

(Aus der Abteilung für allgem. und vergl. Physiologie an der Universität in Wien  
[Vorstand: A. Kreidl].)

## Über das Vorkommen freier Säure im Verdauungstrakt von Oligochaeten.

Von  
Edmund Nirenstein.

(Eingegangen am 28. April 1922.)

Zu den auffälligsten Eigentümlichkeiten des Verdauungsvorganges bei Wirbeltieren gehört die Zurückhaltung der aufgenommenen Nahrungskörper in einer Erweiterung des vordersten Darmabschnittes, dem Magen, in dem die Nahrung der Einwirkung eines von der Magenschleimhaut abgesonderten freie Säure enthaltenden Sekretes unterliegt. Mit Ausnahme einiger Teleostierfamilien, die einen Säuresezernierenden Darmabschnitt vermissen lassen, kann bei sämtlichen Wirbeltieren von den Selachiern bis zu den Säugern das Vorkommen freier Säure im Mageninhalt als Regel gelten. Anders bei den Wirbellosen. Magenartige Erweiterungen des vorderen Darmabschnittes teils ektodermaler teils entodermaler Herkunft finden sich wohl in weiter Verbreitung, doch ist bisher kein Fall bekannt worden, in dem der Mageninhalt freie Säure enthalten hätte. Unter diesen Umständen verdient nachfolgende Beobachtung, die sich auf das Vorkommen freier Säure im Verdauungstrakt von Oligochaeten bezieht, ein gewisses Interesse.

Der Organismus, um den es sich handelt, ist der mikroskopisch kleine limikole Oligochät *Chaetogaster diaphanus*. Was den Verdauungsapparat der Gattung *Chaetogaster* auf den ersten Blick von demjenigen anderer Naididen unterscheidet, ist die Gliederung des auf den Oesophagus folgenden Darmabschnittes in zwei annähernd gleich große Säcke, einen vorderen, den Magen, und einen hinteren, den eigentlichen Mitteldarm. Beide Abschnitte sind durch ein kurzes, enges, in seinem Bau mit dem Oesophagus übereinstimmendes Darmstück verbunden. Diese Gliederung des auf den Oesophagus folgenden Darmes in zwei annähernd gleich große Abschnitte erweckt bei flüchtiger Betrachtung den Eindruck, als ob auch der vordere dem Mitteldarm zugehören würde. Der Vergleich mit anderen Naididen läßt jedoch keinen Zweifel darüber, daß der vordere Abschnitt des *Chaetogaster*darmes der als Magen bezeichneten Erweiterung des hinteren Oesophagealabschnittes anderer Oligochaeten bzw. das Verbindungsstück zwischen *Chaetogaster*magen und Mitteldarm dem Endstück des Oesophagus entspricht. Eine weitere Stütze erhält diese Auffassung durch das völlig verschiedene Verhalten der an dem Aufbau beider Darmabschnitte beteiligten Elemente. Die Zellen des Mitteldarmes zeigen das für die Oligochaeten typische Verhalten. Sie sind von zweierlei Art: 1. Resorptionstellen mit Flimmerbesatz

und Einschlüssen von körnchenerfüllten Vakuolen und Fetttropfen. 2. Drüsenzellen mit azidophiler Granulation und basophilem Plasma. Im Gegensatz hierzu sind die am Aufbau des Magens beteiligten Zellen von einerlei Art. Je nach dem Kontraktionszustand der Magenwand mehr flach oder mehr kubisch erscheinen sie im lebenden Zustand vollkommen homogen und erweisen sich entweder ganz frei von Einschlüssen oder enthalten ganz vereinzelte in kleinsten Vakuolen eingeschlossene winzige Körnchen. Größere Vakuolen von der Art, wie sie in den Resorptionszellen sich finden, oder Fetttropfen sind in den Magenzellen niemals anzutreffen. Ebenso fehlen Drüsengranula. Ein besonders charakteristisches Gepräge erhalten die Epithelzellen des Magens durch den Besitz langer starrer borstenartiger Gebilde, die nur im hintersten Bereich des Magens den Charakter von Flimmern annehmen.

Der Verschiedenheit im Aufbau beider Organe entspricht eine weitgehende Differenz im funktionellen Verhalten. Ihren sinnfälligsten Ausdruck findet sie in den Reaktionsverhältnissen beider Abschnitte. Die wasserhelle Durchsichtigkeit der mikroskopisch kleinen Tiere ermöglicht es, die Farbenreaktion geeigneter Indikatoren unmittelbar unter dem Mikroskop zu verfolgen. Im Gegensatz zum Mitteldarm, dessen Kontraktionszustand von der Erfüllung mit festen Nahrungskörpern abhängt, erscheint der Magen von Tieren, die sich unter normalen Bedingungen befinden, einerlei, ob er feste Nahrungskörper enthält oder nicht, stets von einer wasserklaren Flüssigkeit erfüllt, über deren Reaktion folgende einfache Versuche unzweideutigen Aufschluß gaben: Mit Kongorot gefärbtes Filtrierpapier wurde zerfasert und dem Deckglaspräparat, in dem sich die Würmer befanden, zugesetzt. Totes Nahrungsmaterial wird zwar in der Regel von dem räuberisch lebenden *Chaetogaster* verschmäht, immerhin konnte beobachtet werden, daß rot gefärbte Fasern gelegentlich verschlungen wurden und sofort nach ihrem Eintritt in den Magen eine tiefblaue Farbe annahmen. Die blaue Färbung erhielt sich, solange die Papierfaser im Magen zurückgehalten wurde, um mit dem Eintritt der Faser in den Mitteldarm sofort in Rot umzuschlagen. Noch geeigneter, weil von der Aufnahme geformter Nahrung unabhängig, erwies sich die Prüfung mit Dimethylamidoazobenzol. Wurde ein Tropfen der stark verdünnten Farbstofflösung zum *Chaetogaster*präparat hinzugefügt, so nahm die den Magen erfüllende Flüssigkeit sehr bald eine rote Färbung an, die sich rasch vertiefte und schließlich in einen dunkelfuchsinroten Ton überging. Bei intakten Tieren, die sich unter normalen Bedingungen befanden, fiel die Reaktion immer positiv aus. Die Färbung begrenzte sich scharf am Mageneingang und Magenpförtner, beschränkte sich also genau auf den Magen. Der Inhalt der übrigen Darmabschnitte blieb ungefärbt; es sei denn, daß bei einer in Teilung befindlichen Wurmreihe der Magen des hinteren

Tieres schon vollkommen ausgebildet war. In diesem Falle färbte sich dieser häufig ebenfalls rot, selbst wenn der Pharynx des hinteren Tieres noch keine Verbindung mit der Außenwelt gewonnen hatte, sondern noch mit dem Enddarm des Vordertieres kommunizierte.

Die Prüfung mittels der genannten Indikatoren zeigte also, daß die den Magen erfüllende wasserhelle Flüssigkeit *freie Säure* enthält.

Welches ist nun die biologische Bedeutung der Säureabscheidung? Der nächstliegende Gedanke ist der, daß sie nach Art der Magensäure der Wirbeltiere die Wirkung eines pepsinartigen Fermentes ermöglicht. Zur Prüfung der Frage wurde fein verteiltes Karminfibrin verfüttert. Es zeigte sich, daß die Fibrinpartikelchen selbst bei mehrstündiger Verweildauer im Magen daselbst keine Veränderung erfahren und der Magensaft seine klare farblose Beschaffenheit beibehielt. Im Mitteldarm waren selbst relativ ansehnliche Fibrinflocken nach einer halben Stunde völlig zerfallen, wobei der Darminhalt eine diffuse karminrote Färbung annahm. Zu dem gleichen Ergebnis führte die Verfütterung von gefärbtem oder ungefärbtem koagulierten Eiweiß. Im Magen blieb das koagulierte Hühnereiweiß völlig unverändert, um im Darm sehr bald völliger Auflösung anheimzufallen. Das nämliche Verhalten war an aufgenommenen natürlichen Nahrungskörpern festzustellen. Chaetogaster lebt unter natürlichen Bedingungen räuberisch von mikroskopisch kleinen lebhaft beweglichen Organismen wie Infusionen, Rotatorien, Krebslarven usw. Gelangen Beutetiere der genannten Art mit der Umgebung der Mundöffnung des Wurmes in Berührung, so wird eine rasche Schlingbewegung ausgelöst, durch die die Beute in die Rachenhöhle und nach kürzerem oder längerem Aufenthalt im Pharynx durch den Oesophagus in den Magen befördert wird. Im Magen gehen die aufgenommenen Tiere bald zugrunde. Bei Infusorien erfolgt der Tod sofort unter Gerinnung des ganzen Zellkörpers; Nauplien von Cyclops lebten im Magen etwa 30 Sekunden, ältere Larven im Copepodidstadium ca. 5 Minuten; ein Rotator ging nach einer halben Stunde zugrunde. Im übrigen erfuhren die aufgenommenen Tiere bei noch so langer Verweildauer im Magen keine Veränderung. Gelangten sie jedoch in den Darm, so setzten sehr bald auf Eiweißverdauung hinweisende Veränderungen ein. Paramäcien waren nach halbstündigem Aufenthalt im Darm völlig zerfallen. Von Copepodidformen von Zyklops war nach 24stündigem Aufenthalt im Wurmkörper lediglich die Chitinhülle übrig geblieben. Aus all diesen Befunden geht also hervor, daß dem Magensaft jedwede proteolytische Wirkung abgeht, während im Darm eine energische Eiweißverdauung statthat<sup>1)</sup>. Von einer Wirkung der Chaetogastersäure nach Art einer Verdauungssäure kann also keine Rede sein.

<sup>1)</sup> Nebenbei sei darauf hingewiesen, daß auch Fette und Kohlenhydrate im Magen des Chaetogaster unverändert bleiben. Mit Sudan gefärbte Fettkugeln

Da die Abtötung aufgenommener Organismen den einzig nachweisbaren Effekt der Magensaftwirkung darstellt, so ergab sich die Frage, ob es angeht die deletäre Wirkung des Magensaftes lediglich als Säurewirkung aufzufassen. Selbstverständlich setzt die Beantwortung der Frage eine beiläufige Vorstellung von der Stärke der abgeschiedenen Säure voraus. Es gelang dies in folgender Weise.

Erheblich säureunempfindlicher als die oben erwähnten Indikatoren Kongorot und Dimethylamidoazobenzol ist der Farbstoff Tropäolin 00. Bei einem  $H^+$ -Ionengehalt entsprechend einer  $n/1000$ -Säurelösung erscheint die Tropäolinlösung gelb, bei  $n/100$ -Säure fleischrot, bei  $n/10$ -Säure himbeerrot<sup>2)</sup>. Nach Zusatz von Tropäolin zum Chätogasterpräparat nahm der Mageninhalt regelmäßig eine ausgesprochene himbeerrote Färbung an. Es wurden nun mit dem Indikator versetzte HCl-Lösungen steigender Konzentration in Capillaren von  $1/10$  mm Lichtung (Weite des Chätogastermagens) gefüllt und jene HCl-Konzentration ermittelt, deren Farbenton unter dem Mikroskop mit der Färbung des Magens ausgewachsener lebenskräftiger Chätogasterexemplare übereinstimmte. Es war dies die  $n/20$ -HCl. Eine  $n/20$ -Säure repräsentiert somit die Mindestkonzentration der Säure im Chätogastermagen.

Es fand sich noch ein zweiter Weg, die Stärke der abgeschiedenen Säure abzuschätzen. Unter den Indikatoren auf freie Säure gehört Kongorot zu den empfindlichsten. Dies gilt nur für die Verwendung des Farbstoffes in Lösung oder als Reagenspapier. Anders liegen die Dinge, wenn mit Kongorot gefärbtes Eiweiß als Indicator verwendet wird. Grob koagulierte Hühnereiweiß wurde mit Kongorot durchgefärbt, genügend ausgewaschen und in HCl-Lösungen steigender Konzentration eingelegt. Während eine wässrige Kongorotlösung schon bei einem Säuregehalt entsprechend einer  $n/10$ -Säure einen deutlichen Farbumschlag in Violett erfährt, behielt mit Kongorot gefärbtes Eiweiß — unter dem Mikroskop — selbst in einer  $n/20$ -HCl seine rote Färbung bei. Erst von der genannten Konzentration aufwärts änderte sich mit zunehmendem  $H^+$ -Ionengehalt der Farbenton immer mehr über Rotviolett, Blauviolett in Blau. Andererseits wurde mit Kongorot gefärbtes Eiweiß lebenskräftigen Exemplaren von Chätogaster verfüttert. Nach ihrem zeigen während ihres Aufenthaltes im Magen keine Veränderung, während sie im Darm im Verlauf einiger Stunden teils zu kleinsten unregelmäßige begrenzten Schollen zerfielen, teils ganz verschwanden. In  $60^\circ$  Wasser gequollene, mit Kongorot gefärbte Kartoffel-Stärkekörner erfuhren im Magen, abgesehen vom Farbumschlag in Blau, keine Änderung. Nach Übertritt der Körner in den Darm, wobei die Farbe sofort in Gelbrot umschlug, begannen die Stärkekörner zu schrumpfen; nach einigen Stunden waren die meisten Körner verschwunden, von einzelnen hatten sich unscheinbare Reste erhalten.

<sup>2)</sup> Friedenthal, K., Methoden zur Bestimmung der Reaktion tierischer und pflanzlicher Flüssigkeiten und Gewebe. In Abderhaldens Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden I. 1910.

Eintritt in den Magen wurden die Eiweißflocken sofort blauviolett und blieben es bis zu ihrem Übertritt in den Mitteldarm, in dem die Färbung sofort wieder in Rot umschlug. Der Vergleich der im Magen blauviolett gewordenen Flocken mit dem Farbenton von Kongoeiweiß, das in HCl-Lösungen steigender Konzentration eingelegt und unter möglichst gleichen Bedingungen unter dem Mikroskop beobachtet wurde, ergab, daß die vom Magensaft gebläuten Flocken hinsichtlich der Farbennuance mit dem in  $n_{10}$ -HCl eingelegten Eiweiß übereinstimmten. Der in solcher Weise ermittelte Aziditätsgrad befindet sich also in Einklang mit dem mittels der Tropäolinmethode erhaltenen Werte. Es erscheint bemerkenswert, daß der etwa  $\frac{1}{2}$  mm lange und  $\frac{1}{10}$  mm weite Chätogastermagen einen Magensaft absondert, dessen Acidität von der gleichen Größenordnung ist, wie sie für den Hundemagensaft angegeben wird. Daß eine Säure von dieser Stärke die oben beschriebene deletäre Wirkung auszuüben imstande ist, liegt auf der Hand.

Die Frage, wie es zugehen mag, daß von schwach alkalischer oder neutraler Lösung umspülte Zellen freie Säure in Konzentrationen absondern, die jede lebende Substanz töten, ist noch immer in dichtes Dunkel gehüllt. Die Hoffnung, bei der ausnehmenden Durchsichtigkeit des hier behandelten Untersuchungsobjektes, die die Anwendungen der stärksten Vergrößerungen zuläßt, zumindest der morphologischen Seite des Problems näher zu kommen, erwies sich als trügerisch. Die Ausbeute nach dieser Richtung war überaus dürftig und beschränkte sich lediglich auf die negative Seite des Problems. Als wichtigster Befund verdient hervorgehoben zu werden, daß die freie Säure nur außerhalb der Zellen nachzuweisen ist. An den mit Dimethylamidoazobenzol behandelten Tieren erscheint der ganze den Magen füllende flüssige Inhalt, aber auch nur dieser rot gefärbt. Die Färbung setzt an der Oberfläche des Magenepithels scharf ab. Dabei ist zu beachten, daß Dimethylamidoazobenzol zu den Vitalfarbstoffen gehört, die den Zellkörper diffus färben<sup>1)</sup>. In der Tat nehmen bei längerer Einwirkung des Farbstoffes die meisten Elemente des Wurmkörpers, darunter auch die Epithelzellen des Verdauungstraktes einen diffusen gelben Farbenton an. Das intracelluläre Auftreten freier Säure könnte unter diesen Umständen der Beobachtung nicht entgehen. Noch beweisender nach dieser Richtung erweist sich die Anwendung des Vitalfarbstoffes Neutralrot, der an Säureempfindlichkeit dem Dimethylamidoazobenzol weit überlegen ist. Der in alkalischer Lösung gelbe Farbstoff schlägt schon in einer  $n_{10}^7$ -Säure in Rot um. Zusatz einer Spur von Neutralrot zum Chätogasterpräparat bewirkt gleich dem Dimethylamidoazobenzol eine intensive fuchsinrote Färbung des ganzen Mageninhaltes, die sich an der Epithelgrenze scharf

<sup>1)</sup> Nirenstein, E., Über das Wesen der Vitalfärbung. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 179.

absetzt. Bei längerer Einwirkung des Neutralrot macht sich die granulafärbende Wirkung des Farbstoffes geltend. Während nun die verschiedensten Elemente des Wurmkörpers von roten Granulationen dicht erfüllt erscheinen, treten gerade in den Epithelzellen des Magens gefärbte Granula nur äußerst spärlich auf. Die meisten Magenepithelzellen bleiben von ihnen ganz frei. Bei Einwirkung stärkerer Lösungen beobachtet man gelegentlich netzförmig in der Magenwand angeordnete Granulationen. Diese Anordnung entspricht den zwischen den Magen- zellen befindlichen Interzellularlücken, in welche die mit Neutralrot beladenen Granula entleert werden. Anhäufungen ausgestoßener rotgefärbter Granula finden sich in diesen Fällen meist auch im Oesophaguslumen; sie stammen aus den Zellen des Oesophaguswand. Es handelt sich bei diesen Vorgängen um ein bei Zellen mit freien Oberflächen mehrfach festgestelltes Phänomen, das eben darin besteht, daß der Zellkörper die mit Vitalfarbstoffen beladenen Granulationen ausstößt<sup>1)</sup>. Mit dem Vorgang der Säureabscheidung hat die Erscheinung nichts zu tun; vielmehr läßt auch die Neutralrotprobe, der mit Rücksicht auf die große Säureempfindlichkeit und das hohe Permeierungsvermögen des Farbstoffes besondere Bedeutung zukommt, Orte saurer Reaktion innerhalb der Zelle vermissen.

Eine zweite für die Auffassung des Vorganges der Säureabscheidung bemerkenswerte Feststellung ist die, daß die Säure abscheidenden Elemente im lebenden Zustand selbst bei Beobachtung mit den stärksten Systemen vollkommen homogen erscheinen. Auch im Schnittpräparat bietet der Zellkörper der Magenepithelzellen ein vollkommen homogenes Aussehen. Die Säuresekretion erscheint demnach an keine nachweisbare Struktur gebunden. Die einzige morphologisch sich bemerkbar machende Besonderheit, die auf die ausgiebige sekretorische Tätigkeit des Magenepithels hinweist, ist die reiche Vaskularisation des Magens. Ein System ziemlich dicht gestellter, zirkulär verlaufender Blutlakunen, deren Wandung von halbrinnenförmigen Aushöhlungen der entsprechenden Peritoneal- und Magenepithelzellen gebildet wird, umgreift reifenartig den Magen und kommuniziert ventralwärts mit einer an der Ventralseite des Magens gelegenen längs verlaufenden Blutlakune, dorsalwärts mit dem kontraktilen Rückengefäß.

Das Auftreten freier Säure im Verdauungstrakt beschränkt sich nicht auf die Gattung Chätogaster. Auch bei anderen Naididen, spez. bei *Stylaria lacustris*, war, wenn auch nicht so ausgesprochen wie bei Chätogaster, in der als Magen bezeichneten Erweiterung des hinteren Oesophagusabschnittes freie Säure nachweisbar. Der Mangel an einschlägigem Material verhinderte eine eingehendere Verfolgung des Vorganges.

<sup>1)</sup> Nirenstein, E., l. c.