

E 232/17

KÜLÖNLÉNYOMAT

**A MAGYAR BIOLOGIAI KUTATÓ INTÉZET
II. OSZTÁLYÁNAK MUNKÁIBÓL.**

VI. KÖTET. 1933.

SZERKESZTI :

DR. VERZÁR FRIGYES

EGYET. NY. R. TANÁR

A BIOLOGIAI KUTATÓINTÉZET IGAZGATÓJA

SONDERABDRUCK AUS DEN

**ARBEITEN DER II. ABTEILUNG
DES UNGARISCHEN BIOLOGISCHEN FORSCHUNGSINSTITUTES**

VI. BAND. 1933.

REDIGIERT VON :

PROF. DR. FRIEDRICH VERZÁR

DIREKTOR

DES BIOLOGISCHEN FORSCHUNGSINSTITUTES

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE RESORPTION VON
FARBSTOFFEN AUS DEM DARM VON LEPTODORA KINDTII.

Von : E. J. MCDUGALL und F. VERZÁR.

FESTÉKEK FELSZÍVÓDÁSA LEPTODORA KINDTII
BÉLCSATORNÁJÁBÓL.

Írták : J. MCDUGALL (Aberdeen) és VERZÁR FRIGYES.

T I H A N Y, 1 9 3 3

(Aus der II. Abteilung des Ungarischen Biologischen Forschungsinstitutes.)

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE RESORPTION VON FARBSTOFFEN AUS DEM DARM VON LEPTODORA KINDTII.

Von: E. J. MCDUGALL und F. VERZÁR.

Die Cladocere *Leptodora kindtii* ist ein vorzügliches Objekt zum Studium von Resorptionsvorgängen im lebenden Organismus. In dem vollständig durchsichtigen Tier kann der Darm mit verhältnismässig grossen Vergrösserungen beobachtet werden.

Der Magendarm dieses Tieres besteht nach GERSCHLER¹ aus einer einzigen Schicht von grossen, kernhaltigen Epithel-Zellen. Diese ist gegen innen von einer völlig strukturlosen Intima bedeckt. Ausserhalb der Epithel-Zellen findet man zirkulär angeordnete glatte Muskelfasern, sowie spärliche Längsmuskelfasern, die viel schmaler wie die Ringmuskeln sind und in weiten Abständen voneinander stehen.

Es liegen bereits einzelne Beobachtungen über Verdauungsvorgänge aus dem Darm dieses Tieres vor. WEISSMANN² beobachtete, dass Karminteilchen durch den After aufgenommen werden und im Magendarm zu schleimigen Fäden zusammenkleben. GERSCHLER folgerte hieraus, dass der Magendarmkanal ein schleimiges Sekret liefere. Ohne weitere Beweise zu bringen giebt er an, dass das Epithel des Magendarms mit dem Schleim verdauende Fermente ausscheide und dann die Nahrung auch resorbiere. In den Zellen des Magendarms sollen Fetttropfchen zu finden sein.

Der Magendarm von *Leptodora* hat jedoch nicht nur eine Verdauungsfunktion, sondern wie es scheint, auch eine Atmungstätigkeit. Hierauf hat schon WEISSMANN hingewiesen und neuere Untersuchungen von SIEDENTOP³ haben das auch bewiesen. Nach diesem Autor würde der Darm allerdings nur bei einem gewissen Sauerstoffmangel zur Atmung herangezogen, sonst genüge die Haut, bzw. der Rückenschild, der zuerst von GUTH⁴, dann auch von GICKELHORN und KELLER⁵ auf Grund von Elektivfärbungen als das eigentliche Respirationsorgan betrachtet wird. Jedenfalls steht soviel fest, dass in den Magendarmkanal nicht nur durch den Oesophagus, sondern auch durch den After beständig Flüssigkeit aufgenommen wird.

Zur Untersuchung von Resorptionsvorgängen aus dem Darm haben wir die Methode der Vitalfärbung angewendet. Wir hofften auf diese Weise — im Zusammenhang mit eigenen früheren Untersuchungen, (VERZÁR⁶) — einen Einblick in Einzelheiten der Resorptionsprozesse im Epithel zu erhalten und dass es gelingt

den Farbstoff in das Epithel ein-, bzw. aus diesem wieder heraustreten zu sehen. Vitalfärbungen an *Leptodora* hat schon FISCHEL⁷ ausgeführt und auch von GICKLHORN und KELLER liegen diesbezügliche Untersuchungen vor. Speziell bezüglich der Resorptionsvorgänge wurden aber keine Beobachtungen gemacht.

Wir selbst haben zu unseren Untersuchungen zuerst eine Reihe von gewöhnlichen Vitalfarbstoffen benützt und mit diesen auch einige für die Verdauungsprozesse interessante Beobachtungen gemacht, ohne aber gerade bezüglich der Resorption zu entsprechenden Resultaten zu gelangen. Mit den gewöhnlichen Vitalfarbstoffen gelang es uns nicht das eigentliche Ein- und Austreten des Farbstoffes in das Epithel zu beobachten. Deshalb haben wir in einer weiteren Reihe von Untersuchungen die Mikroskopie im Fluoreszenzlicht zum Studium dieser Vorgänge verwendet.

I. Beobachtungen in gewöhnlichem Licht.

Setzt man *Leptodora* in eine 1% Lösung von Säurefuchsin in Seewasser (Balatonwasser), nimmt das Tier nach 1—2 Minuten heraus, wäscht es wiederholt in Wasser ab und untersucht es nun bei einer 80—160fachen Vergrößerung, so findet man den ganzen Magendarm dunkelrot gefärbt. Gelegentlich werden durch den After einzelne rote Wölkchen des Farbstoffes ruckweise durch die Oeffnung des Analsphinkters ausgestossen und Wasser eingesogen. Während Säurefuchsin im alkalischen Balatonwasser fast farblos ist, zeigt es im Inneren des Magendarmkanals eine tief dunkelrote Farbe, was darauf hinweist, dass der Magensaft eine stark saure Reaktion hat. Eine Resorption des Farbstoffes zu beobachten gelingt jedoch nicht. Auch bei langer Beobachtung sahen wir keine Anfärbung des Epithels.

Derselbe Versuch mit einer 1% Bismarckbraunlösung ausgeführt, liess uns einigemale das Folgende sehen. Nimmt man das Tier aus der Farbstofflösung heraus in der es sich 1—2 Minuten aufhielt, so ist der ganze Magendarm mit diesem braunen Farbstoff gefüllt. An der Einmündungsstelle des Oesophagus sieht man nun ruckweise einen hellen Tropfen von Flüssigkeit erscheinen. Allem Anschein nach wird er durch eine Peristaltikwelle des Oesophagus plötzlich hereingetrieben. An dieser Stelle fällt nun der Farbstoff in Form einer feinen Granula aus. Wahrscheinlich handelt es sich dabei darum, dass Bismarckbraun durch ein aus dem Oesophagus austretendes Sekret ausgefällt wird.

Gleichzeitig lässt sich noch beobachten, dass die Epithelzellen des Magendarms einen zähen Schleim ausscheiden. Durch die Peristaltikbewegungen wird dieser beständig dem Zentrum zugeedrückt und die am oberen Ende ausgefallte Granula wird nun vom Schleim festgehalten. Ueber den Magendarm laufen beständig Antiperistaltikwellen. Sie wirken so, dass am Rande ein Flüssigkeitsstrom nach oben getrieben wird, während axial der zähe Schleim mit der von ihm gefärbten Granula nach abwärts strebt. Nach und nach gelangt er in den Enddarm und wird dort zu einer kompakten Masse von Schleim und Granula zusammengepresst. Wir möchten betonen, dass nicht jedes Tier die entsprechenden günstigen

Bedingungen zu diesen Beobachtungen gibt und dass wir sie besonders bei sehr lebhaften Exemplaren gesehen haben.

Andere Vitalfarbstoffe haben sich für diese Beobachtungen nicht geeignet. Mit Kristallviolett färbt sich der Darminhalt, dagegen auch nicht das Magendarmepithel und die Tiere sterben bald. Auch Methylenblau, sowie Toluidenblau färben nur den schleimigen Magendarminhalt, nicht aber das Epithel. Nachdem es somit nicht gelungen war, eine Resorption dieser Farbstoffe zu beobachten, wurden die folgenden Versuche ausgeführt.

II. Beobachtungen im Fluoreszenzlicht.

ELLINGER UND HIRT⁸ haben als erste zur Beobachtung von Vitalvorgängen eine Methodik ausgearbeitet, bei der sie Vitalfarbstoffe verwenden, welche noch in grossen Verdünnungen im Ultraviolettlicht durch ihre eigene Fluoreszenz gut sichtbar sind. Die Ausscheidung und Resorption von solchen Farbstoffen hat HENNING⁹ am Froschmagen untersucht. Er fand, dass nur das basische Trypaflavin das Magene epithel anfärbt, während das saure Uranin das interstitielle Gewebe färbt. Bei intravenöser Anwedung geschah die Ausscheidung der Farbstoffe auf demselben Wege. VERZÁR und OSTERN¹⁰ haben die Methode der Fluoreszenzmikroskopie am Darm von Warmblütern (Hund, Taube) angewendet, und dabei den Weg der Farbstoffe in die Lymphbahnen verfolgt. Uranin (Fluoreszein-Na) geht in die Lymphgefässe. Trypaflavin dagegen in die Blutgefässe. Dagegen färbt Trypaflavin das Darmschleimhautepithel sehr rasch an, während Uranin das nicht tut. Nach dem Tode des Tieres verschwand die selektive Anfärbung des Zottenepithels in kurzer Zeit.

Zu unseren Versuchen an *Leptodora* verwendeten wir als Lichtquelle eine Eisen-Kohlenbogenlampe mit Quarzkondensor, Quarzobjektträger, und einem Ultraviolettfilter nach dem Okular. Die Vergrösserung war 80—160fach. (Einrichtung von C. Reichert.)

Die meisten Versuche wurden mit Uranin gemacht. In eine 2% Lösung dieses Farbstoffes in Balatonwasser werden die Tiere $\frac{1}{2}$ bis 2 Minuten gebracht. Von hier werden sie in 2 oder mehr Gefässen vom anhängenden Farbstoff abgewaschen und dann auf einem ausgehöhlten Quarzobjektträger ohne Deckglas beobachtet.

Im vollständig dunkeln Gesichtsfeld sieht man fast nichts von den Konturen des Tieres; nur in der Mitte leuchtet intensiv grün, in einem meist geradezu blendenden Licht der Magendarm. Gegen den bläulich-schwarzen Hintergrund sticht das grünlich-gelbe Fluoreszenzlicht in überraschender Schönheit ab. Manchmal sieht man nur den Enddarm gefüllt, in andern Fällen ist bereits der ganze Magendarm voll. Man sieht lebhaft Antiperistaltikbewegungen entlanglaufen.

Häufig schon in den ersten Momenten oder aber in ganz kurzer Zeit sieht man nun, dass der Farbstoff aus dem Inneren des Magendarms in das Epithel aufgenommen und in diesem konzentriert wird. Dieses färbt sich intensiv und leuchtet besonders stark. Das Epithel des ganzen Magendarms zeigt diese Erscheinung; sie ist aber besonders stark am Enddarm zu sehen. Wenn die Kon-

zentrierung des Farbstoffes im Epithel fortgeschritten ist, dann sieht man nach einiger Zeit auch das Uebertreten des Farbstoffes in die Körperflüssigkeit. Allerdings ist dazu nötig, dass eine nicht zu lebhaft Peristaltik vorhanden ist und dass die Beleuchtungsverhältnisse optimale sind. An der äusseren Oberfläche des Magendarmkanals sieht man kleine Erhebungen, wie „Flämmchen“ erscheinen, sie wechseln ihren Ort, sind bald hier, bald dort. Sie sind die durch das Epithel strömende Farbstofflösung, die sich nun diffus in der Körperflüssigkeit des Tieres verteilt und mit dieser in alle Organe gelangt. Nun färbt sich nach und nach das ganze Tier und alle Teile des Körpers leuchten nun in einem zuerst matten, dann immer intensiver werdenden saftigen Grün. Die allgemeine Anfärbung verdeckt schliesslich die Farbe des Epithels des Magendarms, das nun nicht mehr besonders hervorsticht.

Die Resorption des Uranins erfolgt also so, dass der Farbstoff zuerst in den Epithelzellen konzentriert wird und dann energisch an das Körperinnere abgegeben wird. Sowohl die Adsorption, wie das Ausstossen macht den Eindruck einer sehr aktiven Lebensfunktion des Epithels. Dass es sich dabei um einen aktiven Vorgang handelt, lässt sich auch damit beweisen, dass nach der Abtötung des Tieres diese starke Fähigkeit den Farbstoff zu adsorbieren, verloren geht. Bringt man nämlich eine auf diese Weise elektiv im Magendarm gefärbte lebende *Leptodora* in eine Lösung von Formalin oder Sublimat, so stirbt das Tier in wenigen Sekunden und gleichzeitig verschwindet die bis dahin so deutliche Adsorption des Farbstoffes an das Epithel. Der Farbstoff tritt sogleich in die Körperhöhle über und färbt das ganze Tier diffus. Nimmt man tote Tiere oder nach mehrtägiger Gefangenschaft sterbende Tiere, die nur noch ganz schwache Ruderbewegungen zeigen und fast keine Peristaltik am Magendarm haben, so findet man ebenfalls, dass diese Tiere sich diffus anfärben. Sogleich nach dem Eintauchen in den Farbstoff sehen sie so aus wie normale Tiere, welche den Farbstoff bereits einige Stunden lang im Darm gehabt haben. Dabei entsteht die Anfärbung jedenfalls nicht nur durch den Magendarm, sondern auch durch die äussere Körperoberfläche deren Permeabilität beim Absterben sich auch ändert.

Bezüglich der Funktion des Magendarms müssen wir bemerken, dass wir niemals ein Eintreten dieses oder anderer Farbstoffe durch den Oesophagus, sondern immer nur vom After aus gesehen haben. Dieser scheint also beständig Flüssigkeit aufzunehmen und durch Antiperistaltik nach oben zu fördern. Beobachtungen mit Trypaflavin hatten weniger deutliche, aber keine anderen Resultate.

Es gelang uns also mittelst Fluoreszenzmikroskopie die Resorption von Uranin bei *Leptodora* zu beobachten. Auffallend ist dabei, dass der Farbstoff in den Epithelzellen adsorbiert und stark konzentriert wird, um dann in einer zweiten Phase in die Körperhöhle abgegeben zu werden. Die starke Adsorptionsfähigkeit des Epithels ist eine ausgesprochen vitale Erscheinung.

Zusammenfassung.

1. Mittelst Fluoreszenzmikroskopie gelingt es bei *Lepodora* die Resorption von Uranin zu sehen. Diese verläuft so, dass der Farbstoff zuerst im Epithel stark konzentriert wird, und dann in konzentrierten Strömen in die Körperhöhle

abgegeben wird. Die Fähigkeit des Epithels den Farbstoff zu konzentrieren ist eine mit dem Leben verbundene Eigenschaft, welche aufhört, wenn das Tier stirbt.

2. Mittelst Säure-Fuchsin lässt sich im Magen-darm eine saure Reaktion nachweisen. Versuche mit Bismarckbraun zeigen, dass durch den Oesophagus ein diesen Farbstoff ausfallendes Sekret eintritt.

(A Magyar Biológiai Kutatóintézet II. osztályának közleménye.)

FESTÉKEK FELSZIVÓDÁSA LEPTODORA KINDTII BÉLCSATORNÁJÁBÓL.

Irták: E. J. MCDUGALL (Aberdeen) és VERZÁR FRIGYES.

(Összefoglalás.)

A bélből való felszívódás mechanizmusát kutató régebbi vizsgálatainkkal kapcsolatban, festékanyagok felszívódását vizsgáltuk közönséges és főleg ibolyántúli fényben. Ilyen vizsgálatokra *Leptodora kindtii* rendkívül alkalmas. Ennek a teljesen átlátszó Cladoceranának gyomorbelét egyetlen hámsejtréteg fedi, amelyet kifelé keskeny, síma izomréteg vesz körül. 80—160-szoros nagyítással az élő állat bele jól megfigyelhető. A bél nemcsak a nyelőcső felől, hanem főleg a végbélnyílás felől telítődik meg állandóan, amit könnyen ki lehet mutatni, ha az állatot festékoldatba mártjuk. A szokásos vital-festékekkel semmiféle resorptiós jelenséget nem tudtunk észlelni. Ellenben az ibolyántúli fényben fluoreskáló uranin és kisebb mértékben a trypaflavin is gyönyörű képeket adtak. Az állatokat 1%-os oldattal 1—2 percig festettük. A gyomorbél megtelik a festékoldattal és teljesen elektíven, intenzíven fluoreskál. A festék hamarosan a gyomorbélfal hámsejtjeihez adszorbeálódik és azokban magas koncentrációt ér el. Egy idő múlva a festéknek a hámsejtekből a szabad testüregbe való kilépését is szépen lehet látni. A kiáramlás kis lángszerű képletek formájában történik. Igen feltűnő a festék nagymérvű koncentrációja a hámsejteken. Ha az állat elpusztul, vagy ha formalinnal, vagy sublimáttal megöljük, a gyomorbélhám ezen adszorbeáló és koncentráló képessége megszűnik és a festék azonnal átlép a testüregbe. A hámsejteknek ez a festéket koncentráló hatása aktív életműködés benyomását kelti.

Savanyú fuchsin sötétvörös színezést mutat a bélben, ami erősen savanyú vegyhatásra utal. Bismarckbarna pedig az oesophagusból kiáramló emésztőnedv hatása alatt kicsapódik. A gyomorbélhám nyákot is választ el. Az uranin kivételével a többi vitalfesték nem festette meg a bélhámot.

LITERATUR. — IRODALOM.

¹ Gerschler, M. W. Monographie der *Leptodora kindtii*, Arch. f. Hydrobiologie VI. 415, 1912. VII. 63, 1912.

² Weissmann, A., Zeitschrift f., wissenschaftliche Zoologie 24, 1874. cit n. Gerschler.

³ *Siedentop, W.*, Physiologische Beobachtungen an *Leptodora Kindtii*, Arb. d. Ung. Biol. Forschginst. III. 70, 1930. III. 82, 1930.

⁴ *Guth*, Zool. Anz. 50, 1919.

⁵ *Gickelhorn und Keller*, Zool. Anz. 64, 1925.

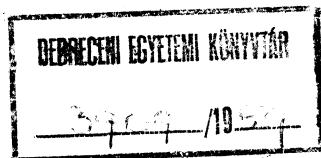
⁶ *Verzár, F* Hdb. d. Physiol. Path. IV. 3, 1929. Erg. d. Physiol. 32. 391, 1931.

⁷ *Fischel, A.*, Zool. Anz. 1908 cit. n. Gerschel.

⁸ *Ellinger Ph. und Hirt, A.*, Arch. f. exp. Path. Pharm. 145, 159, Zeitschrift f. Anatomie 90, 791, 1929. Hdb. d. biol. Arb. meth. V. 2. 15.

⁹ *Henning, N.* Arch. exp. Path. Pharm. 165, 191, 1932. 166, 42, 1932.

¹⁰ *Verzár, F. und Ostern, P.*, Schweiz. med. Wo. 1031, 1933.



VÁROSI NYOMDA, DEBRECEN.
1933.