

(Aus dem Mikrobiologischen Forschungsinstitut des Volksunterrichtskommissariats RSFSR und aus dem Bakteriologischen Institut der II. Staatsuniversität Moskau.
Dir.: Prof. Dr. med. u. phil. *J. L. Kritschevski.*)

Untersuchungen über die entstehungsgeschichtlichen Beziehungen der Blutplättchen und der spindelförmigen Zellen mittels der Immunitätsmethoden.

Von

F. T. Grünbaum.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. August 1927.)

Zur experimentellen Erforschung der Blutplättchen und der Spindelzellen werden mit Vorliebe die Immunitätsmethoden angewandt, da diese mehr oder weniger spezifisch sind. Diese Methoden wurden von verschiedenen Forschern, die die Frage der Entstehung der Blutplättchen und deren Funktion im Körper untersuchten, angewandt.

Schtschastni versuchte die Frage mittels Hämolyse der entsprechenden Sera zu lösen. Er konnte feststellen, daß das gegenüber Hundeerythrocyten hämolytisch wirkende Serum nicht nur die Erythrocyten, sondern auch die Blutplättchen des Hundes agglutiniert. Nach ihm binden die Blutplättchen auch das Komplement im gleichen hämolytischen Serum. Auf Grund dieser Ergebnisse schließt *Schtschastni*, daß im hämolytischen Serum spezifische Ambozeptoren nicht nur gegen Erythrocyten, sondern auch gegen Blutplättchen vorhanden sind. Da die Erscheinung der Agglutination und die Komplementbindung durch Erythrocyten und Blutplättchen nur mit den Zellen einer Tierart — des Hundes — zustande kommt, glaubt *Schtschastni* annehmen zu dürfen, daß die Blutplättchen von den Erythrocyten abstammten.

Der Versuch kann auch in umgekehrter Weise ausgeführt werden: *Sacerdotti* stellte Antibleutplättchenserum her und erforschte ihre Wirkung auf rote Blutkörperchen. Er fand dabei eine, wenn auch nicht sehr starke Hämolyse der Erythrocyten.

Le Sourd et Pagniez bestätigen die Ergebnisse von *Sacerdotti* und nehmen mit dem letzteren an, daß die Hämolyse der Erythrocyten mit Antibleutplättchenserum und die Agglutination der Blutplättchen durch hämolytische Sera dadurch zu erklären seien, daß in dem einen Falle dem Blutplättchenantigen Spuren von Erythrocyten, im anderen Falle dem Erythrocytenantigen Blutplättchen anhafteten.

Auch diese Forscher glauben auf Grund der antigenen Eigenschaften der Blutplättchen annehmen zu können, daß die Blutplättchen Zellen darstellen.

Auch *Tatarinow* wandte zur Erforschung der Abstammung der Blutplättchen hämolytische und Antibleutplättchenserum an. Er konnte jedoch die Unhaltbarkeit

dieses Versuches der Agglutination der Blutplättchen mit Antibleutplättchenserum feststellen: Die Blutplättchen ballen sich infolge ihrer außerordentlichen Verfallzeit nicht nur in Anwesenheit von spezifischem Antibleutplättchenserum zusammen, sondern auch das Serum eines nichtimmunen Tieres und gewöhnliche physiologische Kochsalzlösung rufen eine solche Agglutination hervor.

Was die Reaktion von *Bordet* und *Gengou* betrifft, so fand *Tatarinow*, daß Erythrocyten zusammen mit Antibleutplättchenserum das Komplement binden, während Leukocyten mit dem gleichen Serum dies nicht tun. *Tatarinow* glaubt deshalb annehmen zu können, daß im Antibleutplättchenserum Antikörper vorhanden sind, die nicht nur für die Blutplättchen, sondern auch für Erythrocyten spezifisch sind, weshalb er zur Annahme neigt, daß die Blutplättchen von den Erythrocyten abstammen.

Zu vollkommen entgegengesetzten Ergebnissen kamen *Rosenthal* und *Falkenheim*. Sie stellten Antibleutplättchen, hämolytische und Antileukocytensera her, führten gekreuzte Versuche aus, wobei sie fanden, daß die hämolytischen Sera keinerlei Wirkung auf die Blutplättchen ausüben. Dasselbe zeigten die Antibleutplättchensera gegenüber den Erythrocyten. Die Leukocyten wurden dagegen durch Antibleutplättchensera agglutiniert, und umgekehrt agglutinieren leukotoxische Sera die Blutplättchen.

Die gleichen Verfasser benutzten auch Vogel-Thrombocyten als Antigen zur Herstellung „spezifischer“ cytolytischer Sera. Es stellte sich dabei heraus, daß für Erythrocyten und Spindelzellen keine gemeinsamen Rezeptorengruppen bestehen. Sie schlossen daraus auf eine Verwandtschaft der Blutplättchen und Vogel-Thrombocyten mit den Leukocyten, im Gegensatz zu den oben genannten Forschern.

Wir sehen somit, daß die Versuchsergebnisse mittels serologischer Reaktionen bei den verschiedenen Forschern ganz verschieden sind, und dennoch ist jeder der erwähnten Untersucher im Recht. Denn vor allem sind die Reaktionen der Agglutination, der Hämolyse und der Komplementbindung gegenüber den verschiedenen Zellen ein und derselben Art insofern nicht spezifisch, als die Endergebnisse zur endgültigen Lösung der Frage über die Abstammung der Blutplättchen nicht ausschlaggebend sein können.

Wenn man auch die zweifelhafte Spezifität der Antikörper zu den Zellen einer und derselben Spezies in Betracht zieht, so müssen wir auf Grund der Ergebnisse von *Tatarinow*, *Rosenthal* und *Falkenheim*, *Schtschastni* u. a. Forscher, die mit serologischen Methoden gearbeitet haben, zum Schluß kommen, daß die Formbestandteile des Blutes eine gemeinsame Abstammung besitzen. Wir können aber keinesfalls behaupten, daß auf Grund antigener Eigenschaften dieser oder jener Zellen die einen aus den anderen entstehen.

Die Anwendung der Immunitätsreaktionen zur Lösung der Frage über die Abstammungsverhältnisse zwischen den Blutplättchen und anderen Formbestandteilen des Blutes kann aber auch auf andere Art ausgenutzt werden, und zwar, wenn wir den Versuch *in vivo* anstellen.

So z. B. stellten *Bedson* und *Johnston* Sera her, indem sie Tiere mit Lymphknoten, Endothelien, Knochenmark und Milz immunisierten.

Da die Möglichkeit bestand, spezifische cytotoxische Sera zu erhalten, haben diese Forscher die auf die oben beschriebene Art erhaltenen Sera den Tieren eingespritzt und die danach entstandenen Veränderungen im peripheren Blut untersucht. Es stellte sich heraus, daß nur das Antiknochenmarkserum die Blutplättchen im peripheren Blut zerstörte. Auf Grund dieser Untersuchungen behaupten *Bedson* und *Johnston*, daß das Knochenmark ein Gewebe darstellt, welches die Blutplättchen bildet.

Eine ausgiebige Anwendung der Immunitätsmethoden zur Lösung der Frage über die funktionelle Verwandtschaft der Blutplättchen der Säugetiere und der Spindelzellen anderer Gruppen der Wirbeltiere finden wir in den Arbeiten von *Ledingham* und *Woodcock*. Diese Forscher stellten Serum gegen Vogel-Thrombocyten her und konnten durch Einspritzung des Serums bei Vögeln die Erscheinungen der Purpura haemorrhagica hervorrufen. Versuche mit demselben Serum in vitro führten zum Verschwinden der Thrombocyten. Gleiche Erscheinungen konnten sie bei Säugetieren beobachten, nachdem ihnen Antiblettsplättchenserum eingespritzt worden waren. Andererseits konnten *Ledingham* und *Woodcock* nach der Einspritzung von hämolytischen und leukotoxischen Seren bei den gleichen Tiergruppen keine Purpura erzeugen. Diese Forscher glauben deshalb annehmen zu können, daß die Blutplättchen und die Spindelzellen funktionell gleichwertig sind.

Ich selbst benutzte zur Lösung der Frage über die Entstehung der Blutplättchen und der Spindelzellen, wie auch zur Erforschung ihrer funktionellen Eigenschaften eine Immunitätsreaktion, welche sich von den bisher angewandten scharf unterscheidet. Während die oben genannten Forscher als Grundlage für ihre Arbeiten eine strenge Spezifität der Antikörper gegenüber den homologen Zellen vorausgesetzt haben, eine Voraussetzung, welche, wie wir gesehen haben, widersprechende Schlüsse zur Folge hatte, habe ich selbst eine Reaktion angewandt, welche nicht auf diese fragliche Spezifität, sondern auf der Spezifität des „Indikators“, als welche, gemäß *Kritschewski* und *Tscherikower* nur Blutplättchen, oder genetisch der letzten gemeinsamen und funktionell isodynamische Zellen sein können, aufgebaut war.

Es ist das das bekannte *Beladungssphänomen* der Parasiten mit Blutplättchen, welches zuerst von *Rickenberg* entdeckt worden ist, aber im rechten Sinne von *Kritschewski* und *Tscherikower* erkannt, ausgearbeitet erweitert worden ist. Im wesentlichen besteht diese Erscheinung und darin, daß wenn man in Citratbouillon einen Tropfen Immunblut gegen Mäusetrypanosomen mit einem Tropfen Blut einer Maus, welche sich auf der Höhe der Infektion befindet, vermengt, sich die Trypanosomen in der Mehrzahl mit Blutplättchen beladen. Weiter konnte *Brussin* feststellen, daß die gleiche Erscheinung auch beim experimentellen Rückfallfieber bei weißen Mäusen zustande kommt, *Kri-*

tschewski und *Tscherikower* beweisen dasselbe gegenüber den Spirochäten vom Typus icterogenes, und *Messik* bei der experimentellen Leishmaniose der Mäuse.

Die Reaktion der Beladung des Parasiten mit Blutplättchen ist so spezifisch, daß man bei ihrer Anwendung nicht nur die eine Art Trypanosomen und Spirochäten von der anderen erkennen kann, sondern es gelingt mittels dieser Methode, die Parasitenrasse des einen oder des anderen Infektionsanfalles zu bestimmen.

Kritschewski und *Tscherikower* untersuchten das Wesen des Beladungsphänomens und die dasselbe verursachenden Einflüsse, und sie konnten zeigen, daß es nicht von bestimmten Eigenschaften der Blutplättchen des Immuntieres abhängt, wie *Rickenberg* annahm, sondern von bestimmten Antikörpern, den „Thrombocytoxinen“. Die Blutplättchen spielen in dem beschriebenen Beladungsphänomen nach *Kritschewski* und *Tscherikower* die ausschließliche Rolle eines Indikators, und zwar eines außerordentlich spezifischen, welcher die Anwesenheit der Thrombocytoxine anzeigt. So z. B. ersetzte *Kritschewski* und *Tscherikower* bei der Ausführung des Beladungsphänomens die Blutplättchen der Immunmaus durch Blutplättchen nicht nur einer ganz gesunden Maus, sondern durch Blutplättchen einer gänzlich fremden Tierart.

Da alle diejenigen, welche das beschriebene Phänomen als Reaktion *in vivo* handhabten, d. h. lebende Parasiten beluden, habe ich auf Anregung von Herrn Professor *J. L. Kritschewski* alle die noch unten zur Erwähnung gelangenden Fragen studiert, hauptsächlich aber die *Er-forschung des Beladungsphänomens nach der cytologischen Seite hin*. Weiter war es für mich von besonderem Interesse, die Rolle des „dritten Elementes“ des Blutes als außerordentlich feinen Indikator bei dieser streng spezifischen Reaktion zu erforschen und den Versuch zu machen, irgendwelche Schlüsse über die *funktionelle Gleichwertigkeit und der Abstammung der Blutplättchen und der ihnen verwandten Spindelzellen niedere Wirbeltiere* zu ziehen.

I. Untersuchungen der Blutplättchen während des Beladungsphänomens bei Trypanosomen und Spirochäten.

Das „Beladungsphänomen“ wurde von allen Forschern, die mit dieser Reaktion gearbeitet hatten (*Rickenberg*, *Kritschewski* und *Tscherikower*, *Brussin*, *Messik*, *Kranz*), ausschließlich im nichtfixierten Bluttropfen im Dunkelfeld oder mittels eines starken Trockensystems im Hellfeld untersucht. Diese Untersuchungen ermöglichen nur die Beobachtung der beweglichen Parasiten und die Entscheidung der Frage über den positiven oder negativen Ausfall der Beladungsreaktion.

Es ist selbstverständlich, daß bei dieser Versuchsanordnung eine ins Einzelne gehende Analyse der Bestandteile, welche bei der Reaktion

teilnehmen, gar nicht in Frage kommen konnte. Eine meiner ersten Aufgaben war es, diese Beladungsphänomen im fixierten und gefärbten Blutpräparat zu erzielen. Ich hatte mich schon früher, zusammen mit *G. O. Roskin*, bei Untersuchungen der mikrochemischen Struktur der Blutplättchen des Beladungsphänomens bedient, indem ich diese Erscheinung im fixierten Zustand beobachtete. Die Methoden der Fixation des Phänomens in der Arbeit mit *G. O. Roskin* waren eng verbunden mit den von uns angewandten mikro-chemischen Methoden. Bei den jetzigen Versuchen gestattete mir meine Aufgabe eine viel einfachere Methodik, und zwar genügte die Färbung der Präparate nach *Giemsa*.

Da die Blutplättchen außerordentlich hinfällig sind, waren wir bei der Technik der Ausführung der Reaktion und der nachherigen Herstellung der Ausstrichpräparate und der Fixierung derselben bemüht, eine möglichst geringe Beschädigung der Blutplättchen zu verursachen.

In eine Glascapillare (Pasteursche Pipette) wird eine bestimmte Menge 2 proz. Citratbouillon oder 2 proz. Natrium-Citratlösung in physiologischer Kochsalzlösung aufgesaugt. Die ganze Capillare wird mit dieser Citratlösung durchspült, und einige Tropfen davon werden auf einen Objektträger mit Vertiefung, welcher ebenfalls mit Citratlösung vorher abgespült worden ist, gebracht. Mittels derselben Capillare wird nun etwas Blut einer immunen Maus aus der Schwanzvene aufgesaugt, und zwar soviel, als sich in der Capillare Citratlösung befindet. Die Thrombocytochrome werden nach der Behandlung der Maus mit Neosalvarsan 1:800 verdünnt, in Mengen von 0,05 pro Gramm Tiergewicht auf der Höhe der Trypanosomen- oder Spirochäteninfektion erhalten. Nach einigen Tagen wird das Blut einer solchen Maus sorgfältig mit der Citratlösung auf dem Objektträger mittels gleichmäßiger Aufsaugung und Ausblasung der Flüssigkeit mit der Pasteurschen Pipette vermischt. Zu dieser Mischung wird mit derselben Pipette Blut der „antigenen“ Maus, d. h. Blut, welches Trypanosomen oder Spirochäten auf der Höhe der Infektion enthält, zugesetzt, und zwar ein Drittel derjenigen Menge der Immunmaus. Das „Antigenblut“ wird ebenso sorgfältig mit dem Immunblut in der Citratlösung gemischt, alles wird in die Capillare aufgenommen, das untere Ende auf der Flamme zugeschmolzen und die ganze Capillare für 10—15 Minuten bei 37° in den Thermostaten gestellt. Nach Ablauf dieser Zeit wird das geschmolzene Capillarende abgeschnitten und ein kleiner Tropfen der Flüssigkeit auf einen Objektträger gebracht, mit einem Deckglas bedeckt und bei starker Vergrößerung mit einem Trockensystem im Dunkelfeld untersucht. Fällt die Beladungsreaktion positiv aus, dann kann man zur Anfertigung fixierter Präparate schreiten. Die Objektträger, auf welchen die Fixierung und die Färbung des „Beladungsphänomens“ vorgenommen werden soll, müssen auf das sorgfältigste entfettet werden. Bevor man auf den Objektträger den Tropfen Blut bringt, muß derselbe in ein Gefäß mit 2 proz. Osmium gebracht werden, um seinen Dämpfen 3—5 Minuten lang ausgesetzt zu werden. Auf einen auf diese Weise vorbehandelten Objektträger wird ein kleiner Tropfen aus der Pasteurschen Pipette auf dem einen Ende des Glases ausgeblasen und mit einer Kante des Deckglases langsam über dem Objektträger ausgestrichen.

Sofort nach der Fertigstellung des Ausstriches, ohne ihn vertrocknen zu lassen, wird der Objektträger auf ein, die fixierende Flüssigkeit enthaltendes

Gefäß gebracht und der Ausstrich in den Dämpfen dieser Flüssigkeit fixiert. Als Fixierungsmittel benutzte ich folgende Lösung:

1. eine 2 proz. Osmiumsäure,

2. 40 proz. Formol,

3. eine gesättigte alkoholische Lösung von krystallinischem Jod, in gleichen Mengen (aa mit 1 u. 2).

Die Fixierung dauert 1—3 Minuten, wobei beachtet werden muß, daß das Präparat nicht eintrocknet. Nach beendeter Fixierung werden die Präparate sorgfältig mit destilliertem Wasser abgespült und für 30 Minuten in eine Giemsa-farblösung ($1\frac{1}{2}$ Tropfen Farblösung pro 1 ccm doppelt destilliertes Wasser) gebracht. Es folgt eine Abspülung der Präparate mit gewöhnlichem Wasser, Trocknung mit Filterpapier und Untersuchung mit der Ölimmersion. Die Bilder, die ich bei gefärbten und fixierten Präparaten beobachten konnte, waren sehr demonstrativ (siehe Abb. 1, 2, 3, 4, 5).

Vor allem bestehen keine Zweifel darüber, daß am Zustandekommen des Beladungsphänomens bei Trypanosomen wie auch bei Spirochäten ausschließlich nur Blutplättchen teilnehmen und nicht irgendwelche andere Formbestandteile des Blutes oder deren Zerfallprodukte.

Die gegenseitigen Beziehungen zwischen den Parasiten und den Blutplättchen äußerten sich in meinen Präparaten wie folgt: zu Beginn der Erscheinung kann man beobachten, daß vereinzelte Trypanosomen und Spirochäten nur von wenigen Blutplättchen umgeben sind (Abb. 2 und 3). Nach einiger Zeit aber trifft man schon 1—2 Parasiten an, die bereits mit Blutplättchen bedeckt sind, und schließlich sieht man 3—4 und noch mehr Parasiten, die *allseitig mit sehr vielen* Blutplättchen umgeben sind (Abb. 1, 4 und 5).

Bei der Analyse des „Beladungsphänomens“ in fixierten und gefärbten Präparaten zeigt es sich, daß

1. bei der Beladung der Trypanosomen und der Spirochäten *ausgeschließlich* Blutplättchen teilnehmen.

2. Die Blutplättchen entsprechen ihrem morphologischen Aussehen nach beim Beladungsphänomen mit Mäuseblut denjenigen von den meisten Untersuchern beschriebenen Gebilden.

II. Die Teilnahme der Vogel-Spindelzellen beim Zustandekommen des „Beladungsphänomens“.

Die meisten Forscher, die das Problem der „dritten Elemente“ des Blutes von der morphologischen und funktionellen Seite aus zu lösen

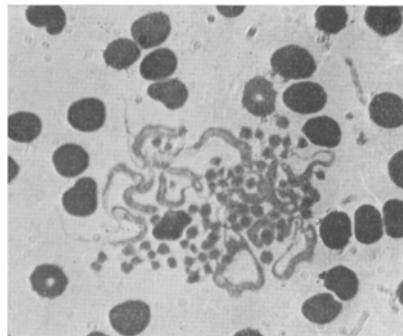


Abb. 1.

versucht hatten, nehmen an, daß die Blutplättchen und die Spindelzellen ungeachtet der Unterschiede in ihrem Bau, vollkommen gleichwertige Gebilde darstellten. So z. B. betrachtete *Bizozzero* die Spindelzellen als kernhaltige Blutplättchen. Eine experimentelle Begründung für die Verwandtschaft der Blutplättchen mit den Spindelzellen findet sich allerdings nur bei *Ledingham* und *Woodecock*.

Die Anwendung des Beladungspheomene in Verbindung mit der Erörterung der Frage über die Gleichheit der „dritten Elemente“ bei verschiedenen Gruppen der Wirbeltiere finden wir auch bei *Kritschewski* und *Tscherikower*. Tatsächlich konnten diese nachweisen, daß man beim Beladungsversuch im nichtfixierten Präparat die Blutplättchen der Maus durch Spindelzellen vom Vogel oder Frosch mit Erfolg ersetzen kann.

Abgesehen davon, daß man die Blutplättchen von der Maus durch Blutplättchen von anderen Säugetieren ersetzen kann, war es meine

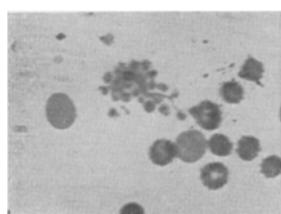


Abb. 2.

erste Aufgabe, die Vogelspindelzellen zu untersuchen. Hier war es vor allem notwendig, die Beobachtungen von *Kritschewski* und *Tscherikower*, welche diese Forscher nur im Dunkelfeld bei nichtfixiertem und nichtgefärbtem „Beladungspheomen“ gemacht hatten, nachzuprüfen.

Indem ich die Mäuseblutplättchen durch Vogelthrombocyten ersetzte, benutzte ich die Methodik von *Kritschewski* und *Tscherikower*, die ich in technischer Hinsicht änderte.

Im folgenden bringe ich ein typisches Protokoll eines Versuches mit Vogel-Spindelzellen:

Maus Nr. 1 wird auf der Höhe der Trypanosomeninfektion (viel Parasiten in einem Gesichtsfeld) mit Neosalvarsan 1:800 behandelt, und zwar mit einer Menge von 0,05 g pro 1,0 g Mäusegewicht. 2—3 Tage nach der Behandlung ergibt das Beladungspheomen mit Trypanosomen der Maus Nr. 2, welche sich auf der Höhe der Infektion befindet, positive Resultate. Die Ausführung der Reaktion war die übliche (siehe oben).

Maus Nr. 1, welche Thrombocytoberine enthält, wird durch Aufsaugen des Herzblutes mit einer Pasteursche Pipette entblutet. Das Blut wird aus der Pipette in ein Reagensglas mit Mikroglasperlen ausgeblasen, defibriniert und zentrifugiert. Das Serum wird in ein zweites Reagensglas gebracht.

Die Maus Nr. 2 wird auf gleiche Weise entblutet. Das Blut wird defibriniert und zentrifugiert. Über den Formelementen ist deutlich die „Trypanosomenschicht“ sichtbar. Entfernung des Serums. Das Reagensglas mit der Trypanosomenschicht wird für die Zeit der Ausführung des Versuches in einem Wasserbad bei 37° aufbewahrt. Die Gewinnung der Trypanosomen für die Reaktion geschieht durch Aufsaugen der Schicht mit einer feinen Pipette, wobei zu beachten ist, daß keine Blutplättchen und Leukocyten in die Pipette mitgerissen werden.

Ausführung der Reaktion.

Bevor ich die Blutplättchen durch Vogelkernplättchen ersetzte, hielt ich es immer für notwendig, zu prüfen, ob das Beladungssphänomen mit Thrombocytoberinien zustandekommen, wobei ich als Indikator Blutplättchen verwandte.

a) 3—5 Tropfen Serum der Maus Nr. 1 und 1 Tropfen der „Trypanosomenschicht“ + 3—5 Tropfen Blut einer gesunden Maus, welche als „Trägerin“ normaler Blutplättchen fungierte, + 3—5 Tropfen Citratlösung wurden sorgfältig auf einem Objektträger gemischt, in eine Pasteursche Pipette aufgesaugt und für 15 Minuten in den Thermostaten bei 37° gestellt. Die Beobachtung im Dunkelfeld ergab, daß die Reaktion stark positiv war.

Da das, nach der oben beschriebenen Methode erhaltene defibrinierte Serum, welches Thrombocytoberine enthielt, eine positive Reaktion ergab, versuchte ich nun die Mäuseblutplättchen durch Vogelthrombocyten zu ersetzen.

b) 3—5 Tropfen Mäuseserum, welches Thrombocytoberine enthielt, wurden mit 3—5 Tropfen Citratlösung auf einem Objektträger vermengt. In der gleichen Pipette wurden 1—2 Tropfen Blut eines Hahnes, welches durch Einschnitt in den Kamm gewonnen war, aufgesaugt. Der Kamm des Hahnes wird vor und nach dem Einschnitt sorgfältig mit Citrat gewaschen. Auch dieses Blut wird auf dem Objektträger mit dem schon vorhandenen vermengt. Zusatz von 1 bis 2 Tropfen der „Trypanosomenschicht“. Nochmaliges sorgfältiges Mischen. Das Gemisch auf dem Objektträger wird in eine Pasteursche Pipette aufgesaugt und für 15 Minuten bei 37° in den Thermostaten gestellt. Untersuchung im Dunkelfeld. *Die Trypanosomen sind mit Zellen beladen, welche sich der Form und dem Umfange nach von den kernhaltigen Erythrocyten unterscheiden.*

Bevor ich dazu überging, das Präparat zu fixieren und zu färben und eine weitere cytologische Analyse der am Zustandekommen des Beladungssphänomens teilnehmenden Zellen vorzunehmen, hielt ich es für notwendig, folgenden Vergleichsversuch zu machen.

c) Das defibrinierte Serum der Immunmaus habe ich bei der oben beschriebenen Reaktion durch defibriniertes Serum einer vollkommen gesunden Maus ersetzt. Die Reaktion ergibt, daß die Beladung mit den Gebilden aus dem Vogelblut fehlt.

Da wir uns nun überzeugt hatten, daß nur in Anwesenheit von Immunserum das Beladungssphänomen zustandekommt, ging ich zur Fixierung und Färbung der Präparate über. Aus dem sich in der Capillare befindlichen Gemisch von Immunserum und Hahnblut, mit welchem wir bei Dunkelfeldbeobachtung eine positive Beladungsreaktion erhielten, fertigte ich Ausstriche an. Die Herstellung der Ausstriche, die Fixierung und Färbung derselben erfolgte wie schon oben beschrieben.

Nachdem ich in den erhaltenen Präparaten die Formbestandteile des Vogelblutes verglichen hatte, kam ich zur Überzeugung, daß die Trypano-

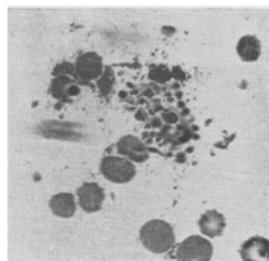


Abb. 3.

somen unbedingt mit den sog. spindelförmigen Zellen beladen waren (s. Abb. 6 und 7). Außer diesen Zellen nehmen am Zustandekommen des Beladungsphänomens andere Zellen des Vogelblutes nicht teil. Auf Grund dieser Versuche kann nun die Behauptung aufgestellt werden, daß bei der Beladung der Trypanosomen mit Blutplättchen die letzteren durch die spindelförmigen Vogelzellen mit Erfolg ersetzt werden können.

Berücksichtigt man die strenge Spezifität der Beladungsreaktion mit einer bestimmten Zellart (soweit es sich für die Formbestandteile des peripheren Blutes feststellen ließ), so spricht die Tatsache, daß man die Blutplättchen der Maus durch Hühnerthrombocyten ersetzen kann, dafür, daß das „dritte Element“ des Säugetier- und des Vogelblutes eine ganz bestimmte funktionelle Gleichwertigkeit besitzt.

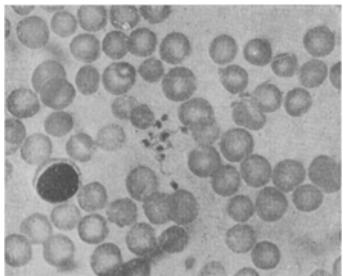


Abb. 4.

III. Die Beteiligung der spindelförmigen Zellen der Amphibien beim Zustandekommen des Beladungsphänomens.

Das Problem der funktionellen Einheit der Säugetierblutplättchen und der kernhaltigen spindelförmigen Zellen der Amphibien ist noch weit weniger gelöst als die Frage über die verwandtschaftlichen Beziehungen der Blutplättchen

und der Vogelthrombocyten. Wenn sich schon die Vogelthrombocyten von den Blutplättchen in morphologischer Hinsicht unterscheiden, so ist der Unterschied zwischen diesen und den spindelförmigen Zellen der Amphibien noch größer. Außerdem bestehen noch rein morphologische Unterschiede zwischen den Thrombocyten der Vögel und der Amphibien.

Die Heranziehung der Immunitätsmethoden zur Lösung der Frage über die funktionelle und Abstammungsverwandtschaft der Amphibienzellen und der „dritten Blutelemente“ der oben genannten Tiere ist, soweit mir bekannt, bis jetzt noch nicht erfolgt.

In der vorliegenden Arbeit versuchte ich, die Frage über die Gleichwertigkeit der „dritten Blutelemente“ von Säugetieren und derjenigen der Amphibien zu klären, indem ich das Beladungsphänomen, welches, wie wir weiter oben gesehen haben, zu einigen Schlußfolgerungen führte, für die Versuche heranzog. Das Wesentliche dieser Versuche bestand darin, daß ich die Mäuseblutplättchen durch spindelförmige Amphibienzellen zu ersetzen versuchte. Als Spender der Amphibienzellen benutzte ich Frösche.

Auch hier gestaltete sich die Methodik wie in den vorhergehenden Versuchen.

Der Kürze halber sei hier ein typisches Protokoll angeführt:

Maus Nr. 1, welche Thrombocytoarine gegen Tryp. Equiperdum enthält, wird entblutet, das gewonnene Serum abgesondert.

Maus Nr. 2 wird auf der Höhe der Trypanosomeninfektion entblutet. Das Blut wird defibriniert und die „Trypanosomenschicht“ gewonnen.

Versuch 1. 3—5 Tropfen des thrombocytoarinenhaltigen Serums + 1 bis 2 Tropfen der Trypanosomenschicht + 3—5 Tropfen normalen Mäuseblutes (als „Sender“ von Blutplättchen) + 3—5 Tropfen Citratlösung: *Die Beladung der Trypanosomen mit Blutplättchen im immunen Serum war positiv.*

Versuch 2. 3—5 Tropfen Serum derselben immunen Maus + 1—2 Tropfen der Trypanosomenschicht + 1—2 Tropfen Froschblut, entnommen aus der Vena abdominalis oder brachialis oder direkt aus dem, Herzen werden sorgfältig in einer Capillare gemischt und in derselben oder in einem kleinen Reagensglas stehengelassen. Ergebnis: *Das Beladungssphänomen ist negativ.*

In diesem Versuche konnte ich auch in den Präparaten mit einem Tropfen Blut im Dunkelfeld das Beladungssphänomen nicht finden, im Gegensatz zu *Kritschewski* und *Tscherikower*. Ich stellte zahlreiche Versuche mit den spindelförmigen Froschzellen in verschiedenen Variationen an und konnte immer feststellen, daß das Beladungssphänomen immer negativ war. Ich glaube deshalb annehmen zu dürfen, daß *das Beladungssphänomen bei den Trypanosomen mit den spindelförmigen Froschzellen nichtzustande kommen kann* und gelange somit zu der folgenden Schlußfolgerung:

1. Die Blutplättchen der Maus können für das Beladungssphänomen durch spindelförmige Froschzellen nicht ersetzt werden.
2. *Die spindelförmigen Zellen der Amphibien sind mit den Blutplättchen der Säugetiere nicht gleichartig.*

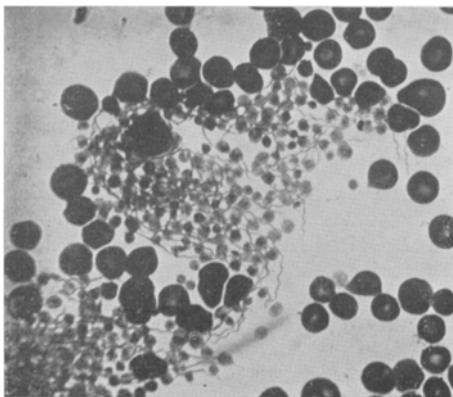


Abb. 5.

IV. Die Abstammung der Blutplättchen.

Unsere Studien hinsichtlich der Gleichwertigkeit der Blutplättchen der Säugetiere und der spindelförmigen Vogelzellen führten auch zur Frage über die Abstammung der Blutplättchen.

Soweit sich beim „Beladungssphänomen“ die Blutplättchen und die spindelförmigen Zellen der Vögel gleichartig zeigten, insofern schien es mir, daß die Theorie von *Wright* über die Entstehung des „dritten Elementes“ des Blutes aus Megakaryocyten von neuem eine Bestätigung gefunden habe, da es als erwiesen anzusehen ist, daß die spindelförmigen

Zellen der Vögel die Megakaryocyten ersetzen können. Zwischen den Blutplättchen, den spindelartigen Zellen und den Megakaryocyten des Knochenmarkes müssen bestimmte funktionelle Beziehungen bestehen, insofern als aus den Megakaryocyten des Knochenmarkes die Blutplättchen entstehen können.

Um diese Frage zu klären, versuchte ich das Beladungsphänomen mit Knochenmarkgewebsbestandteilen anzustellen, d. h. ich mußte beim Beladungsphänomen die Blutplättchen durch Zellen des Knochenmarkes ersetzen.

Nach den oben beschriebenen Methoden erhielt ich ein Immunmäuse-serum und eine „Trypanosomenschicht“. Um die Knochenmarkzellen zu erhalten, wandte ich folgende Methode an. Bei einer frisch entbluteten Maus wird der Hüftknochen abgetrennt, von den Muskeln frei präpariert, ein Knochenende angetragen und mit einer dünnen Capillare der Knochen inhalt aufgesaugt, zum Teil auch das Knochenmark herausgenommen. Aus dem auf diese Weise erhaltenen Knochenmark wird mittels einiger Tropfen physiologischer Kochsalzlösung auf einem Objekträger eine Aufschwemmung hergestellt.

Die Thrombocytoberin-enthaltende Maus Nr. 1 wird entblutet, das Blut defibriniert und das Serum gewonnen.

Die Maus Nr. 2 wird auf der Höhe der Infektion entblutet, das Blut ebenfalls defibriniert, das Serum entfernt und die „Trypanosomenschicht“ abgesondert.

Auf einem Objekträger wird eine Aufschwemmung des Mäuseknochenmarkes zubereitet.

Bevor das Beladungsphänomen mit den Knochenmarkszellen ausgeführt wurde, habe ich, wie in den früheren Versuchen, einen Vergleich mit Immunserum, Trypanosomenschicht und Blutplättchen einer gesunden Maus ausgeführt.

1. 3—5 Tropfen thrombocytoberinhaltiges Serum + 1—2 Tropfen der „Trypanosomenschicht“ + 3—5 Tropfen Blut einer gesunden Maus + Citrat-bouillon werden für 15 Minuten in den Thermostaten gestellt. Die Ablesung ergibt, daß die Beladung der Trypanosomen mit Blutplättchen positiv aus-fallen ist.

2. 3—5 Tropfen thrombocytoberinhaltiges Serum + 3—5 Tropfen Knochen-markssuspension + 1—2 Tropfen der Trypanosomenschicht werden für 15 Minuten in den Thermostaten gestellt. Die Beobachtung im Dunkelfeld ergibt, daß die Beladung der Trypanosomen mit den Zellen der Knochenmarkaufschwemmung pos-*itiv* ausfällt.

Die genaue Analyse des *Präparates* im Dunkelfeld ergibt:

a) Verschiedene kernhaltige Zellen, unter denen man gekörnte und ungekörnte Formen erkennen kann; vereinzelte Erythrocyten und lebend bewegliche Trypanosomen;

b) einige zusammenliegende aber nicht zusammenklebende Zellen, deren Umrisse deutlich zu erkennen sind, beladen die Trypanosomen, welche die Zellen energisch abzustoßen versuchen;

c) Zellhaufen, in denen sich eine große Menge schwach beweglicher Trypanosomen verfangen hat;

d) reine Agglomerate von Zellen oder Trypanosomen sind nicht zu sehen.

Dieses Bild konnte ich in einer ganzen Reihe von Versuchen, die ich wiederholt anstellte, beobachten.

Ohne einstweilen cytologische Betrachtungen über die von mir beobachtete Erscheinung anzustellen, muß ich die Tatsache feststellen, daß *beim Mischen des defibrinierten Immunserums der Maus mit der Knochenmarkaufschwemmung und den Trypanosomen, die letzteren sich mit einigen Zellen des Knochenmarkes beladen*.

Es wäre eine Anmaßung meinerseits gewesen, in diesem Falle von einem „Beladungssphänomen“ in dem Sinne, wie es bezüglich der Blutplättchen und der spindelförmigen Vogelzellen der Fall ist, zu sprechen, wenn nicht die von mir angestellten Vergleichsversuche dafür gesprochen hätten.

Es war zunächst notwendig, die Frage zu klären, ob hier nicht eine einfache mechanische Verbindung zwischen den Trypanosomen und den Knochenmarkzellen vorliege, für deren Zustandekommen das Immunserum überhaupt gar nicht notwendig sei.

Um sich in dieser Richtung Klarheit zu verschaffen, wurde folgender Versuch ausgeführt:

Die nach der oben beschriebenen Methode erhaltene Knochenmarkaufschwemmung wird, wie bei der Beladungsreaktion, mit Trypanosomen ohne Zusatz von thrombocytoxinhaltigem Serum vermengt. Die Beladungsreaktion verläuft negativ: die einzelnen Trypanosomen und die Knochenmarkszellen liegen getrennt.

Nun wäre die Frage zu erörtern, ob nicht das Beladungssphänomen bei den Trypanosomen mit Knochenmarkzellen bei Zusatz von irgend-einem normalen, nicht immunen Serum zustande kommen könnte. Ich stellte folgenden Versuch an:

3—5 Tropfen defibrinierten Serums einer gesunden Maus + 1—2 Tropfen der „Trypanosomenschicht“ + 3—5 Tropfen Knochenmarksuspension werden für 15 Minuten in den Thermostaten bei 37° gestellt. Die Beobachtung im Dunkelfeld ergibt, daß keine Beladung zustande kommt.

Somit war es erwiesen, daß für das Zustandekommen der von mir weiter oben ausführlich beschriebenen Beladungsreaktion der Trypanosomen mit Knochenmarkzellen unbedingt ein mittels Defibrinierung erhaltenes, gegenüber Trypanosomen immunes Serum notwendig ist.

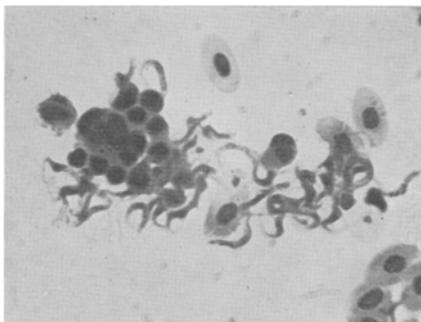


Abb. 6.

Obgleich wir annahmen, daß die Schlußfolgerungen aus unseren Versuchen richtig seien, mußten wir doch die noch in Betracht kommen den Zweifel bezüglich des Charakters der erhaltenen Erscheinung klären.

Da wir in den oben beschriebenen Versuchen immer die Bestandteile des Knochenmarks verwendeten, Elemente, die eine ausgesprochene Neigung zur Phagocytose besitzen, so konnte die Frage auftreten, ob nicht das von mir beobachtete Bild eine Phagocytose der Trypanosomen in Anwesenheit von Immunserum, das außer Thrombocyto- barinen auch Tropine enthält, darstellt, und nicht diese Phagocytose bis zu einem bestimmten Grade das Beladungsphänomen vortäuscht.

Um diese Frage über das Wesen der Reaktion zu lösen, wurde es notwendig, die Möglichkeit einer Phagocytose beim Zustandekommen des Beladungsphänomens auszuschließen.

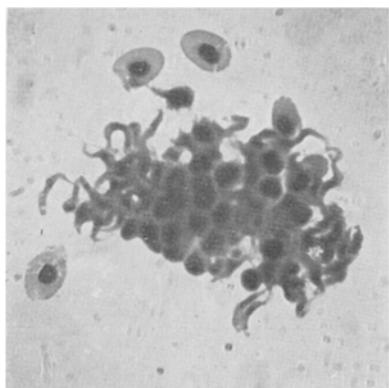


Abb. 7.

Denn gelänge es mir, eine Phagocytose auszuschließen und trotzdem die oben beschriebene Reaktion zu erhalten, so hätte ich eine Bestätigung für das Zustandekommen des Beladungsphänomens im wahren Sinne des Wortes. Es ist eine ziemlich schwere Aufgabe, bei einer Reaktion, wo Immunserum, Parasiten und Zellen, welche ausgesprochene phagocytäre Eigenschaften besitzen, teilnehmen, die Phagocytose auszuschließen. Zu diesem Zwecke stellte ich folgenden Versuch an:

Kritschewski und Tscherikower haben gezeigt, daß die Beladung eines Parasiten mit Blutplättchen nur im Beisein von Immunserum, welches nach Defibrinierung des Blutes erhalten wurde, zustande kommen kann. Mit Serum, welches nach der Gerinnung des Immunblutes erhalten wurde, konnte keine Beladung der Blutplättchen beobachtet werden. *Kritschewski und Tscherikower* nehmen an, daß die von ihnen entdeckten Antikörper-Thrombocytoarinen, welche das Beladungsphänomen bedingen, nur nach der Defibrinierung des Immunblutes in das Serum übertreten, während das Serum aus geronnenem Blut diese Antikörper nicht besitzt.

Diese Beobachtungen von *Kritschewski und Tscherikower* gaben mir die Möglichkeit, den wahren Charakter der von mir beschriebenen Erscheinung zu erkennen. Es ist augenscheinlich, daß man nicht die Phagocytose auszuschließen braucht, sofern man die Möglichkeit hat, die Beladungsreaktion auszuschließen. Wenn im Beisein von Immunserum, welches die die Beladungsreaktion verursachenden Antikörper

eingebüßt hatte, d. h. von Serum, das nach der Blutgerinnung erhalten wurde, die Knochenmarkzellen die Trypanosomen auch weiter „beladen“, dann müßte diese Erscheinung nicht als Beladung, sondern als Phagocytose aufgefaßt werden. Käme nun umgekehrt nach Entfernung der Thrombocytoberine das Beladungsphänomen nicht zustande, so wäre die von mir beschriebene Erscheinung nicht anders als eine Beladungsreaktion im wahren Sinne des Wortes zu deuten.

Die Versuche in dieser Richtung wurden wie folgt ausgeführt:

Eine Immunmaus wurde entblutet. Ein Teil des Blutes wurde defibriniert, ein anderer Teil im Reagensglas gesammelt und für 5 Minuten zur vollständigen Gerinnung in den Thermostaten gestellt. Die „Trypanosomenschicht“ und die Knochenmarkaufschwemmung wurden, wie üblich, hergestellt.

Ich überzeugte mich zuerst, ob in dem defibrinierten Serum der Immunmaus Thrombocytoberine (Beladungsphänomen mit *Blutplättchen*) vorhanden waren, und ob die Beladungsreaktion mit dem gleichen Serum und den *Elementen des Knochenmarkes* zustande komme. Nach diesen Vorversuchen ging ich zu dem Hauptversuch über:

1. 3—5 Tropfen durch Gerinnung des Immunblutes erhaltenen Serums + 1—2 Tropfen der „Trypanosomenschicht“ + 1—2 Tropfen Blutes einer gesunden Maus („Spenderin“ der Blutplättchen) + 1—2 Tropfen Citratbouillon werden für 15 Minuten in den Thermostaten gestellt. *Die Beladung der Trypanosomen mit Blutplättchen verlief negativ.*

Somit konnte festgestellt werden, daß im nach der Gerinnung des Immunblutes erhaltenen Serum, die die Reaktion bedingenden Antikörper — Thrombocytoberine — nicht vorhanden waren.

2. 3—5 Tropfen durch Gerinnung des Immunblutes erhaltenen Serums + 1—2 Tropfen der „Trypanosomenschicht“ + 3—5 Tropfen der Knochenmarksuspension werden für 15 Minuten in den Thermostaten gestellt. Die Beobachtung im Dunkelfeld ergibt, daß die Beladung ausgeblichen ist: Freie Trypanosomen und freie vereinzelte Knochenmarkzellen. Die Versuche in dieser Anordnung wurden mehrmals wiederholt.

Somit konnte kein Zweifel mehr bestehen, daß das von mir erhaltene Beladungsphänomen der Trypanosomen mit Knochenmarkzellen ein wirkliches Beladungsphänomen und keine vortäuschende Phagocytose darstellt.

Es ist also bewiesen worden, daß das Beladungsphänomen auch dann zustande kommen kann, wenn die Blutplättchen durch Knochenmarkzellen ersetzt werden.

Ich ging nun zum Studium der fixierten und gefärbten Präparate über, um diejenigen Zellen festzustellen, welche am Zustandekommen der Beladungsreaktion teilnehmen.

Die Fixierung und Färbung der Präparate wurde, wie üblich, ausgeführt. Aus der Pipette, in welcher die Beladungsreaktion der Trypanosomen mit den Knochenmarkzellen positiv ausfiel, brachte ich einen Tropfen auf einen Objekt-

träger. Nach dem gewöhnlichen Ausstrich und Trocknung an der Luft wurde das Präparat 5 Minuten in Methylalkohol fixiert und nach *Giemsa* gefärbt. Die Untersuchung der Präparate ergab, daß beim Zustandekommen des Beladungsphänomens 3 Arten von Knochenmarkzellen teilnehmen.

Da zur genaueren Bestimmung der Knochenmarkzellen, welche am Zustandekommen der Erscheinung teilnehmen, eine ganze Reihe cytologischer und mikrochemischer Untersuchungen notwendig sind, die über die Grenzen der vorliegenden Arbeit, welche mittels biologischer Methoden ausgeführt wurden, hinausgehen, möchte ich mich hier nur darauf beschränken, hinzuweisen, daß die bei der Beladung der Trypanosomen beteiligten Knochenmarkzellen, höchst *wahrscheinlich zu den neutrophilen Monocyten und Megakaryocyten gehören*.

Bevor ich zur Frage der Abstammung der Blutplättchen auf Grund dieser Untersuchungen übergehe, erachte ich es für notwendig, noch die unten beschriebenen Versuche auszuführen.

Wenn man bestimmte Zellen des Knochenmarkes mittels des Beladungsphänomens in entstehungsgeschichtliche Beziehung zu den Blutplättchen bringen kann, so entsteht die Frage, ob sich nicht unter den Blutzellen, hauptsächlich unter den Leukocyten, Zellen befinden, die den erwähnten Bestandteilen des Knochenmarkes gleichartig sind. Um auch diese Frage zu klären, stellte ich Versuche mit dem Bladungsphänomen an, bei denen die Blutplättchen durch Leukocyten ersetzt wurden.

V. Über die Teilnahme der Leukocyten beim Zustandekommen des Beladungsphänomens bei Trypanosomen.

Es besteht zwischen den vorigen Versuchen und den hier noch zu erwähnenden kein grundsätzlicher Unterschied. Das Immunserum von Mäusen wurde vom defibrinierten Blut, die „Trypanosomenschicht“, wie oben beschrieben, erhalten.

Die Leukocyten wurden aus der Bauchhöhle der Maus gewonnen, und zwar auf folgende Weise:

In die Bauchhöhle der Maus wird 1 ccm gewöhnliche keimfreie Bouillon eingespritzt. Nach 6 Stunden wird eine Capillare in die Bauchhöhle eingeführt und der Inhalt aufgesaugt. Die Flüssigkeit enthält 12 bis 15 Leukocyten im Gesichtsfeld.

Ich bringe ein typisches Protokoll eines Versuches, wobei die Blutplättchen durch Leukocyten ersetzt wurden. Wie in den vorigen Versuchen, habe ich mich hier zuerst überzeugt, ob das Beladungsphänomen im betreffenden Serum mit Blutplättchen positiv war, und nur in diesem Falle wurden die folgenden Versuche ausgeführt.

3—5 Tropfen des Immunserums, welches nach Defibrinierung des Blutes einer auf der Höhe der Infektion geheilten Maus, erhalten wurde und welches Thrombocytobarine enthält, + 1—2 Tropfen „Trypanosomenschicht“ + 3 bis

5 Tropfen Abdominalexsudat werden für 15 Minuten in den Thermostaten gestellt. Mikroskopisch kann man die frei gelegenen Trypanosomen und die von ihnen getrennt liegenden Leukocyten beobachten. *Die Beladungsreaktion der Trypanosomen mit Leukocyten verlief somit negativ.* Der Versuch wurde mit gleichem Ergebnis mehrmals wiederholt.

Auf Grund dieser Untersuchungen kann ich nunmehr feststellen:

1. Bei der Beladung der Trypanosomen können die Blutplättchen durch Leukocyten nicht ersetzt werden.

2. *Die Blutplättchen sind im Beladungsphänomen den Leukocyten nicht gleichartig. Aus diesem Grunde können zwischen diesen Zellen keine entstehungsgeschichtlichen Beziehungen festgestellt werden.*

Auf Grund dieser Versuche mit Knochenmark und Leukocyten kann man über die Abstammung der Blutplättchen folgendes sagen: Die Blutplättchen von Säugetieren (Maus), welche im Beladungsphänomen der Trypanosomen durch bestimmte Knochenmarkzellen, aber nicht durch Leukocyten ersetzt werden können, stehen nur mit bestimmten Zellen des Knochenmarkes in Entwicklungsbeziehung. Andererseits ist die Isodynamie der Blutplättchen und der spindelförmigen Vogelzellen eng verbunden mit den Megakaryocyten des Knochenmarkes. Somit findet die Wrightsche Theorie eine neue Bestätigung.

Es bleibt nun noch die Frage über die entstehungsgeschichtlichen Beziehungen zwischen den „dritten Elementen“ des Säugetierblutes und den Knochenmarkzellen. Um hier Klarheit zu schaffen, wird es höchst wahrscheinlich notwendig sein, die biologischen Forschungsmethoden durch rein morphologische zu ersetzen. Jedenfalls neige ich zur Annahme, daß die Blutplättchen nicht direkt von den erwähnten Knochenmarkzellen abstammen, sondern daß beide Zellarten aus einer Ursprungsform hervorgehen.

Die Unmöglichkeit, die Blutplättchen durch andere Zellen des peripheren Blutes ein und derselben Tierart im Beladungsphänomen zu ersetzen, spricht für ihre Sonderstellung und widerlegt alle diejenigen Theorien, welche die Blutplättchen entweder mit den Erythrocyten oder mit den Leukocyten in Verbindung bringen.

Diese Ausführungen können in gleicher Weise auch auf die spindelförmigen Vogelzellen bezogen werden, welche der Leistung nach den Säugetierblutplättchen gleichartig sind. Die Vogelthrombocyten sind betreffs ihrer Abstammung höchst wahrscheinlich mit den Bestandteilen des Knochenmarks verwandt, wobei auch hier angenommen werden muß, daß keine unmittelbaren Entstehungsbeziehungen mit diesen oder jenen Knochenmarkzellen bestehen, sondern daß beide Zellarten einer Mutterform entstammen.

Die spindelförmigen Zellen der Amphibien nehmen, wie wir oben gesehen haben, eine Sonderstellung ein. Wir können ihre Abstammung, ähnlich wie die Abstammung der Blutplättchen und der Thrombocyten

der Vögel von einem bestimmten System nicht begründen. Jedenfalls aber entsprach sie den „dritten Elementen“ der oben genannten Tierarten hinsichtlich ihrer Entstehung nicht.

Zusammenfassung.

1. Bei der Beladung der Trypanosomen und Spirochäten mit Blutplättchen (Reaktion von *Rickenberg* und *Brussin*) nehmen nur die Blutplättchen teil und nicht Erythrocyten, Leukocyten oder deren Zerfallsprodukte.
2. Die Blutplättchen von Säugetieren können im Beladungsphänomen durch spindelförmige Zellen von Vögeln ersetzt werden.
3. Die spindelförmigen Zellen des Frosches können im Beladungsphänomen weder die Säugetierplättchen noch die Vogelthrombocyten ersetzen.
4. Die Säugetierblutplättchen stehen den spindelförmigen Vogelzellen hinsichtlich ihrer Leistungen gleich.
5. Die spindelförmigen Zellen der Amphibien stimmen weder mit den Blutplättchen noch den Thrombocyten der Vögel in ihrer Leistung überein.
6. Die Säugetierblutplättchen und Vogel-Spindelzellen können im Beladungsphänomen durch bestimmte Knochenmarkzellen ersetzt werden.
7. Die Säugetierblutplättchen können in Beladungsphänomen durch Leukocyten nicht ersetzt werden.
8. Die Säugetierblutplättchen wie auch die spindelförmigen Zellen der Vögel haben eine selbständige Abstammung und sind mit den Formelementen des peripheren Blutes nicht verwandt.
9. Die Frage über die Abstammung der Blutplättchen und der spindelförmigen Zellen der Vögel kann nur im Sinne einer engen Beziehung derselben zum Knochenmarksystem gedeutet werden. Es wäre nur noch die Frage zu erörtern, welchen Knochenmarkszellen die „dritten Elemente“ des Blutes ihre Entstehung verdanken. Die vorliegenden Untersuchungen geben einen Fingerzeig, in welcher Richtung diese Frage gelöst werden könnte.
10. Die spindelförmigen Zellen der Amphibien, welche den „dritten Elementen“ des Blutes der Säugetiere und Vögeln weder entsprechen noch mit ihnen übereinstimmen, nehmen betreffs ihrer Abstammung eine Sonderstellung ein.

Literaturverzeichnis.

¹ *Bizzozzero*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **90**. 1882. — ² *Bedson*, Journ. of pathol. a. bacteriol. **26**. 1923. — ³ *Brussin*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, Orig. **44**. 1925. — ⁴ *Bedson* and *Johston*, Journ. of pathol. a.

bacteriol. **28**. 1925. — ⁵ *Kritschevski*, Klin. Woehenschr. Nr. 23. 1927. — ⁶ *Kritschevski und Tscherikower*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, Orig. **42**. 1925. — ⁷ *Kranz*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, Orig. 1927. — ⁸ *Ledingham und Woodecock*, zit. nach *Firket*, Bulletin d'Histologie **11**. 1925. — ⁹ *Messik*, Centralbl. f. Bakteriologie. 1927. — ¹⁰ *Rosenthal und Falkenheim*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **92**. 1922. — ¹¹ *Rickenberg*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, Orig. **26**, 1917. — ¹² *Roskin und Grünbaum*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **261**. 1926. — ¹³ *Sacerdotti*, Arch. per le scienze med. 1893, 1901, 1908. — ¹⁴ *Sourd et Pagniez*, CRSB. 1906 bis 1910. — ¹⁵ *Tatarinow*, Trudy laboratorii obschetschei Patologii Saratowskogo Universiteta. Russisch. 1925, II. — ¹⁶ *Schitschastni*, Fol. serolog. 1909. — ¹⁷ *Wright*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **186**. 1906.
