

Zur Physiologie der Nierensekretion.

Von

Otto Cohnheim (Heidelberg).

(Aus der zoologischen Station in Villefranche.)

(Der Redaktion zugegangen am 1. Juli 1912.)

Die Bowman-Heidenhainsche Theorie der Nierensekretion besagt bekanntlich, daß das Wasser des Harns in der Hauptsache in den Glomerulis abgeschieden wird und die spezifischen harnfähigen Bestandteile in den Harnkanälchen. Diese Hypothese ist seit den Experimenten R. Heidenhains und seit seiner klassischen Darstellung¹⁾ fast allgemein angenommen worden. Sie erklärt alle Erscheinungen, steht mit keiner Tatsache in Widerspruch und bedarf keiner Hilfsannahmen. Sie ist so gut wie bewiesen.²⁾ Auch an einer weiteren Auseinandersetzung Heidenhains, daß die Absonderung durch eine Tätigkeit des Protoplasmas geschehe und nicht etwa durch Filtration und Osmose, wird heute niemand mehr zweifeln. Eine große Schwierigkeit hat aber jede Theorie der Nierensekretion, die für das Wasser und für die im Wasser gelösten Stoffe einen getrennten Ausscheidungsort annimmt, darin, daß sie dann annehmen muß, daß die harnfähigen Bestandteile in einer sehr konzentrierten Lösung die absondernde Zelle passieren. Die Niere muß ja ohnedies große osmotische Druckdifferenzen schaffen, da einzelne der Harnbestandteile im Harn in unvergleichlich viel höherer Konzentration vorkommen als im Blute. Geht die Absonderung nun so vor sich, daß die Hauptmenge des Wassers in den Glomerulis das Blut verläßt, so kommen

¹⁾ R. Heidenhain, Hermanns Handbuch der Physiol., Bd. 5, Abt. 1, S. 279ff., 1883.

²⁾ R. Magnus, Münch. med. Wochenschrift, 1906, Nr. 28, 29. Oppenheimers Handbuch der Biochemie, Bd. 3, 1. Hälfte, S. 477, 1908,

für die Zellen der Harnkanälchen ganz riesige Druckwerte heraus, Druckwerte, von denen man sich scheut, anzunehmen, daß tierische Zellen sie vertragen. Auf Grund von Farbstoffversuchen ist zuerst von Gurwitsch,¹⁾ dann auf Grund eingehender Studien von Höber²⁾ angenommen worden, daß die harnfähigen Stoffe erst in Vakuolen gespeichert werden, und dann in diesen Vakuolen durch die Zelle gehen. Dann müssen die Vakuolen aber eben eine sehr konzentrierte Lösung enthalten, was ebenso zu Bedenken Anlaß gibt, wie wenn man sich vorstellen wollte, die Lösung der harnfähigen Bestandteile ströme diffus durch das Protoplasma hindurch.

Man kann nun aber noch eine ganz andere Annahme machen, daß die harnfähigen und die zur Sekretion bestimmten Stoffe nämlich garnicht in Lösung die Nierenzelle passieren, sondern daß sie von dem Protoplasma chemisch gebunden, d. h. aus der Lösung ausgefällt, in der Zelle gespeichert und nachher wieder in Lösung gebracht und sezerniert werden. Daß eine Speicherung in der Nierenzelle statthat, das geht aus R. Heidenhains, Gurwitschs, Höbers Versuchen hervor und ebenso aus den Angaben von Kowalewsky³⁾ und anderen Zoologen⁴⁾ über die Nieren mancher Wirbellosen. Denn sowohl bei Heidenhain und Höber wie bei Kowalewsky sieht man die Nieren intensiv gefärbt, viel intensiver, als nachher der Harn ist, und das bedeutet ja eine Speicherung. Für diese Annahme könnte man auch Arnolds⁵⁾ Beobachtungen über gefärbte Granula in der Nierenzelle verwerten. Doch ist es einstweilen wohl kaum möglich, über den Aggregatzustand der Granula etwas Näheres auszusagen. Auch sieht man bei allen diesen Versuchen die Niere nicht in vivo, und ich versuchte daher, ob es nicht möglich sei, an lebenden Tieren das Ge-

¹⁾ R. Gurwitsch, Pflügers Arch., Bd. 91, S. 71 (1902).

²⁾ R. Höber u. A. Königsberg, Pflügers Arch., Bd. 108, S. 323 (1905); R. Höber u. F. Kempner, Bioch. Zeitschr., Bd. 11, S. 105 (1908). R. Höber, *ibid.*, Bd. 20, S. 56 (1909).

³⁾ A. Kowalewsky, Biol. Zentralbl., Bd. 9, S. 33 u. 65 (1889).

⁴⁾ L. Cuénot, Arch. d. Biol., Bd. 16, S. 49 (1900); P. Emeljanenko, Zeitschr. f. Biol., Bd. 58, S. 81 (1912).

⁵⁾ J. Arnold, Virchows Arch., Bd. 169, S. 1 (1902).

schehen in der Niere, den Durchgang der Stoffe, durch das Protoplasma direkt zu beobachten. Ich habe an den durchsichtigen Heteropoden, frei schwimmenden Meeresschnecken, Pterotrachea und Carinaria experimentiert.

Die Versuche wurden im April ds. Js. in der russischen zoologischen Station in Villefranche bei Nizza ausgeführt und ich möchte auch an dieser Stelle nicht verfehlen, dem Leiter der Station Herrn Prof. v. Davidoff und den übrigen Herren der Station meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Die Station in Villefranche enthält nicht, wie die in Neapel, ein physiologisches und physiologisch-chemisches Laboratorium, dessen bedurfte ich aber dieses Mal für meine Versuche auch nicht. Dafür ist die Station seit den Zeiten von Karl Vogt für die Reichhaltigkeit des pelagischen Materials berühmt und auch ich erhielt die Heteropoden in reichlicher Menge. Der Aufenthalt in Villefranche wurde mir durch eine Zuwendung der medizinischen Fakultät Heidelberg aus der Walter-Erb-Stiftung ermöglicht, wofür ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank sage.

Die Heteropoden sind große frei schwimmende Nacktschnecken, die sich, wie die meisten pelagischen Tiere, durch ihre Durchsichtigkeit auszeichnen. Bei ihnen ist die Durchsichtigkeit trotz ihres komplizierten Baues so vollkommen, wie etwa bei den brechenden Medien des Auges, und man sieht die Tiere im Seewasser zunächst kaum. Undurchsichtig sind nur die ziemlich großen Augen und der von einer derben irisierenden Hülle umgebene Nucleus am hinteren Körperende, der der Leber oder Mitteldarmdrüse der anderen Mollusken entspricht. Die Anatomie der auffallenden Tiere ist oft untersucht worden. Ich nenne nur Leuckart,¹⁾ Boll,²⁾ Huxley³⁾ und vor allem die berühmte Untersuchung von Gegenbaur.⁴⁾

¹⁾ R. Leuckart, Leuckarts Zoologische Untersuchungen, Heft 3, S. 1, 1854.

²⁾ F. Boll, Arch. f. mikrosk. Anatomie, Bd. 5, Supplementheft.

³⁾ T. H. Huxley, Philos. Transakt., 1853, Bd. 1, S. 29.

⁴⁾ C. Gegenbaur, Untersuch. über die Pteropoden und Heteropoden. Leipzig 1855.

Physiologisch ist dagegen wenig mit ihnen gearbeitet worden. Tschachotin¹⁾ hat die Abhängigkeit der Bewegungen und des Tonus der Tiere von der Statocyste untersucht, Rywosch²⁾ das Herz.

Pterotrachea ist walzenförmig, etwa 15—20 cm lang und reichlich daumendick. Das vordere Körperende ist verschmälert und in einen langen, sehr beweglichen Rüssel ausgezogen, die Fischer nennen die Tiere recht treffend See-Elefanten. Der Rüssel trägt an seiner Spitze einen sehr kräftigen und vollkommenen Kauapparat; von ihm aus läuft der Darmkanal als ein gleichmäßig weites Rohr durch Rüssel und Körper bis zu dem oben erwähnten undurchsichtigen Nucleus, in den der Darm eintritt, am anderen Ende des Nucleus liegt der After. Der Darm läuft, durch wenige Aufhängefäden befestigt, frei durch die Leibeshöhle und ist in ihr sehr beweglich.

Das Zirkulationssystem besteht, wie bei allen Mollusken, aus großen Blutlakunen, die zum Teil mit der Leibeshöhle zusammenfallen, aus denen das Herz durch Venen das Blut aufnimmt und in die es durch Arterien das Blut hereinpumpt. Ein besonderes Kapillarsystem fehlt wenigstens bei den Verdauungsorganen. Ich habe schon bei früherer Gelegenheit³⁾ darauf hingewiesen, daß dieses eigenartige Verhalten die Mollusken besonders geeignet für Untersuchungen am überlebenden Organ macht. Das Herz besteht aus Vorhof und Ventrikel. Es ist ebenso durchsichtig wie das übrige Tier, und man kann seine Bewegungen daher vortrefflich sehen. Bei frischen Tieren habe ich in Übereinstimmung mit Rywosch 50—60 Pulse in der Minute gezählt, bei größeren Exemplaren etwas weniger als bei kleineren. — Am hinteren Körperende sind Kiemen vorhanden, zu denen besonders starke Arterien verlaufen. Das Nervensystem, das man ebenfalls bei dem lebenden unversehrten Tier sehen, das man auch vital gut färben kann, ist oft beschrieben worden.

Sehr eigentümlich erscheint auf den ersten Blick das

¹⁾ S. Tschachotin, Zeitschr. f. wiss. Zoologie, Bd. 90, S. 343, 1908.

²⁾ D. Rywosch, Pflügers Arch., Bd. 109, S. 355, 1905.

³⁾ O. Cohnheim, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 35, S. 416, 1902.

Ausscheidungsorgan, die Niere. Neben dem Herzen dicht am Nucleus befindet sich ein «schwammiges» Organ, das den Teil der Wand einer kontraktilen Blase bildet, die durch einen Ausführungsgang nach der äußeren Körperoberfläche mündet. Schon früher ist dieses Organ für eine Niere erklärt worden, später hat man das aber bestritten, weil man sich eine kontraktile Niere schwer vorstellen konnte.¹⁾ Ich werde auseinanderzusetzen haben, daß die Kontraktilität der Nierenblase im Gegenteil sehr gut zu ihrer Funktion paßt.

Im Gegensatz zu Pterotrachea besitzt Carinaria eine kleine Schale, in der die Leber, die Niere, die Kiemen und das Herz liegen, und die nur durch einen dünnen Stiel mit dem übrigen Körper zusammenhängt. Bei kleineren Exemplaren ist diese Schale recht durchsichtig, sodaß man die Organe gut sehen kann, bei größeren nicht so vollkommen. Der Rüssel ist viel kürzer und das ganze Tier ist gedrungenener gebaut.

Wie alle pelagischen Tiere sind die Heteropoden in der Gefangenschaft leider schlecht zu halten. Das Wasser der Aquariumsleitung scheint ihnen nicht zuträglich zu sein, aber auch in reinem Seewasser, bei guter Fütterung und Sauerstoffzufuhr durch Algen, waren sie am zweiten Tage im allgemeinen nie mehr normal. Rywosch hat beschrieben, daß die Tiere, wenn ihre Vitalität abnimmt, eine deutliche Pulsverlangsamung zeigen. Aber schon ehe der Puls deutlich langsamer wird, sind die Bewegungen der Tiere matter, und die Nahrungsaufnahme ist gestört. Die gleich zu beschreibenden Preßreflexe sind auslösbar und die Rüsselbewegungen werden ausgeführt, aber so kraftlos, daß die Nahrung nicht mehr ergriffen wird. Nur Carinaria habe ich am zweiten Tag noch füttern können. Zu Versuchen eignen sich die Tiere daher nur an dem Tage, an dem sie eingebracht werden.

Der Plan meiner Untersuchung war nun, den Tieren Farbstoffe beizubringen. Ich wollte sie aber nicht, wie dies seit Kowalewsky oft geschehen ist, injizieren, sondern wollte sie verfüttern, um die Resorption, den Weg durch den Körper und

¹⁾ L. Joliet, C. r., Bd. 97, S. 1078, 1883. D. Rywosch, Pflügers Arch., Bd. 109, S. 355, 1905.

die Ausscheidung am lebenden unversehrten Tiere sehen zu können. Die Art des Zerkleinerns der Nahrung durch den Kauapparat ist von Gegenbaur genau beschrieben worden und die Tiere werden allgemein als gefräßige Räuber bezeichnet, doch hat noch niemand die Reflexe der Nahrungsaufnahme beschrieben und ich habe daher diese zunächst studiert, wobei sich erwies, daß hier Verhältnisse vorliegen, wie sie bei freischwimmenden Tieren noch nicht beobachtet worden sind.

Chemische Reize kommen für die Nahrungsaufnahme nicht in Betracht. Ich habe niemals beobachten können, daß die Tiere etwa nach einem Stück Fischfleisch oder irgend einem anderen Tiere hingeschwommen sind; auch wenn es noch so lange dicht vor ihnen liegt, reagieren sie nicht darauf. Auch optische Reize kommen für die Nahrungsaufnahme nicht in Betracht. Tschachotin hat beobachtet, daß die Tiere durch plötzliches helles Licht zum Fortschwimmen veranlaßt werden. Auf Beschattung dagegen, auf die Annäherung größerer oder kleinerer Körper im Wasser oder über dem Wasser ihrer Bassins reagieren sie garnicht, weder durch einen Fluchtreflex noch durch Änderungen der Bewegungsrichtung. Wenn man es populär ausdrückt, so kann man sagen, die Tiere sind nicht scheu, was das Arbeiten mit ihnen natürlich sehr erleichtert. Die Nahrungsaufnahme wird nur durch zwei Tangorezeptionsorgane vermittelt. Das eine liegt an der Basis des Rüssels auf der Dorsalseite des Körpers vor den Augen, da, wo der Körper einige leichte fühlertartige oder bucklige Vorwölbungen trägt. Bei dem gewöhnlichen Schwimmen dieser Tiere ist dieser Teil die vorderste Stelle des Körpers. Auf die Berührung dieser Stelle führt der Rüssel eine kräftige und schnelle Bewegung aus, die seine Spitze in großem Bogen gerade an den Reizort hinführt. Sobald die Bewegung vollendet ist, schnappt der Mund zu und der Kauapparat beginnt seine Tätigkeit. Das zweite Tangorezeptionsorgan liegt am distalen Ende des Rüssels, dicht an dem Kauapparat auf derselben, physiologisch dorsalen oder oberen Seite, wie das andere Rezeptionsorgan. Auf seine Berührung führt nur die Rüsselspitze mit der Mundöffnung eine Bewegung aus und beschreibt einen ganz kurzen Kreisbogen, der die Mund-

öffnung wieder mit großer Sicherheit unmittelbar vor das Rezeptionsorgan, also an die Reizstelle bringt. Auch diese Bewegung endet mit einem Biß und ein Biß findet nur statt, wenn eine der beiden Rüsselbewegungen vorhergegangen ist. Nur wenn man den Tieren etwas in die geöffnete Mundöffnung hineinschiebt, kann man auch ein Zufassen ohne vorherige Rüsselbewegung sehen. Es kann das aber, da die Mundöffnung ohnehin nie lange aufbleibt, auch wohl ein zufälliger Schluß sein. Das normale Ergreifen der Nahrung findet jedenfalls nur im Anschluß an die Rüsselbewegungen statt.

Ich habe mich besonders überzeugt, daß die beiden Organe wirklich nur berührungsempfindlich sind und nicht etwa auf chemische Reize reagieren. Auf Berührung mit einem sorgfältig gereinigten und ausgeglühten Glasstab oder mit einem Stückchen reinem Filtrierpapier reagieren sie genau so gut wie auf Fischfleisch. Die Unterschiedslosigkeit der Reaktion auf jede Berührung ist mit ein Grund, weshalb sich die Tiere in der Gefangenschaft so schlecht halten, daß sie bei ihrem schnellen Herumschwimmen an die Glaswand des Aquariums anstoßen und dann jedesmal zubeißen. Wirft man in das Bassin eine größere Anzahl von Algenblättern, die niemals normale Nahrung sind, so zappeln sich die Tiere mit fortwährendem Zubeißen in die Blätter solange ab, bis sie völlig erschöpft daliegen. — Sobald der Rüssel in seine Ruhestellung zurückgelangt ist, läßt sich der Reflex von neuem auslösen und beliebig oft wiederholen. Dagegen hebt der Fluchreflex die Freßreflexe auf. Ebenso treten sie nicht ein, wenn das Tier eben vorher Nahrung ausgespien hat. Die Rüsselspitze ist reichlich mit Nerven versorgt und auch an die Stelle des anderen Rezeptionsorganes laufen nach der anatomischen Beschreibung kräftige Nervenstämme. Boll¹⁾ beschreibt becherförmige Sinneszellen an der Rüsselspitze. Die eigentliche Spitze ist durch den Kauapparat besetzt. Es ist nicht unmöglich, daß er gerade die Stelle dieses Rezeptionsorganes in den Händen gehabt hat. Mit Sicherheit geht das freilich aus seiner Beschreibung und seinen Abbildungen nicht hervor.

¹⁾ F. Boll, a. a. O., S. 59.

Jeder der beiden Reflexe endet immer mit einem Biß. Das weitere Verhalten des Tieres ist dann aber verschieden. Trifft es bei dem Biß auf einen großen Gegenstand, so schließt sich an den Biß ein Fluchtreflex. Das Tier macht eine heftige schlenkernde Bewegung mit dem ganzen Körper, wodurch es rückwärts fortgetrieben wird, häufig dreht es um und schwimmt dann schnell weg, wobei der Ruderfuß und die Muskeln des Körpers lebhaft Bewegungen ausführen. Es scheint nicht die Härte des getroffenen Körpers zu sein, die den Fluchtreflex auslöst, denn in die Pinzette beißt das Tier herein und hält sie fest, sondern es ist anscheinend die Größe der Fläche, die wirksam ist, Glaswand, Hand usw., vermutlich dadurch, daß der Gegenstand nicht in die Mundöffnung hereingeht, sondern sie rings umragt. — Trifft der Biß dagegen einen kleinen Gegenstand, so tritt nun der Kauapparat in Tätigkeit und hier bestehen dann wieder zwei Möglichkeiten, indem das, was in die Mundöffnung hereingerät, entweder gekaut und verschluckt oder ausgespieden wird. Im Munde liegt hier ein chemisches Rezeptionsorgan oder Geschmacksorgan. Frisches Fischfleisch wird immer geschluckt, ebenso das Fleisch vieler anderer Seetiere, auch Fleisch von Säugetieren. Dagegen wird Fischfleisch, das einige Stunden gelegen hat, für menschliche Nasen aber noch nichts Unangenehmes zeigt, jedesmal ausgespieden. Filtrierpapier wird ausgespieden und ebenso Algen. Von den Farbstoffen wird ein Teil aufgenommen, ein Teil ausgespieden; Nilblau-Chlorhydrat wird aufgenommen, Nilblausulfat ausgespieden. Es ist das interessant, da die Sulfate ja auch für unseren Geschmackssinn bitter sind. Gallehaltiges Fischfleisch wird ebenfalls ausgespieden. — Größere Fleischstücke werden allmählich in die Mundöffnung hereingezogen und dabei durch den Kauapparat zerkleinert. Es ist erstaunlich, wie große Stücke auf diese Weise schließlich langsam bewältigt werden. Ist das gefaßte Stück sehr groß, sodaß es teilweise in der Mundhöhle ist, z. T. heraushängt, so kann auch noch nachträglich der Fluchtreflex ausgelöst werden und bei der plötzlichen Bewegung dieses Reflexes wird dann das zunächst gefaßte Stück bisweilen noch losgerissen, sodaß der Fluchtreflex dann im Dienste der Nahrungsaufnahme steht.

Ist ein Stück Fleisch gefressen, so kann man nun die ganze Bewegung des Darmkanals, die Verflüssigung des Eiweißes und den Forttransport bei den durchsichtigen Tieren aufs schönste sehen und es gewährt für den Physiologen, der sich mit Verdauungsphysiologie beschäftigt, einen eigenen Reiz, alle die Dinge direkt sehen zu können, deren Vorhandensein man sonst erschließen muß. Man kann die Grütznersche Fibrincarminreaktion am Lebenden ausführen, die Reaktion der Verdauungssekrete ohne jeden Eingriff bestimmen usw. — Wird ein Stück Fischfleisch, das man in fein zerriebenem Indigkarmin gewälzt hat, verfüttert, so sieht man 1 Minute, nachdem es aus dem Kauapparat herausgetreten ist, wie der bis dahin leere und zusammenliegende Darmkanal sich mit Flüssigkeit füllt. Die Flüssigkeit strömt nach vorne, umfließt das Stück Fleisch und färbt sich bald blau. Sehr bald darauf rutschen Fleisch und Flüssigkeit den Darm entlang. Einmal habe ich ein Stück Fleisch 4 Minuten nach dem Fressen am Ende des Darms an der Leber ankommen sehen. Meist dauert es einige Minuten länger. Von Bewegungen des Darmes sieht man bisweilen peristaltische Einschnürungen, die über den Darm hinablaufen, häufiger sieht man große Bewegungen, die so aussehen, wie ich mir die Pendelbewegungen vorstelle, die Flüssigkeiten in 4 Minuten durch die ganze Länge des Hundedünndarms hindurchtreiben, und die hauptsächlich auf einer Verkürzung der Längsmuskeln über eine große Strecke hin bestehen. Auch Hin- und Herfluten des Darminhaltes sieht man oft, dagegen habe ich nie etwas gesehen, das den rhythmic segmentations entspricht, den Misch- und Knetbewegungen. Der ganze Darmkanal, von der Mundöffnung bis zur Leber, ist durchaus eine Einheit, Scheidungen in verschiedene Abschnitte sind nicht vorhanden, das Hin- und Herfluten geht unterschiedslos über die ganze Darmlänge hin. Unmittelbar nach der Nahrungsaufnahme bewegt sich der Darm etwa eine Stunde lang sehr lebhaft, später sieht man nur seltene und schwache Bewegungen. Jeder neue Freßakt läßt die Bewegungen aber in voller Stärke von neuem beginnen, also eine «psychische Motilität» wie beim höheren Tiere. Der Darm muß ein sehr wirksames eiweißlösendes Ferment

enthalten, da das Fischfleisch sich rasch auflöst. Die Reaktion ist auf Lackmus stark sauer und zwar in der ganzen Länge des Darmkanals, Kongorot nähert sich dem Violett, wird aber nicht eigentlich blau. Wenn man die Empfindlichkeit des Kongorots für saure Reaktion erhöht, indem man das Fleisch nicht in Kongorotpulver legt, sondern eine Aufschwemmung der Kongsäure in Seewasser, so wird die Blaufärbung im Darm deutlich. Die Reaktion scheint an der Grenze der Kongoacidität zu sein. Der Darminhalt tritt mit saurer Reaktion in die Leber ein. Hier ist nun nichts mehr zu sehen, frühestens nach zwei Stunden, meist später, wird am anderen Ende der Leber gefärbter Kot entleert.

Carinaria verhält sich in den Hauptpunkten wie Pterotrachea. Der Rüssel ist aber viel kürzer und es existiert nur ein berührungsempfindliches Rezeptionsorgan, auf dessen Reizung der Biß erfolgt. Das Organ liegt etwa in der Mitte des kurzen Rüssels. Carinaria beißt auch ohne diesen Reflex zu, wenn man etwas direkt in die Mundöffnung hereinschiebt. Ein weiterer Unterschied besteht darin, daß Carinaria einen Magen besitzt. Wenigstens muß man mit diesem Namen eine sackartige Erweiterung des Verdauungskanal bezeichnen, die kurz hinter dem Kauapparat beginnt, und in der das Gefressene lange liegen bleibt, um erst allmählich in Lösung zu gehen. Von ihm aus läuft der Darm zur Leber. Bald nach dem Freßreiz werden die in den Magen gelangenden Fleischstückchen von einer Flüssigkeit umflossen, die sie allmählich auflöst, und vom Ende des Magens wird dann Stück auf Stück des Inhalts gewissermaßen abgeplückt und schnell den Darm entlang zur Leber transportiert. Im Magen sieht man kaum Bewegungen, im Darm ein Hin- und Herfluten, das sich auch bis in den Magen zurück erstrecken kann. Die Reaktion ist im Magen wie im Darm sauer. Im Gegensatz zu Pterotrachea, bei der irgend welche feste Körper, die den Kauapparat passiert haben, nicht wieder ausgestoßen werden können, kann Carinaria mit ihrem Magen erbrechen.

Eigenartig ist das Verhalten von Carinaria, wenn der Magen sich füllt. Es ist schon oben erwähnt, daß man auch die vollgefressene Pterotrachea dauernd weiter füttern kann.

Ich habe einmal gesehen, daß der prall vollgestopfte Darm bei einem ungewöhnlich heftigen Fluchtreflex geplatzt ist. Carinaria hört dagegen bei einem bestimmten Füllungsgrade des Magens zu fressen auf, aber nicht, weil der Freßreflex nicht auszulösen wäre, sondern aus einem eigentümlichen mechanischen Grunde. Bei leerem Magen schwimmt das Tier mit erhobenem Kopf und Rüssel, sodaß das Tango-Rezeptionsorgan die vorderste Stelle des Körpers bildet und bei dem normalen Schwimmen des Tieres leicht an Nahrung stößt. Ist der Magen dagegen voll mit Fleisch, das schwerer ist als Seewasser, so kippt das Tier nach vorne um, und wenn es nun vorwärts schwimmt, so befindet sich der Tango-Rezeptor auf der Rückseite des Körpers. Wenn man den Rezeptor berührt, so kann man sich gut davon überzeugen, daß der Freßreflex nach wie vor auszulösen ist und zum Ziele führt. Unter natürlichen Bedingungen dürfte es aber bei dieser Körperhaltung fast ausgeschlossen sein, daß der Reflex ausgelöst wird. In dem Maße, wie sich der Magen entleert, richtet sich das Tier wieder auf. Wir wissen bekanntlich nicht, worauf Hunger und Sättigung bei uns oder bei höheren Tieren beruhen. Hier ist das Problem, bei Hunger das Fressen zu erleichtern und bei vollem Magen die weitere Zufuhr zu verhindern, rein mechanisch gelöst.

Nach Feststellung dieser Tatsachen war es ein Leichtes, die Tiere mit Farbstoffen zu füttern. Ich wälzte Stückchen Fischfleisch in dem Farbpulver oder tränkte die Fleischstückchen mit konzentrierten Lösungen der Farben. Glatt aufgenommen wurden Indigkarmin, Lakmus, Methylenblau, Nilblausulfat, Neutralrot, Kongorot, Benzopurpurin, Alizarin. Verweigert wurden Nilblausulfat, Karmin, Bismarckbraun, Pyrrolblau, Trypanblau und Trypanrot. — Die drei letzten Farben sind mir von der Firma Cassella in Frankfurt a. M. liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellt worden, die anderen Farben stammten meist von Grübler.

Für meinen eigentlichen Zweck, den Durchtritt durch den Darm, die Verteilung im Körper und die Ausscheidung durch die Niere, zu sehen, erreichte ich aber auf diesem Wege wenig, da die meisten der gefressenen Farbstoffe nicht oder nur in Spuren resorbiert wurden. Die Tiere entleerten stark gefärbte

Klumpchen Kot, aber weder das übrige Tier noch die Niere färbten sich. Nur bei Methylenblau erhielt das ganze Tier einen blauen Schimmer, von dem sich die Nerven und die Kiemen stärker blau gefärbt abhoben. Das Tier ging nach einigen Stunden zugrunde, ohne daß sich die Färbung verändert oder das Ausscheidungsorgan stärker gefärbt hätte. Bei Indigkarmin färbten sich 10—20 Stunden nach reichlicher Fütterung die Kiemen und das Ausscheidungsorgan schwach blau, aber mehr konnte man nicht sehen und zu dieser Zeit waren auch die Tiere schon nicht mehr normal.

Ich habe daher nun die Farbstoffe den Tieren injiziert und zwar in die bluthaltige Leibeshöhle, in die man mit einer Pravazschen Spritze mit Leichtigkeit herein kommt. Es ist oben erwähnt, daß eine Injektion in die Leibeshöhle einer intravenösen Injektion beim höheren Tiere gleichzusetzen ist. Bei der Auswahl der Farben konnte zunächst an vital färbende Farbstoffe gedacht werden, von denen ich auch mehrere geprüft habe. Für meinen eigentlichen Zweck, die spezifische Ausscheidung durch die Niere zu untersuchen, war es aber im allgemeinen zweckmäßiger, solche Farbstoffe zu nehmen, die nicht vital färben, d. h. die nicht beliebig in die Zellen einzudringen vermögen. Worauf die Möglichkeit, vital zu färben, beruht, ist bekanntlich strittig. Ich verweise auf die Diskussion zwischen Overton,¹⁾ Ruhland,²⁾ Garmus³⁾ und Höber.⁴⁾ Jedenfalls sind vitale Farbstoffe aber solche, die in die verschiedensten Zellen eindringen und in den verschiedensten Zellen Reaktionen eingehen können. Für die Niere ist dagegen die besondere Affinität charakteristisch, solche Stoffe zu sezernieren, die an den anderen Organen vorbeigehen. Es war von vornherein zu erwarten, daß nicht vital färbende Farbstoffe ein klareres Resultat ergeben würden. Dazu kommt, daß es bei vielen vital färbenden Farben im Wesen der Sache liegt, daß sie giftig sind.

¹⁾ E. Overton, Pringsheims Jahrb. f. wiss. Botanik, Bd. 34, S. 669, 1899.

²⁾ W. Ruhland, *ibid.*, B. 46, S. 1, 1909.

³⁾ A. Garmus, Zeitschr. f. Biol., Bd. 58, S. 185, 1912.

⁴⁾ R. Höber, Biochem. Zeitschr., Bd. 20, S. 58 (1909).

da sie ja mit Zellbestandteilen Reaktionen eingehen. Geprüft habe ich die Geeignetheit der Farben, um mein kostbares Material zu schonen, an *Cymbulium* und an *Beroe*. Trypanblau, Trypanrot und Nilblausulfat waren für die Heteropoden stark giftig. Es traten Krämpfe auf, oder das Tier nahm eine eigentümliche gekrümmte Zwangshaltung ein, in der es nach einiger Zeit zugrunde ging. Man kann dann nur sehen, daß die Niere sich unvergleichlich viel stärker färbt, als der übrige Körper, die Farben also speichert. Dasselbe war mit Karmin, Kongo-rot, Neutralrot, Alizarin und Indigkarmin der Fall. In der Leibeshöhle beobachtete man eine schwache Färbung, ebenso nach einiger Zeit im Herzen. Ganz intensiv dunkel wurde immer die Niere gefärbt. Meist wurden außerdem die Kiemen stark gefärbt. Es ist denkbar, wenn auch diese Frage bisher bei den Wassertieren kaum erörtert wurde, daß die Kiemen neben der Atmung auch der Ausscheidung von wasserlöslichen Stoffen dienen. Dagegen spricht es aber, daß die Kiemen, dann wenn sie stärker gefärbt wurden, immer in einer eigentümlichen Weise schrumpften und ihre normalen leisen Bewegungen einstellten, also jedenfalls deutlich geschädigt waren.

Bei diesen Versuchen konnte man nun aber noch einiges Weitere beobachten, das zur Aufklärung der Funktion der Heteropodenniere dient. Ich sagte schon, daß die Niere mit einer kontraktilen Blase verbunden ist, und daß dies sonderbare Verhalten den früheren Beobachtern Schwierigkeiten verursacht hat. Das «schwammige» Organ ragt in die kontraktile Blase herein und wird zunächst mit Blut versorgt. Bei den Farbstoffinjektionen kann man nun sehen, wie sich zunächst dies schwammige Organ stark färbt und sehr schnell, schon 1 Minute nach der Injektion, einen erheblichen Teil des Farbstoffes abfängt. Nach einer längeren Pause färbt sich dann allmählich auch der Inhalt der Blase und nach noch längerer Zeit sieht man einen gefärbten Streifen, der von der Blase nach dem Außenwasser geht. Der Blaseninhalt und dieser Streifen sind aber immer unvergleichbar viel schwächer gefärbt als das schwammige Organ. Ich stelle mir den Zusammenhang so vor, daß durch die rhythmischen Kontraktionen der Blase, die ja mit dem Außen-

wasser in Verbindung steht, das schwammige Organ abgespült wird. Einige Male, besonders deutlich bei Injektionen von Nilblausulfat oder einer konzentrierten Lösung von Neutralrot, stand das Herz still. Die Nierenblase pulsierte dagegen weiter und förderte von dem in dem schwammigen Organ gespeicherten Farbstoff noch einen gewissen Teil nach außen ab. Die kontraktile Blase, die mit Seewasser gefüllt ist, hat darnach dieselbe Funktion, wie das Glomerulusfiltrat bei der Säugerniere. Auch dort erfolgt die Zufuhr der harnfähigen Substanzen durch die Blutgefäße an die innere Seite der sezernierenden Zellen der Harnkanälchen, die Abfuhr durch das Glomerulusfiltrat an der äußeren der Außenwelt zugekehrten Seite. Auf diese Weise wird die Kontraktilität der Niere verständlich, auch ohne daß ein gerichteter Strom vorhanden ist, und man sieht, wie durch die vergleichende Physiologie auch für die Niere der höheren Tiere festgestellt wird, welcher Mechanismus bei ihr der entscheidende ist. Für die Heteropoden braucht man wohl nicht mehr anzunehmen, daß die kontraktile Nierenblase neben ihrer sezernierenden Funktion auch noch die Aufgabe hätte, dem Organismus Seewasser von außen zuzuführen. Ich kann zwar nicht ausschließen, daß sie diese Funktion hat, aber so viel ich sehe, war die vermutete Wasseraufnahme doch nur eine Hilfsannahme, weil man nicht verstand, weshalb die Niere kontraktil wäre.

Für meine ursprüngliche Fragestellung war mit diesen Versuchen zunächst nur das Eine beantwortet, daß es in der Niere vor der Ausscheidung zu einer Speicherung kommt, was ja schon oft beobachtet war, wenn auch, so viel ich sehe, noch nie am lebenden unversehrten Tier.

Ich wollte aber weiter gehen und wissen, ob bei dieser Speicherung eine chemische Reaktion zwischen den Bestandteilen des Nierenprotoplasmas und den gespeicherten Stoffen statthat. Zur Entscheidung dieser Frage benutzte ich die Beobachtungen von M. Heidenhain über die Verbindungen zwischen Eiweißkörpern und Anilinfarben.¹⁾ Heidenhain zeigte, daß die meisten Anilinfarben mit den Eiweißkörpern als am-

¹⁾ M. Heidenhain, Pflügers Arch., Bd. 90, S. 115 (1902); Bd. 96, S. 440 (1903).

photeren Elektrolyten Salze bilden. Am sinnfälligsten ist diese Salzbildung, wenn die Farbsäure eine bestimmte Farbe hat, ihr Salz aber eine andere, oder wenn etwa umgekehrt, wie bei Nilblau, die Farbbase anders gefärbt ist als die Salze. Heidenhain hat diese Salzbildungen zur Erklärung histologischer Reaktionen benutzt, ich habe versucht, sie im lebenden Tier zu beobachten. Unter der großen Zahl der von Heidenhain geprüften Stoffe waren die meisten nun allerdings deshalb unbrauchbar, weil sie bereits in dem amphoterem Seewasser und der sich entsprechend verhaltenden Leibeshöhlenflüssigkeit Salze bilden. Von Basen erwies sich das Neutralrot als gut brauchbar, das in Seewasser, zumal wenn man noch etwas Alkali hinzufügt, rein gelb ist. Erst nach sehr langem Stehen tritt auch im Seewasser bisweilen eine Rötung ein. Ich löste Neutralrot in Seewasser, dem etwas Alkali zugesetzt wurde. Da ich nicht sehr viele Versuchstiere zur Verfügung hatte, und da ich bei dem schwankenden Vorkommen der Heteropoden vor allem nicht voraus wissen konnte, wie viele Tiere ich noch weiterhin bekommen würde, wollte ich nicht etwa mit Lösungen von verschiedener Alkaleszenz bei verschiedenen Tieren Injektionen machen. Ich ging daher so vor, daß ich Neutralrot in Seewasser löste, beziehentlich aufschwemmte, dem Seewasser eine größere Anzahl Planktonkrebsechen hinzusetzte und so viel Alkali hinzufügte, daß das Seewasser dauernd gelb blieb, die Krebschen aber in ihren Bewegungen nicht geschädigt wurden. Diese gelbe Lösung wurde Pterotrachea und Carinaria in die Leibeshöhle injiziert. Nahm ich eine stärkere Lösung, so verbreitete sich die gelbe Farbe durch das Tier hin. Die Niere wurde stark rot, aber nach einiger Zeit röteten sich, freilich auch wieder unter Schrumpfung, auch die Kiemen, und im Laufe der Zeit ging auch im übrigen Tier das Gelb allmählich in Rot über. Die starke Speicherung der Farbe in der Niere und der sofortige Umschlag in der Niere nach 1 Min., während die Rötung im übrigen Tiere erst nach 30–60 Min. auftrat, machen das Experiment beweisend. Dabei reagiert Neutralrot, wie ich mich an Hühnereiweiß und an Casein überzeugt habe, durchaus

nicht etwa leicht mit Eiweiß, sondern es müssen in den ausscheidenden Zellen besondere Stoffe vorhanden sein, die leicht mit dem Farbstoff reagieren und ihn fixieren. Nimmt man eine Aufschwemmung von Neutralrot, so kann man nach einiger Zeit, wie oben geschildert, sehen, daß sich die kontraktile Nierenblase schwach färbt und ein ganz schwach gefärbter Streifen nach außen zieht. Am beweisendsten schienen mir einige Versuche zu sein, in denen ich eine kleine Menge einer ganz verdünnten alkalischen Neutralrotlösung injizierte. Die Farbstoffmenge war so gering, daß an dem übrigen Tier überhaupt keine Färbung zu sehen war. Bereits nach $2\frac{1}{2}$ Min. war die Niere deutlich rot. Eine Ausscheidung konnte ich nicht beobachten. Diese verdünnten Injektionen schaden den Tieren nichts und ich habe sie nebenher mit ungefärbtem oder anders gefärbtem Fleisch gefüttert. In diesen Versuchen ist es sehr deutlich, daß die Niere zugleich Speicherungsorgan ist und daß die Base Neutralrot unter Salzbildung gespeichert wird.

Gegen diesen letzteren Schluß kann freilich noch der Einwand erhoben werden, daß die Rotfärbung der Niere einfach darauf beruht, daß in ihr saure Reaktion herrscht. Löb und Warburg¹⁾ haben ja Neutralrot als Indikator in lebenden Zellen benutzen können. Es kam deshalb alles darauf an, auch mit Säuren Versuche anzustellen und zu sehen, ob auch sie nicht in der Säurefarbe, sondern in der Salzfarbe gespeichert werden. Dies war schwierig, weil sich die Säuren in Seewasser, sobald sie sich überhaupt lösen, als Salze lösen. Eine ganze Reihe der von Heidenhain verwendeten Farbstoffe, Kongorot, Kongokorinth, Benzopurpurin, verschiedene Alizarine, gaben wenig deutliche Ergebnisse. Injizierte man eine Aufschwemmung, so sammelte sich diese in der Niere an und ging dabei in die Salzfarbe über. Aber dieser Übergang in die Salzfarbe erfolgte auch in der Leibeshöhle, im Herzen und in anderen Organen und die zeitlichen Unterschiede waren nicht groß genug, um sichere Schlüsse darauf zu bauen. Zu beweisen war auf diese Weise nur, daß in der Niere keine saure Reaktion herrschte. Dies war

¹⁾ O. Warburg, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 66, S. 313, 1910.

z. B. deutlich, als ich einem Tiere erst eine Aufschwemmung der Nilblaubase und eine Stunde nachher eine solche der Kongsäure injizierte. Auf die erste Injektion wurde die Niere blau, auf die zweite Injektion strichweise daneben rot, sodaß die beiden Salze nebeneinander gebildet waren. Am besten kam ich schließlich mit einem Alizarin zum Ziele, das in Substanz gelb war, sich in Wasser nicht und in Alkalien blau löste. Ich injizierte eine gelbe Aufschwemmung dieses Alizarins und die Niere wurde zunächst stark gelb. Nach einiger Zeit aber ging dieses Gelb strichweise in Blau über. Dies selbe Alizarin habe ich auch verfüttert. Der sauer reagierende Darminhalt war stark gelb gefärbt, aus ihm heraus aber färbte sich die Darmwand blau an. Als der Darm platzte, und der gelbe Inhalt in die Leibeshöhle trat, konnte man die Blaufärbung des Darmes aufs einfachste konstatieren. Hier hatte sich also beim Durchtritt durch die Darmwand eine Salzbildung zwischen der Farbsäure und einem Bestandteile der Darmwand vollzogen, während der Darminhalt sauer blieb.

Die Niere reagiert also mit auszuscheidenden Säuren und Basen, indem sie beide durch eine chemische Reaktion fixiert. Dies Ergebnis spricht jedenfalls für die eingangs erwähnte Annahme, daß die auszuscheidenden harnfähigen Stoffe durch das Protoplasma der Niere fixiert und ausgefällt werden und nicht gelöst die Zelle passieren, sondern während des Durchtritts durch die Zelle an das Protoplasma gebunden sind.

Ich glaube, daß die Beobachtungen dieser Salzbildung in der Niere auch noch auf anderen Gebieten verwertbar sind. Für den Darm, durch den ja ebenfalls wasserlösliche Stoffe hindurchwandern, spricht die Beobachtung bei der Fütterung des Alizarins dafür, daß hier entsprechende Vorgänge eine Rolle spielen, aber auch bei anderen Organen wird man künftig bei der Erklärung elektiver Stofftransporte mehr Wert auf die chemische Bindung legen müssen, als es heute gemeinhin der Fall ist. Ehrlich ist der einzige, der alle Stofftransporte und Stoffaufnahmen konsequent als chemische Bindung durch Rezeptoren ansieht. Sonst ist in der Physiologie der letzten Jahre unter dem Einflusse der bestrickenden Einfachheit der Over-

tonschen Lehren immer nur von Zelldurchlässigkeit und von Eindringungsfähigkeit die Rede, als wäre das Protoplasma eine von Membranen umgebene Flüssigkeit und alle Stoffe einfach in ihm gelöst. Mit Befriedigung fand ich bei der Rückkehr von Villefranche die unter Ashers Leitung ausgeführte Untersuchung von Garmus¹⁾ vor, deren Gedankengang sich vielfach mit dem meinigen deckt.

Zusammenfassung:

1. Die Heteropoden sind wegen ihrer Durchsichtigkeit geeignete Objekte, um an ihnen mittels Farbstoffen allgemein biologische Fragen zu studieren.

2. Die Nahrungsaufnahme der Heteropoden geschieht durch einen Tangoreflex und ist weder durch optische noch durch chemische Reize bedingt. Bei der Auswahl der Nahrung spielt ein chemisches Organ eine Rolle.

3. Die harnfähigen Substanzen werden vor der Sekretion in der Niere gespeichert, indem sie durch das Protoplasma der Niere als Salze gebunden werden.

¹⁾ A. Garmus, Zeitschr. f. Biol., Bd. 58, S. 185 (1912).