IV. Aus der Physiologischen Abtheilung der Zoologischen Station in Neapel.

Ueber die lebenserhaltende Wirkung des Reizes.

Vorläufige Mittheilung von A. Schücking in Pymont.¹⁾

An Echinodermeneiern angestellte Untersuchungen hatten mir die auffallende Erscheinung ergeben, dass gewisse Reizwirkungen den Zerfall der Eier, der nach Zusatz von destillirtem Wasser eintritt, aufzuhalten vermögen.

Die zuerst untersuchten Objekte waren Eier von *Asterias glacialis*, *Arbacia pustulosa* und *Strongylocentrotus lividus*. Wenn der Strom zweier kleiner Chromsäureflaschenelemente durch reife Asteriaseier zwei Minuten lang geschickt wurde, so war nach Abspülung der Eier und Zusatz von destillirtem Wasser die überwiegende Mehrzahl der Objekte nach Ablauf von fünf Minuten noch erhalten und erwies sich als befruchtungsfähig, während die Eier im Controllpräparat bereits ausnahmslos zerfallen waren.

Aehnliche Unterschiede ergab in dieser Richtung die Anwendung anderer Agentien. Es wurde der Einfluss von mechanischen Reizen, Säuren, Alkalien und Salzen unter erhöhten Temperaturen und Lichtwirkungen geprüft. In ganz bestimmten Grenzen entsprach bei den Eiern die Dauer der Unabhängigkeit von der osmotischen Spannung, der Stärke des angewandten Reizes. Oberhalb einer gewissen Reizschwelle standen Dauer und Stärke des Reizes im Wechselverhältniss zu einander, sodass z. B. ein Strom von zwei Elementen und einer Minute Dauer einem Strom von einem Element und zwei Minuten Dauer in der Wirkung gleichstand.

In allen Fällen gelang es nur dann, einen Erfolg zu erzielen, wenn die Eier vor dem Zusatz des destillirten Wassers gereizt wurden. Je nach dem untersuchten Objekt variierte die Reiz-

schwelle. Die Reize cumulirten sich und diese Cumulirung der Reize hatte eine bestimmte obere Grenze, oberhalb derer ebenso wie bei zu starken Reizen, vorzeitiger Zerfall eintrat. Auch ein Zusammenwirken verschiedenartiger Reize vermochte innerhalb gewisser Grenzen den Enderfolg zu steigern. So genügte bei erhöhter Temperatur ein geringerer Reiz, um die Erhaltung der Eier über einen bestimmten Zeitraum hinaus zu sichern. Ich halte mich nicht für berechtigt, hier zu unterscheiden zwischen erregenden und die Erregbarkeit steigernden Reizen. Nur die Dauer bis zum Eintritt der Wirkung war eine verschiedene, bei der Wärmezufuhr z. B. war diese Dauer eine längere, beim constanten Strom eine kürzere, und es war möglich, den langsamer wirkenden Reiz durch den rascher wirkenden zu verstärken, während der umgekehrte Versuch gegebenen Falles scheiterte.

Ueber Einzelheiten der Versuche ist Folgendes zu bemerken:

Beim constanten Strom (1—2 Chromsäureelemente) trat die Reaktion am langsamsten ein bei *Asterias glacialis*. Die kürzeste Zeitdauer im Auftreten und Verschwinden der Reaktion war zu beobachten bei *Strongylocentrotus lividus*. Zwischen diesen Extremen stand *Arbacia pustulosa*. $\frac{1}{12}$ der Zeit, die bei *Asterias glacialis* zur Erzeugung einer Wirkung des constanten Stromes erforderlich gewesen war, genügte, um denselben Effekt bei *Strongylocentrotus lividus* zu erzielen.

Bei den Versuchen mit chemischen Agentien wurden die Eier mit der Versuchsflüssigkeit vorbehandelt, mit Seewasser abgspült, hierauf in Seewasser und dann gleichzeitig mit den Controlliern in Aqua destillata gebracht. Gebraucht wurden concentrirte Essigsäure, Salzsäure und 10 %ige Natron- und Kalilauge, von allen zwei bis drei Tropfen auf 100 g Wasser. Die Erhöhung des Salzgehaltes des Seewassers um 2 bis 3 % wurde durch Zusatz von NaCl, NaHCO₃, MgCl₂, MgSO₄, NaSO₄, NaBr, KBr bewirkt. Die betreffenden Säuren, Basen und Salze hatten bei kürzerer Einwirkung Reizung zur Folge. Längerer Contact bewirkte starke Reizung, der ein Absterben der Eier folgte.

Strychnin 0,1 %, Nicotin 1 %, Chinin 0,5 %, Aether 5 %, Chloral 5 % wirkten, wenn sie ganz flüchtig mit den Eiern in Berührung gebracht wurden, reizend, bei längerer Dauer abtödtend.

Dem Reizstadium, in dem stets die Zerstörung der Eier durch destillirtes Wasser in einem späteren Zeitraum eintrat, als bei den Controlliern, folgte in allen Fällen ein Lähmungsstadium, in dem die Eier entweder rascher der Auflösung des Wassers anheimfielen, oder indem an den untersuchten Objekten zahlreiche Extravasate sich zeigten, welche die Dotterhaut wie ein Kranz umgaben.

Die Anwendung mechanischer Reize wurde durch einen mittelst Elektromotor betriebenen Schüttelapparat ausgeführt. Mässiges, wenige Minuten betriebenes Schütteln wirkte als erhaltender Reiz, darüber hinaus wirkte es zerstörend. Auch hier verhielten sich die Echinodermeneier verschieden, und zwar in derselben Reihenfolge wie vorhin. *Asterias* zeigte sich am widerstandsfähigsten, *Strongylocentrotus* am empfindlichsten.

Das flüchtige Eintauchen in Seewasser von 35° C diente bei *Asterias* als Reizmittel, bei *Strongylocentrotus* und *Arbacia* wirkte es bereits zerstörend. Bei Letzteren wirkten Temperaturen von 28° und 30° als Reizmittel.

Durch eine Lupe concentrirtes Sonnenlicht, dessen Wärmestrahlung durch eine Schicht Alaunlösung beseitigt wurde, hatte nach halbstündiger Einwirkung auf Asteriaseier reizenden, und damit erhaltenden Effekt. Bei *Strongylocentrotus* war die Wirkung schon nach einigen Minuten festzustellen. Bei *Arbacia pustulosa* konnte ich dagegen keinen deutlichen Erfolg nachweisen. Vielleicht ist dieser Umstand auf Rechnung des vorhandenen schützenden Farbstoffes zu schieben.

Zu diesen lebenserhaltenden Reizen gehörte auch die Befruchtung. Befruchtete Eier wurden von destillirtem Wasser später zerstört, als unbefruchtete. Diese Tatsache wird nicht durch etwaige veränderte Beschaffenheit der Dotterhaut erklärt, da auch Eier, deren Membranen durch Schütteln beseitigt wurden, sich ebenso dem destillirten Wasser gegenüber verhielten. Die Erhaltung des Lebens der weiblichen Geschlechtszellen wird ausser durch die Befruchtungsmöglichkeit auch durch das Aussehen, die Reaktion auf neue Reize und das Verhalten gegenüber der Anwendung von Färbemitteln¹⁾ erwiesen.

¹⁾ A. Schücking, Zur Physiologie der Befruchtung, Parthenogenese und Entwicklung. Pflüger's Arch. 1903, Bd. XCVII.

²⁾ A. Schücking, Eine neue mikrochemische Bestimmung von Haloidsalzen. Centralbl. f. inn. Med. 1902, No. 24.

Der Einfluss des Reizes auf den Widerstand des Protoplasmas gegenüber osmotischen Einflüssen wurde ferner bei den geformten Bestandtheilen des Säugethierblutes untersucht. Beim Kaninchen- und Menschenblut wurde festgestellt, dass die mit dem constanten Strom eines Chromsäureelements während einer Minute gereizten Erythrocyten dem Einfluss des destillirten Wassers noch widerstanden, während die Controllobjekte ihren Blutfarbstoff bereits abgegeben hatten und auch deutliche Quellung zeigten. Ähnliche Erscheinungen, wie an den Blutkörperchen des unverdünnten Blutes, waren an Erythrocyten zu beobachten, die vor dem Versuch in eine 0,6 % Kochsalzlösung gebracht waren. Polymorphkernige Leukocyten, sogenannte polynukleäre Zellen mit neutrophiler Granulation und mehrkernige Leukocyten, sogenannte mehrkernige Eosinophile, sowie Lymphkörperchen verhielten sich ganz ähnlich, wie die untersuchten Echinodermeneier. Die sämtlichen bei letzteren angewandten Agentien bewirkten auch hier eine längere Erhaltung der untersuchten Objekte in destillirtem Wasser, im Gegensatz zu den nichtgereizten Controllobjekten. Die Leukocyten waren aus der Bauchhöhle von Meerschweinchen entnommen, denen Aleuronat injiziert war. Während das entfärbte Stroma der gequollenen Erythrocyten erhalten bleibt und durch geeignete Behandlung wieder sichtbar gemacht werden kann, lösen sich die in destillirtes Wasser gebrachten Leukocyten mehr oder minder vollständig auf.

Die rothen Blutkörperchen hatten nach mehrstündigem Schütteln im Schüttelapparat keine Veränderung gezeigt. Die Wirkung auf die weissen Blutkörperchen war indess eine ganz deutliche. Die Versuche wurden nicht mit dem Schüttelapparat des Neapler Instituts, sondern nach meiner Rückkehr mit einem kleinen Apparat vorgenommen, der von Dr. Friedenthal zum Zweck des Umrührens beim Beckmann'schen Gefrierapparat construirt war. Die gerüttelten Leukocyten waren resistenter dem destillirten Wasser gegenüber, als die nicht gerüttelten. Besonders wichtig erscheint es mir aber, dass sich nach der Erwärmung ihre amöboiden Bewegungen entweder später zeigten, als bei den nicht gerüttelten, oder dass sie unbeweglich dalagen. In meiner ausführlichen Mittheilung werde ich über diesen Punkt noch besonders berichten.

Erwärmung auf 42° C wirkte reizend und erhaltend auf die Leukocyten.

Sonnenlicht stand mir während dieser Untersuchung nicht zur Verfügung. Ich hoffe, diese Lücke noch ausfüllen zu können. Weiterhin wurden Milzbrandbazillen und unbestimmte Wassermikroben untersucht.

Milzbrandbazillen wurden durch zweistündiges Schütteln im Friedenthal'schen Apparat derart beeinflusst, dass dieselben später aufquollen und platzten, als die Controlpräparate. Ich bemerke hier zu der Frage, wodurch die Zerstörung der Bakterien und anderer Organismen durch anhaltendes Rütteln bewirkt wird, dass es sich nach meinen Beobachtungen an gerüttelten Eiern sowie an Zellen des Sipunculus undus stets um ein Zerfallen in noch deutlich mikroskopisch festzustellende Gewebstrümmer handelt.

Schwache chemische Reize und constanter Strom von einer Minute Dauer bewirkten ebenfalls verstärkte Resistenz.

Bei den Beobachtungen, über die im Vorstehenden berichtet wurde, waren die untersuchten Objekte stets in eine Flüssigkeit gebracht, deren molekuläre Spannung bedeutend geringer, als die des Protoplasma war. Es läge nahe, zu untersuchen, welchen Einfluss äussere Agentien auf die untersuchten Gebilde haben würden, wenn sie in hyperisotonische Lösungen gebracht wurden. Derartigen Versuchen steht indess die Thatsache entgegen, dass fast alle von mir untersuchten Lösungen von stärkerer osmotischer Spannung sich als Protoplasmareize erwiesen, und das Schrumpfen des lebenden Protoplasmas in hyperisotonischen Lösungen in gewissen Fällen ausschliesslich, in allen wenigstens zum Theil unabhängig von den Osmosevorgängen eine Reaktion der lebenden Substanz darstellt.

Ich möchte noch der Beobachtung Erwähnung thun, dass das lebende Protoplasma, sobald sein Widerstand durch das Wasser überwunden worden ist, unaufhaltsam zerstört und aufgelöst wird, dass dagegen vom Protoplasma abstammende abgestorbene Gebilde dem Eindringen des Wassers einen grösseren Widerstand entgegen zu setzen pflegen. Wir dürften aus diesem Grunde berechtigt sein, unter den bis zuletzt erhaltenen Stromata und Granula abgestorbene Gebilde zu vermuthen. Meine Beobachtung, dass dagegen das ab-

gestorbene Protoplasma selbst der Wirkung des Wassers rascher anheimfällt, als die lebende Substanz, führt unter den bereits angedeuteten Gesichtspunkten zur Folgerung, dass das Leben des Protoplasmas in einem Reizzustande besteht, respektive dass die Erhaltung des Lebens den normalen osmotischen Einflüssen gegenüber durch den natürlichen Reizzustand des lebenden Protoplasmas bedingt wird.

Wenn man etwa annehmen wollte, dass es sich in den beobachteten Fällen nur um Aenderungen in den Umhüllungen der gereizten Objekte unter dem Einfluss der elektrolytischen Zersetzung oder der gebrauchten chemischen Agentien handle, so ist darauf hinzuweisen, dass die untersuchten Objekte, nachdem sie mit minimalen Quantitäten der chemischen Substanzen und schwächsten constanten Strömen behandelt waren, gründlich abgespült in das destillirte Wasser gebracht wurden, dass ferner die so behandelten Eier befruchtungsfähig blieben und dass sämtliche Objekte, ebenso wie die Controllobjekte, nur später als dieselben, aufquollen, respektive zerfielen. Beweisend aber für die Thatsache, dass es sich nur um vorübergehende Aenderungen im lebenden Protoplasma handelte, ist der Umstand, dass gereizte Eier nach einiger Zeit sich ebenso verhielten, wie nicht gereizte weibliche Geschlechtszellen, und ferner, dass mechanische, thermische und Lichtreize ebenso auf das Protoplasma einzuwirken im Stande waren, wie elektrische und chemische Reize.

Aus dem Vorstehenden dürfte zweierlei hervorgehen: 1. Protoplasmareize sind im Stande, das Leben der Zelle gegenüber dem tödtlichen Einfluss der Osmose zu erhalten. 2. Abgesehen von dem groben zerstörenden Einfluss des Wassers, den wir kontrolliren können, dürfte auch die uncontrollirbare Aufnahme und Abgabe von Wasser, an die der gesammte Chemismus der Zelle geknüpft ist, von den Reizen, die auf das lebende Protoplasma einwirken, abhängen. Die Thatsache, dass das lebende Protoplasma einer so enormen Spannungsdifferenz gegenüber, wie sie zwischen dem destillirten Wasser und der Zellflüssigkeit besteht, wenn auch nur gewisse Zeit keine Aenderung ihres Wassergehaltes eintreten lässt, führt unabweislich zu dem Schlusse, dass die Zelle den osmotischen Differenzen des normalen Stoffwechsels gegenüber ihre Wasseraufnahme und Abgabe unabhängig von diesen zu reguliren im Stande ist.

Einen prägnanten Ausdruck dieser Unabhängigkeit nicht nur einer lebenden Zelle, sondern eines ganzen verhältnissmässig hoch organisirten Thieres, gegenüber der osmotischen Spannung der Umgebung giebt das von mir angestellte Experiment,¹⁾ nach welchem die in Seewasser lebende *Aplysia*, nachdem sie ihres Basalganglions beraubt ist, in destillirtem Wasser nicht mehr aufquillt, sondern noch Wasser abgiebt.