirkung wie Adrenalin. Verwendet man die Chloretonlösung des Adrenalins, so zeigt sich in dem entstehenden Niederschlag eine deutlich fibrilläre Anordnung, ein unsichtbares Fasernetz scheint die Körnchen des Niederschlags in Reihen anzuordnen.

Es wurden weiterhin Versuche mit 3 pCt. Formalin angestellt. Schon früher habe ich angegeben, daß durch Injektion von 10—15 ccm 3 pCt. Formalins in *Limulus* die Blutkoagulation sehr herabgesetzt werden kann und daß viele Zellen unter diesen Umständen ihre natürliche Gestalt bewahren, daß aber andere Zellen sich trotz dieser vorangegangenen Injektion verändern.<sup>1)</sup> Es wurden nun ähnliche Versuche beim Hummer und bei *Platyonychus* angestellt, um die Beziehungen zwischen Gerinnungshemmung und präservierender Wirkung auf die Blutkörperchen festzustellen. Es ergab sich nun, daß zuweilen nach Injektion der 3 prozent. Formalinlösung die Gerinnung bei nachheriger Entnahme des Blutes nicht ganz aufgehoben war; meist aber trat eine Verlangsamung derselben ein, oder dieselbe unterblieb zu einem großen Teile. Die Blutkörperchen waren, wie es schien, nach einer solchen Injektion zuweilen schon beim Herausfließen aus dem Tiere rund und etwas kleiner wie gewöhnlich. In einigen Fällen jedoch waren sie sofort nach dem Auffallen auf dem Objektträger noch oval. Möglicherweise trat in diesen Fällen die Formveränderung der Blutkörperchen so schnell ein, daß sie gewöhnlich auf dem Objektträger nur in runder Form gesehen werden konnten. Sehr deutlich war in allen Fällen der Umstand, daß entweder keine oder nur wenige Pseudopodien nach vorheriger Injektion von Formalin auf dem Objektträger

<sup>1)</sup> On the bloodlymphcells etc. loc. cit.

ausgestreckt wurden. Trotzdem trat in verschiedenen Fällen die für das Hummerblut charakteristische zweite Koagulation ein, jedoch gewöhnlich schwächer wie gewöhnlich.

Trat, wie das oft der Fall war, nur eine Hemmung der Koagulation ein, so sahen wir runde Blutkörperchen auf dem Objektträger; Pseudopodien wurden nicht ausgestreckt. Dann aber sahen wir infolge von Bewegung der Flüssigkeit eine Anzahl von Blutkörperchen in kleinen Häufchen zusammenkleben und zu Boden sinken. Dort bilden diese Häufchen ebenso wie die zu Boden sinkenden freien Blutkörper eine zusammenklebende Masse. Nacher mögen zuweilen auch Fasern zwischen den Zellen sichtbar werden, wobei die Fasern noch einen Kern in der Mitte enthalten konnten, ein Beweis, daß diese Fasern sich zum Teil wenigstens aus Zellen gebildet haben. Die Gerinnung kann nun auch stattfinden, wenn die Mehrzahl der Blutkörperchen keine Pseudopodien aussendet. Die Blutkörperchen können dann mit dem Beginn der Koagulation ihre Beweglichkeit verlieren, ohne daß die Zellen sich anscheinend berühren. Doch haben die meisten Zellen auch in diesem Falle Teile ihres Protoplasmas verloren, und die Möglichkeit liegt vor, daß dieses ausgetretene Protoplasma für die Verbindung der Blutzellen von Bedeutung ist. Wurde einem Hummer 3 pCt. Formalin injiziert und das während der Injektion infolge der Verletzung mit der Nadel ausströmende, mit Formalin vermischte Blut auf dem Objektträger in ebensolcher Formalinlösung aufgefangen, so bewahrten die meisten Zellen ihre ovale Form und ihre Granula. Aber selbst unter diesen Umständen waren viele Stellen vorhanden, wo schon Veränderungen in den Zellen eingetreten waren. Da, wo die Blutkörperchen am besten erhalten waren, waren alle Zellen mit Granulis versehen. Pseudopodien wurden hier nicht ausgestreckt. An anderen Stellen, wo schon Auflösungserscheinungen an den Zellen vorhanden waren, bestanden alle Übergänge von vollständig granulierten, zu granulaarmen bis zu körnerfreien Zellen. Es ist daher sehr wahrscheinlich, daß in dem unverletzten Tierkörper alle Blutzellen Granula haben, und daß nicht mit Granula versehene Blutzellen erst entstehen, wenn die Blutkörperchen außerhalb des Körpers aufgelöst werden, oder wenn z. B. durch Fremdkörper-

wirkung im Innern des Körpers eine Läsion der Zellen stattfindet. Also den Lymphocyten (sofern diese als granulalose Blutzellen definiert werden) entsprechende Zellen kommen in aller Wahrscheinlichkeit beim Hummer nicht vor. Zugleich zeigt aber auch dieser Versuch, wie schwer es ist, ganz unversehrte Blutkörperchen außerhalb des Körpers zu fixieren, ohne zugleich einen sehr starken Niederschlag von Eiweißstoffen zu erhalten. Bei der Wirkung des 3 prozent. Formalins kombiniert sich die Wasserwirkung, die die Blutkörperchen auflöst, mit der die Zelle erhaltenden Formalinwirkung. So kann es vorkommen, daß, wo die Formalinlösung die Blutmenge überwiegt, die Wasserwirkung der Mischung stärker zur Geltung kommt, als die Formalinwirkung. Einige Beispiele mögen angeführt werden: Injiziere in einen großen *Platyonychus*  $3\frac{1}{2}$  ccm 3 pCt. Formalin. Nach etwa 30 Minuten entziehe Blut. Sobald die Blutkörperchen auf dem Objektträger gesehen werden, sind sie verändert, rund und klein, einige mit Körnern und oval, besser erhalten. Die Zellen senden nur spät und auch dann nur sehr wenige Pseudopodien aus. Das Blut koaguliert nicht. Bei Bewegung des Objektträgers agglutiniert nur eine geringe Zahl der Blutkörperchen, die übrigen Zellen bleiben meist frei beweglich. Beim Auflegen eines zweiten Objektträgers können die Zellen teilweise zu kleinen Häufchen vereinigt werden. Nach Injektion von 5—6 ccm in einen kleinen Hummer wurde ein ähnliches Resultat erhalten. Hier konnte aber festgestellt werden, daß sogleich nach dem Herausfließen die Blutkörperchen noch groß waren, daß sie dann sehr bald kleiner werden. Am nächsten Tage liegen in diesem Versuche die Blutkörperchen am Boden des Gefäßes; sie sind klein, aber wohlerhalten, und bilden zusammenklebend eine schleimartige Masse. Injiziere 15 ccm 3pCt. Formalin einem Hummer durch das Gelenk zwischen Thorax und Abdomen. Entnimm 15 Minuten später am Abdomen Blut. Die Blutkörperchen, sofort untersucht, sind meist verändert, klein, rund, mit Pseudopodien versehen. Nach einiger Zeit kleben diese Blutkörperchen zusammen und es bildet sich eine gelatinöse Masse. Blut, das nach 20 Minuten dem Rücken entnommen wurde, zeigte ebenfalls kleine Blutkörper mit Pseudopodien, doch ist die Zahl der ausgestreckten Pseudopodien geringer, als gewöhnlich.

In anderen Fällen wurden nach Injektion von 3 ccm am Abdomen die Blutzellen nach Entnahme des Blutes eine Zeit lang frei beweglich und klein gefunden; eine weitere Veränderung trat nicht ein und sie klebten nicht zusammen.

Diese Beispiele zeigen, welche Variationen hier gefunden werden; immer treten eine Hemmung der Gerinnung und eine Einschränkung der Blutkörperchenveränderungen ein. Wenn eine zweite, gelatinöse Gerinnung nach Injektion von Formalin eintrat, unterblieb dennoch die sekundäre, früher beschriebene hyaline Ausbreitung der Blutkörperchen. Auch in Formalin gingen einzelne Blutkörperchen zu Grunde. Durch Auflegen eines zweiten Objektträgers konnte gezeigt werden, daß sogar unter Formalinwirkung die einzelnen Blutkörperchen ihre Dehnbarkeit jedenfalls noch im Anfang beibehielten.

Einfluß der Wärme: Erwärmen der Tiere vor dem Entziehen des Blutes hat einen ähnlichen hemmenden Einfluß auf die Gerinnung und die Gestaltsveränderungen der Blutkörper wie Mischung des Blutes mit Formalin. Dabei ist die Wärmezufuhr, die nötig ist, um dieses Resultat hervorzubringen, verschieden bei den verschiedenen Arten, die untersucht werden. Und zwar fand sich eine gewisse Beziehung zwischen der Temperatur, bei der die Tiere starben und der Temperatur, bei der das Blut seine Koagulierbarkeit verlor.

Kleine Limuli, die allein zu diesen Versuchen verwandt wurden, starben, wenn sie in Seewasser gebracht wurden, das allmählich erhitzt wurde, bei einer Temperatur von 52 bis 54° C. Bei 37—38° fangen die Tiere an sehr lebhaft Bewegungen auszuführen. Sie sterben unter starker Beugekontraktion der Extremitäten. Hält man diese Tiere konstant bei 40°, so sind dieselben noch nach einer Stunde lebendig und werden in gewöhnlichem Seewasser sehr schnell wieder normal. Bei 45° gehalten, starben sie nach Ablauf von 30 Minuten.

Libinia wird ebenfalls bei schnell steigender Temperatur sehr lebhaft, sobald 37—38° erreicht ist und stirbt bei 43°; ein etwas größeres Tier starb erst einige Minuten später, als die Temperatur des Wassers 49° erreicht hatte; auch hier tritt der Tod unter Beugekontraktion ein. Bei 40° gehalten, stirbt eine Libinia nach 10 Minuten, bei 45° gehalten nach 6 Minuten.

Hummer werden ebenfalls sehr lebhaft beweglich bei 37—38° und sterben zwischen 40° und 43° ebenfalls in Beugekontraktion.

Dementsprechend verliert das Blut eines jungen *Limulus* seine Koagulationsfähigkeit erst, wenn das Tier 30—40 Minuten bei 52—54° gehalten worden war, während das Blut anderer Tiere schon sehr stark an Koagulationsfähigkeit einbüßt, wenn die Tiere vor der Entnahme des Blutes eine halbe Stunde bei 46° gehalten werden.

So wurde z. B. bei einem Hummer die Blutgerinnung aufgehoben, nachdem das Tier 40 Minuten auf 48—49°, bei einem anderen, nachdem es 30 Minuten auf 45—46° erwärmt war. Erst nach einer Stunde trat am Boden des Gefäßes in diesem Falle etwas Gerinnung ein. Bei einer *Libinia*, die auf 43° erwärmt war, bildeten sich nur kleine Häufchen zusammenklebender Zellen. Bei einem *Platyonychus* wurde durch 30 Minuten langes Erwärmen auf 45—46° die Koagulation nur etwas verzögert. Bei einem kleinen *Limulus*, der 10 Minuten auf 52°, 30 Minuten auf 54° erhitzt war, wurden nur einige kleine Häufchen von Zellen gebildet, die meisten Blutkörperchen blieben frei. In einem anderen, der  $\frac{3}{4}$  Stunden auf 52° erwärmt war, trat keine Koagulation ein. Kein Fett trat mit dem Blut heraus. Bei Bewegung des Objektträgers agglutinierten später einige Blutkörperchen. In einem *Limulus* hingegen, der nur einige Minuten auf 54° erwärmt war, gerann das Blut. Verringert man die Zeit, während welcher die Tiere dieser Temperatur ausgesetzt werden, so wird die Gerinnung nur ein wenig gehemmt, ohne sehr stark beeinflußt zu werden. Dasselbe findet auch statt, wenn eine noch höhere Temperatur nur während einiger Minuten erreicht wird. Wir finden also alle Abstufungen von Gerinnungshemmung bis zu völliger Aufhebung der Gerinnung, gerade so wie das beim Formalin der Fall war. Bei bloßer Hemmung kann man z. B. beobachten, daß die Zellen nach dem Verlassen des Körpers erst ganz frei auf dem Objektträger beweglich bleiben; daß jedoch kurze Zeit später, sowie eine Bewegung des Objektträgers stattfindet, benachbarte Blutkörperchen zu kleinen Häufchen sich vereinigen, „agglutinieren“; die relative Menge der agglutinierenden und der freibleibenden Blutzellen wechselt in den einzelnen Fällen. Die Zellhäufchen und

die freien Zellen sinken zu Boden. Häufig erscheint nun auf dem Objektträger oder in dem Gefäße das Blut gelatinös, obwohl man unter dem Mikroskope nur Häufchen von Zellen sieht, die in der Flüssigkeit frei beweglich sein können. Nach einiger Zeit mögen auch zwischen diesen Zellmassen Fasern sichtbar werden. Wie bei vorheriger Injektion mit Formalin erscheinen auch nach vorherigem Erwärmen des Tieres oft die Blutkörperchen beim Verlassen des Tieres rund; die Anzahl der erhaltenen Granula kann hierbei wechseln. Zuweilen war jedoch die ovale Form noch sichtbar, als die Zellen auf dem Objektträger untersucht wurden; die Zellen veränderten sich aber in solchen Fällen sehr schnell. Natürlich besteht die Möglichkeit, daß die Zellen sich auch nach Wärmewirkung erst während des Verlassens des Tierkörpers ändern; doch ist das unwahrscheinlich. Nach stärkerem Erwärmen strecken die Blutkörperchen auf dem Objektträger keine Pseudopodien mehr aus, in anderen Fällen strecken sie erst später wie gewöhnlich und dann eine geringere Anzahl von Pseudopodien aus. Mit oder ohne Pseudopodien können diese Blutkörperchen zu Häufchen zusammenkleben, und es kann hierbei der Anschein der Bildung einer Gallerte entstehen. Die Bildung einer Gallerte kann stattfinden, ohne daß sich die Blutkörperchen berühren; doch kann man wenigstens zuweilen auch hier sehen, daß Plasmoschise stattgefunden. Es mag also ausgetretenes Protoplasma die Zellen verbinden. Die am tiefsten liegenden Zellen können auch unter diesen Umständen am Objektträger festkleben.

Nach kurzem Erhitzen auf  $59^{\circ}$  und darauffolgendem 10 Minuten dauerndem Erwärmen auf  $52^{\circ}$  kann eine Gerinnung des Blutes unter Entstehen von Zellhäufchen stattfinden, dann aber wurde bei längerer Beobachtung festgestellt, daß die unter gewöhnlichen Umständen während der nächsten zwei Stunden stattfindende hyaline Ausbreitung der Zellen unterblieb. Die Zellen befanden sich in einem Zustand der „Wärmestarre“. Doch konnte die hyaline Ausbreitung erfolgen, wenn die Temperatur nicht so stark erhöht worden war. Es fehlt auch wärmestarren Blutkörperchen die Reaktionsfähigkeit nicht ganz. Bei Druck mit einem aufgelegten Objektträger können auch hier Zellen

„explodieren“, wonach ausgeflossene Granula sichtbar werden. Tropfen von hyalinem Protoplasma mögen sich auch hier der Peripherie anlegen. Solche Tropfen können frei werden, in der Flüssigkeit umherschwimmen und nachher an Zellhaufen festkleben. Ähnliches wurde auch in dem Formalinblut beobachtet. Auch können Zellen hier, ohne daß ein Druck ausgeübt wurde, ganz oder teilweise zerfließen. Die Granula an der Peripherie der Zelle unter der transparenten Grenzschrift können so groß werden, daß man im Zweifel ist, ob man es hier mit den gewöhnlichen Körnern zu tun hat, oder ob eine Umwandlung derselben in kleine Tropfen stattgefunden hat. Auch können einzelne Zellen noch nach stattgefundenem Erwärmen in Fasern ausgezogen werden. Doch finden alle diese Umwandlungen nicht sehr häufig statt. In einzelnen Fällen konnte beobachtet werden, daß die Zellen schon zu Häufchen vereinigt das Tier verließen. In einem solchen Falle konnte die Ursache hierfür erkannt werden. Beim Eröffnen des Tieres zur Entnahme des Blutes geriet Rost der Scheere in das Tier. Um diese kleinen Rostpartikelchen als Centrum bildeten sich die Zellhaufen. Also ein mechanischer Reiz war die Ursache der Bildung von Zellhaufen. Es wurde auch versucht, ob eine Temperaturerhöhung, die nicht im stande war, die Gerinnung zu verhindern, wenigstens auf den zeitlichen Ablauf des Gerinnungsvorgangs einwirke. Es fand sich, daß ein Erwärmen eines *Limulus* auf  $47^{\circ}$  mit sofortigem nachherigem Abkühlen eine geringe Verzögerung des Gerinnungsvorganges bewirkt. Ebenso trat diese Verzögerung beim Erwärmen eines *Limulus* auf  $48^{\circ}$ — $50^{\circ}$  ein, in diesem Versuch wurde nachher das Blut in Seewasser, das bei der gleichen Temperatur ( $48$ — $50^{\circ}$ ) gehalten wurde, aufgefangen. Es wurde hierbei die Zeit bestimmt, die nach dem Ausfließen des Blutes verfloß, bis eine Fadenbildung auf dem Objektträger bemerkbar wurde. Falls nämlich das Blut beim Auffangen auf dem Objektträger in Seewasser hin und her bewegt wird, verwandelt sich das Blut nicht in eine Gallerte, sondern in einzelne Fäden und zwischen den Fäden befindet sich frei bewegliche Flüssigkeit. Gewöhnlich ist diese Fadenbildung 19 Sekunden nach dem Auffallen des Blutes auf den Objektträger deutlich. Bei der angegebenen mäßigen Erwärmung trat die Fadenbildung erst nach 24—30 Sekunden ein. Der Unterschied ist also nicht sehr bedeutend.



Falls nun die Tiere den in den betreffenden Tierarten die Gerinnung hemmenden Temperaturen ausgesetzt wurden, flossen nicht selten aus der Wunde mit dem Blute noch andere Körperbestandteile aus, wie Fetttropfen, Bindegewebszellen, Muskelstückchen oder Leberpankreassaft. Letzterer floß bei *Libinia* und *Platyonychus ocellatus* sogar zuweilen dann aus, wenn das Blut den Extremitäten entnommen wurde. Das Erwärmen hat also hier offenbar einen macerierenden Einfluß auf das Tier; doch konnte oft die Gerinnung stark beeinflußt werden, ohne daß anscheinend andere Bestandteile dem Blut beigemischt waren. Diese Beimischung war nicht der wesentliche Faktor bei der durch die Wärmung bewirkten Gerinnungshemmung. Hingegen war es deutlich, daß bei *Libinia*, *Platyonychus* und Hummer, die bei niedrigerer Temperatur starben wie die jungen *Limuli*, auch das Austreten verschiedener Gewebsbestandteile aus dem Tiere bei niedrigerer Temperatur stattfindet, als bei *Limulus*. Diese Vermischung von Körperbestandteilen mit dem Blut mag vielleicht für den Tod des Tieres von Bedeutung sein; vielleicht besteht aber auch nur ein indirekter Zusammenhang, indem bei den erstgenannten Tieren alle oder viele Körperzellen, insbesondere die Nervenzellen, bei niedrigerer Temperatur verändert und getötet werden, wie bei dem jungen *Limulus*. Außer Zellen und Fett waren auch kleine Häufchen granulärer Masse, wahrscheinlich geronnenen Eiweißes, zuweilen im Blut vorhanden; ein Teil dieser granulären Masse mag aus zerfallenen Blutzellen entstanden sein.

Es wurde festzustellen versucht, ob Einwirkung von Kälte die Gerinnung verhindern kann. Ein erwachsener *Limulus* wurde 7 Stunden auf Eis gelegt, dann das Blut sofort in bei 0° gehaltenen Schalen aufgefangen. Das Blut begann nach dem Verlassen des Körpers wie üblich zu gerinnen. Der zuletzt herausfließende Teil des Blutes gerann in Strängen und nicht als gelatinöse Masse, wie das für die Hauptmasse derselben der Fall ist. Es ergab sich aber, daß dasselbe auch bei gewöhnlichem *Limulus*blut geschieht, in anderen Versuchen wurden junge *Limuli* auf Eis gehalten und ihr Blut in Eiswasser aufgefangen; falls eine Gerinnungsverzögerung stattfand, wovon ich mich nicht sicher überzeugen konnte, betrug dieselbe jeden-

falls nicht mehr als einige Sekunden. Diese Versuche wurden nur am *Limulus* angestellt. In einem anderen Versuche wurden ein erwachsener *Limulus* und drei kleine *Limuli* 2½ Stunden in eine Eis und Salzmischung gebracht. Beim Herausnehmen waren sie gefroren und in Beugekontraktion. Die Blutkörperchen wurden in diesem Versuch in den ausgeschnittenen Kiemen, also noch innerhalb des Tieres unter dem Mikroskop beobachtet und es zeigte sich, daß die Blutkörper schon vor dem Verlassen des Körpers rund waren; in manchen Zellen waren die Granula erhalten, andere Zellen hatten dieselben teilweise oder ganz verloren. In dem Tier selbst war das Blut nicht geronnen. Doch gerann es nach dem Herausfließen, nachdem die Tiere vorher einige Zeit in gewöhnlichem Seewasser gelegen hatten, in der gewöhnlichen Weise. Hier streckten denn auch die Blutzellen auf dem Objektträger Pseudopodien aus. Auf die genaueren zeitlichen Verhältnisse der Gerinnung war bei diesem Versuch nicht geachtet worden. Bei anderen Arthropoden fanden Loewit und Halliburton eine beträchtliche Gerinnungshemmung bei Erniedrigung der Temperatur.

#### Über die Einwirkung des Leberpankreassaftes auf die Blutgerinnung und die Blutkörperchen.

Fangen wir das Blut eines der zu diesen Untersuchungen benutzten Tiere in dem in den Verdauungskanal der Arthropoden sezernierten Pankreaslebersaft auf, so sehen wir eine deutlich hemmende Einwirkung auf den Gerinnungsvorgang. Die in diesen Versuchen verwandte Flüssigkeit war gewöhnlich ein Gemisch des Leberpankreassekrets mit einer kleinen Menge Blut und Verdauungsprodukten. Häufig befanden sich auch Bakterien in dieser Flüssigkeit, doch der wirksame Bestandteil war wahrscheinlich Leberpankreassaft. Das Sekret aller untersuchten Arthropoden war wirksam, doch war der Hummer am geeignetsten, um einen klaren Pankreassaft zu erhalten.

Gewöhnlich bewirkten die Mischung des Blutes und der verschiedenen Verdauungsflüssigkeit Niederschläge, die aber nicht immer gleich stark waren. Hummerverdauungssaft gab gewöhnlich mit *Limulus*- und *Libinia*blut einen starken Niederschlag. Zuweilen konnte auch der Niederschlag ganz fehlen oder gering

sein. Libiniaverdauungssaft gab mit *Limulus*blut gewöhnlich ein ziemlich beträchtliches Präcipitat, keinen Niederschlag hingegen mit Hummerblut. Doch rühren diese Niederschläge wohl von dem dem Pankreassekret beigemischten Blute her. Blutserum von *Limulus* gibt nämlich ein Präcipitat, wenn es mit Libinia-blut, und weniger schnell, wenn es mit Hummerblut gemischt wird. Hummerblut gibt gewöhnlich keinen Niederschlag mit Libinia- oder *Platyonychus*blut. Mit seinem eigenen Verdauungssaft gibt das Blut eines Tieres gewöhnlich keinen Niederschlag. Fangen wir nun in Libiniaverdauungssaft *Limulus*blut in einer Schale auf, so tritt, wenn die Menge des Verdauungssaftes überwiegt, nicht wie gewöhnlich Bildung einer schleimigen oder spinnwebartigen Substanz ein, indem die Blutkörperchen sich nicht zu einer zusammenhängenden Masse vereinigen, sondern statt dessen sehen wir, wie sich allmählich kleine Flöckchen bilden, die aus Zellen und einem Präcipitat bestehen. Die Präcipitatabildung ist hierbei aber unwesentlich, da die Wirkung des Pankreassaftes auch stattfindet, ohne daß ein Niederschlag sich bildet. Auch auf dem Objektträger entstehen unter solchen Umständen an Stelle des zusammenhängenden Coagulums kleine isolierte Häufchen von Zellen. Fäden, die solche Häufchen verbinden, können teilweise wieder aufgelöst werden.

Unter dem Mikroskop beobachtet man nun, daß viele Zellen in dem im Pankreassaft aufgefangenen *Limulus*blut frei bleiben, andere aber kleine Häufchen bilden, die im Anfang frei umher schwimmen, dann aber oft zu Boden sinken. Am Boden mögen sie zuweilen festkleben, gewöhnlich aber bleiben sie frei beweglich. Die Zellen strecken auch hier gewöhnlich im Anfang, auch wenn sie ganz frei in der Flüssigkeit umhergetrieben werden, Pseudopodien aus. Häufig aber schwinden diese Pseudopodien nach einiger Zeit, sie werden verdaut. An Stelle eines spitzen Fortsatzes mag dann zuerst ein stumpfer Ausläufer erscheinen. Zuweilen nun konnte ich beobachten, daß diese mit Pseudopodien versehenen, umhergetriebenen Zellen beim Zusammenstoßen mit ihren Pseudopodien aneinanderkleben und so sich zu Häufchen vereinigen. Wenn diese Häufchen oder Zellen zu Boden fielen, so klebten sie entweder garnicht fest oder sandten eine geringe Zahl von Protoplasmafortsätzen aus, mit denen sie am Objekt-

träger für einige Zeit befestigt blieben. Falls ein Niederschlag entstand, so trat dieser zuerst ganz diffus in Form feiner Körnchen auf, derselbe zog sich aber dann wie durch unsichtbare Fasern gezwungen auf die Verbindungslinie der Häufchen zusammen. War der Niederschlag sehr stark, so konnte er verhindern, daß die Zellhäufchen am Boden klebten. Falls nun ein größerer Tropfen Blut auf den Objektträger auffiel, so konnten die centralgelegenen Teile des Blutes gerinnen. Die am Boden liegenden Zellen mochten dann den Beginn der beschriebenen hyalinen Ausbreitung zeigen; gewöhnlich aber blieb diese unter der Wirkung des Pankreassekretes nur unvollständig. Die gelatinöse Gerinnung des Hummerblutes unterblieb unter diesen Umständen. 10—30 Minuten nach Ausfließen des Blutes konnten nun an den Blutkörperchen sehr starke Auflösungserscheinungen beobachtet werden. Manche Blutkörper schwoilen an; sie bildeten eine Kugel, die durchlöchert war, bald blieben nur einige Reifen übrig. Auch große Vakuolen konnten in den Zellen entstehen. In dem erwärmten Blute waren zuweilen ebenfalls geschwollene Zellen vorhanden, doch war hier nicht mit Sicherheit auszuschließen, daß eine Beimengung fremdartiger Zellen vorlag, die durch die Maceration der Gewebe ins Blut gelangten. Diese durchlöcherten Zellen wurden nun schnell weiter zerstört; sie zerfielen in verschieden große Körner, die gewöhnlich eine sehr starke Molekularbewegung ausführten. So konnte auch nachträglich scheinbar ein granulöses Präcipitat entstehen. Die Geschwindigkeit und Vollständigkeit, mit der diese Auflösung stattfand, war verschieden. Zuweilen war schon nach 30 Minuten kein Blutkörperchen mehr zu sehen. Auch freischwimmende Kerne waren vorhanden. Zuweilen wurde gleich im Anfang die Ausstreckung von Pseudopodien verhindert, die runden Zellen kleben dann zum Teil aneinander. Wir sehen also, daß der Leberpankreas saft eine stark verdauende Wirkung auf die Blutzellen hat. Vielen Bakterien, sowie gewissen Protozoen gegenüber ist er ganz wirkungslos (ob in Bezug hierauf zwischen den verschiedenen Protozoen Unterschiede bestehen, soll noch untersucht werden). Der Darmsaft verliert seine Wirksamkeit auf das Blut nach Erwärmen zu 65—70° während einer halben Stunde; nicht aber bei Erwärmen auf 56°. Daß bei Mischung

gewisser Blutarten Niederschläge entstehen, wurde schon erwähnt. Im übrigen hat aber das Serum eines Tieres, wenn das Blut eines anderen Tieres in ihm aufgefangen wird, keinen Einfluß auf die Gerinnung dieses Blutes. Sie findet gewöhnlich gerade so wie in Seewasser statt. Möglicherweise besteht ein Unterschied darin, daß in *Limulus*serum die Blutkörperchen weniger zahlreiche und weniger spitze Pseudopodien aussenden, wie in *Libinia* oder in Hummerserum. Doch müssen darüber weitere Beobachtungen angestellt werden.

In einigen Fällen wurde das Blut in dem Blutserum von Schildkröten (*Chelopus guttatus* und *Chrysemis picta*) aufgefangen. Die Blutkörperchen schollen hier sehr an und klebten zusammen. Die Quellung des Zellprotoplasmas war oft so stark, daß die Kerne allein sichtbar blieben. In 0,7 pCt. Salzlösung fand auch eine Quellung der Zellen statt. Jedoch bestand ein bemerkenswerter Unterschied darin, daß in der isotonischen Salzlösung die Zellen Fortsätze ausstreckten, und die hyaline Ausbreitung stattfand; daß aber in dem Schildkrötenserum dieses unterblieb. Es müssen in dem Serum Substanzen vorhanden sein, die diese Ausbreitung verhindern.

Die in Schildkrötenserum zusammenklebenden Zellen des *Limulus*-, *Libinia*- oder Hummerblutes können durch ihr Aufschwellen und Zusammenkleben weiche Flocken bilden. Doch findet man hier zuweilen auch zu Fasern ausgezogene Zellen, sowie lange Fasern, deren Ursprung nicht zu erkennen ist. Das Schildkrötenserum hindert also nicht die Koagulation. Einzelne Blutzellen behalten einen Teil ihrer Granula, und nachdem der größte Teil der Zelle aufgelöst ist, kann man dann noch Kerne mit einigen Granula als Reste einer Zelle finden.

Es wurde weiterhin versucht, ob durch Injektion von *Limulus*blutserum in Schildkröten Substanzen produziert werden könnten, die die Koagulation von *Limulus*blut oder die Blutkörperchen von *Limulus* spezifisch beeinflussen. In eine Anzahl von gewöhnlichen Schildkröten (*Chrysemis picta*, *Chelopus guttatus*) und eine *Chelydra serpentina* wurden 12—16 mal jeden 2. bis 3. Tag (in kleinen Schildkröten) je  $\frac{1}{2}$  ccm, in *Chelydra* 1 oder 2 ccm durch Filtrirpapier filtriertes *Limulus*serum injiziert. Sechs bis acht Tage nach der letzten Injektion wurde das Blut ent-

nommen und das Serum des defibrinierten und dann zentrifugierten Blutes auf seine Wirksamkeit geprüft. Wenn Limulusblut auf dem Objektträger in solchem Serum aufgefangen wurde, so fand die Koagulation in gleicher Weise statt, wie in dem in Kontrollserum von gewöhnlichen Schildkröten aufgefangenen Limulusblut. Auch die Einwirkung auf die Blutzellen von Limulus war dieselbe. Mischte man das Serum von solchen vorbehandelten Schildkröten mit der gleichen Menge Limulusblutserum, so bildete sich kein wesentlich stärkeres Präzipitat, als wenn Limulusserum mit 0,6pCt. Natriumchlorid-Lösung oder mit gewöhnlichem Schildkrötenserum gemischt wurde. Kleine Flocken bilden sich in Limulusblutserum allmählich spontan. Vielleicht war die Zahl der Flocken nach einer halben bis einer Stunde in dem mit dem Serum vorbehandelter Schildkröten gemischten Limulusserum etwas größer als in dem Kontrollblut, aber der Unterschied war in wiederholten Versuchen zu gering, als daß er als spezifisch angesehen werden konnte. In weiteren Versuchen wurde Serum vorbehandelter Schildkröten in den Kopf kleiner Limuli injiziert, um eine etwaige spezifische Wirkung innerhalb des Tierkörpers zu untersuchen.

So wurden in einem Versuch am 22. September 1902 je  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{3}$  ccm Serum einer vorbehandelten Riesenschildkröte in den Kopf von 18 kleinen Limuli injiziert. 9 Kontrolltieren wurde die gleiche Menge von gewöhnlichem Schildkrötenserum eingespritzt. Alle diese Limuli blieben normal und noch nach 8 Tagen schwammen sie lebhaft im Seewasser. In einem zweiten Versuch wurden einem Zwerglimulus 1 ccm, einem zweiten  $\frac{1}{4}$  ccm Blutserum von vorbehandelten Schildkröten ebenfalls in den Kopf injiziert. In diesem Falle starben die Tiere nach 2 Tagen, während die Kontrolltiere, welche mit normalem Schildkrötenserum injiziert worden waren, am Leben blieben. Das Blut der ersten beiden Tiere zeigte den Charakter des Blutes sterbender Tiere, es war sehr arm an Blutkörperchen und produzierte nur wenig Koagulum. Es ist wahrscheinlich, daß die Tiere hier infolge von Blutverlust starben. Die Einstichöffnung war in diesem Falle nicht sorgfältig durch Collodium verschlossen worden, und obwohl das Blut vom Limulus schnell koaguliert, ist es sehr wenig geeignet auch nur die kleinsten Ein-

stichöffnungen so weit zu verschließen, daß das Tier vor allmählichem Verblutungstod bewahrt bleibt. (Schon im Sommer 1900 begann ich einzelne Versuche der Immunisation wirbelloser Tiere. Im Sommer 1901 versuchte ich gemeinschaftlich mit H. G. Wells Kaninchen gegen Spermatozoen und Eier von *Arbacia* zu immunisieren. Eine Notiz über diese Versuche findet sich in den Transactions of the Chicago Pathological Society, Vol. V, No. 3 (Dezember 1901). Unsere Ergebnisse waren im allgemeinen die gleichen wie die der wohl etwas früher angestellten, aber nach Beendigung unserer Versuche publizierten Untersuchungen von Dungerns (Zeitschrift für allgemeine Physiologie, Bd. I, 1). Wir fanden jedoch, daß das Serum von mit Eiern und Spermatozoen von *Arbacia* immunisierten Kaninchen nicht nur auf die Spermatozoen anderer Echinodermen, sondern auch auf Spermatozoen von Würmern, die untersucht wurden, stark agglutinierend wirkte. Letzten Sommer machte ich neben den oben beschriebenen weitere Versuche, die unter anderem bezweckten, in *Limulus* Koaguline gegen Milch hervorzubringen. Ich injizierte in mehrere Limuli in Abständen von 5—6 Tagen zweimal in einer Versuchsreihe, je 10 ccm, in einer anderen je 15 ccm Kuhmilch. Acht Tage nach der letzten Injektion wurde das Serum eines solchen *Limulus* in verschiedenen Proportionen mit unverdünnter und mit durch Seewasser verdünnter Kuhmilch gemischt. Es trat keine spezifische Reaktion ein. Doch war das Blut dieser Tiere nicht normal, sondern hatte den Charakter des Blutes eines anämischen Tieres. Wahrscheinlich hatte das Tier nach der Injektion Blut verloren. Begonnene Versuche mit Injektion von Diphtherietoxin konnten nicht zu Ende geführt werden.)

Eine deutlich hemmende Wirkung auf die Gerinnung des Blutes von *Limulus* hatten in einer Reihe von Versuchen Gelatinelösungen. Es wurden Lösungen verschiedener Konzentration mit destilliertem Wasser benutzt, sowohl ganz dünnflüssige, wie stark syrupöse. In allen diesen findet Gerinnungshemmung oder völlige Aufhebung der Gerinnung statt, wenn in der gewöhnlichen Weise das schnell aus dem Tier strömende Blut in einer Schale in einem Überschuß von Gelatine aufgefangen wird. An einzelnen Stellen finden wir auch hier kleine

Häufchen von zusammenklebenden Zellen, die aber nicht von einer extracellulären gallertigen Fibrinmasse zusammengehalten werden, da sie leicht zu trennen sind. An vielen Stellen sind nur isolierte Zellen vorhanden. Zuweilen finden wir Fäden; der Rest eines Kernes oder einige Granula im Innern dieser Fasern zeigten an, daß eine solche Faser aus einer ausgezogenen Zelle entstanden war. Wurde ganz dünne Gelatine benutzt, so mußte man sehr vorsichtig sein, eine starke Erschütterung der Gelatine-Blutmischung zu vermeiden, da sonst Gerinnung eintreten konnte. Man mußte es z. B. vermeiden, die Blutgelatinemischung aus der Schale auf den Objektträger in einer engen Pipette zu übertragen; da hierbei die beim Ein- und Ausfließen entstehende starke Reibung oft genügte, um Agglutination der Zellen und Faserbildung zu bewirken. Mit weiten Pipetten kann man hingegen bei vorsichtiger Behandlung auch das in ganz dünnen Gelatinelösungen aufgefangene Blut, ohne Gerinnung hervorzurufen, auf den Objektträger übertragen.

In dickeren Lösungen sieht man viele freie Granula. Zum Teile rühren diese von zu Grunde gehenden Zellen her. Im Anfang, als mir noch keine reine Gelatine zur Verfügung stand, benutzte ich Lösungen eines kommerziellen Leimes (Lepages glue). Derselbe enthält anscheinend Terpentin. Dieser hatte dieselbe gerinnungshemmende Wirkung, wie die reine Gelatine. Nur schwellen hierbei bei Zusatz von destilliertem Wasser die Zellen stärker auf, wie in der reinen Gelatine; diese geschwellenen Zellen hatten oft eine epithelähnliche Form. Sie legten sich auch zuweilen in Reihen aneinander. Hier sehen wir nun Granula verschiedener Größe in den Zellen. Zuweilen liegen sie direkt unter der transparenten, membranähnlichen Außenschicht. Zuweilen scheinen sie zu Stäben und zu einer die Peripherie einer halben Zelle einnehmenden relativ breiten, halbflüssigen Schicht zusammenzufließen. Viele Zellen schmelzen halb oder ganz ein. In einzelnen Zellen bleiben nur die peripherischen Tropfen, bzw. Granula konzentrisch um den in der Mitte gelegenen Kern angeordnet erhalten. In der unreinen Gelatinelösung waren Niederschläge vorhanden, die allmählich stärker wurden; diese waren zum Teil wohl auch durch Zusammenbrechen der Zellen bedingt. Wurde die Gelatine in Seewasser anstatt in destilliertem Wasser gelöst, so blieben die Zellen kleiner.



## Über die Wirkung des Harnstoffs und des Peptons auf die Gerinnung.

Fängt man *Limulus*blut in konzentrierten, jedoch nicht gesättigten Lösungen von Harnstoff auf, so tritt Gerinnung ein. In 38 pCt. Lösung von Harnstoff in destilliertem Wasser und in einer völlig gesättigten Harnstofflösung wird auch die Gerinnung des Hummerblutes nicht verhindert. Es ist bemerkenswert, daß unter diesen Umständen das Gerinnsel des Hummerblutes, das sich sonst stark kontrahiert, sodaß es dem Säugetierfibrin gleicht, hierbei ganz gallertig bleiben kann und so dem zweiten Coagulum des Hummerblutes ähnlich wird. Bringen wir das gewöhnliche, der ersten Gerinnung entstammende, fädige Hummerfibrin aus Wasser, in dem es einen opaken und brüchigen Charakter annimmt, in eine gesättigte oder halbgesättigte Harnstofflösung, so wird dasselbe schon nach wenigen Minuten aufgehellt, schwillt auf und wird weniger brüchig. Zum Vergleich in Glycerin gelegtes Gerinnsel wird transparenter wie das im Wasser liegende, schwillt aber nicht auf. Untersuchen wir mikroskopisch die in diesen Lösungen vor sich gehenden Veränderungen der Blutzellen des *Limulus* und des Hummers, so finden wir ein bedeutendes Aufschwellen und Hyalinwerden der Zellen. Die Zelle kann ganz unsichtbar werden, sodaß nur noch der Kern hervortritt. In anderen Fällen bleibt nur noch eine Art Membran übrig, welche die Peripherie der Zelle andeutet; dieser Membran liegt der Kern an. Die Granula schwinden häufig ganz; zuweilen aber bleiben große Granula (Tropfen) in der Peripherie der Zelle sichtbar. Weiterhin brechen viele Zellen ganz zusammen, und ihr Zellprotoplasma wird zu Fäden ausgezogen; in diesen Fäden können noch Körner liegen. Läßt man einen zweiten Objektträger auf den ersten auffallen, so bildet sich infolge des mechanischen Eingriffs etwas fädiges Fibrin. An anderen Stellen sieht man dann noch fetzenartige Reste von Zellen. Infolge mechanischer Bewegung werden allmählich mehr Fasern gebildet. Das so entstehende Fibrin ist sehr weich, weicher als dasjenige, welches sich in anderen Lösungen, z. B. in konzentrierten Lösungen von Kaliumchlorid oder in Hydrochinonlösungen bildet.

Harnstoff wirkt also in ähnlicher Weise auf das Zellproto-

plasma und auf das entstehende Fibrin. Es ist nun von Interesse, daß starke Lösungen von Albumosen (Wittes Pepton) einen ganz ähnlichen Einfluß auf den Charakter des Fibrins haben, das sich beim Auffangen des Hummerblutes in diesen Lösungen bildet, wie Harnstoff. Verwendet wurde sowohl eine 25 prozent. Lösung, als auch etwas schwächere Lösungen. Das Fibrin, welches sich aus dem in Pepton aufgefangenen Blute bildet, bleibt gallertig und kontrahiert sich nicht oder nur sehr wenig. Noch am nächsten Morgen ist dieses Gerinnsel ganz weich, und gelatinös; mikroskopisch erkennt man zu dieser Zeit in dem Coagulum nur mehr Kerne und einzelne Granula.

Legt man jedoch bereits kontrahiertes Fibringerinnsel in eine Peptonlösung, so findet nicht die für in Harnstoff gelegtes Fibrin charakteristische Veränderung statt. Solches Fibrin ist am nächsten Tag durch die Einwirkung des Peptons sehr dunkel geworden. Auch die Peptonlösung selbst wird dunkler. Die Versuche über die Wirkung des Peptons wurden bisher nur am Hummer angestellt; weitere Versuche müssen zeigen, ob auch Limulusblut beim Auffangen in stärkere Peptonlösungen gerinnt.

Limulusblut, welches in Glycerin oder in Chloroform aufgefangen wird, gerinnt. Die Zellen werden in diesen Flüssigkeiten nicht präserviert. Wird soviel Pepton, als genügen würde, um die Blutgerinnung bei einem kleinen Hunde aufzuheben, in einen Limulus injiziert, so wird dadurch die Gerinnung des ausfließenden Limulusblutes nicht gehemmt. Auch nach Injektion von 40 ccm Glycerin in das Tier in das Rückenmark, gerinnt das Blut nach dem Herausfließen wie gewöhnlich. In einigen Versuchen wurde geprüft, ob es möglich ist, in der von Haycraft bei anderen Wirbellosen versuchten Weise das Blut von Limulus dadurch flüssig zu erhalten, daß eine vollständig mit Öl benetzte Pipette in das Tier eingeführt und das Blut so direkt in Öl aufgefangen wurde, ohne Berührung mit den Geweben oder der Luft; die Gerinnung konnte in dieser Weise nicht verhindert werden. Auch wenn das Blut direkt unter Öl aufgefangen wurde, indem man das Tier unter Öl tauchte, bevor das Blut entzogen wurde, konnte die Gerinnung nicht verhindert werden.

### Einfluß von Druck und Zug auf die Zellen.

Wir haben schon im vorstehenden wiederholt erwähnt, daß mechanische Einflüsse die Zellen verändern. Diese Veränderungen wurden auf dreierlei Weise untersucht. Ganz leichte Eiwirkungen wurden schon dadurch erzielt, daß man auf einen Objektträger in einer Flüssigkeit einen Tropfen Blut auffing und dann die Flüssigkeit durch Neigen des Objektträgers nach einer bestimmten Richtung bewegte. Stärkere Wirkungen konnten dadurch erreicht werden, daß mit feinen Nadeln ein Zug in bestimmter Richtung auf einzelne Zellhaufen ausgeübt wurde oder daß Zellen mit einer Nadel auf dem Objektträger geschlagen wurden. Druckwirkungen wurden dadurch erzielt, daß ein zweiter Objektträger auf das auf einen Objektträger befindliche Blut aufgelegt und dann ein schwächerer oder stärkerer Druck ausgeübt wurde. Wenn der obere Objektträger von dem unteren abgehoben wurde, wurde auf die vorher gedrückten Zellen ein Zug ausgeübt. Das Hauptergebnis aller dieser Versuche läßt sich dahin zusammenfassen, daß unter dem Einfluß von auf diese Zellen ausgeübten Druck- und Zugwirkungen der zellige Charakter schwindet und eine Masse entsteht, die sich von dem gelatinösen oder fibrillären Fibrin nicht unterscheiden läßt, die makroskopisch wie Fibrin aussieht, die ähnliche physikalische Eigenschaften hat, indem sie nämlich, wie das besonders unter dem Mikroskop zu erkennen ist, klebrig, dehnbar und elastisch ist. Das Fasersystem in das die Zellen umgewandelt werden können, ist mikroskopisch nicht von dem aus dem Blutplasma entstehenden Fibrin zu unterscheiden. Es läßt sich ferner nachweisen, daß das Protoplasma der Blutzellen ursprünglich keine fibrilläre Struktur hat, daß aber durch Zugwirkungen sekundär ein fibrillärer Charakter der Zellen zustande kommt; daß diese Fibrillen sowohl das Protoplasma einer Zelle in Mehrzahl durchziehen können, wobei der zellige Charakter noch erhalten bleibt, oder auch daß ganze Zellen zu Fasern umgewandelt werden, und mehrere solcher Zellfasern durch Reiben sich zu dickeren Fasern vereinigen lassen. Wir sehen also Fasern von verschiedener Dicke entstehen. Ferner ist bemerkenswert, daß diese Fibrillen nicht an Zellgrenzen gebunden zu sein brauchen. Der Zug kann auf viele aneinandergereihte Zellen wirken und dann entstehen Fibrillen,

die sich über viele Zellterritorien hin erstrecken. Sowohl die feinere intracelluläre Fibrillation setzt sich kontinuierlich auf Fibrillen benachbarter Zellen fort, wie ganz besonders die aus ganzen Zellen entstehenden Fibrillen. Es ist überraschend, zu sehen, wie oft mit einem Ruck der Zellcharakter aneinandergereihter Zellen völlig schwindet und kontinuierliche Fadensysteme an die Stelle der Zellen treten können. Es ist nachher nur mehr schwer nachzuweisen, daß solche Fasern aus Zellen entstanden sind. Vielfach kann man jedoch noch den Kern in der Mitte einer solchen Faser liegen sehen. Der Kern dieser Zelle ist ein dehnbares, weiches Gebilde, ähnlich wie das Zellprotoplasma. In anderen Fällen bleibt er als eine kleine, runde Kugel im Centrum der Faser liegen. Daß eine Blutzelle lang ausgezogen werden kann, erwähnen schon Halliburton und Hardy. Die vollständige Umwandlung von einzelnen Zellen und Zellhaufen in fibrinähnliche Massen unter vollständigem Schwinden der Zellstruktur ist jedoch ein viel weitgehender Vorgang. Woolridge gab vor 20 Jahren an, er habe den direkten Übergang von Leukocyten von Säugetieren in Massen beobachtet, die von Fibrin nicht unterschieden werden konnten. Woolridge scheint jedoch keine Versuche ähnlich den hier beschriebenen angestellt zu haben. Bei der bloßen mikroskopischen Untersuchung einer Mischung von Zellprodukten mit etwaigen Niederschlägen aus Flüssigkeiten ist es aber, wie ich mich überzeugen konnte, häufig sehr schwer zu bestimmen, wie viel dieser Substanzen direktes Umwandlungsprodukt von Zellen und wie viel Koagulationsprodukte einer vorher gelösten Substanz sind. Die entscheidenden Versuche wurden in diesen Untersuchungen an völlig isolierten Zellen gemacht, und zwar in Fällen, wo es möglich war, isolierte Zellen und Zellhaufen experimentell ohne Beimischung von extracellulärem Fibrin zu erhalten. Die Granula werden unter dem Einfluß von Druck und Zug zuerst kleiner und können sodann ganz schwinden. Man hat oft den Eindruck, als ob es sich bei den Granula um Verdichtungen und Hervorwölbungen des Zellprotoplasmas handelt, die durch Druck und Zug ausgeglichen werden können. (Doch soll damit nicht eine etwaige chemische Verschiedenheit dieser Körner ausgeschlossen werden.) Als Folge der Einwirkung starken Druckes sieht man

zuerst ganz kleine Pünktchen an Stelle der gewöhnlichen Granula zurückbleiben; diese können dann weiterhin ebenfalls schwinden. Man kann nachweisen, daß Druck sowohl wie Zug dieselbe Wirkung auf Granula haben. Lagen die großen tropfenartigen Gebilde an Stelle der Granula, so scheinen diese spurlos in der durch Zug aus dem Zellprotoplasma gebildeten fibrinähnlichen Masse aufzugehen. Diese großen Tropfen oder stäbchenartigen Gebilde, die besonders in den aufgeschwollenen Zellen entstehen, haben ein sehr ähnliches Lichtbrechungsvermögen wie das Fibrin. Vielfach wurden auch durch Druck Granula aus den Zellen ausgedrückt.

Durch Zugwirkung wurden oft außerordentlich lange Fasern geschaffen. Das beruhte erstens darauf, daß das Protoplasma einer einzigen Zelle sehr stark ausziehbar ist. Das Zellprotoplasma ist unter den gegebenen Umständen ein sehr weiches, plastisches Material. Es genügt, wie man in günstigen Fällen beobachten kann, ein einziger Zug mit dem zweiten Objektträger, um das granuläre Zellprotoplasma in hyalines fädiges Fibrin zu verwandeln. Zweitens aber verursacht derselbe mechanische Faktor, der das Ausziehen der Zellen bewirkt, daß viele Zellen sich in derselben Richtung in eine einzige kontinuierliche Reihe anordnen. Dasselbe mechanische Moment reiht mehrere Zellen hintereinander auf und verwandelt sie alle in einen einzigen langen Faden. Auch in solchen Fäden verschwinden nun keineswegs immer alle Granula. Oft bleiben einige wenige oder sogar viele in den Fäden eingebettet. Fasern, welche in den Granula eingebettet sind, können nun auch dadurch zustande kommen, daß auf dem Objektträger eine Zelle zerfließt. In dem Augenblick des Zerfließens weichen die Zellgranula in Reihen auseinander und werden durch das fädigwerdende Zellprotoplasma verbunden.

Legen wir einen zweiten Objektträger auf Haufen weicher, geschwollener Blutzellen, welche sich auf einem Objektträger befinden, auf und bewegen unter Druck den oberen Objektträger hin und her, so werden dadurch sehr bald die Zellen in eine klebrige, strukturlose Masse, welche gewöhnlich eine cylindrische Form hat, umgewandelt. Heben wir nun, nach unmittelbar vorausgegangenem Druck den zweiten Objektträger ab, so wird

diese Masse, bei mehrmaligem Wiederholen dieses Vorganges, in faserige Gebilde verwandelt. Wir gelangen so wiederum auf einem Umweg zu Fasern. Häufig tritt zuerst eine Faser in der Mitte der cylindrischen Masse, dann aber auch an anderen Stellen auf. Zuletzt kann die Masse ohne Rest in Fasern aufgehen. Bemerkenswert ist hierbei, daß im Anfang diejenigen Teile der Masse, die schon in Fasern verwandelt sind, sich ganz scharf von den anderen Teilen abheben. Das beruht wohl darauf, daß nur da, wo der mechanische Faktor genügend stark einwirkt, die faserige Umwandlung stattfindet. Und dies ist gewöhnlich nur an scharf umschriebenen Stellen der Fall. Wir können unter dem Mikroskop verfolgen, wie durch bloßen Zug beim Abheben des Objekträgers eine solche Masse zu Fasern ausgezogen wird. Ein Zelleylinder kann hierbei in außerordentlich lange Fasern verwandelt werden. Umgekehrt kann man auch beobachten, daß es möglich ist, eine solche Faser wieder in eine größere cylindrische Masse zusammenzurollen. Auch mit ganz isolierten Zellen, die etwas geschwollen waren, wurden solche Versuche angestellt, und es konnte festgestellt werden, daß das Protoplasma der Zellen selbst alle Eigenschaften, wie Dehnbarkeit, Elastizität und Klebrigkeit hat, die zu diesen mechanischen Veränderungen nötig sind. Nun ist es aber nicht gleichgültig, mit welchen Zellen diese Versuche ausgeführt werden. Es bestehen darin Unterschiede je nach der Vorbehandlung der Zellen. Am leichtesten können diese Vorgänge festgestellt werden mit Zellen und Zellhaufen, die weich und geschwollen sind, wie dies nach Einwirkung der Adrenalin- oder Atropinlösung zum Beispiel stattfindet. Hier kann man auch ganz sicher sein, daß man nur mit Zellen zu tun hat, die nicht etwa in eine gallertige Hülle eingelagert sind. Aber auch Zellen in Hydrochinon oder in Gelatine sind ein günstiges Objekt. Auch Zellen, die in 3pCt. Formalin aufgefangen wurden, sind im Anfang durchaus fähig, diese Umwandlungen zu zeigen. Schwerer wird dies, wenn die Zellen eine Zeit lang in Formalin sich befunden hatten. Schwieriger ist es auch bei Zellen, die in saturierten Salzlösungen gehalten oder nach vorherigem Erwärmen des Tieres aufgefangen wurden. Die teigartige Ausziehbarkeit des Zellprotoplasmas, die in den erstgenannten Flüssigkeiten so leicht nachweisbar ist,

ist in Zellen der zweiten Art mehr oder weniger verloren gegangen. Auch in Seewasser aufgefangenes Blut eignet sich nicht gut zum Nachweis dieser Veränderungen. Die Zellen sind in den letztgenannten Fällen zu spröde und etwas weniger klebrig. Doch sind dieselben Umwandlungen auch hier möglich; die Umwandlung zu cylindrischen Massen, das Zerdrücken der Granula, die Ausziehbarkeit der Fasern können auch hier nachgewiesen werden. Hier lösen sich jedoch die einzelnen Zellen leicht von der Gesamtmasse ab. Doch finden sich auch in allen diesen Fällen gewöhnlich einige Zellen, die sich am Boden flach ausbreiten, Zellen mit weit ausgezogenem Protoplasma, „explodierte Zellen“. Die Zellform mag in solchen Fällen nur mehr durch den Kern und durch die Granula angedeutet sein. Das Protoplasma solcher ausgebreiteten Zellen zeigt nun dieselbe Dehnbarkeit, wie das in destilliertem Wasser gequollene Zellprotoplasma. Dasselbe kann leicht in Fäden umgewandelt werden. Ebenso ist dieses der Fall bei den Zellen, welche in der ersten Stunde nach dem Ausfließen des Blutes am Boden des Objektträgers hyalin ausgebreitet liegen. Durch Zug kann in diesen Zellen leicht eine fein und grob fibrilläre Struktur produziert werden. Wird dieses Zellnetz mit der Nadel an einer Stelle vom Glase des Objektträgers losgelöst, so retrahiert sich dieses Netz, als ob es unter Spannung gehalten wäre, gerade wie wir dies bei isolierten Zellen beim Ausziehen mit der Nadel in Adrenalinlösungen sahen.

Doch können wir in Bezug auf das hyalin ausgebreitete Zellnetz, das durch die Ausdehnung und Ortsveränderung und zum Teil auch unter Annäherung von Zellen, die vielfach ursprünglich weit entfernt waren, entsteht, nicht so sicher sein, daß hier nicht noch eine transparente gelatinöse Substanz, welche die Zellen umgibt, vorhanden ist, eine Substanz mit zum Teil ähnlichen Eigenschaften, wie das Zellprotoplasma. Aber selbst wenn das in manchen Fällen zuträfe, so würde doch auch hier die Gesamtheit der Zellen selbst die Hauptmasse der dehnbaren Substanz bilden und würde durch ihren Charakter hauptsächlich die Eigenschaften dieser Substanz bedingen. Also auch in diesen Fällen müßte sich das Zellprotoplasma selbst ganz ähnlich verhalten wie die etwa vorhandene gelatinöse extracelluläre Sub-

stanz. Zudem kann man häufig beobachten, daß beim Zusammendrücken eines Zellhaufens sich Granula leicht ablösen und fortschwimmen. Das könnte wohl kaum der Fall sein, wenn eine gelatinöse Masse die Zellhaufen umgäbe. Es könnten höchstens kleine, retrahierte Fäden außerhalb von Zellen entstehen und in diesem Falle bildeten die Zellen sicherlich die Hauptmasse der gelatinösen Substanz. Ebenso kann man auch aus einem durch Reiben zweier Objektträger entstandenen Zylinder ganze Zellen wegdrücken, und zwischen solchen Zellen bleibt keine weitere Substanz übrig.

Legt man sofort nach Auffangen eines frischen Blutropfens auf einem Objektträger einen zweiten Objektträger auf und zieht diesen, bevor Gerinnung eingetreten ist, unter Druck hin und her, so werden die einzelnen Blutkörperchen zu kleinen Zylindern ausgezogen, in denen sich die Granula in Reihen anordnen. Mehrere solcher Zylinder können sich aneinander legen und ein Ganzes bilden. Doch findet hier leicht eine Loslösung der einzelnen Zellen statt, da unter diesen Umständen das Zellprotoplasma sich noch nicht, wie das sehr bald nach dem Verlassen des Tierkörpers stattfindet, unter teilweisem Zerfließen ausgedehnt hatte und da dasselbe daher die für Fibrin charakteristischen Eigenschaften noch nicht gewonnen hatte. Das Protoplasma dieser Zellen ist spröde und die Zellen lassen sich leicht zu Körnchen zerreiben. Auch wenn wir auf Haufen von Zellen, welche länger in Formalin lagen oder auf Haufen von vorher erwärmten Zellen mit einem zweiten Objektträger einen Druck ausüben, wird oft eine reihenweise Anordnung der Granula dieser Zellen sichtbar. Diese durch die Granula markierten Fibrillen können durch mehrere Zellen hindurchgehen, so daß anscheinend die verschiedenen Zellen ein Ganzes bilden.

Die Elastizität dieser durch mechanische Beeinflussung entstehenden fadenförmigen Gebilde ist verschieden. Diejenigen Gebilde, die aus nicht gequollenen Zellen entstehen, zeigen wenig Elastizität, diejenigen hingegen, die aus ausgeflossenem Zellprotoplasma oder aus sich weit ausbreitenden Zellen entstehen, sind elastisch. Eine Bedeutung kommt mechanischen Zugwirkungen wohl auch in dem Falle zu, wenn direkt aus dem bei der Auflösung von Zellen gleichzeitig mit den Granula aus-



fließendem Zellprotoplasma Fäden entstehen, welche die Granula einschließen. Man kann unter Umständen, wenn man Hummerblut direkt in destilliertem Wasser auf dem Objektträger aufhängt, beobachten, daß der Zusammenhang zwischen Zellen, die sich in einiger Entfernung voneinander befinden, dadurch zustande kommt, daß dazwischen liegende Zellen sich zu im Anfang strukturlosem Protoplasma umwandeln. Der Kern allein bleibt dabei in der Mitte der Masse liegen als das einzige Strukturelement; ein wenig Protoplasma mag denselben umgeben. Unter diesen Umständen geraten auch Granula in die „Intercellularsubstanz“. In anderen Fällen tritt aus einzelnen Zellen nur ein Teil des Protoplasmas aus; auch durch dieses Protoplasma können nicht direkt sich berührende Zellen gleichsam aneinander gefesselt werden; ferner tritt auch direkte Agglutination vieler Zellen ein. Als Folge der Bewegung mit einer Nadel oder mit einem zweiten Objektträger kann nun dieses extracelluläre Protoplasma in Fasern verwandelt werden; unter solchen Umständen sieht man nur mehr Fasern, wo kurz vorher Zellen oder Zellreste gelegen waren. Während gewöhnlich solches die Zelle verlassende Protoplasma nur durch in demselben gelegene Körnchen angedeutet wird, ist es doch auch zuweilen deutlich sichtbar. Man kann sich sicher davon überzeugen, daß durch mechanische Einwirkung (Zug) aus dem erst formlosen Protoplasma solcher sich auflösenden Zellen geformte Intercellularsubstanz in der Form eines Systems von langen durchgehenden und von kurzen Fäden, welche Körnchen enthalten, gebildet wird. Natürlich kann man nun nicht daraus, daß man an einzelnen Stellen diese Entstehung der Intercellularsubstanz nachweisen kann, schließen, daß alle Fasern in dieser Weise gebildet sein müssen.

Es wurde früher darauf hingewiesen, daß beim Hummer gewöhnlich eine deutliche zweite Gerinnung erfolgt, daß bei *Limulus* aber solche Nachgerinnungen meist nur eine geringe Bedeutung haben. Beim Hummer haben diese sekundär gerinnenden Massen den Charakter einer strukturlosen, transparenten Substanz. Durch Zug kann nun auch in dieser Masse eine Fadenstruktur hervorgebracht werden. Oft ist aber eine Fadenstruktur schon von Anfang an in diesen gelatinösen Massen

vorhanden, und zwar wahrscheinlich hervorgerufen durch in der gerinnenden Flüssigkeit stattfindende Bewegungen. Auch das Produkt der zweiten Limulusgerinnung kann einen gelatinösen Charakter haben, besteht aber oft aus granulären Massen. Wenigstens bilden sich oft nach Ablauf der ersten Gerinnung granuläre Massen in dem Blutserum von Limulus. Diese granulären Massen können nun ebenfalls durch Reiben mit zwei Objektträgern in hyaline, fibrinähnliche Gebilde umgewandelt werden.

Aber nicht nur von vornherein feste oder halbfeste Substanzen, wie Zellen und gelatinöse Massen, werden durch mechanische Umstände in ihrer Struktur geändert, sondern auch kolloidale Lösungen. Reiben wir einige Tropfen Blutserum eines zu diesen Versuchen verwandten Tieres nach der ersten Gerinnung zwischen zwei Objektträgern, so entstehen ganz ähnliche Cylinder, wie sie sich aus den Zellen direkt durch entsprechende mechanische Einwirkungen herstellen lassen. Auch nachdem im Hummer die zweite Gerinnung stattgefunden, lassen sich noch aus dem austretenden Serum durch Reiben ähnliche Cylinder herstellen, aber nun wohl weniger leicht, wie vorher. Um diese Umwandlung in Lösungen zu bewirken, ist ein größerer Druck nötig, wie bei der entsprechenden Umwandlung des Zellprotoplasmas. Durch den durch Abheben des zweiten Objektträgers entstehenden Zug werden auch hier Fäden verschiedener Dicke hervorgebracht. Auch in filtrierten Eiweißlösungen kann man zwischen zwei Objektträgern durch Reiben und Abziehen der Objektträger dieselbe Wirkung hervorbringen. Es ist hierbei bemerkenswert, daß die durch Zug entstehenden Fäden gewöhnlich um Luftblasen liegen. Aber daraus dürfte wohl kaum der Schluß gezogen werden, daß die Produktion organisierter Gebilde aus Lösungen nicht auf mechanischen Umständen, sondern auf der Verdunstung des Wassers beruht. Denn 1. kann man bei Eiweißlösungen schon durch einmaliges Abheben der Objektträger diese Fäden hervorbringen, 2. kann man auch durch Reiben mit zwei Objektträgern unter Wasser dieselbe Wirkung hervorbringen (wenn vielleicht auch hier Luftwirkung nicht vollständig ausgeschlossen ist), 3. sind die entstehenden Gebilde ganz dieselben wie diejenigen, welche entstehen, wenn man noch

ungeronnenes Säugetierblut auf den Objektträger bringt und nun reibt; hierbei scheidet sich dann das Fibrin in Form von Cylindern und von Fasern aus. 4. Findet man auch die aus Zellen gebildeten Fasern um Luftblasen angeordnet, weil die Luftblasen eben die Stelle andeuten, an der die stärkste mechanische Beeinflussung der Zellen oder der Kolloide stattgefunden hat. Bei Eiweißlösungen ist es schon seit langem bekannt, daß durch Schlagen derselben Trübungen entstehen, die auf der Bildung fibrinähnlicher Gebilde beruhen. Durch Reiben mit zwei Objektträgern oder durch Schlagen der Flüssigkeit mit einer Nadel auf dem Objektträger kann man leicht die Entstehung solcher Gebilde mikroskopisch verfolgen. Mit Blutserum von Kaninchen gelang es mir nicht, in einwandfreier Weise die Bildungen dieser Strukturen nachzuweisen; auch Ramsden konnte durch Schlagen des Blutserums keine Wirkung erzielen. Täuschungen können bei Verwendung zweier Objektträger dadurch entstehen, daß Glassplitter, welche vom Objektträger abgerieben werden, oder dem Objektträger zufällig aufliegende Fasern anderer Art mit den aus den kolloidalen Substanzen entstehenden Gebilden verwechselt werden. Es kann beobachtet werden, daß die aus Eiweiß entstehenden Fasern, sobald sie Luftblasen nahe kommen, an der so gebildeten Grenzschicht zwischen Luftblase und Flüssigkeit hängen bleiben. Solche Fasern können auch Luftblasen einschließen. Oft haben diese aus kolloidalen Lösungen entstehenden Gebilde ebenfalls ein körniges Gefüge, welches durch Druck ausgeglichen werden kann. Mit Gelatinelösungen lassen sich ähnliche Fäden auf mechanische Weise nicht herstellen.

Es ist sicherlich eine bemerkenswerte Tatsache, daß aus Zellen durch relativ geringen Druck und Zug anscheinend Gebilde mit ähnlichen physikalischen Eigenschaften hervorgebracht werden, wie aus kolloidalen Lösungen von Hühnereiweiß und Bluteiweißstoffen der Arthropoden. Durch einen kleinen, für beide gleichen mechanischen Eingriff werden aus Zellen und aus in kolloidaler Lösung befindlichen Zellprodukten dieselben Gebilde geschaffen. Hierdurch wird bewiesen, daß der Eiweißcharakter der Zellsubstanzen für einen Teil der morphologischen Charaktere der Zelle allein in Betracht kommt, insbesondere

für den unter mechanischen Bedingungen auftretenden fibrillären Charakter gewisser protoplasmatischer Gebilde.

### Über die zweite Gerinnung des Hummerblutes.

Bisher wurde die Gerinnung als ganzes untersucht. Nun ist es aber möglich, eine bestimmte Phase der Gerinnung isoliert zu untersuchen, nämlich die zweite (gelatinöse) Gerinnung in dem Plasma, das nach Ablauf der ersten fädigen Gerinnung übrig bleibt. Genauere Versuche scheinen hierüber nicht vorzuliegen. Einzelne Autoren begnügen sich damit, die Frage zu diskutieren, ob diese zweite Gerinnung kontinuierlich mit der ersten stattfindet oder nicht. Halliburton bejaht dies. Nur Frédéricq<sup>1)</sup> gibt kurz an, daß Erwärmen auf ungefähr 50° C. sowie Zusatz gewisser saturierter Salzlösungen (Mg SO<sub>4</sub>) die zweite Gerinnung hindert. Im folgenden sollen nun die Resultate einiger Versuche mitgeteilt werden, die alle am Hummer, der sich hierzu am besten eignet, angestellt wurden. Es ergab sich gleich im Anfang, daß wenn man nach dem Herausfließen des Blutes das fädige Gerinnsel durch Schütteln schnell sammelt und mit Nadeln entfernt, die Gerinnung auf längere oder kürzere Zeit gehemmt oder auch ganz aufgehoben werden kann. Jedoch gerinnt das Blut, zwar nicht immer, aber doch häufig auch unter diesen Umständen, wenn auch später als unter gewöhnlichen Umständen, nämlich ohne Herausnahme des fädigen Gerinnsels. Das hängt zum Teil sicher davon ab, daß es unter diesen Umständen nicht möglich ist, alles Fadengerinnsel zu entfernen. Untersucht man die sich am Boden bildenden Gerinnsel auch nach möglichst sorgfältigem Entfernen des fädigen Koagulums, so sieht man sehr häufig unter dem Mikroskop im Centrum der sich bildenden kleinen Gerinnsel einen kleinen Haufen von Blutzellen. Aber es kann nicht ausgeschlossen werden, daß nicht auch bei völliger Herausnahme aller Zellen doch Gerinnung eintreten kann. In vielen Fällen jedoch bleibt die zweite Gerinnung auch trotz der nur unvollständigen Entfernung aller Gerinnsel aus. Es ist möglich, daß allein schon das durch die Auflösung so vieler

<sup>1)</sup> Frédéricq: Bulletin de l'Académie Royale de Belgique 3. serie tome I.

Zellen in das Blutplasma geratende Zellprotoplasma genügt, um auch bei vollständiger Entfernung der Zellen eine Gerinnung zu veranlassen. Später fand ich dann, daß durch Zusatz von Wasser zu dem Blut während der Bildung des Fadengerinnsels und durch nachfolgende Filtration die Gerinnung mit größerer Sicherheit auf längere Zeit oder ganz aufgehoben werden kann. Es wurde in solchen Versuchen etwa 25—100 pCt. Wasser dem Blute zugefügt. Es folgt aus diesen Versuchen, daß durch die Verdünnung des Blutes nicht nur die Menge des sich bildenden gelatinösen Gerinnsels relativ, nämlich im Verhältnis zu der nun vergrößerten Flüssigkeitsmenge herabgesetzt wurde, sondern, daß die Fibrinausscheidung auch absolut für eine bestimmte Zeit verringert wurde. Mit diesem Plasma, das ohne weiteren Zusatz nun eine Zeit lang spontan nicht gerann, wurden dann weitere Versuche meist in der Weise angestellt, daß je 4 oder 5 ccm desselben in eine Anzahl Schälchen gegossen wurden. Einigen dieser Schälchen wurden sodann abgemessene Mengen gewisser Lösungen zugesetzt. Ferner wurden hierauf in gewisse Schälchen bestimmte feste Substanzen gelegt, insbesondere kleine Stückchen des bei der ersten Gerinnung gebildeten fädigen Fibrins. Hierbei wurde darauf geachtet, daß annähernd gleiche Volumina dieser Substanzen zugesetzt wurden, so daß wir in einer Versuchsserie annähernd quantitativ untereinander vergleichbare Resultate erhielten. Es zeigte sich nun, daß Zusatz von etwa zwei bis drei Stückchen des fädigen Hummerfibrins zu dem Serum einen sehr starken Einfluß auf die Gerinnung hatte. Während ohne Zusatz dieses Fibrins die Gerinnung gar nicht oder oft erst nach mehreren Stunden oder erst am nächsten Tage eintrat, begann in gewöhnlichen Fällen bei Zusatz dieses Fibrins die Gerinnung viel früher einzutreten. Die Schnelligkeit, mit der das Fibrin die Gerinnung bewirkte, war verschieden. Der Unterschied gegen das Kontrolplasma, welches kein Fibrin erhielt, war aber immer sehr ausgesprochen. Bemerkenswert war ferner, daß der Einfluß dieses Fibrins ein durchaus lokalisierter war. Die Gerinnung begann immer direkt um das Fibrinstück und rückte von hier aus konzentrisch vor. Zuerst bildete sich meist eine Gallerte auf der unteren Seite des Fibrinstückes.

Infolge dessen klebte dieses am Boden des Schälchens fest. Hier bewirkte also eine sich aus der Flüssigkeit ausscheidende Substanz das Festkleben. Aber das Fibrin selbst besteht aus einer klebrigen Substanz, so daß dasselbe auch in reinem Wasser festkleben kann. Fibrin ist nun nicht die einzige Substanz, die eine solche Wirkung hat. Muskelstücke des Hummers wirken ungefähr gleich stark. In diesen Versuchen wurde der Muskel sorgfältig gewaschen und gebürstet, um etwa anhaftendes Blut zu entfernen. Nerv des Hummers hatte keine ausgesprochene Wirkung, doch war die hierzu benutzte Quantität der Substanz peripherischer Nerven sehr gering. Fibrin des Kaninchen- oder Rattenblutes oder Froschmuskel waren ohne Wirkung. Auch in diesen Fällen wurden diese Substanzen vorher ausgewaschen oder sie wurden vor dem Versuch zwei Stunden lang in Hummerplasma ausgelaugt, um etwaige in dem Fibrin anderer Tiere befindliche, die Gerinnung hemmende Stoffe zu entfernen. Gleich behandeltes Hummerfibrin war wirksam, Kaninchen- und Rattenfibrin waren unwirksam. Wurde zu dem Hummerplasma, in welchem das Kaninchenfibrin gelegen hatte, nachträglich Hummerfibrin zugefügt, so gerann das Plasma, also waren die Gerinnung hemmende Substanzen aus dem Säugetierfibrin nicht extrahiert worden. Kleine Pankreasleberstücke des Hummers verhinderten, wie zu erwarten, die Gerinnung vollständig. Wurden wirksame Fibrinstücke des Hummers zehn Minuten oder länger in absoluten Alkohol gelegt, sodann gewaschen und getrocknet, so hatten sie ihre Wirksamkeit fast vollständig eingebüßt. Eine Spur Fibrin vermochte sich jedoch zuweilen auch um solche Stücke noch abzulagern. Kontrollversuche zeigten, daß extrahierter, mit dem Serum sich vermischender Alkohol nicht die Ursache dieses Verlustes an Wirksamkeit sein konnte. Fibrinstücke, welche über Nacht oder drei Tage lang in Chloroformwasser gehalten wurden, konnten noch recht wirksam sein, wenn auch nicht in demselben Grade, wie frisches Fibrin. Fibrin, das fünf Tage in Chloroformwasser gehalten war, hatte seine Wirksamkeit in bedeutendem Maße eingebüßt. Zusatz von 1 ccm Chloroformwasser zu 4 oder 5 ccm Serum oder von einigen Tropfen reinen Chloroforms hatte keinen stärkeren Einfluß als Zusatz von Wasser. Erhitzen des Fibrins im Wasserbad auf 46 bis

47° während 30 bis 40 Minuten hebt die Wirksamkeit zu einem großen Teil, aber nicht vollständig auf, Erwärmen auf 53° bis 54° oder auch nur auf 51° während 40 Minuten hob die Wirksamkeit ganz oder fast ganz auf. Erwärmen des Plasmas auf 46 bis 50° während 30 Minuten verhinderte die spontane Gerinnung des Plasmas (die ja vielleicht nur durch darin verteilte Zellen oder Zellteile herbeigeführt wird). Setzte man zu derartig erwärmtem Plasma frisches Fibrin, so gerann dieses Plasma fast ebenso schnell, wie normales Plasma. Doch zeigte sich häufig eine sehr geringfügige Verringerung der Geschwindigkeit der Gerinnung dieses Plasmas im Vergleich zu nicht erwärmtem Plasma. Zufügen von 1 ccm Glycerin zu 4 ccm Plasma hatte keinen spezifisch hemmenden Einfluß. Solches Plasma gerann ungefähr ebenso schnell wie reines Plasma oder Plasma, dem 1 ccm 0,6 pCt. Natriumchloridlösung zugesetzt war. Auch Zusatz von 1 ccm Lösung von reiner Gelatine war ohne spezifischen Einfluß. Nach den früher geschilderten Versuchen lag die Möglichkeit vor, daß Gelatine hemmend. wirken könnte. Bloßer Zusatz von 1 ccm Wasser oder von 1 ccm 0,6 pCt. bis 4 pCt. Natriumchloridlösung zu 4 ccm Plasma hatte in den meisten Fällen eine schwach hemmende Wirkung, doch kam es vor, daß solche Plasmamischungen sogar etwas schneller gerannen, wie das reine Plasma; möglicherweise spielten hierbei Zufälligkeiten, wie verschiedener Gehalt der Mischung an Blutzellen, eine Rolle. Alle diese Versuche, wie auch die meisten der folgenden Versuche wurden unter Zusatz der Fibrinflocken zu der Flüssigkeit ausgeführt. Hingegen hatte der Zusatz von 1 ccm 1 pCt. Kaliumcyanid oder 16 pCt. Witte-Peptonlösung oder saturierter Harnstofflösung einen entschieden, wenn auch oft nur für einige Zeit hemmenden Einfluß; später, z. B. nach sechzehn Stunden, zuweilen auch früher, vermag dennoch Gerinnung aufzutreten. Auch tritt die Einwirkung gewöhnlich erst nach dem Ablauf der ersten halben Stunde zutage. Die Reihenfolge der Stärke der gerinnungshemmenden Wirkung dieser Substanzen ist die folgende: Kaliumcyanid wirkt am schwächsten, Harnstoff steht in der Mitte und Pepton wirkt am stärksten. Stellt man jedoch die Versuche in der Weise an, daß man die Fibrinstücke zuerst für einige Zeit in die Kaliumcyanid-, Harnstoff- und Peptonlösungen legt, diese Fibrinstücke sodann aus-

wäscht und erst dann in Schälchen, welche das Blutplasma enthalten, legt, so ist die Reihenfolge des Wirksamkeitsverlustes gerade die umgekehrte, wie in den vorigen Versuchen. Die Stücke, die eine halbe bis zwei Stunden in Peptonlösungen lagen, sind fast gerade so wirksam, wie frische Fibrinstücke, sogar Stücke, die über Nacht in Pepton lagen, können noch sehr starke Wirkung zeigen, wenn sie auch wohl in anderen Fällen schon einen bedeutenden Teil ihrer Wirkung verloren haben können. Es muß darauf geachtet werden, daß das Pepton während einiger Stunden aus dem Fibrin ausgewaschen wird, bevor dasselbe dem Plasma zugefügt wird, sonst wirkt das in das Plasma austretende Pepton gerinnungshemmend. Stücke, die eine halbe bis zwei Stunden in der Harnstofflösung lagen und dann ausgewaschen wurden, haben den größten Teil ihrer Kraft verloren, zwölfstündiges Liegen vernichtet dieselbe völlig. 1 pCt. Kaliumcyanid vernichtet die Wirksamkeit des Fibrins meist schon in einer halben Stunde völlig. Natürlich kann auch in solchen Schälchen soviel Gerinnung eintreten, wie in Kontrollschälchen, welche gar kein Fibrin enthalten, stattfindet. Liegt ein Stück Fibrin zwei Stunden lang in einer 1 pCt. Kaliumcyanidlösung, so wird das Fibrin opak. Die Verschiedenheit der Wirkung der drei Stoffe, die sich in diesen Versuchen kund tut, kann in mehrfacher Weise gedeutet werden. Das soll in einer späteren Arbeit erörtert werden.

Während wir in früheren Versuchen sahen, daß die Oxalate nicht stärker wirken, wie eine größere Reihe anderer Salze, welche Calcium nicht präzipitieren, können wir bei der zweiten Gerinnung des Hummers einen deutlichen Einfluß der Oxalate wahrnehmen.

1 ccm 2 pCt. Kaliumoxalat oder fünf Tropfen 10 pCt. Kaliumoxalat zu 4 ccm Plasma hinzugefügt, hindern die Gerinnung völlig,  $\frac{1}{2}$  ccm 2 pCt. Kaliumoxalat verzögert die Gerinnung deutlich. Umgekehrt hatte der Zusatz von 5 Tropfen, 1 ccm oder 2 ccm einer 2 pCt. Calciumchloridlösung in einer Serie von Versuchen einen deutlichen, wenn auch nicht starken, fördernden Einfluß auf die Gerinnung, im Vergleich zu Kontrollversuchen mit Zusatz von 1 ccm schwacher Natriumchloridlösung. Wahrscheinlich ist Calcium im Plasma schon in genügender Menge vorhanden, so



daß weiterer Zusatz von Calcium nur mehr einen schwach fördernden Einfluß haben kann.

Größere Versuchsreihen über die Wirkungen von Salzen sind bisher noch nicht angestellt worden, sollen aber noch ausgeführt werden. Doch machte ich im Anschluß an die Versuche mit Harnstoff Versuche über die Wirkung von Ammoniumchlorid. Es zeigte sich hierbei, daß dieses Salz, verglichen mit Natriumchloridlösungen, einen stärker hemmenden Einfluß auf die Gerinnung ausübt.

Während Zusatz von 1 ccm 16 pCt. Natriumchloridlösung oft nur einen unbedeutend (zuweilen allerdings auch einen etwas stärkeren) hemmenden Einfluß ausübt, haben 7 Tropfen einer 16 pCt. Ammoniumchloridlösung oder 1 ccm einer nur 4 pCt. Ammoniumchloridlösung eine weit stärkere Gerinnungshemmende Einwirkung. 1 ccm 16 pCt. Ammoniumchlorid hindert die Gerinnung fast ganz. 1 ccm 16 pCt. Acetamidlösung hat nur einen schwach hemmenden Einfluß. Zusatz einiger Tropfen Ammoniak hindert die Gerinnung vollständig, doch beruht dies wahrscheinlich auf Alkaliwirkung.

Läßt man die Blutplasmamischungen 24 Stunden lang in einem warmen Zimmer stehen, so tritt allmählich Fäulnis der Flüssigkeit ein. Die Fäulnis schließt nun das Eintreten der Gerinnung nicht aus, wenn sie dieselbe auch erschweren mag.

Nachdem die zweite, gelatinöse Gerinnung stattgefunden, ist es möglich, ein Serum aus der resultierenden geronnenen Masse zu gewinnen. Dieses Serum gerinnt nun, wenn es mit fädigem Fibrin versetzt wird, nicht mehr, obwohl, wenn es zwischen zwei Objektträgern gerieben wird, noch Fasermassen aus demselben gewonnen werden können.

In einer Reihe von Versuchen wurde geprüft, ob das um das erste, nämlich das fädige Gerinnsel sich bildende gelatinöse Fibrin ebenso stark wirkt, wie das ursprüngliche fädige Fibrin. Es zeigte sich, daß das gelatinöse Gerinnsel, welches sich bald nach dem Ausfließen des Blutes und nach der Bildung der Fibrinfäden um das fädige Fibrin bildet, ungefähr ebenso stark wirkt wie das erste, die Zellen enthaltende Gerinnsel, daß aber

das sich erst nach einiger Zeit in der Peripherie ansetzende gelatinöse Gerinnsel erheblich schwächer wirkt.

Mit verschiedenen Fremdkörpern (feste Gelatine, Holzkohle, Kartoffelstücke, gekochte Muskel, Karmin) wurden Versuche angestellt, um festzustellen, ob Fremdkörper als solche die Gerinnung beschleunigen. Es ergab sich, daß sie wirkungslos waren. Jedenfalls konnte eine deutliche Wirkung nie beobachtet werden. Von Interesse ist auch, daß Platinmohr ganz unwirksam war. Es ist möglich, daß in dem Augenblick, in dem sich das Fibrin ohnedies ausscheidet, der Ort der ersten Ausscheidung durch Fremdkörper beeinflußt wird. Darauf weist vielfach die Tatsache hin, daß im Gegensatz zu der Regel, daß im Centrum kleiner Gerinnsel Häufchen von Blutzellen liegen, in einigen Fällen solche nicht mikroskopisch gefunden werden konnten, wohl aber zum Beispiel ein zufällig in die Flüssigkeit geratener Baumwollfaden. Doch mögen zu dieser Zeit einzelne Zellen schon so weit aufgelöst gewesen sein, daß ihr Vorhandensein nicht mehr erkannt wurde. Blutplasma, welches in Glasröhren mit geringem Durchmesser gegossen wurde und so überall in Berührung mit festen Körpern war, gerann nicht früher wie in offenen Schalen gehaltenes Serum.

In dem in offenen Schalen gehaltenen Blutplasma bildet sich gewöhnlich ein Oberflächenhäutchen, und zwar geht auch dieses meist radiär von den eingelegten Fibrinflocken aus. Wenn wir Plasma eine halbe Stunde lang gegen eine unebene Fläche schütteln, so scheidet sich wie bei mechanischer Bewegung auf dem Objektträger Fibrin in makroskopisch erkennbaren Häutchen aus.

Es wurde auch eine Reihe von Versuchen angestellt, in denen versucht wurde, die Wirkung des Zellfibrins durch wässrige Extrakte zu ersetzen. Sowohl frisches, wie in absolutem Alkohol gehaltenes Fibrin wurde stunden- bis wochenlang mit Chloroformwasser extrahiert. Mit Sicherheit konnte ich mich nun nicht von der Wirksamkeit solcher Extrakte überzeugen. 1 ccm des Extraktes zu 4 ccm Plasma hinzugefügt zeigte in den meisten Fällen eine ganz unbedeutende Beschleunigung der Gerinnung im Vergleich zu Plasma, dem 1 ccm 0,6 pCt. Natriumchloridlösung zugefügt worden war. Der Unterschied war jedoch

unbedeutend und die Wirkung des Extraktes stand der Wirkung des Fibrins an Stärke außerordentlich nach. Auch Extrakte, welche durch mehrstündiges Ausziehen des Fibrins ohne Chloroformzusatz hergestellt wurden, gaben kein besseres Resultat. Vielleicht dürften andere Extraktionsmethoden sich wirksamer erweisen. Halliburton gibt an, daß ein Extrakt von in Alkohol präzipitiertem und dann gepulvertem Säugetierblut Gerinnung in dem mit Wasser verdünnten Magnesiumsulfatblut von Arthropoden hervorrief. Mir gelang es nicht, auf diese Weise Gerinnung herbeizuführen. Ein solches Resultat würde auch nicht in Einklang stehen zu der oben zutage getretenen Unwirksamkeit von Kaninchen- und Rattenfibrin.

Als ein Beispiel möge folgendes Versuchsprotokoll angeführt werden:

25. Nov. II. Versuch. 2.50 Uhr nachmittags Hummerblut mit 50 pCt. Wasser versetzt, die Fasergerinnsel durch Filtration entfernt, das Plasma in Schälchen gegossen.

1. 4 ccm Plasma + 3 Fibrinstücke, die vorher 3 Stunden in Wasser gelegen hatten.
2. 4       "       + 3 Fibrinstücke, die vorher 1 Stunde in 16 pCt. Pepton, sodann 2 Stunden in Wasser gelegen hatten.
3. 4       "       + 3 Fibrinstücke, die 1 Stunde in sat. Harnstofflösung, 2 Stunden in Wasser gelegen hatten.
4. 4       "       + 3 frische Fibrinstücke.
5. 4       "       + 3 Fibrinstücke von Kaninchenblut. (Fibrin vor dem Versuch gewaschen.)
6. 4       "       + 3 Hummerfibrinstücke, welche vorher 40 Minuten lang auf 50 bis 51° erwärmt worden waren.
7. 4       "       + 3 Hummerfibrinstücke, die vorher 5 Tage in Chloroformwasser gehalten waren.
8. 4       "       ohne Zusatz.
9. 4       "       + 3 Stücke des gelatinösen zweiten Koagulums (3 Stunden alt).
10. 4       "       + Platinschwamm (den Boden des Schälchens bedeckend).
11. 4       "       + 1 ccm 0,6 pCt. NaCl Lösung.
12. 4       "       + 1 ccm Extrakt des fädigen Fibrins in Chloroformwasser.

Um 3.30 nachmittags: 1. fast ganz geronnen, 2. um das Fibrin kleine, sagokornähnliche Gerinnsel, das Fibrin klebt fest, 3. ungeronnen, Fibrinstücke locker, 4.  $\frac{2}{3}$  geronnen, 5. nicht geronnen, Stücke nicht fest, 6. nicht geronnen, Stücke nicht fest, 7. Plasma nicht geronnen, Stücke nicht fest, 8. nicht geronnen, 9. Stücke Fibrin fest, nicht geronnen, 10. nicht geronnen, 11. und 12. nicht geronnen.

Um 4.20 nachmittags: 1. und 4. ganz geronnen, 2. fast ganz geronnen, 3. ungeronnen, alle anderen mit Ausnahme von 9. ebenfalls ungeronnen, in 6. klebt Fibrin fest, in 9. Fibrin klebt fest, eine Spur Gerinnung.

5 Uhr nachmittags: 9. ganz geronnen, sonst kein Wechsel.

Am nächsten Morgen, 9 Uhr vormittags: 3. und 5. nicht geronnen, 8. nicht geronnen, 10. 11. 12. nicht geronnen, 7. geronnen, 6.  $\frac{1}{2}$  geronnen; sonst keine Veränderung.

Wir können nun alle diese Befunde durch die Annahme erklären, daß in dem Fadengerinnsel ein Gerinnung bewirkendes Ferment oder Proferment vorhanden ist, und ferner durch die Annahme, daß, da dieses Gerinnsel zum überwiegenden Teil aus Zellen des Blutes besteht, ein solches Ferment oder Proferment in den Blutzellen vorhanden ist. Wir wiesen weiterhin eine streng lokalisierte Wirkung dieses Fermentes nach. Direkt um die Fibrinflocken lagert sich das Fibrin ab. Es muß daher angenommen werden, daß das Ferment nur langsam in die Flüssigkeit diffundieren kann. Trotz dieser Schwierigkeit, sich auszubreiten, müßte aber dennoch das Ferment im stande sein, durch die gelatinöse Substanz, die sich um das Fibrin bildet, zu diffundieren, obwohl aus neuen Versuchen hervorzugehen scheint, daß sogar Seifen mit Gelatine vermischt nicht aus der Gelatine zu diffundieren vermögen. Diese lokalisierte Anlagerung des gebildeten Fibrins erinnert sehr an Krystallisationsvorgänge. Bedienen wir uns der Hypothese einer Fermentwirkung, so müßte, wie wir aus den beim Erhitzen des Plasmas gewonnenen Resultaten schließen können, auch das Plasma eine geringe Menge Ferment oder Proferment enthalten. Das Ferment wurde schon teilweise zerstört durch Erhitzen auf 50—51°. Es besteht eine quantitative Beziehung zwischen Ferment und Gerinnung, da die Gerinnung um so schneller vor sich geht, eine je größere Anzahl Fibrinstücke in das Serum gelegt wurde.

Während absoluter Alkohol zur Darstellung des Säugetier- und nach Halliburton auch des Arthropodenfibrinfermentes benutzt wird, sehen wir, daß eine kurze Einwirkung von absolutem Alkohol auf das zerkleinerte Gerinnsel diesem bereits nach sehr kurzer Zeit seine Gerinnung bewirkende Eigenschaft fast ganz raubt. Hardy nahm an, daß das Ferment in den Granula der Zellen sei, weil diese während der Gerinnung teil-

weise schwinden. Aber während der Gerinnung gehen Auflösungsprozesse auch in anderen Teilen des Zellprotoplasmas vor sich, so daß kein Grund vorliegt, den Granula eine besondere Bedeutung für die Gerinnung zuzuschreiben. Eine solche Bedeutung dürfte auch deswegen den Granula nicht zukommen, weil wie wir sahen, Hummermuskelstücke, die keine Granula haben, ganz ebenso wirken wie das hauptsächlich aus Zellen bestehende Fadengerinnsel. Während aber in Bezug auf andere Zellarten oder auf Produkte derselben, so lange sie derselben Tierart angehören, ein Mangel an Spezifität der Fermentwirkung vorliegt, finden wir, daß Fibrin (welches ebenfalls Blutzellen einschließt) sowie Muskel von Kaninchen und Frosch wirkungslos waren. Hier liegen offenbar ähnliche Verhältnisse vor, wie sie sich in den Präzipitinreaktionen von Eiweißstoffen ergaben. Die Reaktionen sind meist mehreren Eiweißstoffen derselben Tierart gemeinsam, sind aber verschieden für die anscheinend identischen Eiweißstoffe, welche von verschiedenen, nicht nahe verwandten Tierarten gewonnen wurden. Auch die Tatsache der gerinnungerregenden Wirkung von Muskel steht nicht isoliert da, indem Delezenne<sup>1)</sup> fand, daß die Berührung mit der Muskulatur das Vogelblut zur Gerinnung bringt. Während es aber möglich ist, Vogelblut, falls die Berührung mit Muskel vermieden wird, lange flüssig zu erhalten, trotz der Anwesenheit der weißen Blutkörperchen, ist das beim Hummerblut meist nicht möglich, da in den Blutzellen ein wie Muskel wirkender Stoff vorhanden ist. Doch fand auch Delezenne einen die Gerinnung, wenn auch nur in geringerem Grade, beschleunigenden Einfluß der Leukocyten. In Bezug auf die Vielheit der Fibrinfermente liegen Beobachtungen von Bernheim-Karrer<sup>2)</sup> vor, welche für eine Verschiedenheit der in der Frauen- und Kuhmilch enthaltenen Fibrinfermente sprechen. Alle diese Beobachtungen zeigen, daß in diesen Tatsachen ganz allgemein gültige Gesetzmäßigkeiten vorzuliegen scheinen.

<sup>1)</sup> C. Delezenne, Recherches sur la coagulation du sang chez les oiseaux, Archiv de physiol. norm. et pathol. 1897. T. IX.

<sup>2)</sup> Bernheim-Karrer, Untersuchungen über das Fibrinferment der Milch. Centralblatt f. Bact. Bd. 31. 1902.

## Über die bei der Gerinnung des Blutes in Betracht kommenden Faktoren.

Nachdem wir nun eine Reihe einzelner Tatsachen mitgeteilt haben, müssen wir im Zusammenhang einige daraus sich ergebenden Schlußfolgerungen besprechen. Folgende Faktoren kommen bei der Blutgerinnung wesentlich in Betracht: 1. das Zusammenkleben der Zellen. Wir haben hierauf an vielen Stellen hingewiesen. Ganz isoliert, ohne Beteiligung anderer Faktoren können wir es z. B. beobachten beim Auffangen des Blutes in gewöhnlichem Wasser, in Gelatine oder in Adrenalin. In diesem Falle liefert das Cytoplasma selbst die klebrige Substanz. Wir haben es hier mit einer spontan eintretenden Erscheinung zu tun, die wohl identisch ist mit der Agglutination, die bei Bakterien und den verschiedensten Tierzellen hervorgerufen wurde. Die Gerinnung des Arthropodenblutes beruht zum Teil auf einer spontan außerhalb des Körpers eintretenden Agglutination der Blutzellen. 2. Wie die Zellen zusammenkleben, so klebt auch das aus an einer Stelle geborstenen, scheinbar aber oft intakten Zellen ausgetretene Zellprotoplasma sowie das Protoplasma völlig aufgelöster Zellen zusammen und bildet eine gelatinöse Masse. 3. Während der ersten Stunden der Koagulation breiten sich die Blutzellen in Berührung mit festen Körpern aus, so daß sie bald ein feines Netz sich berührender, weit ausgebreiteter Zellen bilden. 4. Wir sahen nun, daß aus Zellen und aus Zellen ausgetretenem Protoplasma ein vollständiges, von dem extracellulär entstehenden Fibrinnetz nicht zu unterscheidendes Fasernetz gebildet werden kann; wir sahen, daß an vielen Stellen, an denen anscheinend extracellulär entstandene Fasern liegen, ein in der Mitte gelegener Kern oder eingeschlossene Granula den Ursprung der Faser aus Zellen andeuten; wir wiesen ferner nach, daß größere Zellhaufen, welche unter bestimmten Bedingungen lediglich durch Agglutination von Zellen entstehen können, durch mechanische Einwirkung in eine von Fibrin nicht unterscheidbare Masse umgewandelt werden können; weiterhin, daß in manchen Zellhaufen die Zellen durch Druck sich lösen lassen, ohne daß ein extracelluläres Fasernetz oder eine extracelluläre Gallerte übrig bliebe, und daß wir daher annehmen können, daß das Zellprotoplasma selbst die fibrinähnliche Substanz

liefert. Auch zeigten wir, daß das aus Zellen entstehende Fibrin dieselben physikalischen Eigenschaften besitzt, wie das extracellulär gebildete Fibrin, ferner daß viel Protoplasma aus Zellen ausfließen kann, und daß sogar ganze Zellen zerfließen können, und daß solches Protoplasma ebenfalls eine fibrinähnliche Substanz liefert. Doch kann ein solcher Ursprung nicht für alle Fälle nachgewiesen werden, da man eine Zelle gerade im Zerfließen überraschen muß, um diesen Entstehungsprozeß feststellen zu können, und da dies natürlich nur zuweilen gelingt. Ziehen wir alle diese Tatsachen in Betracht, so können wir den Schluß ziehen, daß ein beträchtlicher Teil allen Fibrins oder der fibrinähnlichen Substanz direkt aus Zellprotoplasma entsteht; es wird aber die Annahme nahegelegt, daß die gesamte gelatinöse Masse diesen Ursprung haben mag. Dieses ist jedoch keineswegs erwiesen. Es dürfte aber wohl möglich sein, diese Annahme später in exakter Weise zu prüfen. Wie dem auch sei, es findet sicher eine Ausscheidung einer vorher in kolloidaler Lösung befindlichen Substanz statt. Wir untersuchten einige Bedingungen dieses Gerinnungsprozesses beim Hummerblute. Aber daß auch bei *Limulus* und *Libinia* eine ähnliche Gerinnung einer vorher gelösten Substanz stattfindet, darauf weisen verschiedene Beobachtungen hin. Wir können zum Beispiel unter dem Mikroskop beobachten, daß mit dem Blut gemischte Spermatozoen oder Staubpartikel, die sich sogleich nach dem Ausfließen des Blutes auf dem Objektträger bewegten, plötzlich während der Gerinnung unbeweglich werden, als ob sie von unsichtbaren Fäden festgehalten würden, ohne daß Blutzellen in der Nähe sind. Es gelang ferner, auch in *Limulus*blut 1—2 Stunden nach dem Ausfließen des Blutes durch Zug mit einer Nadel ein sehr feines Netzwerk sichtbar zu machen, in welchem das gewöhnliche gröbere Fibrinnetz eingebettet lag. Wahrscheinlich entstanden in diesem Fall die feinen Fasern auf Grund der mechanischen Einwirkung aus einer vorher nur halbfesten Masse. Ferner sahen wir, daß auch bei *Limulus* eine Nachgerinnung des Plasmas stattfinden kann. Diese Tatsachen weisen darauf hin, daß auch hier eine vorher flüssige Masse allmählich fest wird.

Es wurden weiterhin einige Versuche zur Analyse der Faktoren angestellt, welche die Agglutination der Blutkörperchen

bewirken. Es zeigte sich, daß das Blutserum von *Limulus* auch eine sehr stark agglutinierende Wirkung auf Spermatozoen von *Arbacia* ausübt. Ein bis vier Tropfen Serum zu 6 ccm Meerwasser, welches Spermatozoen enthielt, zugesetzt, bewirkt eine sofortige Agglutination der Spermatozoen in makroskopisch sichtbaren Strängen. Diejenigen Spermatozoen, die nicht agglutiniert werden, können lebhaft beweglich bleiben. Diese Wirkung des Limulusserums geht verloren, nachdem es oft filtriert worden war. Hummerserum hat entweder keine agglutinierende Wirkung oder eine bedeutend schwächere. Ebenso wirkt Limulusserum agglutinierend auf die Blutkörperchen der Schildkröte, wenn eine Blutkörperchenaufschwemmung und Limulusserum im Verhältnis von 1:1 oder 10:1 gemischt werden. Setzt man zu einem Schälchen Seewasser, in dem sich Larven von *Arenicola* befinden, einige Tropfen Limulusserum, so hört die ciliäre Bewegung auf. Die Larven kleben mit einem Ende am Boden des Gefäßes fest, die muskuläre Bewegung aber bleibt bestehen, die Larven sondern einen Cocon ab und sterben nach einigen Stunden. Nach Zusatz von einigen Tropfen Hummerserum oder von einigen Tropfen des Magendarmsaftes der *Libinia* bleibt die ciliäre Bewegung erhalten; die Larven schwimmen umher. Fügt man 4—5 Tropfen Limulusserum zu 5—6 ccm Seewasser, in dem Blastulae oder Plutei von *Arbacia* schwimmen, so hört die Bewegung dieser sofort auf. Hummerserum hat eine viel schwächere Wirkung, und der Verdauungssaft in *Libinia* ist wirkungslos. Legt man unbefruchtete Eier von *Arbacia* zwei Stunden vor der Befruchtung in 6 ccm Seewasser + 5 Tropfen Limulusserum, so findet in vielen Fällen nur eine sehr geringe Entwicklung der so behandelten Eier statt, oder die Entwicklung bleibt sogar ganz aus. Doch findet zuweilen auch eine Entwicklung solcher Eier statt. Hummerserum und Magendarmsaft von *Libinia* und anderen Crustaceen haben diese Wirkung nicht. Eier, die zwei Stunden lang vor der Befruchtung in 6 ccm Seewasser + 5 Tropfen Magendarmsaft eines Krebses gelegen hatten, entwickelten sich später häufig in der Weise, daß die einzelnen Blastomen sich ganz oder teilweise voneinander loslösen. In allen diesen Versuchen wurde, nachdem die Eier die gewünschte Zeit in der Lösung gelegen hatten, das Seewasser gewechselt und dann die



Befruchtung vorgenommen. Fügt man das Limulusserum oder den Darmsaft erst nach stattgefundener Befruchtung zu, nachdem also die Membran bereits gebildet ist, so ist keine deutliche Wirkung nachweisbar. Fügen wir eine kleine Menge Limulusserum zu Ctenophoren, deren Bewegung aufgehört hatte, so wird dadurch wieder eine lebhaftere Tätigkeit der Cilien angeregt. Der Magendarmsaft hat keine derartige erregende Wirkung. Die Ctenophoren bleiben in diesem bewegungslos. Nachträglicher Zusatz von einigen Tropfen Limulusserum hat aber auch in diesem Falle eine stark erregende Wirkung. Wir sehen also hier eine Wirkungsweise des Blutserums von Limulus, die es nahe legt, in dem Plasma wenigstens eine der Ursachen zu suchen, welche die Agglutination der Blutkörperchen, die in dem Blute, sobald es den Körper verlassen hat, stattfindet, veranlassen könnte. Wir sahen aber auch anderwärts, daß die Zellsubstanz allein bereits genügt, um die Agglutination zu bewirken. In all den letzt angeführten Versuchen fanden wir, daß die Wirkung des Hummerserums schwächer ist als die des Limulusserums. Dieser Umstand wäre vielleicht in Erwägung zu ziehen, wenn wir die Verschiedenheit in der Gerinnung des Blutes von Limulus und Hummer erklären wollen. Doch genügen diese Befunde noch keineswegs zu einer befriedigenden Erklärung. Vermutlich beruht die agglutinierende Wirkung des Limulusserums auf seinem Gehalt an einer klebrigen Substanz (Fibrin in Lösung?), welche die sich in dem Serum bewegendenden Organismen einhüllt. Darauf beruhen wahrscheinlich auch mehrere andere der oben erwähnten Wirkungen des Serums. Darauf deutet auch die Unwirksamkeit oft filtrierten Serums hin. J. Dewitz<sup>1)</sup> zeigte, daß Froschspermatozoen in Wasser, dem etwas Gummi arabicum zugesetzt wurde, in ähnlicher Weise agglutinierten. Doch mögen vielleicht auch noch andere Faktoren an dieser Wirkung des Limulusserums sich beteiligen.

Eine eingehende Besprechung der Wirkungsweise der gerinnungshemmenden Mittel soll hier nicht gegeben werden, da hierzu noch weitere Versuche nötig sind. Nur einzelne Punkte mögen erwähnt werden.

<sup>1)</sup> Centralblatt für Physiologie 1902.

Gelatinelösungen könnten vielleicht dadurch wirken, daß sie die Blutzellen und das aus Zellen ausfließende Protoplasma an ihrer Vereinigung hinderten, und auch vielleicht dadurch, daß das Fibrinferment an seiner Ausbreitung gehindert wird. Wärme und ebensowohl Formalin wirken wahrscheinlich hemmend auf das Fibrinferment ein (eine solche Wirkung der Wärme konnte bei der zweiten Gerinnung des Hummerplasmas nachgewiesen werden), es werden wahrscheinlich gleichzeitig auch die Eigenschaften des Protoplasmas der Zellen derart beinflußt, daß dasselbe an Labilität verliert, infolge dessen das Ferment die Zellen nicht so leicht verlassen kann und das Zellprotoplasma weniger leicht zu Fäden ausgezogen werden kann. Die gerinnungshemmende Wirkung der Salze beruht nach Sabbatani<sup>1)</sup> darauf, daß durch einige Salze Calcium präzipitiert wird, und daß die Jonisation von Calcium durch Zufügen gewisser anderer Salze verringert wird, daß also allgemein die Menge des aktiven Calciums verringert wird. Die hier berichteten Versuche scheinen diese Hypothese nicht zu stützen, da ja die Oxalate kaum merklich stärker wirken, wie z. B. Natriumnitrat, während doch die Oxalate einen viel stärkeren Einfluß auf Calcium haben. Aber auch eine Beziehung zwischen dem durch die Salzlösung bewirkten Präzipitat und der gerinnungshemmenden Wirkung läßt sich nicht nachweisen. Vielleicht wirken auch die Salzlösungen auf das Zellprotoplasma (bezw. auf das darin enthaltene Ferment), indem sie es durch Wasserentziehung weniger labil machen, ohne es jedoch zu töten; da ja bei der nachträglichen Verdünnung der Salzlösungen durch Wasser die gewöhnlichen Veränderungen an den Zellen vor sich gehen können. Meist finden wir eine Parallelität zwischen der präservierenden Wirkung auf die Zellen und der gerinnungshemmenden Wirkung der verschiedenen angewandten chemischen und physikalischen Agentien. Während die zweite Gerinnung des Hummers den Einfluß des Calciums sehr deutlich erkennen läßt, ist dies bei der ersten Koagulation nicht der Fall. Hier sind viel stärkere Eingriffe nötig, um die Gerinnung zu beeinflussen. Dies mag entweder darauf beruhen, daß wie oben ausgeführt, die Agglutination eine

<sup>1)</sup> L. Sabbatani. Comptes rendus de la société de Biologie. 1902. Ref. nach chem. Centralblatt 1902 No. 21.

wichtige Rolle bei der ersten Gerinnung spielt, oder vielleicht auch darauf, daß bei der ersten Gerinnung jede Zelle ein Gerinnungscentrum bildet, so daß hier gleich im Beginn eine in allen Teilen des Blutes zur Geltung kommende Fermentwirkung vorliegt. Die Bedeutung des von der ersten Koagulation stammenden fädigen Gerinnsels für die zweite Gerinnung des Hummerplasmas, sowie der Umstand, daß die Zellen den Hauptbestandteil des fädigen Gerinnsels bilden und daß dieselbe durch die bei dem Wirbeltierblut zur Defibrination benutzte Methode von dem Fibrin nicht zu trennen sind, legen den Gedanken nahe, daß doch ein wenn auch vielleicht nur quantitativer Unterschied in den Beziehungen der Blutzellen der Arthropoden einerseits und der Vögel andererseits zur Blutgerinnung bestehen muß.

Die Bedeutung der Blutkörperchen für die Gerinnung des Blutes besteht also bei Arthropoden 1. darin, daß das ausgeflossene Zellprotoplasma und die agglutinierten Zellen eine fädige Substanz liefern, die in physikalischer Hinsicht vom Fibrin kaum unterschieden werden kann; 2. darin, daß die Blutzellen eine Substanz enthalten, die bewirkt, daß aus dem Blutplasma sich Fibrin um die Blutzellen abscheidet. Eine gewisse, aber in diesem Falle nicht eindeutige Beziehung zwischen den Blutzellen und der Gerinnung zeigt sich auch darin, daß in dem Blute eines sterbenden *Limulus*, der, wie wir früher erwähnten, nur wenig Blutkörperchen besitzt, sich auch nur eine geringe Menge Fibrin bildet.

#### Über die Bedeutung der Blutkörperchen bei *Limulus* für die Entzündung.

Nachdem wir das Verhalten der Blutkörperchen bei der Gerinnung besprochen haben, können wir uns über das Verhalten derselben bei gewissen Schädigungen im Innern des Tierkörpers kurz fassen. Führen wir, wie das in einer früheren Arbeit<sup>1)</sup> beschrieben wurde, Fremdkörper wie Agar oder geronnenes Eiweiß oder einen Faden in das Tier ein, so verhalten sich die Blutzellen von *Limulus* wesentlich anders wie die Leukocyten eines Säugetieres. In letzterem Fall wandern schon nach

<sup>1)</sup> On the bloodlymphcells etc. The Journal of Medical Research. Vol. II, 1902.

7 Stunden etwa die mehrkernigen Leukocyten in den Agar ein und sie bilden bei ihrem Vordringen baumartige Verzweigungen in dem Agar. Zellen anderer Art bilden später fibrilläres Bindegewebe und zuweilen auch Riesenzellen um den Agar; diese Riesenzellen wiederum gehen später zu Grunde. Gleichzeitig hiermit dringt das Bindegewebe in den Agar ein und umgibt seine Außenseite mit einer Kapsel. Bei *Limulus* verhalten sich die Körperzellen Fremdkörpern gegenüber anders. Es wurde die Einwirkung von Fremdkörpern bis zu 15 Tagen nach ihrer Einführung verfolgt, und es wurden Stücke in verschiedenen Zeiträumen mikroskopisch untersucht. Es ließ sich feststellen, 1. daß die Blutkörperchen niemals in den Agar oder das Eiweiß eindringen. Wohl fanden sich zuweilen Blutzellen in Spalten am Rande des Agar. Aber in diesem Falle handelte es sich allem Anschein nach um durch mechanisches Zerreißen produzierte Spalten, in welche die Blutkörperchen mechanisch hineingerieten. Die Bilder waren durchaus verschieden von denen, welche nach Einführung von Fremdkörpern beim Meer-schweinchen erhalten werden. Hingegen bilden die um den Agar oder um Fäden angesammelten Blutzellen ein ähnliches Gerinnsel, wie dies im Blute außerhalb des Körpers geschieht. Das Blut mit samt den Zellen umgibt den Fremdkörper und dringt in die vorgebildeten Spalten ein. Hierbei zeigen die Blutkörperchen und das Blut dieselben Veränderungen, die auch außerhalb des Körpers stattfinden, es findet Blutgerinnung und wahrscheinlich auch eine Agglutination der Blutzellen statt. Allmählich wird diese geronnene Masse nekrotisch, ihre Kerne schwinden. Zuletzt ist der Fremdkörper von einer konzentrisch gelegenen homogenen, hyalinen Masse, welche keine weitere Struktur zeigt, umgeben. Doch soll hervorgehoben werden, daß man nicht selten einzelne Muskeln eines *Limulus*, in den Fremdkörper eingeführt waren, teilweise aufgelöst findet und daß in den Buchten solcher Muskeln Zellen liegen, die den Blutkörperchen ähnlich sind und die sehr den Osteoklasten der Knochen gleichen. Vielleicht haben diese Zellen eine phagocytische Funktion. Es ist nicht gelungen, Mitosen in dem die Wunde umgebenden Gewebe zu finden. Die Einführung eines Fremdkörpers in einen *Limulus* bewirkt Ver-

änderungen, welche am ehesten mit der Thrombose zu vergleichen ist, die nach Verletzung der Gefäßwand in dem Blutgefäß eines Säugetieres stattfindet. Es besteht in mancher Hinsicht eine Ähnlichkeit in dem Verhalten der Blutplättchen der Säugetiere und der Blutkörperchen oder Teile der Blutkörperchen von Arthropoden.

Es soll nun noch kurz erörtert werden, ob mehrere Arten von Blutkörperchen in diesen Arthropoden vorliegen. Bei *Limulus* habe ich durch Beobachtung der Blutkörperchen in dem Tiere selbst und durch Färbung derselben nach dem Ausfließen des Blutes keinen Hinweis darauf erhalten können, daß hier mehrere Arten von Blutkörperchen vorhanden sind. In Bezug auf die Blutkörperchen des Hummers wurde schon oben darauf hingewiesen, wie schwer es ist, die Blutkörperchen außerhalb des Körpers vor Veränderungen zu bewahren. Gewisse Verschiedenheiten zwischen Blutzellen, auf die eine Einteilung der normalen Blutkörperchen des Hummers begründet wurde, beruhen auf Auflösungsprozessen, welchen die Zellen nach dem Verlassen des Körpers unterliegen. Ich konnte mich nicht überzeugen, daß beim Hummer granulose Blutkörperchen normal vorkommen. Ob Unterschiede geringeren Grades zwischen verschiedenen Blutkörperchen des Hummers in Bezug auf die Kernform oder Färbung der Granula bestehen, darüber habe ich keine besonderen Untersuchungen angestellt. Solche Untersuchungen dürften wegen der angegebenen Fehlerquellen sehr schwer sein. Die Größe der Granula, die Form des Kernes verändert sich in vielen Blutkörperchen, sobald sie sich unter experimentellen Bedingungen befinden. Nur soviel konnte festgestellt werden, und das scheint wesentlich zu sein, daß nämlich in physiologischer Hinsicht, in ihrem Verhalten während der Gerinnung, in ihrer Reaktion auf mechanische Einflüsse, Fremdkörpern gegenüber irgend welche durchgreifenden Unterschiede zwischen den einzelnen Blutkörperchen nicht beobachtet werden konnten.

Über gewisse Analogien zwischen dem Verhalten der Blutzellen der Arthropoden und gewisser Zellen von Wirbeltieren.

Nachdem wir uns nun so weit in der Hauptsache auf die Darstellung von Beobachtungen und von Versuchen und der nächst-

liegenden, daraus zu ziehenden Schlußfolgerungen beschränkt haben, soll auf einige Analogien hingewiesen werden, die zwischen einzelnen hier beschriebenen und gewissen anderen bei höheren Tieren beobachteten Vorgängen bestehen. Solche Analogien müssen bei der Analyse dieser letzteren in Berücksichtigung gezogen werden.

Bei Schädigungen von Geweben im Wirbeltierkörper findet eine Auswanderung der weißen Blutkörperchen aus den Blutgefäßen nahe dem verletzten Bezirk in diesen hinein statt. Diese Wanderung wird nun gewöhnlich als eine Äußerung der positiven Chemotaxis der Leukocyten aufgefaßt. Das Verhalten der Blutkörperchen der Arthropoden während der Koagulation des Blutes macht es nun sehr wahrscheinlich, daß diese Leukocytenwanderung nicht lediglich durch Chemotaxis bewirkt wird. Außerhalb des Körpers befinden sich die Blutkörperchen der Arthropoden unter Bedingungen, die offenbar eine gewisse Analogie darbieten, zu den Verhältnissen, in denen sich die Leukocyten höherer Tiere bei Gewebsschädigungen befinden. Bei der Wanderung und Ausbreitung der Arthropodenzellen sind nun wahrscheinlich keine bestimmt gerichteten chemischen Reize vorhanden. Diese Zellen befinden sich anscheinend in einem homogenen Medium außerhalb des Körpers. Die Ausbreitungserscheinung der Blutkörperchen beruht auf einer Veränderung des Zellprotoplasmas, die durch unbekannte chemische oder physikalisch-chemische Agentien hervorgerufen wird, aber ohne daß ein bestimmter Richtungsreiz vorliegt. Wie bei den Blutkörperchen der Arthropoden dürfte es sich bei chemotaktischen Erscheinungen wohl um Veränderungen der Oberflächenspannung der Zellen handeln. Bei den Blutzellen der Arthropoden finden gleichzeitig mit einer solchen Änderung der Oberflächenspannung noch Auflösungserscheinungen in dem Protoplasma statt. Also Bewegungen und Ausbreitungserscheinungen der Blutkörperchen finden statt, wenn dieselben in einem gleichmäßigen Medium liegen, welches Veränderungen in dem Protoplasma hervorruft, ohne daß gewisse chemische Stoffe aus bestimmter Richtung die Zelle treffen müssen, und ohne, daß die Konzentration dieser chemischen Substanzen in einer bestimmten Richtung an Stärke zunehmen muß. Die Ähnlichkeit der Ausbreitungsprozesse der

Blutkörperchen der Arthropoden und der Reaktion der Blutkörperchen der Säugetiere auf Entzündungsreize ist so groß, daß wir wohl annehmen können, daß auch hier die Auswanderung ohne eine direkte chemisch richtende Ursache stattfinden kann und primär bedingt ist durch in dem Zellprotoplasma hervorgerufene Veränderungen, die auf allen Seiten durch die umgebende Flüssigkeit in den Zellen veranlaßt wird. Hierzu treten dann wahrscheinlich chemotaktische Reaktionen als ein weiterer Faktor hinzu.<sup>1)</sup>

b) Schon oben wurde darauf hingewiesen, daß eine deutliche Ausbreitung der Blutzellen nur in Berührung mit festen Körpern, wie sie z. B. die Fläche des Objektträgers darstellt, beobachtet werden konnte. Die Blutkörper kleben in Berührung mit solchen Flächen fest. Das Zellprotoplasma wird durch Erweichungsprozesse (wenigstens an der Seite der Berührung mit dem festen Körper) in eine klebrige Substanz verwandelt. Dieser Umstand allein genügt in diesem Falle, um ein Wandern in Berührung mit festen Körpern zu veranlassen. Auch das regenerierende Epithel bewegt sich in Berührung mit festen Körpern, und ich konnte beobachten, daß das epitheliale Protoplasma fest an dem Schorf haftet und nicht selten beim Abreißen des Schorfes zum Teil mit ihm entfernt wird. Dies legt die Annahme nahe, daß beim regenerierenden Epithel vielleicht ähnliche, wenn auch nicht so starke Veränderungen des Protoplasmas, wie an den Blutkörpern vor sich gehen, die das Haften des Epithels an festen Körpern veranlassen.

c) Innerhalb des Körpers werden die ovalen Blutkörperchen, ohne Fortsätze auszusenden und ohne ihre Gestalt zu ändern, im Blut durch die Bewegung der Flüssigkeit umher getrieben. Sobald das Blut den Körper verläßt, treten Veränderungen in

<sup>1)</sup> Es muß allerdings die Möglichkeit berücksichtigt werden, daß doch sehr geringfügige Unterschiede in der Stärke bestehen, in der die Einwirkung des umgebenden Mediums die einzelnen Blutkörperchen auf verschiedenen Seiten beeinflusst. Dann tritt in der das Protoplasma als ganzes verändernden Wirkung des umgebenden Mediums doch noch eine bestimmt richtende Wirkung hinzu. Jedenfalls findet neben der chemotaktischen Beeinflussung eine allgemeinere Veränderung des Protoplasmas der Blutzellen, der Arthropoden unter der Entzündung ähnlichen Bedingungen statt.

dem auf die Zelle einwirkenden Bedingungskomplex ein und die Zellen schließen sich zu einem großen Teil zu einer Masse zusammen, die mit einem Gewebe verglichen werden kann. Diese Tatsache würde nicht dadurch umgestoßen, daß etwa extracellulär entstehendes Fibrin den Zellen beigemischt sein sollte. Die Zellen selbst bleiben hierbei nicht unverändert, sie geben einen Teil ihres Protoplasmas nach außen ab; sie bilden eine Zone von Exoplasma, welches scheinbar die eigentliche Zelle mit Kern und Granula einschließt. Aus dem außerhalb des endoplasmatischen Teiles der Zelle, also desjenigen Teiles, der jetzt als die eigentlichen Zellen erscheint, bilden sich unter dem Einfluß geringfügiger Bewegungen Fasern. Auch ganze Zellen können zu Fasern umgewandelt werden und zwischen solchen Fasern bleiben dann Zellreste mit Kern und relativ wenig Protoplasma übrig. Wir haben es hier mit der Bildung einer intercellulären Substanz auf Kosten von Zellprotoplasma zu tun. Dieser Prozess bietet Vergleichspunkte mit der Entstehung von Bindegewebe aus Bindegewebszellen. Machen wir Schnitte durch geronnenes Blut vom *Limulus* eine Stunde nach der Entnahme des Blutes, so sehen wir bei Färbung nach Mallory schön blau gefärbte Fasern anstelle des Exoplasmas. Ganz ähnliche Vorgänge scheinen nach Mall<sup>1)</sup> bei der Bildung des Bindegewebes stattzufinden. In dem frischen, nicht fixierten Blutkoagulum sehen wir deutlich, daß die Zellen von einem homogenen Exoplasma umgeben waren. Auch hier konnten wir leicht durch geringe Bewegungen Fasern produzieren, die allerdings nicht auf das Exoplasma beschränkt sein müssen. Die bei der mikroskopischen Bearbeitung des Materials stattfindenden mechanischen Zugwirkungen genügen offenbar, um diese Fibrillation und zwar hauptsächlich in dem Exoplasma zu bewirken. Auch in den Fortsätzen des Zellprotoplasmas selbst können Fasern gebildet werden, wie das ja wohl auch bei der Bildung des retikulären Bindegewebes geschieht. Nach Vollendung der hyalinen Ausbreitung der Zellen gleicht das von den Blutzellen gebildete

<sup>1)</sup> Mall, *American Journal of Anatomy* 1902. In ähnlicher Weise, nämlich hauptsächlich aus dem exoplasmatischen Teile eines retikulären Syncytium scheint sich nach Hardesty auch die Neuroglia zu bilden. (*American Journal of Anatomy.*) 1902.



Gewebe durchaus dem myxoiden (retikulären) Bindegewebe. Nun bestehen ja sicher Verschiedenheiten zwischen einem solchen Gewebe und dem Bindegewebe. Chemisch sind beide wahrscheinlich verschieden. Auch morphologisch besteht keine absolute Identität. Aber die Ähnlichkeit in einzelnen wesentlichen Punkten ist doch so groß, dass wohl die Bildung dieses Blutzellengewebes als eine „akute“ Bildung eines Bindegewebes bezeichnet werden kann. Amöboide Bewegungen der Zellen, wie sie hier beobachtet werden, dürften auch bei der Bindegewebsbildung stattfinden. Auch bei dieser dürfte den mechanischen Umständen (Zug) eine Bedeutung für die Fibrillation des cellulären Protoplasmas und besonders für die Richtung der Fibrillen zukommen. Natürlich ist bei beiden Zellarten neben den äußeren mechanischen Faktoren wie Zug die Konstitution des Protoplasmas ein wesentlicher Faktor, ohne den der Zug die Fibrillenbildung nicht bewirken könnte. Vielleicht können wir aber aus den bei der Bildung des Blutzellengewebes gemachten Beobachtungen einige weitere Schlüsse auf die bei der Bindegewebsbildung direkt kaum zu beobachtenden Vorgänge ziehen.

Wir sahen, daß ein Teil des Protoplasmas der Zellen ausfließt und daß aus diesem nun völlig extracellulär gelegenen Protoplasma ebenfalls Fibrillen gebildet werden können. Sollte nicht auch etwas ähnliches bei der Bindegewebsbildung stattfinden? Es würde dann die von Kölliker, Merkel und anderen angenommene Bildung von extracellulären Fibrillen auch vorkommen; diese entstünden aus ausgeflossenem Zellprotoplasma. Bei der Bildung von Knorpel hat Spuler<sup>1)</sup> das Vorkommen von intercellular gelegenen Granula beschrieben. Bei dem Blutzellengewebe können wir deutlich verfolgen, wie Granula in den intercellulären Teil des Gewebes geraten, dadurch, daß ein Teil des Protoplasmas ausfließt, oder auch, indem ganze Zellen zerfließen, oder endlich dadurch, daß im Laufe der amöboiden Ausbreitung Protoplasteile mit Granula sich so weit von dem um den Kern gelegenen Protoplasma der Zellen trennen, daß sie nicht mehr zu der Zelle zu gehören scheinen. Auch werden solche Granula in Fasern, welche aus dem Zellprotoplasma ent-

<sup>1)</sup> Spuler, Zieglers Beiträge 1902.

stehen, eingebettet. Eine weitere Möglichkeit, die zu erwägen wäre, ist die folgende: Veränderungen in dem Medium, in dem die Blutzellen sich befinden, verursacht die Vorgänge, die zu der Bildung von Intercellularsubstanz aus Zellen führen. Der Prozeß kann vermieden werden durch chemische oder chemisch-physikalische Änderung des umgebenden Mediums, z. B. durch Auffangen des Blutes in gesättigten Salzlösungen. Also ein wesentlicher Faktor, der die Bildung der intercellulären Fibrillarsubstanz bedingt, ist die Beschaffenheit der Flüssigkeit, in der sich die Zellen befinden. Diese Tatsache kann auch in folgender Weise ausgedrückt werden. Das Serum, in dem die Zellen sich außerhalb des Körpers befinden, ist für die Blutkörperchen cytolitisch. Die Bildung einer fibrillären Intercellularsubstanz beruht auf der Wirkung einer die Zellen nicht mehr vor dem Zerfall bewahrenden, also cytolitischen Flüssigkeit.

Durch chemische Änderung, z. B. bei Verwendung von saturierten Salzlösungen, kann diese cytolitische Flüssigkeit in eine zellerhaltende umgewandelt werden. Dies schließt nicht die Möglichkeit aus, daß die cytolitische Wirkung des Serums möglicherweise nur eine indirekte ist, indem das Serum als ein Medium dient, welches die durch die Anwesenheit anderer Körper bedingten Veränderungen den Zellen zuleitet. Diese Erwägungen leiten zu einer ähnlichen Hypothese in Bezug auf die Bildung des fibrillären Bindegewebes. Sollte nicht auch im Tierkörper eine der Bedingungen der Bindegewebsbildung aus Bindegewebszellen in einer relativen, cytolitischen Tätigkeit der Gewebsflüssigkeit oder der durch die Gewebsflüssigkeit vermittelten Veränderungen bestehen? Und sollte nicht auch hier eine andere Zusammensetzung der Gewebsflüssigkeit die Zellen vor dem teilweisen Zerfall bewahren und dadurch die Bildung von Intercellularsubstanz und Narbengewebe verhindern können? Im Körper ist wohl immer die zur Fibrillation nötige mechanische Zugwirkung infolge der Bewegungen des Tieres vorhanden. Auch die aus Bindegewebszellen sich bildenden Fasern retrahieren sich ebenso wie die aus den Blutzellen gebildeten.

Wir sahen, daß mechanische Momente auf die Gestaltung dieses Blutzellengewebes einen wesentlichen Einfluß haben. Zug bewirkt fibrilläre Umwandlung des Protoplasmas, sowohl des

Protoplasmas ganzer Zellen, wie eine fibrilläre Gestaltung des Protoplasmas im Inneren einer Zelle. Die fibrilläre Struktur des Protoplasmas ist also eine sekundäre, durch Zugwirkungen bedingte. Aber nicht nur die Entstehung der Fibrillen infolge von Zugwirkungen kann in diesem Falle beobachtet werden, sondern auch die Richtung der gebildeten Fasern, wie das schon oben erwähnt wurde. Sehr deutlich ist meist nachzuweisen, daß mechanische Momente komplizierte fibrilläre Strukturen hervorbringen, wenn wir z. B. einen Tropfen *Limulus*- oder Hummerblut auf einen Objektträger auffallen lassen. Nach kurzer Zeit sehen wir dann bei eintretender Gerinnung ein System konzentrischer Kreise entstehen, welche durch radiäre Züge verbunden sind, als eine Folge der vom Centrum nach außen in dem auffallenden Tropfen sich fortpflanzenden Wellenbewegung. In diesem Fall nahmen nun auch extracellulär entstehende Fasern an der Bildung dieser Strukturen teil. Aber wir wissen, daß die Zellen unter diesen Umständen ganz in derselben Weise durch geringfügige mechanische Einflüsse angeordnet und zu Fasern umgewandelt werden. Auch im Knochen werden ähnliche komplizierte Faserstrukturen durch Zug und Druckwirkungen veranlaßt.

Wir wiesen bereits oben darauf hin, daß sehr oft aus den Blutzellen entstandene Fibrillen sich ununterbrochen durch das Gebiet mehrerer Zellen kontinuierlich fortsetzen. Kontinuierliche Fibrillen finden wir auch in anderen Geweben. Die auf gewissen Stadien der Regeneration in Epithelzellen sehr deutlich werdenden Protoplasmafaser ziehen ebenfalls durch mehrere Zellen hindurch. Ich habe in einer früheren Arbeit<sup>1)</sup> darauf hingewiesen, daß diese epithelialen Fibrillen dem Zug entsprechend angeordnet sind, den die vordringenden Epithelzellen ausüben. Wir sehen hier also wiederum wie ein mechanisches Moment die Richtung und vielleicht auch die Entstehung der Fibrillen bestimmt. Die Fibrillen des regenerierenden Epithels sind nicht die Fibrillen der ruhenden Epithelzellen, sondern müssen neu gebildet sein. Fibrillen, die kontinuierlich durch mehrere Zellgebiete hinziehen, liegen auch bei der Herzmuskulatur und nach neueren Untersuchungen vielleicht auch im peripheren Nerv vor.

<sup>1)</sup> Über die Regeneration des Epithels, Arch. f. Entwicklungsmechanik. 1898.

Obwohl natürlich in allen diesen Fällen die Konstitution der verschiedenen Zellarten der wesentliche Faktor für die fibrilläre Struktur dieser Gewebe ist, dürfte mechanischen Umständen vielleicht auch hier eine gewisse Bedeutung als auslösenden Faktoren zukommen.

Wir sahen, daß die Blutzellen sich in gewissen Flüssigkeiten in epithelialer Form anordnen. Dies beruht auf einfacher Agglutination von Zellen, die besser erhalten bleiben, als dies im Blutserum gewöhnlich der Fall ist.

Es wurde auf diese Analogien hingewiesen, nicht in der Annahme, daß eine vollständige Identität der zum Vergleich herbeigezogenen Vorgänge mit den bei den Blutzellen beobachteten vorliege; wohl aber ist es nicht unwahrscheinlich, daß gewisse wesentliche Faktoren bei beiden Reihen von Vorgängen identisch sind, und deshalb dürfte ein der experimentellen Prüfung leicht zugängliches Objekt, wie die Blutzellen, bei der Analyse der bei der Entzündung und Gewebsbildung stattfindenden Vorgängen, die der experimentellen Untersuchung nur schwer zugänglich sind, nicht ohne Wert sein.

Einige der Ergebnisse dieser Untersuchung mögen zum Schlusse zusammengefaßt werden:

1. Bei der Gerinnung des Blutes der Arthropoden kommen folgende Faktoren in Betracht: a) Agglutination der Blutzellen; b) Vereinigung des aus Zellen ausgeflossenen Protoplasmas und des Protoplasmas vollständig zerflossener Zellen zu einer gelatinösen Masse und sekundär zu Fäden; c) die in der nächsten Stunde stattfindende Ausbreitung der Blutzellen; d) die Gerinnung einer fibrinogenen Substanz.

2. Das Zusammenfügen der Blutzellen führt zu gewebsartigen Bildungen. Die Bildung der fibrillären Zwischensubstanz entspricht der Bildung eines fibrillären Bindegewebes. Durch Veränderung der Flüssigkeit, in der die Zellen suspendiert sind, kann der cytolytische Einfluß des die Zellen umgebenden Mediums aufgehoben und die Bildung der fibrillären Zwischensubstanz verhindert werden. Durch Agglutination von Zellen, welche erhalten bleiben, kann eine epitheliale Anordnung der Zellen entstehen.

3. Die Gerinnung des Blutes kann durch Auffangen desselben in verschiedenen Lösungen verhindert oder beschränkt werden. Meistens haben diese Lösungen auch einen erhaltenden Einfluß auf die Zellen. Oxalate wirken ähnlich wie andere Salzlösungen, nämlich nur in saturierter bis halbsaturierter Lösung. Das weist darauf hin, dass wahrscheinlich eine Einwirkung auf Calcium bei dieser Gerinnungshemmung nicht der wesentliche Faktor ist. Natrium und Kaliumsulfat haben ebenso wie Natriumnitrat und Natrium und Kaliumchlorid einen gerinnungshemmenden Einfluß, aber die Blutzellen werden verschieden beeinflusst von den beiden Sulfaten einerseits und den anderen Salzen andererseits.

4. Die Gerinnung des Blutes wird gehemmt durch Auffangen des Blutes in Gelatinelösungen. Auffangen in Öl ist ohne Einfluß.

5. Die zweite Gerinnung des Hummerblutes wird durch andere Mittel verhindert, wie die erste Gerinnung. Die bei der zweiten Gerinnung beobachteten Tatsachen können erklärt werden durch die Annahme der Tätigkeit eines Gerinnungsfermentes, welches in den Blutzellen und dem Muskel des Hummers, nicht aber in den Blutzellen oder dem Muskel gewisser Wirbeltiere verbunden ist. Dies weist auf eine Vielheit der Fibrinfermente in verschiedenen Tierarten und auf eine Identität der Fermente in verschiedenen Geweben derselben Tierart hin. Die Spezifität in dem einen Fall, bzw. der Mangel an Spezifität in dem andern Fall entsprechen einer ähnlichen Spezifität, bzw. einem Mangel an Spezifität, wie sie für Präzipitine, die durch Injektion von Körpersäften oder Eiweißstoffen erhalten worden, festgestellt wurden.

6. Kaliumcyanid, Harnstoff, Peptonlösungen hemmen die zweite Gerinnung. Hierbei ist die Stärke der hemmenden Einwirkung dieser Stoffe bei Mischung mit dem Plasma gerade die umgekehrte, wie wenn sie auf das Ferment enthaltende Fibrin wirken. Kaliumcyanid wirkt am stärksten auf das Fibrin, Pepton am schwächsten, umgekehrt wirkt Pepton am stärksten, Kaliumcyanid am schwächsten bei Vermischung mit dem Plasma.

7. Die Notwendigkeit der Anwesenheit des Calcium läßt sich für die zweite Gerinnung leicht nachweisen. Ammonium-

chlorid hemmt die zweite Gerinnung stärker wie Natriumchlorid.

8. Zug und Druckwirkungen verwandeln das Zellprotoplasma in ein Fasersystem, das von dem extracellulären Fibrin in seinem Aussehen und in seinen physikalischen Eigenschaften nicht zu unterscheiden ist. Die Zellgranula verschwinden unter dem Einfluß der Zug- und Druckwirkung, ebenso wie dies spontan in den Zellen in dem Blutserum außerhalb des Körpers stattfindet.

9. Durch Zug- und Druckwirkung können in dem zellfreien Blutserum ähnliche fibrilläre Strukturen hervorgerufen werden, wie aus dem Zellprotoplasma. Der kolloidalen Lösungen gewisser Eiweißstoffe und dem Zellprotoplasma in gleicher Weise zukommende chemische Charakter kommt für einen Teil der morphologischen Charaktere der Zellen allein in Betracht, insbesondere für die unter gewissen mechanischen Bedingungen auftretenden fibrilläre Struktur gewisser Zellen (Zellenteile) oder Gewebe.

10. Zug- und Druckwirkungen bestimmen auch die Richtung der aus Zellen entstehenden fibrillären Strukturen.

11. Die Bedeutung der Blutzellen für die Gerinnung besteht darin, daß sie 1) sich selbst in eine fibrinähnliche Masse umwandeln, und daß sie 2) die Gerinnung in dem umgebenden Blutplasma hervorrufen, wobei einzelne Tatsachen auf die Möglichkeit hindeuten, daß die im Plasma enthaltene gerinnende Substanz aus den Blutzellen stammt.

12. In den Körper eingefügten Fremdkörpern (Agar) gegenüber verhalten sich die Blutkörperchen von *Limulus* nicht so aktiv wie Säugetierblutkörperchen. Ein Eindringen in dieselben wird nicht beachtet. Sie beteiligen sich an der Bildung eines Gerinnsels um den Fremdkörper. Aktive Proliferation anderer Zellen oder Riesenzellenbildung wurde um die Fremdkörper nicht beobachtet.

---