Product anzusehen, während die Bedeutung der Zellen für ihre Entstehung in's Hypothetische gerückt wird. Es ist in diesem Zusammenhang von Wichtigkeit, dass ich früher (im 163. Band dieses Archivs) den Uebergang des Collagens in eine Flüssigkeit nachgewiesen habe.

XIII.

Die Hülle der rothen Blutzellen.

(Aus dem Physiologischen Institut zu Kiel.)

Von

Dr. H. Deetjen.

(Hierzu Taf. VI.)

Die Frage, ob die rothen Blutzellen eine Membran besitzen, ist in früheren Zeiten Gegenstand vielfacher Controverse gewesen. Eine grosse Anzahl guter Beobachter sprach sich sehr entschieden für die Gegenwart einer die rothen Blutzellen nach aussen hin abgrenzenden Hülle aus. Ich citire von den zahlreichen Untersuchern nur Hensen und Preyer. Ersterer kam, hauptsächlich auf Grund der Veränderungen, welche die rothen Blutzellen unter dem Einfluss chemischer Reagentien zeigen, zu der Ueberzeugung von der Existenz der Membran. Ueber den Bau der rothen Blutkörperchen des Frosches giebt er an¹⁾: „Das rothe Blutkörperchen des Frosches besteht aus einer gefärbten Zellflüssigkeit in einem Zellraum, aus einer kernhaltigen Protoplasmaschicht, welche erstere umgiebt und einer das Ganze einschliessenden Hülle.“

Preyer glaubte auch ohne chemische Einwirkungen unter günstigen Bedingungen die Membran sehen zu können. Er sagt²⁾: „Es geschieht gar nicht selten, wenn man ein sich

¹⁾ Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie. Bd. XI, S. 260.

²⁾ Dieses Archiv XXX, S. 417.

Fig. 1.

Fig. 2.

theilendes Blutkörperchen eines laichenden Frosches oder noch besser eines trächtigen Salamanders im Gesichtsfelde hat, dass man die Membran grossentheils isolirt sieht. Es spannt sich von Bug zu Bug auf beiden Seiten der eingekerbten Stelle eine ungemein feine, jedoch deutlich sichtbare Linie aus, welche doppelt conturirt ist. Mit einem guten Mikroskop gewahrt man auf das Bestimmteste, wie sich die sehr feine, doppelt conturirte Linie um die farbige Substanz des sich theilenden Blutkörperchens fortsetzt, ohne von der Theilung mitbetroffen zu sein.“

Diesen Ansichten gegenüber wurde später fast allgemein die Lehre, dass die rothen Blutzellen Membran-los seien, angenommen. Die für die Anwesenheit einer Hülle sprechenden Bilder, welche man nach Einwirkung verschiedener Reagentien auf die Blutkörperchen erhielt, wurden einfach für Artefacte erklärt. Erst neuerdings scheinen wieder entgegengesetzte Meinungen Geltung zu gewinnen. Einige zunächst mehr zufällige Beobachtungen veranlassten mich ebenfalls der Frage näher zu treten. Meine Untersuchungen führten zu dem Ergebniss, dass die rothen Blutzellen von einer das Hämoglobin nach aussen abgrenzenden, glasartig hellen Hülle von gallertartiger, dehnbarer Beschaffenheit umgeben sind.

Bei der Durchsicht von Blutpräparaten, welche nach der Methode der Fixirung auf Agar¹⁾ hergestellt waren, fiel es auf, dass im gefärbten Präparat die rothen Blutzellen zwar dicht neben einander lagen, sich aber nirgends berührten, sondern immer von einander durch eine schmale, ungefärbte, anscheinend ganz substanzleere Zone getrennt waren. Diese Erscheinung war deshalb auffällig, weil bei der Art der Herstellung der Präparate die Blutzellen ganz gleichmässig und dicht nebeneinander zu liegen kommen: es wird nemlich bei Anwendung der Methode ein Tropfen Blut auf eine erstarrte Agarschicht gebracht und mit einem Deckglase bedeckt. Dann breitet sich das Blut allmählich in dünner, capillärer Schicht unter dem Glase aus, so dass die einzelnen Elemente sich nirgendwo überdecken, sondern Zelle neben Zelle zu liegen kommt. Die

¹⁾ Deetjen, Untersuchungen über die Blutplättchen. Dieses Archiv, Bd. 164.

Fixirung geschieht dann mittels Osmiumsäure, die man vom Rande her diffundiren lässt.

Man hätte deshalb wohl erwarten dürfen, wenn auch nicht überall, so doch an vielen Stellen die Grenzlinien der rothen Blutzellen sich berühren zu sehen. Aber in keinem einzigen Präparat konnte ich das jemals beobachten. Es war freilich möglich, dass durch die Fixirung mit Osmiumsäure Schrumpfung stattgefunden hätte, wenngleich Osmiumsäure nur sehr wenig schrumpfend wirkt. Aber auch in dem noch nicht fixirten frischen Präparat sieht man nirgends eine gegenseitige Berührung, sondern nur ein nahes Nebeneinanderliegen. Hier konnte nun wiederum die Erklärung in einer optischen Täuschung gesucht werden, hervorgerufen durch die starken Lichtreflexe an den Rändern der Blutzellen. Ich glaubte auch Anfangs hierauf die anscheinend getrennte Lagerung zurückführen zu müssen.

Je häufiger ich aber beobachtete, um so weniger ausreichend schien diese Annahme. Besonders auffällig und unerklärlich war das Verhalten der Blutzellen zu den Leukocyten. Wenn diese sich lebhaft bewegen, so bahnen sie sich einen Weg durch die Masse der rothen Zellen, indem sie diese bei ihrem Vorwärtswandern zur Seite drängen. Dann war es sehr eigenartig zu sehen, wie die rothen Blutzellen immer schon, ehe die Leukocyten wirklich mit ihnen in Berührung gekommen waren, seitwärts auswichen. Es machte durchaus den Eindruck, als wenn noch eine unsichtbare schmale Zone die Hämoglobin-führende Schicht der rothen Blutzellen nach aussen umgeben müsse, mit welcher die scheinbar getrennt liegenden Elemente sich berührten.

Wenn eine solche Substanz, eine solche Hülle vorhanden war, so musste sie sehr zart und durchsichtig sein und deshalb nur schwer kenntlich werden. Die einzige Möglichkeit, sie deutlicher zu machen, war, abgesehen von der Einwirkung chemischer Reagentien, die wegen der Gefahr, Kunstproducte zu erzeugen, nicht vortheilhaft schien, zu versuchen, durch Färbung die Hülle zu differenziren.

Dies gelang auf verschiedene Weise.

Die Versuche wurden stets an Blut-Ausstrich-Präparaten gemacht, die in der üblichen Weise angefertigt waren. Um möglichst gleichmässig und schonend das Blut auszubreiten,

scheint es mir zweckmässig zu sein, den Tropfen nicht auf einem Deckglas, sondern auf einem Objectträger mit Hülfe eines schräg gehaltenen sehr dünnen Deckglases auszubreiten.

Untersucht man die lufttrocken gewordenen Präparate unfixirt oder fixirt durch Alkohol oder Erhitzen und nachfolgender Färbung mit Eosin, so fällt sogleich auf, dass auch hier die rothen Blutzellen sich nirgends berühren. Sind die Zellen beim Ausbreiten zum Theil über einandergeschoben, also nicht gleichmässig in einer Schicht vertheilt, so kann man sich natürlich leicht in der Beurtheilung täuschen, indem in Wirklichkeit sich überdeckende Zellen für nebeneinander liegend gehalten werden. An vorsichtig hergestellten Präparaten ist es aber sofort auffallend, dass die Blutzellen immer von einander durch eine schmale Zone getrennt sind. Ein Blick auf Fig. 1 (Autotypie nach einer Photographie eines gefärbten Präparates) wird am Besten zeigen, was ich meine.

Ob gefärbt oder ungefärbt, immer erhält man dasselbe Bild. Ich habe hunderte von eigenen, wie von Anderen hergestellte Präparate darauf hin angesehen, ohne je eine Ausnahme gefunden zu haben.

Wesentlich anders ist das Aussehen der Blutzellen, wenn man in folgender Weise verfährt: Ein Tropfen Blut wird ebenso, wie vorher ausgestrichen, und, nachdem er lufttrocken geworden ist, 10 Minuten im Trockenschrank bei 150° erhitzt, dann mit 2 pCt. wässriger Gentianaviolett-Lösung unter leichtem Erwärmen über der Flamme gefärbt. Fast überall sieht man dann die rothen Blutzellen sich berühren, wie Fig. 2 erläutern wird. Und zwar berühren sie sich in dem Falle mit ihrer Hülle, welche bei dieser Behandlung die Farbe angenommen hat, bei der alten Methode aber ungefärbt und schwer sichtbar bleibt.

Das Hämoglobin hat nur wenig Farbe angenommen. Wenn man noch etwas kürzere Zeit fixirt, bleibt dasselbe überhaupt ungefärbt. Man erkennt dann die Hämoglobin-führende Schicht als helle Scheibe, rings umgeben von einer Zone, die den Farbstoff ziemlich intensiv angenommen hat. Diese Zone scheint bei flüchtiger Betrachtung nur ringförmig die Peripherie der Blutscheibe zu umgrenzen, in Wahrheit setzt sie sich auch um die Fläche der Zelle fort. Nur ist sie an der Peripherie stärker,

weil einmal hier zwei Schichten übereinander liegen, und dann, weil beim Ausstreichen die „gallertartige“ Hülle nach den Rändern hin verschoben wird.

Sehr deutlich erkennt man an vielen Stellen, wie diese Hülle sich brückenartig zwischen den Polen der einzelnen Zellen ausspannt und diese untereinander verbindet.

Bisweilen erhält man sehr instruktive Bilder dadurch, dass durch irgend welche mechanischen Läsionen, z. B. durch Ueberstreichen mit dem Finger über das gefärbte Präparat, die Hülle gerissen und nach den Seiten umgeklappt ist.

Ausser auf die angedeutete Weise lässt sich auch durch andere Methoden, so durch Einwirkung von Osmium- oder Formalindämpfen auf das Trockenpräparat die Hülle fixiren und färben. Worauf es wesentlich ankommt, das ist nicht so sehr die Art des angewandten Fixirungs- und Färbemittels, sondern die Dauer der Fixirung. Sowie zu lange fixirt wird, nimmt die Hülle keinen Farbstoff mehr auf, und wird dann bei ihrer zarten Beschaffenheit nur wenig oder gar nicht sichtbar. Bei Anwendung von Osmiumdämpfen geht die Fixirung zu rasch vor sich und wird deshalb der günstige Moment leicht überschritten; bei Benutzung der Hitze hat man einen weiteren Spielraum, und daher eignet sich diese am Besten zur Darstellung der Hülle.

Je nach der Dauer der Erhitzung erhält man verschiedene Bilder. Erhitzt man 5 Min. lang bei 150°, so ist nur die Hülle gefärbt, das Hämoglobin ist unterfixirt und nimmt gar keinen Farbstoff an.

Erhitzt man 12 Min., so sind sowohl Hülle, wie Hämoglobin färbbar. Betrachtet man solche Präparate, so fällt zunächst nur auf, dass die Blutzellen sich überall berühren, erst bei genauerem Zusehen und stärkeren Vergrösserungen kann man deutlich die beiden Schichten, das gefärbte Hämoglobin und die dasselbe umgebende, ebenfalls gefärbte Hülle von einander unterscheiden. Wird noch länger fixirt, so bleibt das Hämoglobin noch färbbar, aber die Hülle verliert die Fähigkeit, sich mit Farbstoff zu imbibiren, die Blutzellen berühren sich in Folge dessen scheinbar nicht. Die Hülle ist dann entweder völlig ungefärbt, oder doch nur ganz leicht tingirt, aber von dem Geübten auch dann

noch deutlich zu erkennen. Doch darf man sie nicht mit einer breiteren Plasmaschicht verwechseln, die in der Umgebung der Blutzellen häufig auch etwas Farbe angenommen hat.

Bei Anwendung niederer Temperaturen, z. B. 120° , wird man wesentlich länger fixiren müssen, um die Hülle färben zu können.

Sehr gut und bequem lässt sich die Hülle auch darstellen, wenn man das Trockenpräparat etwa 8—10 Min. in geschlossenen Schälchen den Dämpfen von Formalin aussetzt, und dann in derselben Weise, wie angegeben, färbt.

Es wird nun die wichtige Frage aufzuwerfen sein, ob nicht die so gewonnenen Bilder als Kunstproducte anzusehen sind, wie solche an Blutpräparaten so leicht zu Stande kommen können. Zunächst könnte ja die Thatsache, dass in Blutpräparaten, die durch Alkohol oder durch längeres Erhitzen fixirt sind, die Blutzellen sich nicht berühren, am Leichtesten durch die Annahme erklärt werden, dass Schrumpfung stattgefunden hat. In diesem Falle könnte man also annehmen, dass dann, wenn die Blutzellen sich berühren, entweder die Schrumpfung ausgeblieben oder aber eine nachträgliche Quellung eingetreten ist.

Beachten wir nun die Herstellung der Präparate. Ich streiche Blut auf einem Objectträger vorsichtig aus und fixire durch 8 Min. langes Erhitzen auf 150° . Betrachtet man dann das Trockenpräparat unter dem Mikroskop, so erkennt man deutlich, dass die Zellen sich nicht berühren. Nun erwärme ich, anstatt mit wässriger Gentiana-Lösung, zunächst nur mit Wasser. Man sieht danach unter dem Mikroskop sehr deutlich die helle Zone, welche die einzelnen Körperchen trennt. Ein zweites Präparat, das ebenso hergestellt, aber eine $\frac{1}{2}$ Stunde bei 150° fixirt wurde, verhält sich genau ebenso. Es müsste also bei der Annahme, dass beim Fixiren eine Schrumpfung stattfände, dieselbe in beiden Fällen, sowohl bei kurzem, wie bei langem Fixiren eintreten. Eine Verhinderung der Schrumpfung durch kürzeres Fixiren wäre jedenfalls auszuschliessen. Es könnte sich demnach nur noch um die Möglichkeit handeln, dass bei der Färbung mit Gentiana-Lösung, wenn zu kurz fixirt ist, nachträglich Quellung eintritt, welche die anscheinende Berührung

veranlasst. Da aber Behandlung mit Wasser allein diese Quellung nicht bewirkt, wie gezeigt wurde, so bliebe nur noch die Annahme übrig, dass dies durch den Farbstoff geschehen sei. Das ist aber sehr unwahrscheinlich.

Noch mehr aber spricht dagegen die ganze Form und Beschaffenheit der fraglichen Substanz, besonders die häufig zu findende brückenartige Verbindung zwischen den Polen der einzelnen Zellen. Diese ist augenscheinlich dadurch zu Stande gekommen, dass im flüssigen Tropfen die Zellen geldrollenartig zusammenklebten, und dieselben nun beim Ausstreichen nicht völlig ihren Zusammenhang verloren, sondern mit ihrer Hülle an den Enden verbunden blieben. Durch Quellung können solche Bilder nicht zu Stande kommen.

In gewissem Sinne haben wir es bei der Darstellung der Hülle im Trockenpräparat allerdings mit einem Kunstproduct zu thun, in sofern, als durch das Ausstreichen die Form derselben, da sie von dehnbarer Beschaffenheit ist, nicht unwesentlich verändert werden kann; vor Allem wird sie wohl breiter erscheinen, als sie in Wirklichkeit ist.

Von ihrem natürlichen Aussehen wird man sich am Besten am frischen, flüssigen Präparat überzeugen. Hat man erst gelernt, darauf zu achten, so ist es nicht schwer, auch in ungefärbtem Zustande das Vorhandensein der Hülle zu erkennen. Am Leichtesten gelingt es wohl bei der Untersuchung des Blutes auf Agar. Man bringt zu diesem Zweck ein Tröpfchen Blut auf eine Schicht erstarrten Agars (nach Zusatz von 0,7 pCt. Na Cl. zur Agarlösung) und legt ein Deckglas darüber. Wenn dann das Blut sich langsam ausbreitet, sieht man häufig Stellen, wo die einzelnen Blutkörperchen noch aneinander hängen. Bei der langsamen Strömung trennen sie sich. Man sieht dann deutlich einen glashellen, dünnen Faden zwischen den Polen der Zellen sich ausspannen. Haben die Blutkörperchen sich etwa um die Länge ihres Durchmessers von einander entfernt, so reisst der Faden durch und schnellst nach beiden Seiten zurück. Dieselbe Erscheinung kann man nicht selten auch am frischem, zwischen Deckglas und Objectträger gebrachten Blutstropfen beobachten, wenn man durch an den Rand gebrachtes Fliesspapier eine mässige Strömung erzeugt.

Hiernach scheint es, als ob die Hülle, die in Form einer zarten Membran rings das Hämoglobin umgiebt, von dehnbarer, gallertartiger Beschaffenheit ist. Sie ist es, die wahrscheinlich die Klebrigkeit der Blutzellen bewirkt.

Bei Frosch- und Vogelblut ist die Hülle ebenfalls in derselben Weise nachweisbar.

Fraglich mag es erscheinen, ob die hier beschriebene Hülle identisch ist mit dem, was ältere Autoren als Membran angesprochen haben. Manches davon mag wohl wirklich nur ein Kunstprodukt gewesen sein, aber eben so sicher werden auch Viele das Richtige gesehen haben. Die vorstehenden Untersuchungen würden dann also im Wesentlichen eine Bestätigung früherer Ansichten sein.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel VI.

Fig. 1. Autotypie nach einer Photographie eines Ausstrich-Präparates. Fixirung durch $\frac{1}{2}$ stündiges Erhitzen auf 150°. Färbung mit 2 pCt. wässriger Gentianaviolett-Lösung unter leichtem Erwärmen. Die einzelnen Blutzellen berühren sich nicht, die Hülle ist ungefärbt.

Fig. 2. Dasselbe. Fixirung durch 10 Minuten langes Erhitzen auf 150°. Färbung wie voriges Präparat.

Die Blutzellen berühren sich mit der gefärbten Hülle.