



# Arbeitsrhythmus der Verdauungsdrüsen bei *Helix pomatia*

<https://hdl.handle.net/1874/294183>

DISS UTRECHT  
1928 KRIJ

A. au. 1928,  
1928

P. J. Krijgsman

Arbeitsrhythmus der Verdauungs-  
drüsen bei *Helix pomatia*

I Die natürlichen Bedingungen.

II Sekretion, Resorption und  
Phagozytose

A. qu.

192



UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK UTRECHT



3593 0761

494.192, 1928.

# ARBEITSRHYTHMUS DER VERDAUUNGSDRÜSEN BEI HELIX POMATIA

I. TEIL: DIE NATÜRLICHEN BEDINGUNGEN

Von

**B. J. Krijgsman**

Mit 22 Textabbildungen

Sonderabdruck aus  
**Zeitschrift für vergleichende Physiologie**  
(Abt. C der Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie)

**2. Band 3. Heft**

Ausgegeben am 21. Januar 1925



Verlagsbuchhandlung Julius Springer in Berlin

1925

BIBLIOTHEEK DER  
RIJKSUNIVERSITEIT

6. OCT. 1928

UTRECHT.

# Die Zeitschrift für vergleichende Physiologie

steht offen Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der allgemeinen Physiologie und der speziellen Tierphysiologie, soweit die Ergebnisse als Bausteine zu einer vergleichenden Physiologie gewertet werden können.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschster Veröffentlichung in zwanglosen einzeln berechneten Heften; mit 40 bis 50 Bogen wird ein Band abgeschlossen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihren Arbeiten, wenn sie nicht mehr als 24 Druckseiten Umfang haben, **100** Sonderabdrücke, von größeren Arbeiten **60** Sonderabdrücke unentgeltlich. Doch bittet die Verlagsbuchhandlung, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freiemplarzahls hinaus bestellte Exemplare werden berechnet. Die Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse ersucht, die Kosten vorher vom Verlage zu erfragen, um spätere unliebsame Überraschungen zu vermeiden.

Es ist dringend erwünscht, daß alle Manuskripte in deutlich lesbarer Schrift, am besten Schreibmaschinenschrift (mit mindestens 3 cm breitem freien Rand) eingeliefert werden. Die Manuskripte müssen wirklich druckfertig eingeliefert werden; bei der Korrektur sollen im allgemeinen nur Druckfehler verbessert und höchstens einzelne Worte verändert werden.

Die Herren Autoren werden ferner gebeten, den Text ihrer Arbeiten so kurz zu fassen wie es irgend möglich ist, sich in den Abbildungen auf das wirklich Notwendige zu beschränken und nach Möglichkeit Federzeichnungen (für Strichätzung) zu verwenden.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

*Professor Dr. K. v. Frisch, Breslau IX, Zoologisches Institut der Universität, Sternstraße 21*

oder an

*Professor Dr. A. Kühn, Göttingen, Zoologisches Institut der Universität, Bahnhofstraße 28.*

Die Herausgeber

**v. Frisch      Kühn**

**Verlagsbuchhandlung Julius Springer in Berlin W 9, Linkstr. 23/24**

*Fernsprecher: Amt Kurfürst. 6050—6053. Drahtanschrift: Springerbuch - Berlin Reichsbank-Giro-Konto u. Deutsche Bank, Berlin, Dep.-Kasse C.*

Postscheck- | für Bezug von Zeitschriften und einzelnen Heften: Berlin Nr. 20120 Julius  
Konten:     | Springer, Bezugsabteilung für Zeitschriften;  
               | für Anzeigen, Beilagen und Bücherbezug: Berlin Nr. 118985 Julius Springer.

2. Band.

## Inhaltsverzeichnis.

3. Heft.

	Seite
<b>Peczenik, Oskar</b> , Über intracelluläre Eiweißverdauung in der Mitteldarmdrüse von <i>Limnea</i> . Mit 1 Textabbildung und Tafel I . . . . .	215
<b>Hertler, Konrad</b> , Temperaturoptimum und relative Luftfeuchtigkeit bei <i>Formica rufa</i> L. Mit 1 Textabbildung . . . . .	226
<b>Kunike, Georg</b> , Nachweis und Verbreitung organischer Skeletsubstanzen bei Tieren . . . . .	233
<b>Krüger, F. v.</b> , Vergleichende Untersuchungen über die Resistenz des Hämoglobins verschiedener Tiere . . . . .	254
<b>Krijgsman, B. J.</b> , Arbeitsrhythmus der Verdauungsdrüsen bei <i>Helix pomatia</i> . I. Teil: Die natürlichen Bedingungen. Mit 22 Textabbildungen . . .	264



# ARBEITSRHYTHMUS DER VERDAUUNGSDRÜSEN BEI HELIX POMATIA.

## I. TEIL: DIE NATÜRLICHEN BEDINGUNGEN.

Von

B. J. KRIJGSMAN.

(Aus dem Zoologischen Institut zu Utrecht.)

Mit 22 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. November 1924.)

Inhaltsübersicht.		Seite
I.	Einleitung . . . . .	265
II.	Secretion der Mitteldarmdrüse. . . . .	266
	A. Angaben früherer Forscher . . . . .	266
	B. Material und Technik . . . . .	268
	C. Histologie der Secretion . . . . .	269
	a) Allgemeines . . . . .	269
	b) Histologische Periodizität . . . . .	270
	D. Chemie der Secretion . . . . .	275
	a) Allgemeines . . . . .	275
	b) Chemische Periodizität. . . . .	275
III.	Secretion der Vorderdarmdrüse . . . . .	277
	A. Angaben früherer Forscher . . . . .	277
	B. Material und Technik . . . . .	281
	C. Histologie der Secretion . . . . .	281
	a) Allgemeines . . . . .	281
	b) Histologische Periodizität . . . . .	285
	c) Fütterungsbahn, die Entstehung des Rhythmus . . . . .	289
	d) Der Abfall des Rhythmus . . . . .	292
IV.	Zusammenfassung . . . . .	293

G. C. HIRSCH hat 1914 gefunden, daß bei fleischfressenden Gastropoden eine rhythmische Secretion der Mitteldarmdrüse besteht. Im Anschluß an diese Untersuchungen machte Herr Prof. JORDAN mir den Vorschlag, diese Frage am Typus der pflanzenfressenden Gastropoden zu prüfen.

Infolgedessen habe ich histologisch den normalen Secretionsablauf in der Vorderdarmdrüse (Speicheldrüse) von *Helix* untersucht; histologisch und chemisch die normalen Secretionserscheinungen in der Mitteldarmdrüse. Später werde ich hoffentlich in einem zweiten Teil über die Reize, welche den Secretionsrhythmus bewirken, und die Bedeutung der „Speichelkugeln“ berichten können.

Es sei mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. H. JORDAN für das Interesse und Wohlwollen, das er meiner Arbeit

entgegenbrachte, herzlichen Dank auszusprechen. Herrn Dr. G. C. HIRSCH bin ich ganz besonders zu Dank verpflichtet, weil ich ihm nebst vielen kritischen Bemerkungen vielseitige Anregung und Unterstützung verdanke. Zum Schluß danke ich Herrn PRIJS für die von ihm hergestellten Zeichnungen.

### I. Einleitung.

*Wie müssen wir uns eine rhythmische Secretion denken?*

#### a) *Der Rhythmus der Zelle.*

Nach HIRSCH kann man die Arbeit der Drüsenzelle in verschiedene Phasen zerlegen (HIRSCH 21):

- a) Die Aufnahme der Rohstoffe aus dem Blut.
- b) Die Bildung eines Vorstoffes aus den Rohstoffen.
- c) Die Umbildung der Vorstoffe zum Secret.
- d) Die Ausscheidung der Secrete<sup>1)</sup>.

Diese Phasen bilden zusammen einen Arbeitscyclus, der von jeder Drüsenzelle während der Secretion durchlaufen wird.

Die Arbeit der Zelle ist also an sich rhythmisch. Eine Zelle befindet sich erst in der Phase a, diese wird zu b, später zu c, diese zu d und d wieder zu a; usw.; die Phase d z. B. wiederholt sich also regelmäßig.

Andererseits können wir uns einen Zustand denken, bei dem kein Cyclus nachzuweisen ist, sondern alle Phasen der Secretion gleichzeitig in den verschiedenen Teilen einer einzigen Zelle vertreten sind. Während die Zelle basal Rohstoffe aufnimmt, werden diese oben weiter verarbeitet und die Zelle scheidet apical fertige Secrete aus. In diesem Falle zeigt die Zelle in jedem Zeitpunkt der Secretion das gleiche Bild.

#### b) *Der Rhythmus der Drüse.*

Das Gesamtbild der arbeitenden Drüse kann bei einer rhythmischen Zellarbeit verschieden sein:

I. Jede Zelle arbeitet unabhängig von den anderen Zellen. Die Zellen arbeiten also ungeordnet und sind deshalb nicht alle gleichzeitig in derselben Phase. An einem gewissen Zeitpunkte wird die eine Zelle ihre Secrete ausscheiden, die andere ihre Secrete erst bilden. In diesem Falle fließen die Secrete dauernd gleichmäßig ab, weil zu jeder Zeit eine Anzahl Zellen da ist, welche die Secrete ausstoßen. Die Secretion ist also *kontinuierlich (chaotisch)*. Histologisch wird die Drüse ein buntes Bild geben; alle Phasen sind im Schnitte vertreten.

II. Jede Zelle arbeitet scheinbar abhängig von den anderen Zellen. Alle Zellen sind gleichzeitig in derselben Phase, geben also gleichzeitig

<sup>1)</sup> Oft nach vorhergehender Lösung.

ihre Secrete ab. In diesem Falle ist die Secretion *rhythmisch (periodisch)*; die Secrete werden wellenartig ausgeschieden. Die Secretzellen jede für sich verhalten sich genau wie bei der kontinuierlichen Secretion, nur sind sie alle gleichzeitig am selben Punkt ihres Arbeitscyclus. Das histologische Bild wird einförmig sein: Alle Drüsenzellen befinden sich im selben Zustand.

Diese rhythmische Secretion kann geboren werden aus verschiedenen Hungerzuständen:

1. Während des Hungers liegt ein rhythmischer Zustand vor:

a) Die Drüse secerniert rhythmisch.

b) Die ruhende Drüse befindet sich mit allen ihren Zellen in derselben Phase. Beim Fütterungsbeginn fangen diese also an zu arbeiten oder schneller zu arbeiten; der Erfolg wird rhythmisch sein.

2. Während des Hungers liegt ein chaotischer Zustand vor:

a) Die Drüse secerniert chaotisch.

b) Die ruhende Drüse befindet sich mit ihren Zellen in verschiedenen Phasen. Beim Fütterungsanfang wird dann diese chaotische Secretion in eine rhythmische umgestaltet.

So kommen wir zur Definition des Rhythmus: *Eine Drüse secerniert rhythmisch, wenn sie als Einheit betrachtet den Zellarbeitscyclus zeigt.*

## II. Die Secretion der Mitteldarmdrüse.

### A. Angaben früherer Forscher.

Der erste Untersucher, der sich eingehend mit der Histologie und Secretion der Mitteldarmdrüse beschäftigt hat, war D. BARFURTH (1, 2, 3, 4). Er beschreibt die Mitteldarmdrüse folgendermaßen: „Zusammengesetzte acinöse Drüsen, deren Hauptstämme sich vielfach verästeln und deren Drüsenelemente wieder außerordentlich mannigfach verzweigte Follikel bilden.“ In den Follikeln beobachtet er drei Arten von Zellen: „Fermentzellen, mit gelben bis tiefbraunen Kugeln; diese liegen immer in einem Bläschen, welches seinerseits dann direkt vom Protoplasma der Zelle umschlossen wird. Die Zahl der Kugeln ist schwankend, meist zwar findet man nur eine in einem Bläschen, oft aber auch zwei oder mehr.“ Diese Granula entstehen nach ihm folgenderweise: „Es entsteht im Protoplasma zuerst eine nur mit heller Flüssigkeit erfüllte Höhlung, die sich allmählich vergrößert, während sich gleichzeitig in der Flüssigkeit die Fermentkugel durch Niederschlag bildet. Die reifen Bläschen rücken dann nach dem oberen Ende der Zelle zu, werden dadurch frei, daß sie das Protoplasma zur Seite drängen und bilden dann im Lumen der Follikel und in den Ausführungsgängen der Leber einen Teil des Secrets.“ Diese Zellen sollten Fermentzellen sein, weil die Granula sich lösen in destilliertem Wasser, verdünnten Säuren und Basen, und weil sie durch Osmiumsäure geschwärzt werden. „Die Leberzellen zeigen

einen körnigen, krümeligen Inhalt, dessen gelbliche Farbe durch Osmiumsäure nicht verändert wurde. Die Kalkzellen fallen sogleich durch die glänzenden Kügelchen im Protoplasma auf, deren weiße Farbe ebenfalls durch die Osmiumsäure gar nicht alteriert wurde.“

In zwei anderen Artikeln (3, 4) untersucht er den Glykogengehalt und dessen Änderung bei verschiedenen Fütterungszuständen.

BIEDERMANN und MORITZ (6, 7, 8) bestätigen diese drei Zellarten. Die Leberzellen sollten nach ihnen resorbierende Elemente darstellen<sup>1)</sup>, während die Kalkzellen zum Kalkaufspeichern dienen. Nach ihnen werden die Granula der Fermentzellen immer intracellulär gelöst, weil sie niemals im Magen oder im Kot erscheinen (als ob die Fermentgranula sich nicht lösen könnten, bevor sie im Magen ankommen!). Sie nehmen an, daß auch während des Hungers eine Secretion stattfindet. An Enzymen finden sie im Kropfsafte: Amylase, Invertase, Cellulase<sup>2)</sup> und Lipase. In Extrakten der Mitteldarmdrüse fanden sie keine Cellulase; Protease weder im Kropfsaft noch im Extrakt<sup>3)</sup>.

Von anderen Untersuchern wurden im Kropfsaft noch eine Reihe kohlehydratspaltende Enzyme aufgefunden: Maltase, Lactase, Raffinase, Xylanase, usw. (8, 9, 10, 14, 22, 33, 34, 35).

G. C. HIRSCH (19) führte dann eine genauere Methodik zum Studium der Secretionsverhältnisse ein. Er untersuchte die Mitteldarmdrüse fleischfressender Gastropoden in bestimmten Zeiten nach der Fütterung (Stufenuntersuchungen) und entdeckte eine periodische Ausscheidung der Secrete in festem Zustande, deren Lösung außerhalb der Zelle und dementsprechend eine periodische Steigerung der Fermentkraft im Kropfsafte. „Die Fermentkräfte, die in der Ruhe des Hungers in den Drüsen aufgespeichert werden, reichen nicht aus, um allein eine tüchtige Menge Nahrung zu verdauen; arbeiteten die Drüsen so gleichmäßig, wie das Wasser aus einer Wasserleitung läuft, so müßte die Kurve der Fermentkraft gleichmäßig einmal aufsteigen und einmal absinken. *Vielmehr arbeiten die Drüsen wie intermittierende Quellen*; die Reserven werden herausgeworfen, arbeiten draußen und verbrauchen sich. Inzwischen werden neue Fermente in den Zellfabriken hergestellt, die, aufs neue herausgeworfen, die Fermentkraft draußen steigern, usw.; somit arbeiten die Secretionsdrüsen während der Verdauung ständig an einer Neubildung der Fermente, die dann jedesmal mit einem Ruck entleert werden.“

<sup>1)</sup> JORDAN (24) hat neuerdings die Phagocytose der Mitteldarmdrüse bewiesen.

<sup>2)</sup> Allerdings nur Parenchymcellulose, Endosperm und dergleichen angreifend.

<sup>3)</sup> Sie spielt wahrscheinlich nur eine Rolle bei der intracellulären Verdauung nach Phagocytose.

*Zusammenfassend* wissen wir also:

Die Mitteldarmdrüse ist eine acinöse Drüse, die drei typische Zellarten enthält:

*Fermentzellen*, charakterisiert durch eine schwankende Anzahl Granula (die wahrscheinlich die Fermente enthalten);

*Resorptionszellen* (Phagocyten), keulenförmig in das Follikellumen hineinragend, und

*Kalkzellen*, oft gefüllt mit Tricalciumphosphatkörnchen.

Die Fermentzellen scheiden ihre Produkte ins Lumen der Drüsenfollikel aus, nach BIEDERMANN und MORITZ nur nach vorhergehender intracellulärer Lösung; BARFURTH und HIRSCH zufolge auch in festem Zustande mit nachheriger extracellulärer Lösung.

Während des Hungers wird auch secerniert. Der secernierte Stoff enthält, im Magen angelangt, folgende aktive Enzyme: Maltase, Invertase, Amylase, Lactase, Raffinase, Xylanase, Cellulase und Lipase.

Die Secretion der Fermente läuft bei carnivoren Gastropoden intermittierend, rhythmisch ab. Die Kalkzellen haben Bedeutung als Kalkaufspeicherungsorgane, der Kalk wird aufgebraucht beim Schalenbau, nach Verletzungen u. dgl. (HIRSCH 20). Außerdem ist die Mitteldarmdrüse das wichtigste Glykogenreservoir der Weinbergschnecke.

#### B. Material und Technik.

Das von mir verwendete Material war immer *Helix pomatia*. Die Tiere hungerten 3 Wochen. Am Ende dieser Hungerzeit zerschlug ich die Schale, schnitt das Tier dorsomedian auf, durchschnitt Mantelrand und Rückenhaut weiter nach hinten, befestigte die seitlich umgelegte Haut mit Stecknadeln und holte vermittlems Anstechen mit der Pipette eine Menge Saft aus dem aufgedeckten Kropf heraus. Die herausgelöste Mitteldarmdrüse wurde fixiert in Bouinschem Fixiergemisch<sup>1)</sup>.

Sodann fütterte ich Hungertiere  $\frac{1}{2}$  Stunde, 1 Stunde,  $1\frac{1}{2}$  Stunden lang usw.; jedes folgende Tier  $\frac{1}{2}$  Stunde länger als das vorhergehende, bis zu 6 Stunden nach Fütterungsanfang und konservierte die Mitteldarmdrüsen<sup>2)</sup>. Diese Stufenreihe wiederholte ich noch zweimal; im ganzen erhielt ich also zur histologischen Untersuchung der Secretionsverhältnisse drei Parallelserien, in jeder Serie 13 Drüsen<sup>3)</sup>. Als Nahrung gab ich, nachdem ich die Tiere zum Rundkriechen gezwungen hatte, für Serie I Kopfsalat, für Serie II und III angefeuchtete Kartoffelscheiben. Von den fixierten und in Paraffin eingebetteten Drüsen

1) BOUIN: 75 Teile gesättigte Pikrinsäure, 20 Teile konzentriertes Formol und 5 Teile Eisessig.

2) Ein Sechsstudentier hatte also während 6 Stunden ununterbrochen gefressen und wurde dann sofort getötet.

3) Dies ist also die Methode HIRSCH, bis auf  $\frac{1}{2}$ -Stundenstufen erweitert.

wurden 5  $\mu$ -Schnitte angefertigt und diese gefärbt mit Delafieldschem-Alaunhämatoxylin und Eosin.

Zum Studium des Glykogengehaltes färbte ich nach Carnoykonservierung<sup>1)</sup> mit BESTs Carminfärbung (5).

Bei der Fermentkraftbestimmung wollte ich die Fermentkraft des reinen Mitteldarmdrüsensecrets bestimmen, mußte also die gleichfalls im Vorderdarmdrüsensecrete vertretenen Enzyme ausschalten. Zu diesem Zwecke prüfte ich den Kropfsaft auf Cellulase, die nach GORKA (15) und PACAUT und VIGIER (31) nicht im Vorderdarmdrüsensecret vorkommt. Kleine Kartoffelscheiben bestimmter Oberfläche und Dicke, aufbewahrt in Glycerin, wurden mittels Filtrierpapier flüchtig getrocknet und auf einen Objektträger in einen Tropfen konzentrierten Kropfsaftes gelegt. Die Objektträger kamen in die feuchte Kammer bei Zimmertemperatur (15—17° C). Nun stellte ich den Augenblick fest, in dem die Zellmembranen sich lösten, welcher bestimmt werden konnte, weil die Stärkekörner (die sich nicht so schnell lösten) sich alsdann in der Flüssigkeit verbreiteten. Trotz dieser groben Methode konnte ich ziemlich genau die zur Celluloselösung benutzte Zeit bestimmen.

Zur Herstellung von Extrakten rieb ich 1 g frische Mitteldarmdrüse mit sterilem Glaspulver und 10 ccm physiologischem NaCl. Die filtrierte Flüssigkeit kam mit Zwiebelhäutchen (gefärbt mit Alauncarmin und aufbewahrt in Glycerin) unter Toluolzusatz in Reagenzgläser; diese wurden mit einem Wattepfropf verschlossen.

### C. Histologie der Secretion.

#### a) Allgemeines.

Neben Ausführgängen, Blutgefäßen usw., mit denen ich mich hier nicht beschäftigen werde, zeigt der Drüsenschnitt eine große Menge quer, schief und längs getroffener Follikel, gebildet von bindegewebigen Hüllen, an denen radiär die Drüsenzellen ansitzen: basal im Bindegewebe verankert, das Vorderende nach dem Follikellumen hin gerichtet (Abb. 2). Die Kalkzellen liegen immer basal<sup>2)</sup>, die Resorptionszellen sind meistens typisch keulenförmig, die Fermentzellen oft prall geladen mit Secretgranula. Diese Granula liegen immer innerhalb einer Vacuole; in Form und Größe sind sie aber ziemlich verschieden. Ich habe sie gesehen wie Abb. 1 zeigt.

1a zeigt im Oberende der Fermentzelle eine Vacuole mit nur einer großen Secretkugel, hier hellgelb und durchlöchert. So durchlöchert fand ich sie auch oft nach der Ausscheidung im Follikellumen; dies könnte

<sup>1)</sup> CARNOY: 6 Teile absol. Alkohol, 3 Teile Chloroform und 1 Teil Eisessig.

<sup>2)</sup> Der Bouinfizierung zufolge hatten sich die Kalkkugeln gelöst.

vielleicht einen Lösungsvorgang darstellen<sup>1)</sup>. In den Zellen habe ich sie auch oft braun und homogen angetroffen.

In 1b sehen wir eine Anzahl kleiner Secretkugeln zu einem morulaähnlichen Klumpen zusammengeballt; die Farbe ist tiefgelb bis bräunlich.

In 1c sind große und kleine Granula in einer Vacuole vereinigt.

Bezüglich des Glykogengehaltes der Mitteldarmdrüse habe ich an 5  $\mu$ - und 10  $\mu$ -Schnitten nur beobachtet, daß die Drüse, besonders in den Bindegewebszellen, sehr große Quantitäten Glykogen enthält, während die Fermentzellen bedeutend weniger enthalten. Eingehende Untersuchungen über den Glykogengehalt in bezug auf die Secretion habe ich nicht angestellt.

### b) Histologische Periodizität.

Wenn wir eingehend die Schnitte der Drüse untersuchen, so stellt sich heraus, daß nicht alle Follikel sich im selben Zustande befinden. Oft zeigen die Fermentzellen eine deutliche Kontur, sind also scharf gegen das Follikellumen abgegrenzt, während wir im Lumen selbst nur

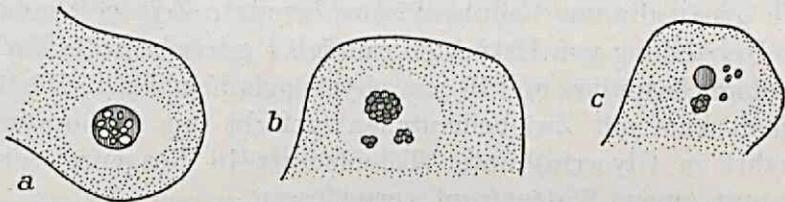


Abb. 1. Oberende einer Fermentzelle der Mitteldarmdrüse mit verschieden gebauten Granula halbschematisch). a) Eine große, hellgelbe, durchlöcherichte Kugel in einer Vacuole. b) Kleine, gelbe bis braune Granula, zu morulaähnlichen Häufchen zusammengeballt in einer Vacuole. c) Eine große und mehrere kleine Kugeln in einer Vacuole.

zuweilen vereinzelte granulaenthaltende, ebenfalls scharf konturierte Zellstücke sehen können. Diese entsprechen den Oberenden nicht in der Schnittfläche liegender Zellen.

Manchmal aber zeigen die Follikel Fermentzellen, deren Grenzen nach dem Lumen zu nicht klar hervortreten, das Zelloberende erscheint zerfetzt; große und kleine Granula treten aus den Fermentzellen heraus.

Dies ist dargestellt in der Abb. 2. Links sieht man Fermentzellen (secern. Fermz.), deren Oberenden deutlich zerfetzt sind; die Granula sind eben im Begriff, aus dem Zellverbande herauszutreten. Die Zellen rechts sind in Ruhe, scharf gegen das Lumen abgegrenzt. Im Lumen liegen aus den Zellen herausgeworfene Granula mit Plasmaresten, manche in Auflösung begriffen (Secretkug.). Die Fermentzellen scheiden also die Secretkugeln in festem Zustand aus, die Auflösung findet erst außerhalb der Zelle statt.

Bei Beobachtung der Drüsen der verschiedenen Ernährungsstufen

<sup>1)</sup> HIRSCH beschrieb derartige Lösungszustände.

trat nun hervor, daß die Zahl der secernierenden Follikel und die Granulamenge schwankt, während zuweilen basal in den Fermentzellen kleine, sich meist mit Hämatoxylin tiefblau färbende Körnchen auftreten. Serie I ergab folgendes<sup>1)</sup>:

Hunger: Granula zahlreich, ziemlich viel secernierende Follikel, keine blauen Körnchen.

$\frac{1}{2}$ —1 Stunde: Granula sehr zahlreich, wenig secernierende Follikel, keine blauen Körnchen.

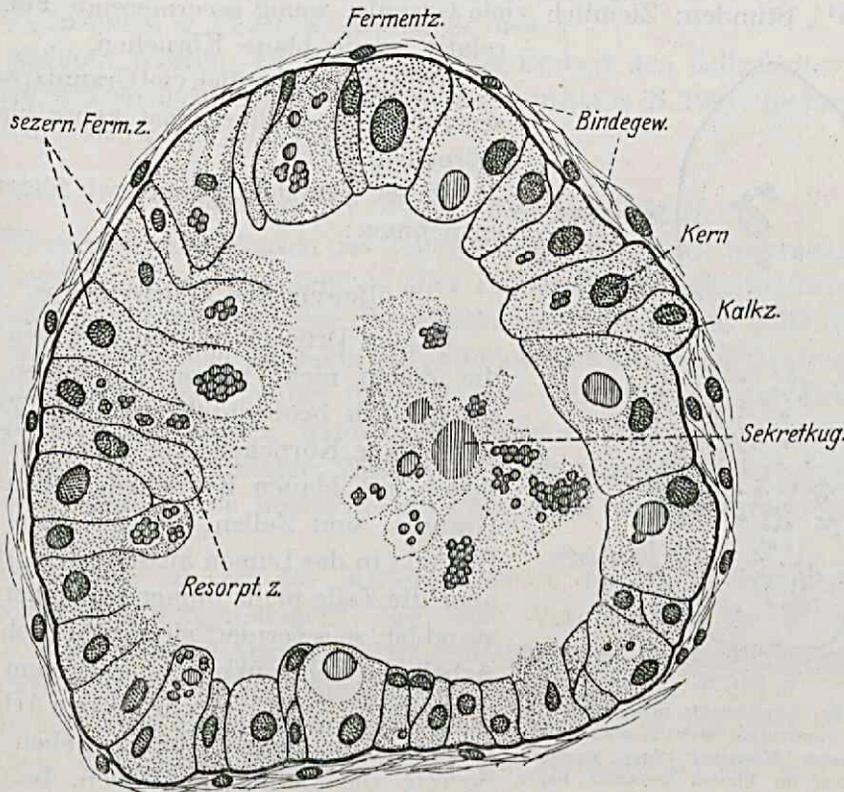


Abb. 2. Follikel der Mitteldarmdrüse. Deutlich kann man links eine Anzahl secernierender Fermentzellen beobachten. Manche Sekretkugeln nebst Plasmaresten befinden sich schon im Lumen. Rechts sieht man scharf konturierte Fermentzellen, die sich also nicht an der Ausscheidung beteiligen. Mittelstarke Vergrößerung (Leitz Obj. 6, Ok. 5).

$1\frac{1}{2}$  Stunden: Granula sehr zahlreich, secernierende Follikel sehr zahlreich, im Drüsenlumen viele Granula und Plasmareste. Keine blauen Körnchen.

2— $2\frac{1}{2}$  Stunden: Wenig Granula, wenig secernierende Follikel, Follikellumen groß, scharf konturiert; basal in den Fermentzellen vereinzelte blaue Körnchen.

3 Stunden: Relativ wenig Granula, sehr secernierende Follikel, Fermentzellen wachsen, enthalten viele blaue Körnchen.

<sup>1)</sup> Serien II und III ergaben die gleichen Resultate.

3 $\frac{1}{2}$  Stunden: Ziemlich viel Granula, wenig secernierende Follikel, Fermentzellen groß, mit großen Vacuolen. Fast keine blauen Körnchen.

4 Stunden: Viele Granula, secernierende Follikel zahlreich, keine blauen Körnchen. Bild wie 1 $\frac{1}{2}$  Stunden.

4 $\frac{1}{2}$  Stunden: Relativ wenig Granula, vereinzelte noch im Follikel-lumen, wenig secernierende Follikel. Auftreten blauer Körnchen.

5 Stunden: Wenig Granula, wenig secernierende Follikel, sehr viele blaue Körnchen.

5 $\frac{1}{2}$  Stunden: Ziemlich viele Granula, wenig secernierende Follikel, relativ wenig blaue Körnchen.

6 Stunden: Ziemlich viel Granula, wenig secernierende Follikel, fast keine blauen Körnchen.

Dieser Übersicht können wir folgendes entnehmen:

### 1. Beweis des Zellrhythmus.

In den Drüsenschnitten befinden sich die Zellen nicht immer im selben Zustand. Ich beobachtete nämlich Zellen ohne blaue Körnchen und ohne Granula, Zellen mit blauen Körnchen, Zellen mit Granula, und Zellen, welche eben ihre Granula in das Lumen ausscheiden. Wenn aber die Zelle nicht immer im selben Zustand ist, so secerniert sie rhythmisch; die Arbeit der Zelle entspricht in diesem Fall dem von mir (S.265) beschriebenen Arbeits-cyclus: Die Zellen, welche eben ihre Secrete ins Lumen ausstoßen, befinden sich natürlich in der Ausscheidungsphase (Phase d). Die mit Granula gefüllten Zel-

len sind in der Phase der Secretbildung (Phase c); die leeren, sich offenbar regenerierenden Zellen in der Phase der Rohstoffaufnahme (Phase a). Die blauen Körnchen treten eine Zeit nach der Secretion auf (2 $\frac{1}{2}$  Stunden und 4 $\frac{1}{2}$  Stunden), steigen (3 Stunden und 5 Stunden) und sinken wieder ab (3 $\frac{1}{2}$  Stunden und 6 Stunden), während die Granulamenge zunimmt. Wir können an der Hand dieser Tatsachen annehmen, daß diese blauen Körnchen Vorstufen des Secretes darstellen. Zellen, welche diese Gebilde enthalten, befinden sich also wahrscheinlich in der Phase der Vorstufenbildung (Phase b) (Abb. 3). Die rhythmische, nicht kontinuierliche Arbeit der Zelle scheint mir in dieser Weise genügend nachgewiesen.

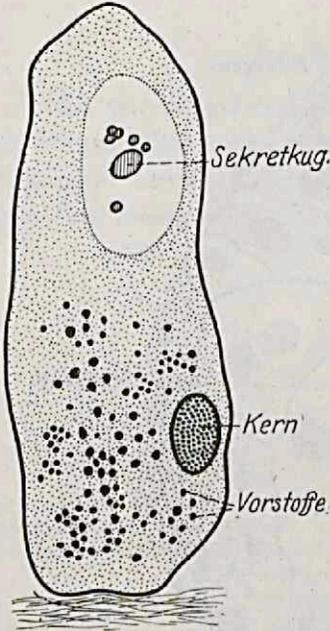


Abb. 3. Fermentzelle, in der basal Vorstoffe auftreten, welche als tiefblaue (Hämatox.)-Körnchen ohne besondere Struktur im Plasma zerstreut liegen (also nicht in Vacuolen). Vergr. 1260 $\times$  (Leitz Immers.  $\frac{1}{12}$  Ok. 5.)

## 2. Erster Beweis des Drüsenrhythmus.

Vergleichen wir jetzt den theoretischen Zellarbeitscyclus mit der Übersicht der Drüsentätigkeit, so stellt sich heraus:

1 $\frac{1}{2}$  Stunden = Phase d, Ausscheidung der Secrete,

2—2 $\frac{1}{2}$  Stunden = Phase a, Aufnahme der Rohstoffe aus dem Blut,

3 Stunden = Phase b, Bildung eines Vorstoffes aus den Rohstoffen,

3 $\frac{1}{2}$  Stunden = Phase c, Umbildung der Vorstoffe zum Secret,

4 Stunden = Phase d, Ausscheidung der Secrete,

4 $\frac{1}{2}$  Stunden = Phase a, Aufnahme usw.;

mit anderen Worten: Die Drüse gibt als Einheit den Zellarbeitscyclus wieder, entspricht also der Definition des Rhythmus (S. 266); die Periodizität der Drüse hat sich erwiesen.

## 3. Zweiter Beweis des Drüsenrhythmus.

Wenn nicht alle Phasen des Zellcyclus mikroskopisch wahrnehmbar sind und die genaue Bestimmung aller Phasen Schwierigkeiten bereitet, so kann man natürlich diese Beweisführung nicht geben. Für diesen Fall will ich eine neue Methode einführen, welche die vorige an Genauigkeit übertrifft. Es genügt nämlich, eine einzige Phase der Drüsentätigkeit zu bestimmen; wenn diese Phase Rhythmus zeigt, so wird ein solcher in den anderen Phasen, obgleich nicht bestimmbar, auch auftreten. Die gut zu beobachtende Phase muß dann aber sehr genau festgelegt werden.

Dies habe ich an der Mitteldarmdrüse für die Secretionsphase folgenderweise vorgenommen: Bei einer Vergrößerung Leitz Obj. 3, Ok. 5 zählte ich die Anzahl der im Sehfelde liegenden Follikel und bestimmte von diesen die Anzahl der secernierenden Follikel. Dies wiederholt ich einige Male an anderen Stellen des Präparates, berechnete die Durchschnittsquantität und rechnete um zu Prozenten.

Tabelle I.

Stunden nach Fütterungsanfang	% Zahl der secernierenden Follikel		
	Serie I	Serie II	Serie III
Hunger	40	9 $\frac{1}{2}$	15 $\frac{1}{2}$
$\frac{1}{2}$	15 $\frac{1}{2}$	17	8
1	26 $\frac{1}{2}$	<b>78</b>	<b>31<math>\frac{1}{2}</math></b>
1 $\frac{1}{2}$	<b>87</b>	21 $\frac{1}{2}$	22
2	23 $\frac{1}{2}$	8 $\frac{1}{2}$	6 $\frac{1}{2}$
2 $\frac{1}{2}$	11	7 $\frac{1}{2}$	4 $\frac{1}{2}$
3	11	12 $\frac{1}{2}$	7 $\frac{1}{2}$
3 $\frac{1}{2}$	15 $\frac{1}{2}$	13	8
4	<b>89</b>	8 $\frac{1}{2}$	11
4 $\frac{1}{2}$	17	<b>87</b>	13 $\frac{1}{2}$
5	6 $\frac{1}{2}$	9 $\frac{1}{2}$	<b>45<math>\frac{1}{2}</math></b>
5 $\frac{1}{2}$	22	7	8
6	23 $\frac{1}{2}$	5	6

Tab. I gibt die erhaltenen Resultate; vertikal untereinander die Anzahl Prozente secernierender Follikel in den verschiedenen Fütterungsstufen.

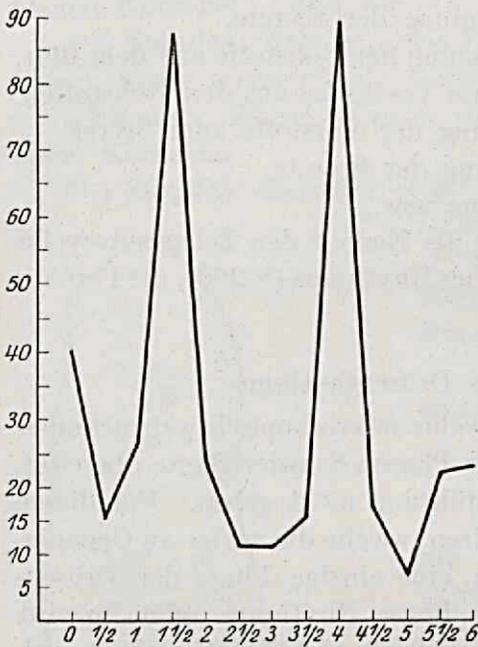


Abb. 4.

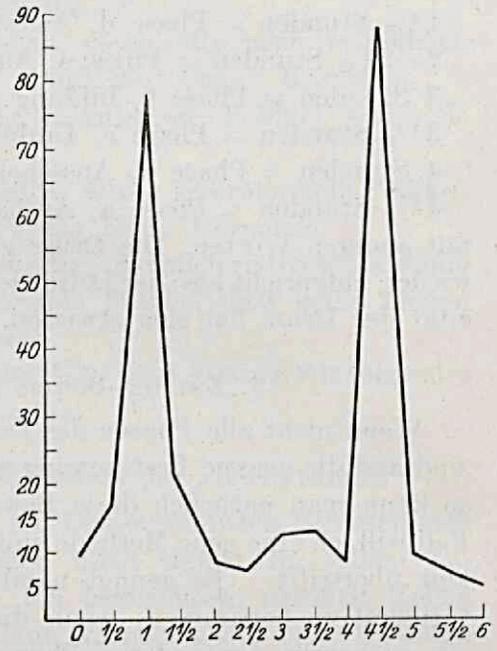


Abb. 5.

Abb. 4. Histologische Kurve der Serie I. Auf der Abszisse ist die Anzahl der secernierenden Follikel in Prozenten aller Follikel des Gesichtsfeldes, auf der Ordinate die Stunden nach Fütterungsanfang abgetragen (0 = Hungertier). Deutlich treten die zwei Maxima bei 1 1/2 Stunden und 4 Stunden nach Fütterungsanfang hervor.

Abb. 5. Histologische Kurve der Serie II. Maxima bei 1 Stunde und 4 1/2 Stunden, im übrigen wie Abb. 4.

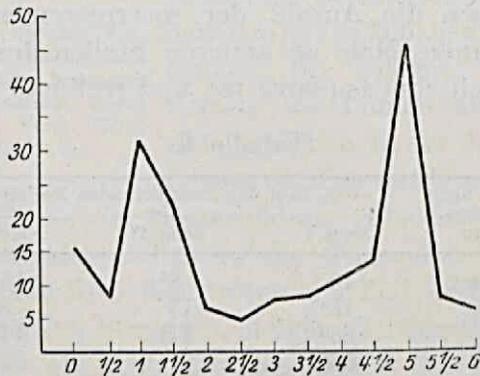


Abb. 6. Histologische Kurve der Serie III. Maxima bei 1 Stunde und 5 Stunden, im übrigen wie Abb. 4 und 5.

Diese Zahlen der einzelnen Stufen habe ich auf Kurven (Abb. 4, 5 und 6) übertragen, um sie anschaulicher darzustellen. Auf der Ordinate sind die Stunden nach Fütterungsanfang (0 = Hungertier) abgetragen, auf der Abszisse die Prozentzahl der secernierenden Follikel.

Abb. 4 (Kurve der Serie I) gibt ziemlich viele secernierende Follikel (40%) beim Hungertier, es scheint mir also nicht unmöglich, daß auch während des Hungers eine rhythmische Secretion stattfindet. Die Secretion steigert sich allmählich bis 1½ Stunden nach Fütterungsanfang (87%), sinkt dann herab, steigt aufs neue an bis 89% (4 Stunden) und fällt wieder ab. Innerhalb 6 Stunden treten also zwei Secretschübe auf, 1½ Stunden und 4 Stunden nach Fütterungsanfang.

In der Abb. 5 sehen wir die Kurve der Serie II mit Maxima bei 1 Stunde und 4½ Stunden, während Serie III (Abb. 6) bei 1 Stunde und 5 Stunden gipfelt.

*Histologisch habe ich also eine rhythmische Secretion nachweisen können*; zur Kontrolle wenden wir uns jetzt an die Prüfung der Fermentkraft im Kropfsaft.

#### D. Chemie der Secretion.

##### a) Allgemeines.

Zuerst prüfte ich Kropfsaft und Mitteldarmdrüsenextrakt auf celluloselösende Fermente (Technik siehe S. 269). Die filtrierte Extrakte und der verdünnte Kropfsaft wurden vermittels Zwiebelhäutchen auf Cellulase geprüft. Nun stellte sich heraus, daß die Cellulose der Zwiebelhäutchen nur sehr schwer angegriffen wurde; jedenfalls fand ich im Kropfsaft erst nach 3 Tagen eine schwache Zerstörung der Häutchen. In Extrakten aber trat niemals Zerstörung auf.

Kartoffelcellulose aber wurde bedeutend schneller verdaut, doch auch *nur* vom Kropfsaft. Ich kann also die Angaben von BIEDERMANN und MORITZ (nach ihnen sollte der Mitteldarmdrüsenextrakt keine aktive Cellulase enthalten) völlig bestätigen.

##### b) Chemische Periodizität.

Sind nun die Granulazellen wirklich Fermentzellen und die Secretkugeln wirklich Fermentgranula, so wird nach jedem Secretschub die Fermentkraft des Kropfsaftes ansteigen; also muß die Verdauungskraft des Kropfsaftes ebenfalls eine Periodizität zeigen.

Zur Beantwortung dieser Frage entnahm ich jedem Tier, dessen Mitteldarmdrüse ich konservierte, etwas Kropfsaft und bestimmte an diesem (Kartoffelscheibe in unverdünntem Kropfsaft, Technik S. 269) die zur Celluloselösung verwendete Zeit. Die Tiere der Serien II und III ergaben so die Resultate der Tab. II.

Die mit diesen Angaben konstruierten Kurven (Ordinate: Stunden nach Fütterungsanfang, Abszisse: Stunden benutzt zur Verdauung) zeigen uns die Abb. 7 und 8.

Auch hier sehen wir (Abb. 7) eine Periodizität, die Fermentkraft steigt (Hunger bis 2 Stunden), bleibt eine Zeitlang hoch (2—3 Stunden),

Tabelle II.

Stunden nach Fütterungs- anfang	Verdauungsstunden	
	Serie II	Serie III
Hunger	28	31
$\frac{1}{2}$	21	22
1	23	23
$1\frac{1}{2}$	$22\frac{1}{2}$	$20\frac{1}{2}$
2	6	7
$2\frac{1}{2}$	$5\frac{1}{2}$	$6\frac{1}{2}$
3	7	4
$3\frac{1}{2}$	18	7
4	19	17
$4\frac{1}{2}$	17	19
5	$18\frac{1}{2}$	$19\frac{1}{2}$
$5\frac{1}{2}$	$6\frac{1}{2}$	15
6	4	5

sinkt dann herab ( $3\frac{1}{2}$ —5 Stunden) und zeigt später wieder eine Steigerung ( $5\frac{1}{2}$ —6 Stunden).

Abb. 9 gibt die histologische Durchschnittskurve der Serien II + III und die chemische Durchschnittskurve der Serien II + III in einer Figur zusammen. Deutlich tritt hervor, wie das Bild des Schwankens

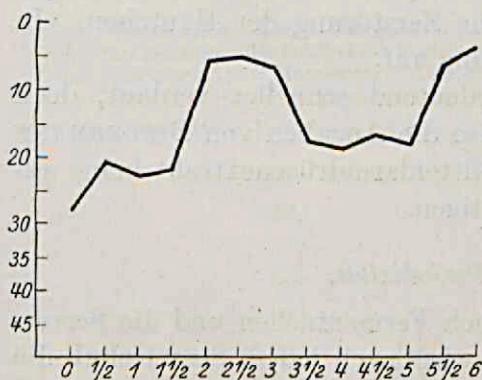


Abb. 7.

Abb. 7. Chemische Kurve der Serie II. Auf der Ordinate sind die Stunden nach Fütterungsanfang abgetragen, auf der Abszisse die Zeit, welche die Cellulose braucht, um Kartoffelcellulose zu verdauen. Die Kurve steigt an bis 2—3 Stunden, sinkt ab und steigt wieder an (6 St. und weiter.)

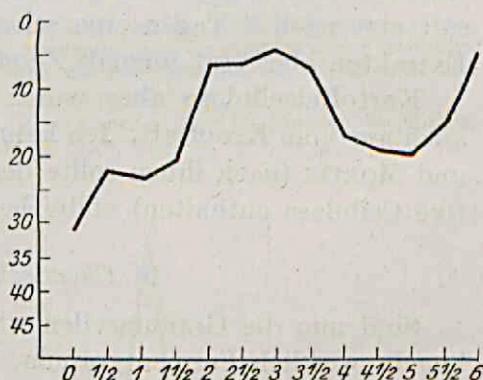


Abb. 8.

Abb. 8. Chemische Kurve der Serie III, wie Abb. 7. Maxima bei 2— $3\frac{1}{2}$  St. und 6 St. und weiter.

der chemischen Verdauungskraft und das morphologische Bild des Secretionsvorganges sich decken. 1 Stunde nach Fütterung findet eine Granulaausscheidung statt; diese Granula werden zum Kropf transportiert. Im Kropf bewirken sie dann nach Lösung eine Steigerung der Fermentkraft ( $1\frac{1}{2}$ —2 Stunden). Die Fermente verbrauchen sich, die Verdauungskraft fällt ab (3—4 Stunden) und steigt nach dem zweiten Secretschub ( $4\frac{1}{2}$  Stunden) wieder an (5—6 Stunden).

Die chemische Kurve bestätigt also vollkommen das histologische Bild. Die Periodizität der Mitteldarmdrüsensecretion scheint mir in dieser Weise genügend nachgewiesen.

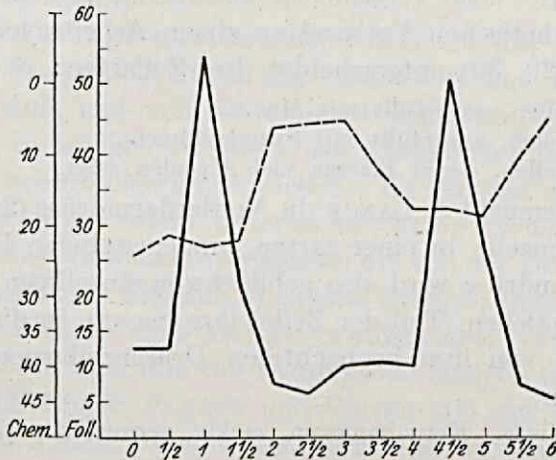


Abb. 9. Histologische Durchschnittskurve der Serien II + III (— Linie) und chemische Durchschnittskurve der Serien II + III (--- Linie). Die Ziffern über „Foll.“ beziehen sich auf die histologische, die Ziffern über „Chem.“ beziehen sich auf die chemische Kurve. Nach der Granulaausscheidung (1 St.) steigt die Fermentkraft (2–2 1/2 St.), nach einer neuen Secretion (4 1/2 St.) tritt eine neue Fermentkraftsteigerung auf (5 1/2 St.—6 St.).

### III. Die Secretion der Vorderdarmdrüse.

#### A. Angaben früherer Forscher.

Schlagen wir die Literatur über die Vorderdarmdrüse nach, so sehen wir bald, daß die Auffassungen der verschiedenen Untersucher sehr wenig übereinstimmen. Auch hier war BARFURTH der erste, der genaue histologische Untersuchungen anstellte (4). Er beobachtete an Schnitten der mit absolutem Alkohol konservierten Drüsen eine Anzahl verschieden gebauter Drüsenzellen, die er folgendermaßen beschreibt:

- Zelle klein; Kern groß, rund bis oval, chromatinreich; Plasma feinkörnig. Überwiegt beim Hungertier. Enthält viel Glykogen.
- Zelle groß; Kern mit zackiger Kontur, relativ chromatinreich; Plasma bildet ein Netz mit vielen Alveolen, in denen ein glänzendes Präzipitat liegt. Tritt einige Stunden nach der Fütterung auf. Enthält ziemlich viel Glykogen.
- Zelle groß; Plasma reduziert, Zelle ausgefüllt mit glänzenden Speichelkugeln. Erscheint 7–11 Stunden nach Fütterung. Enthält kein Glykogen.
- Zelle relativ groß, enthält eine Menge Speichelkugeln, die zu einer mit Hämatoxylin stark färbbaren Substanz (Mucin) zerfließen.

Diese Zellarten sind nach BARFURTH verschiedene Phasen des Arbeitscyclus einer Zelle; die kleinen Zellen stellen ein Ruhestadium dar, welches sich, wenn man die Tiere füttert, in eine Granulabildungsphase verwandelt (b). Sind die Granula gebildet (c), so zerfließen sie zur tiefblauen Schleimmasse (d). Diese Schleimmasse wird ausgeschieden, und die Zelle regeneriert sich. Während der Secretionsarbeit ändert

sich der Glykogengehalt, welcher bei der Regeneration wahrscheinlich eine große Rolle spielt. In jedem Fütterungszustand findet er fast alle Stadien vertreten.

Er beobachtet also verschieden aussehende Zellen und bringt sie in einen hypothetischen Verband zu einem Arbeitscyclus.

R. MONTI (29, 30) unterscheidet drei Zellarten:

- a) Schleimzellen, ausgefüllt mit Mucin.
- b) Granulazellen, ausgefüllt mit Speichelkugeln.
- c) Alveolenzellen, deren Plasma viel Alveolen zeigt.

Sodann untersucht A. LANGE die Vorderdarmdrüse (26). Er bemerkt, daß jede Drüsenzelle in einer zarten, bindegewebigen Hülle gefaßt ist. Die Vorderdarmdrüse wird also gebildet von einzelligen Drüsen, welche durch ein Kanälchen (Teil der Zelle) ihre Secrete in die Ausführungsgänge abgeben. Die von ihm beobachteten Drüsenzelltypen beschreibt er folgendermaßen:

a) Mucinstadium. Kern homogen, zackig, gerunzelt, eosinophil; Zelle mit Mucin gefüllt.

b) Siegelringstadium. Kern wandständig, klein, gerunzelt; unregelmäßige Vacuole.

c) Erstes Regenerationsstadium. Kern groß, teilweise ohne Membran; im Plasma Vacuolen.

d) Zweites Regenerationsstadium. Kern groß, chromatinreich, Plasma ziemlich stark eosinophil.

e) Speichelvacuolenstadium. Kern zackig, chromatinarm; Plasma hat sich regeneriert, „innerhalb seiner Netze kommen Secretionsvacuolen zustande, indem der Protoplast immer kleiner werdende Vacuolen abtrennt“; in den Vacuolen oft ein glänzendes Präcipitat (mucigen). LANGES Worten zufolge ist dieses Stadium das von BARFURTH beschriebene Speichelkugelstadium, nach LANGE sollten aber keine feste Speichelkugeln, sondern nur flüssigkeitgefüllte Vacuolen anwesend sein. Beim Hungertiere fehlen diese Zellen. Auch beobachtet er Übergänge dieses Stadiums ins Mucinstadium. Außerdem beschreibt er Bindegewebszellen, sogenannte Körnchenzellen, mit kleinem, manchmal zackigem Kern; die Zelle gefüllt mit Körnchen. Er findet sie zahlreich bei Hungertieren, wenig nach der Fütterung. Diese Zellen aber stimmen der Beschreibung und Zeichnung nach völlig mit dem Speichelkugelstadium BARFURTHS überein; LANGE irrt sich also, diese Zellen sind keine Bindegewebszellen, sondern die von BARFURTH beschriebenen Speichelkugelzellen.

LANGE verbindet seine Zelltypen auch zu einem Arbeitscyclus:

Die mit Mucin geladene Zelle (a) scheidet den Schleim aus, wird zum Siegelringstadium (b), regeneriert sich (c und d) und wird zur Speichelvacuolenzelle. Diese enthält in den Alveolen Mucigen und verwandelt sich zum Mucinstadium (a), welches wieder Mucin secerniert; usw.

Obleich LANGE voraussetzt, daß während des Hungers auch eine schwache Secretion vor sich geht, sollte nach ihm das Mucinstadium einen Ruhepunkt im Cyclus darstellen. Fängt nun das Tier zu fressen an, so scheidet es den Schleim aus. Diese Hypothese kann aber nicht richtig sein, weil in diesem Falle nach einer langen Hungerperiode das Mucin-

stadium überwiegen müßte. Davon redet LANGE aber nicht, im Gegenteil sagt er: „Die verschieden gefärbten Zellen stehen so bunt nebeneinander, daß jeder Gedanke an gleichmäßige Secretionsvorgänge ausgeschlossen sein muß!“

Zum Schluß gibt er eine Tabelle, betreffend das Vorkommen der verschiedenen Stadien bei Fütterung. Doch weil seine Fütterungszeiten ohne System sind, und weil er nur redet von: „häufig, ziemlich viele, relativ wenig, in mäßiger Anzahl“, usw., lassen sich meines Erachtens hieraus keine Schlußfolgerungen ziehen. Im Extrakt der Vorderdarmdrüse findet er, wie frühere Untersucher, keine Fermente.

A. GORKA (15) untersuchte eingehend die von der Drüse produzierten Secrete, und findet im Extrakt: Amylase, Zymase, Invertase und Katalase. *Zylase*, Maltase und Lactase wurden aber von ihm vermißt. Außerdem enthält nach ihm die Drüse große Mengen Glykogen.

Später beschäftigten PACAUT und VIGIER (31) sich mit der Vorderdarmdrüse. Auch diese Untersucher beschreiben verschiedene Zellarten, nämlich:

a) „Cellule ponctuée.“ Kern groß, chromatinreich; Protoplasma heterogen, feinkörnig in einer diffusen Grundmasse.

b) „Cellule muqueuse.“ Kern klein, unregelmäßig, „comme ratatiné“, chromatinarm; Zelle ausgefüllt mit Mucin, welches durch ein Kanälchen (Teil der Zelle) nach den Drüsengängen abgeführt wird. Dieses Mucin befindet sich in Alveolen, von denen nur der Rand sich mit Hämatoxylin färbt.

c) „Cellule granuleuse.“ Kern unregelmäßig, chromatinarm. Plasma stark reduziert, bildet ein oft nicht wahrnehmbares, feines Netz, in dessen Maschen Granula liegen. Zahlreich bei Hungertieren, werden sie bei Fütterung immer selten und regenerieren während der Ruheperiode.

d) „Cellule alvéolaire.“ Kern groß, rund bis oval, chromatinreich; Plasma mit zahlreichen Alveolen, in denen zuweilen ein Präcipitat. Das Plasma enthält außerdem eigentümliche Chromatingebilde („bandelette chromophile, parasome“).

e) „Cellule cystique.“ Kern groß, ziemlich chromatinreich. Außer einigen Vacuolen enthält die Zelle eine große Vacuole, in der zuweilen Granula vorkommen. Dieses Stadium wird von ihnen mit dem Siegelringstadium LANGES verglichen<sup>1</sup>). Die Zellen stehen nach PACAUT und VIGIER in folgendem Zusammenhang:

„Cellule ponctuée“ bildet „cellule muqueuse“, diese scheidet ihr Mucin aus und wird wieder zu „cellule ponctuée“ usw. Dies ist der Arbeitscyclus der mucinbildenden Zelle („mucocyte“). Andererseits gibt es einen Cyclus der fermentbildenden Zelle („zymocyte“): „Cellule granuleuse“ („zymocyte à la période de mis en charge“) wird zur „cellule cystique“ („zymocyte à la phase d'excrétion“). In dieser Phase lösen sich die Granula und die entstandene Flüssigkeit wird ausgeschieden. So wird die Zelle zur „cellule alvéolaire“ („zymocyte à la période de réparation“), diese bildet wieder Granula usw.<sup>2</sup>).

<sup>1</sup>) Niemals beobachteten PACAUT und VIGIER Kerne, deren Membran teilweise gelöst war.

<sup>2</sup>) Bei normalen Verhältnissen sollten sich alle Phasen ineinander verwandeln können; daher ist es mir nicht ganz klar, wie sie sich den Verband eigentlich denken.

Auch stellten die Autoren Schnitte von Drüsen nach Pilokarpininjektion her. Hieraus lassen sich meines Erachtens keine Folgerungen für das normale Bild ziehen, weil da sogar Amitosen in den Drüsenzellen vorgehen!

PACAUT u. VIGIER stellen sich die Secretion kontinuierlich, chaotisch vor, weil sie immer alle Phasen vertreten finden: „On peut dire, d'une façon générale, chaque cellule évolue indépendamment des autres cellules. Par suite de ce défaut de synchronisme, tous les stades évolutifs des éléments sécréteurs sont constamment représentés dans toutes les parties de l'ensemble.“

Bei Untersuchung der Extrakte erhalten sie folgende Enzyme: Amylase, Xylanase, Invertase und Emulsine; *Cellulase wurde vermisst.*

Auch diese Untersuchungen sind nicht vollkommen einwandfrei. *Erstens, weil sie pilokarpinisierte Drüsen nebst normal aktivierten wählen zum Aufstellen eines normalen Arbeitscyclus; zweitens, weil sie Zwischenstadien von allen beschriebenen Zelltypen beobachten, und in dieser Weise die Hypothese des „Zymocyte“cyclus und „Mucocyte“cyclus unwahrscheinlich wird; drittens, weil die Fütterungsversuche vollkommen ordnungslos sind.*

*Zusammenfassend wissen wir also:*

Die Vorderdarmdrüsen von *Helix pomatia* sind zwei auf dem Kropf liegende Drüsen, jede mit einem Ausführgang in den Pharynx ausmündend. Die Drüsen enthalten eine Menge einzelliger Drüsen, die ihre Secretionsprodukte vermittels eines zeitlichen, von der Zelle selbst gebildeten Kanälchens nach den Ausführgängen abführen.

Die Drüsenzellen zeigen verschieden gebaute Zellarten, die in verschiedenen Zeiten nach Fütterung alle anwesend sind. Alle Untersucher unterscheiden verschiedene Zelltypen, doch alle beobachten Schleimzellen und Granulazellen<sup>1)</sup> und ein Verschwinden des Granulastadiums während der Fütterung; jeder stellt einen anderen hypothetischen Arbeitscyclus auf. Die Secretion ist ungeordnet, chaotisch. Während des Hungers findet auch eine Secretion statt.

Die Drüse enthält große Mengen Reserveglykogen; vielleicht findet das Glykogen auch Verwendung bei der Regeneration der Drüsenzelle. Extrakte der Vorderdarmdrüse enthalten Amylase, Xylanase, Invertase und Emulsine.

*Niemals wurde das Auftreten der verschiedenen Stadien an der aktivierten Drüse vom Aktivierungsanfang an beobachtet, und niemals sind die hypothetischen Arbeitsbahnen bewiesen worden.*

<sup>1)</sup> Granulazellen wurden schon in Vorderdarmdrüsen anderer Gastropoden entdeckt (z. B. von BRYGIDER 12). So sagt auch GURWITSCH (16): „In sehr vielen Fällen, wo die ersten Vorstadien der Secretbereitung zur Beobachtung gelangen, scheint dieselbe, ganz unbekümmert um die spätere Konsistenz und chemischen Charakter des Secrets, unter Auftreten größerer oder kleinerer Vacuolen oder Granula vor sich zu gehen“ (siehe auch GURWITSCH 17 und HEIDENHAIN 18).

### B. Material und Technik.

Jedem Tier, dessen Mitteldarmdrüse ich konservierte, entnahm ich auch die Vorderdarmdrüsen. So erhielt ich auch von der Vorderdarmdrüse die der Mitteldarmdrüse entsprechenden Stufen.

Zuerst konservierte und färbte ich Hungertierdrüsen (Schnitte  $5 \mu$ ). Die Fixation war Sublimat, Zenkers Gemisch, Flemming, Carnoy oder Bouin; die Färbung Safranin-Lichtgrün S., Eisenhämatoxylin (Heidenhain) oder Alaunhämatoxylin-Eosin. Weil die Schnitte dieser verschiedenen fixierten und gefärbten Drüsen keine wesentlichen Unterschiede zeigten, wurde in bezug auf die Serien nachher immer Bouinkonservierung und *Alaunhämatoxylin-Eosin angewendet, weil diese Methode nur wenig Zeit erfordert und doch immer klare Bilder liefert.* Zum Glykogennachweis bediente ich mich der Carnoyfixierung und BESTs Carminfärbung.

[?] Zur künstlichen Erregung der Secretion wollte ich den die Drüse innervierenden Nerven reizen. Dieser Nerv, ein Ast des Ganglion buccale (32), ist aber dem ganzen Vorderdarmdrüsengang entlang so fest mit diesem verwachsen, daß Herauspräparieren nicht gelang. Jetzt wandte ich folgendes Verfahren an: Die Schale eines Hungertieres wurde zerstückelt, der Rücken median aufgeschnitten und die Vorderdarmdrüsen vorsichtig herauspräpariert; die Ausführgänge aber blieben unverletzt in Verbindung mit dem Pharynx. Nun schnitt ich den Pharynx median auf und brachte von innen her eine feingezogene Capillare in einen Ausführgang hinein. Beide Drüsen wurden alsdann in ein Uhrsälchen mit Blut gelegt, und jetzt reizte ich den von einem Capillarröhrchen versehenen Gang mittels eines schwachen Induktionsstroms, während die zweite Drüse eine Kontrolle darstellte.

### C. Histologie der Secretion.

#### a) Allgemeines.

Studieren wir die Drüsenschnitte, so finden wir wirklich ein buntes Bild! Die großen Drüsenzellen zeigen, auch Unterschieden der Farbstoffaufnahme zufolge, eine Menge anscheinend nicht in Zusammenhang stehende Typen.

Nach genauer Beobachtung gelang es mir, acht beim Hungertier immer vertretene Zelltypen herauszufinden:

Stadium I (Abb. 10): Kern groß, rund, blasenförmig, chromatinreich, färbt sich stark mit Hämatoxylin. Plasma feinkörnig in einer homogenen, diffusen Grundmasse, eosinophil (BARFURTHS Stadium a, LANGES zweites Regenerationsstadium, PACAUT und VIGIERS „cellule ponctuée“).

Stadium II (Abb. 11): Kern groß, rund, chromatinreich, färbt sich stark mit Hämatoxylin. Kernmembran teilweise verschwunden. Plasma feinkörnig wie im Stadium I.

Stadium III (Abb. 12): Kern groß, rund bis oval, chromatinreich, färbt sich stark mit Hämatoxylin. Kernmembran öfters teilweise verschwunden. Im schwach eosinophilen Plasma, welches eine Fibrillenstruktur zeigt, treten Alveolen auf (LANGES erstes Regenerationsstadium).

Stadium IV (Abb. 13): Kern relativ groß, manchmal die Membran nicht geschlossen, relativ chromatinreich, färbt sich mit Hämatoxylin. Alveolen fast alle zu einer großen Vacuole verschmolzen. In dieser

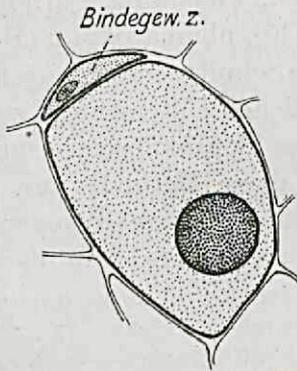


Abb. 10. Vorderdarmdrüsenzelle im Ruhestadium (I). Großer basophiler Kern, Plasma feinkörnig in einer diffusen Grundmasse, eosinophil. (Gesehen bei einer Vergrößerung 1260 $\times$ .)

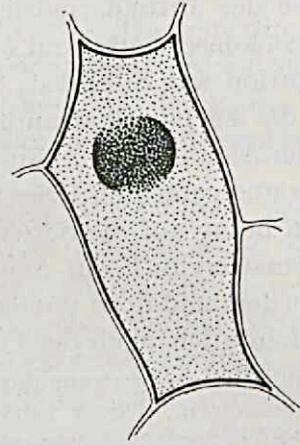


Abb. 11. Vorderdarmdrüsenzelle im Stadium der Kernmembranlösung (II). Kern groß, basophil, Membran teilweise verschwunden, Plasma feinkörnig in diffuser Grundmasse, eosinophil. (Gesehen bei einer Vergrößerung 1260 $\times$ .)

befindet sich entweder ein körniges Präcipitat, oder eine Anzahl strukturloser Granula. Die Granula sind zuweilen schwach eosinophil, in anderen Fällen mehr oder weniger gelb gefärbt. Plasma fibrillär, sehr schwach eosinophil. (PACAUT und VIGIERS „cellule cystique“).

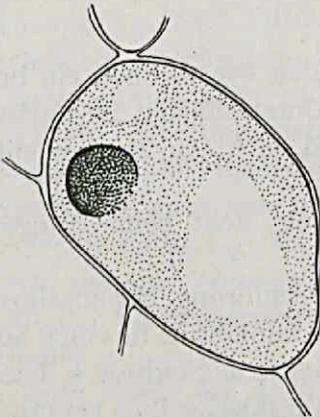


Abb. 12. Vorderdarmdrüsenzelle im Stadium der Alveolenbildung (III). Kern groß, Membran teilweise verschwunden, basophil. Plasma fibrillär, schwach eosinophil. (Gesehen bei einer Vergrößerung 1260 $\times$ .)

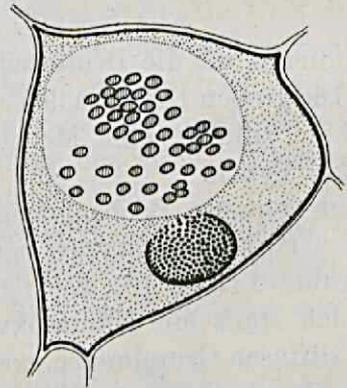


Abb. 13. Vorderdarmdrüsenzelle im Stadium der Granulabildung (IV). Kern groß. Membran nicht geschlossen, ziemlich stark basophil. Plasma fibrillär, sehr schwach eosinophil. In der Vacuole Enzymgranula. (Gesehen bei einer Vergrößerung 1260 $\times$ .)

Stadium V (Abb. 14): Kern ziemlich klein, färbt sich schwach mit Hämatoxylin, enthält ziemlich wenig Chromatin, oft mit unregelmäßig gerunzelter Peripherie. Plasma stark reduziert, beschränkt sich auf

eine kleine dem Kern anliegende Masse. Die Zelle ist prall geladen mit gelben, glänzenden, lichtbrechenden Granula ohne kenntliche Struktur, wahrscheinlich in einer großen Vacuole liegend<sup>1)</sup> (BARFURTHS Speichel-

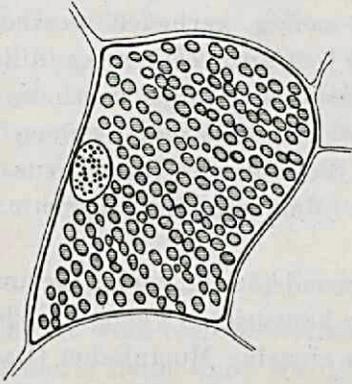


Abb. 14. Vorderdarmdrüsenzelle mit Enzymgranula (V). Kern ziemlich klein, schwach basophil, Plasma stark reduziert. Ganze Zelle gefüllt mit gelben, lichtbrechenden Granula. (Gesehen bei einer Vergrößerung 1260 $\times$ .)

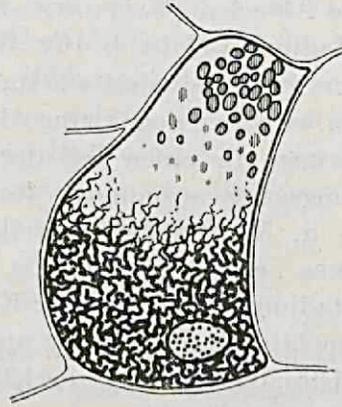


Abb. 15. Vorderdarmdrüsenzelle im Stadium der Mucinbildung (VI). Kern klein, zackig, schwach eosinophil. Plasma reduziert. Zelle teilweise gefüllt mit zerfließenden Granula, teilweise mit stark blaugefärbtem Mucin. (Gesehen bei einer Vergrößerung 1260 $\times$ .)

kugelstadium, MONTIS Granulazelle, LANGES Körnchenzelle, PACAUT und VIGIERS „cellule granuleuse“).

Stadium VI (Abb. 15): Kern klein, chromatinarm, schwach eosino-

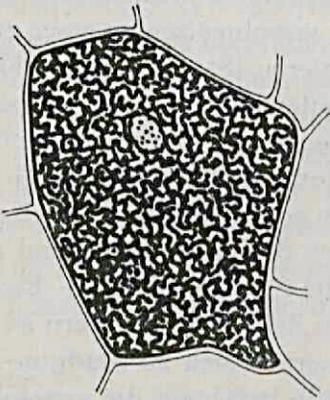


Abb. 16. Vorderdarmdrüsenzelle prall geladen mit Mucin (VII). Kern zackig, klein, eosinophil, Plasma reduziert. Zwischen den Mucinfäden kleine unregelmäßige Alveolen. (Gesehen bei einer Vergrößerung 1260 $\times$ .)

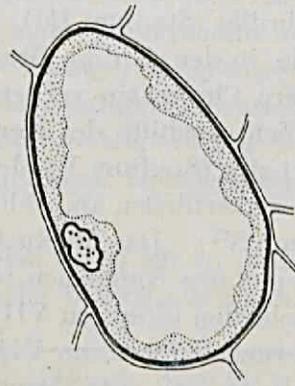


Abb. 17. Vorderdarmdrüsenzelle nach der Ausscheidung des Secretes (VIII). Kern klein, zackig, wandständig, eosinophil, große centrale, unregelmäßig konturierte Vacuole, zuweilen noch vereinzelt Mucinfäden im Plasma. (Gesehen bei einer Vergrößerung 1260 $\times$ .)

phil, Kontur zackig, gerunzelt. Plasma stark reduziert, zuweilen wahrnehmbar an der Kernperipherie. Die Zelle ist teilweise gefüllt mit Granula, die manchmal wie vacuolisiert aussehen, oft auch farblos sind

<sup>1)</sup> Nie beobachtete ich um die einzelnen Granula ein Protoplasmanetz!

und zu zerfließen scheinen. Weiter enthält die Zelle Mucinfäden (tiefe Blaufärbung mit Hämatoxylin, welche an Intensität nach der Seite der Granula zu abnimmt). Zwischen dem Mucin befinden sich zahlreiche kleine Alveolen (BARFURTHS Stadium d).

Stadium VII (Abb. 16): Kern klein, zackig, gerunzelt, eosinophil. Plasma stark reduziert wie im Stadium VI. Ganze Zelle ausgefüllt von Mucin, zwischen dem kleine Alveolen. Zuweilen zeigt die Zelle eine Verlängerung, die einen Teil der Zelle selbst darstellt und in einen Ausführungsgang ausmündet (temporäres Kanälchen) (BARFURTHS Stadium d, MONTIS Schleimzelle, LANGES Mucinstadium, PACAUT und VIGIERS „cellule muqueuse“).

Stadium VIII (Abb. 17): Kern klein, wandständig, zackig, gerunzelt, eosinophil. Große centrale unregelmäßig konturierte Vacuole. Plasma wandständig, homogen, enthält zuweilen einzelne Mucinfäden (LANGES Siegelringstadium)<sup>1)</sup>.

An der Hand dieser Tatsachen möchte ich *einen neuen hypothetischen Arbeitscyclus der Zelle* aufstellen, den ich unten (S. 289) beweisen will:

Stadium I ist eine Ruhephase; die Zelle hat sich regeneriert und ist im Begriff, die Secretbildung zu beginnen. Als erstes Anzeichen dieser Secretbildung sehen wir ein teilweises Verschwinden der Kernmembran (Stadium II): Der Kern steht hier offenbar in sichtbarem Kontakt mit dem Plasma. Alsdann differenzieren sich im Plasma Alveolen, die sich wahrscheinlich mit einer enzymogenen Flüssigkeit<sup>2)</sup> füllen, das Plasma wird fibrillär (Stadium III). Die Alveolen verschmelzen zu einer großen Vacuole, in der sich die Granula differenzieren (Stadium IV), während der Kern Chromatin verliert. Die Granulamenge wächst, bis sie die ganze Zelle ausfüllt, der Kern verliert immer noch Chromatin und verkleinert sich (Stadium V). Jetzt tritt Mucin in der Zelle auf; die Granula fangen zu zerfließen an, während der Kern eosinophil und runzelig wird (Stadium VI). Das Mucin füllt schließlich die ganze Zelle, und durch ein temporäres Kanälchen werden jetzt die Secrete (Mucin + Enzyme) ausgeschieden (Stadium VII). Nun ist die Zelle leer, der Kern ist klein und gerunzelt (Stadium VIII). Sie regeneriert sich zu Stadium I und fängt von neuem an<sup>3)</sup>. Deutlich tritt hier in bezug auf die secretorische Tätigkeit die Verkümmernng des Kernes hervor: Im Anfang groß, baso-

<sup>1)</sup> Die BESTsche Carminfärbung brachte mir in bezug auf den Glykogengehalt der Zelltypen keine ausschlaggebenden Resultate, weil verschiedene Zellen desselben Stadiums oft einen ganz anderen Glykogengehalt zeigten.

<sup>2)</sup> Dorthier stammt wahrscheinlich das oft vorkommende Präcipitat in den Alveolen der konservierten Zelle.

<sup>3)</sup> Es gibt also drei Möglichkeiten:

1. Die Granula liefern Enzyme, das Plasma Mucin;
2. „ „ „ Mucin, das Plasma Enzyme;
3. „ „ „ Mucin + Enzyme.

phil, chromatinreich, verliert er allmählich Chromatin und ist zuletzt klein, gerunzelt, eosinophil und chromatinarm.

Ich will hier gleich bemerken, daß die Hypothese PACAUT und VIGIERS (S. 279) nicht richtig sein kann, weil wir in Stadium VI Mucin und Granula in einer Zelle vereinigt finden! Außerdem ist die „cellule cystique“ kein Auflösungs-, sondern ein Bildungsstadium der Granula.

Ist die von mir aufgestellte Hypothese richtig, so wird auch beim Hungertier eine Secretion sich abspielen; denn wir finden immer Stadium VIII. Diese Secretion muß kontinuierlich (chaotisch) sein, weil beim Hungertier niemals eine der Phasen überwiegt.

### b) Histologische Periodizität.

Es ist wohl ohne weiteres deutlich, daß die Zelle an sich rhythmisch secerniert; denn sonst würde sie immer das gleiche Bild ergeben, also niemals verschiedene Stadien zeigen können!

Jetzt will ich, Rücksicht nehmend auf die hypothetische Zellarbeitsbahn, die Secretion an der Drüse des gefütterten Tieres Schritt für Schritt verfolgen.

Beobachten wir die Drüsen verschieden genährter Tiere, so scheint von einem regelmäßigen Secretionsvorgang gar nicht die Rede zu sein; die verschiedenen Stadien sind immer alle vertreten. Die Frage, ob die Secretion hier kontinuierlich oder periodisch sei, ist ja auch von früheren Untersuchern (S. 277—280) niemalseingehend studiert worden; sie nahmen ohne weiteres eine kontinuierliche Secretion an. Doch scheint mir dieses Problem nicht so einfach zu sein. Oft ist nämlich bei gewissen Fütterungsversuchen eine Zu- und Abnahme eines Stadiums beschrieben worden. Nimmt aber ein einziges Stadium zu, so zeigt es ein Maximum und deshalb eine Periodizität! Zur endgültigen Lösung dieser Frage bediente ich mich folgender Methodik:

Die acht von mir beschriebenen Stadien faßte ich zu fünf Phasen zusammen, an die vier allgemeinen Phasen der Drüsenzelle anschließend:

Stadien der Vorderdarmdrüsenzelle	Von mir aufgestellte Phasen der Vorderdarmdrüsenzelle	Allgemeine Phasen der Drüsenzelle (s. Seite 285)
Stad. I	1. Regenerations- u. Ruhephase	a) Aufnahme der Rohstoffe aus dem Blut
Stad. II	2. Phase des Tätigkeitsanfangs	
Stad. III		
Stad. IV	3. Granulaphase	b) Umbildung der Rohstoffe zu Vorstoffen
Stad. V		
Stad. VI		

Stadien der Vorderarmdrüsenzelle	Von mir aufgestellte Phasen der Vorderarmdrüsenzelle	Allgemeine Phasen der Drüsenzelle (s. Seite 265)
Stad. VII	4. Phase der fertigen Sekrete	e) Umbildung der Vorstoffe zum Sekret
Stad. VIII	5. Ausscheidungsphase	d) Ausscheidung

Sodann zählte ich in allen Fütterungsstufen die Anzahl Zellen der 5 verschiedenen Phasen, welche bei einer Vergrößerung Leitz hom. Imm.  $1/_{12}$ , Ok. 5 (1260  $\times$ ) im Seheld lag, wiederholte dies einige Male an anderen Stellen des Schnittes, berechnete die Durchschnittszahl und rechnete um zu Prozenten [I + (II + III) + (IV + V + VI) + VII + VIII = 100%].

Z. B. für eine Hungerdrüse:

	I	II + III	IV + V + VI	VII	VIII
1. Zählung	5	4	2 bis 3	4	1
2. Zählung	3	2	1	3 bis 4	2
3. Zählung	2 bis 3	3	1	3	1 bis 2
Durchschnittlich	$3\frac{1}{2}$	3	$1\frac{1}{2}$	$3\frac{1}{2}$	$1\frac{1}{2}$
In Prozenten	27	23	11	27	12

In dieser Weise stellte ich für die Fütterungsstufen der Serie I Tab. III, der Serie II Tab. IV, der Serie III Tab. V zusammen:

Tabelle III (Serie I).

Stunden nach Fütterungsanfang	Prozentzahl der verschiedenen Phasen				
	I	II + III	IV + V + VI	VII	VIII
h	12	34	$12\frac{1}{2}$	$31\frac{1}{2}$	$9\frac{1}{2}$
$1\frac{1}{2}$	8	18	0	61	11
1	9	16	$3\frac{1}{2}$	61	16
$1\frac{1}{2}$	7	$17\frac{1}{2}$	0	58	17
2	0	$7\frac{1}{2}$	0	$12\frac{1}{2}$	80
$2\frac{1}{2}$	$11\frac{1}{2}$	23	0	48	$16\frac{1}{2}$
3	17	$20\frac{1}{2}$	0	41	$20\frac{1}{2}$
$3\frac{1}{2}$	$7\frac{1}{2}$	18	0	$55\frac{1}{2}$	18
4	7	36	0	36	21
$4\frac{1}{2}$	6	24	3	21	45
5	3	$27\frac{1}{2}$	0	55	14
$5\frac{1}{2}$	11	22	0	$52\frac{1}{2}$	14
6	$3\frac{1}{2}$	18	0	$66\frac{1}{2}$	11

Diese Resultate sieht man auf den Kurven Abb. 18: horizontal die Stunden nach Fütterungsanfang (0 = Hungertier), vertikal die Prozentzahl<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Die Serien I und III geben sehr ähnliche Resultate.

Tabelle IV (Serie II).

Stunden nach Fütterungsanfang	Prozentzahl der verschiedenen Phasen				
	I	II + III	IV + V + VI	VII	VIII
h	27	23	11	27	12
1/2	17	34	3	34	12
1	11	30	0	37	22
1 1/2	11	4 1/2	0	15 1/2	68 1/2
2	48	15 1/2	0	20 1/2	16
2 1/2	23 1/2	32 1/2	0	39	5
3	17 1/2	21	0	52 1/2	8 1/2
3 1/2	8 1/2	21 1/2	0	56 1/2	13
4	19 1/2	18	0	34 1/2	27
4 1/2	11 1/2	28	0	19 1/2	40 1/2
5	9	25 1/2	0	29	36 1/2
5 1/2	15	37 1/2	0	13 1/2	33
6	29	23	0	39 1/2	8

Tabelle V (Serie III).

Stunden nach Fütterungsanfang	Prozentzahl der verschiedenen Phasen				
	I	II + III	IV + V + VI	VII	VIII
h	24	18	25	25	7
1/2	15	45	0	25	15
1	23	17	0	53	6 1/2
1 1/2	18	13 1/2	0	50	18
2	10	33	0	14	42 1/2
2 1/2	8	15	0	15	61
3	24 1/2	21	0	39	15
3 1/2	26 1/2	28	0	37 1/2	8
4	23	22	0	42	12 1/2
4 1/2	24	20	0	44	11 1/2
5	27	19	0	19	35
5 1/2	26 1/2	24 1/2	0	15 1/2	33
6	26 1/2	23 1/2	0	31 1/2	18

Wie ich S. 273 gezeigt habe, ist die Periodizität der Secretion bewiesen, wenn man den Rhythmus einer einzigen der Phasen nachweisen kann. Sehen wir uns jetzt in Abb. 18 die Phase der Ausscheidung (— Linie) an, so sehen wir die Häufigkeit ihres Vorkommens ansteigen bis zu 1 1/2 Stunden nach Fütterungsanfang, dann abfallen bis zu 2 1/2 Stunden, wieder ansteigen, um nach einem Maximum bei 4 1/2—5 1/2 Stunden wieder herabzusinken. Innerhalb 6 Stunden gibt es zwei Secretschübe. Die Ausscheidungsphase erscheint also periodisch; und daraus ergibt sich eine rhythmische Arbeit der Drüse<sup>1)</sup>.

Wir sehen also, trotz dem scheinbar ungeordneten Secretionsablauf, bei genauer Beobachtung doch eine Periodizität auftreten.

<sup>1)</sup> Der Rhythmus ergibt sich auch besonders schön aus der Kurve des Stadiums VII (+ + + + + - Linie).

Dies alles gilt aber nur dann, wenn der vorausgesetzte Arbeitscyclus der Zelle richtig ist. Darum will ich hier beweisen die

*Existenz eines Secretionscyclus in der von mir vermuteten Form:*

Wenn die beobachteten Stadien wirklich in der von mir angenommenen Art aufeinander folgen, so wird eine Zunahme der Ruhephase (Stadium I) die Folge sein einer starken Umbildung aus der Ausscheidungsphase (Stadium VII); eine große Menge VIII hat sich also verwandelt in I, und die Quantität VIII muß herabsinken. So wird bei einer Zunahme der Stadien II + III Stadium I herabsinken; usw.

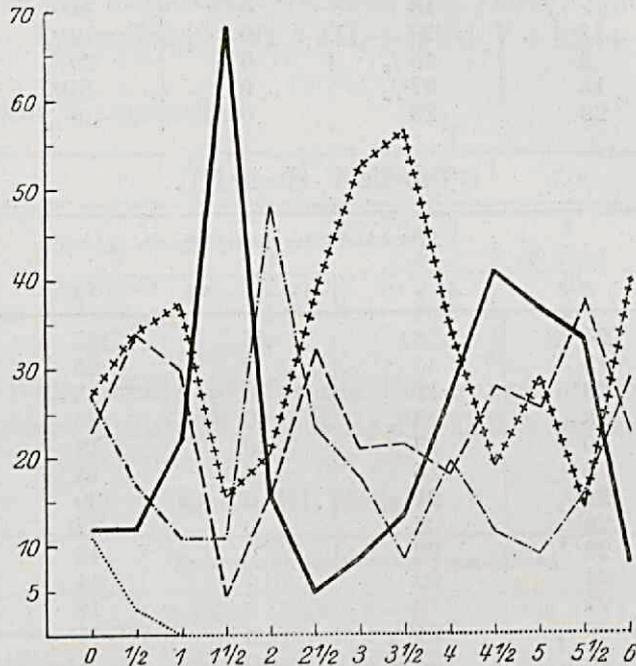


Abb. 18. Kurven der Phasen von der Serie II (Tabelle IV) in verschiedenen Aktivierungszuständen. Auf der Ordinate sind die Stunden nach Fütterungsanfang abgetragen (0 = Hungertier), auf der Abscisse die Anzahl Prozente der verschiedenen Phasen.

Stad. I = ..... Stad. II + III = - - - - - Stad. IV + V + VI = - · - · - · -  
 Stad. VII = + + + + + + + + + + Stad. VIII = —————

Fällt also an einem gewissen Zeitpunkt Stadium I, so bedeutet dies eine erhöhte Umbildung zu II + III; diese große Quantität II + III aber wird wieder eine Steigerung des Stadiums VII geben (die Granulaphase ziehe ich absichtlich hier nicht in Betracht; siehe unten S. 289 und 292). Die große VII gibt wieder viel VIII, usw., usw.; also:

Die Kurven der verschiedenen Phasen müssen, wenn sie in dem von mir vorausgesetzten Verbands stehen, sich nachjagen, wie im Schema der Abb. 19 angegeben ist.

Vergleichen wir nun dies mit den Kurven der Abb. 18, so ergibt sich, daß wirklich dieses Nachjagen stattfindet:

Der erste Gipfel des Stadiums I (—.—.—.-Linie) beim Hungertier wird gefolgt von einem Maximum des Stadiums II + III (— — — — Linie) bei  $1\frac{1}{2}$  Stunden, dieser von einem Maximum des Stadiums VII (++++-Linie) bei 1 Stunde, dieser von einem Gipfel des Stadiums VIII (—-Linie) bei  $1\frac{1}{2}$  Stunden. Jetzt kommt wieder ein Maximum I (2 Stunden), dann II + III ( $2\frac{1}{2}$  Stunden), dann VII ( $3-3\frac{1}{2}$  Stunden), endlich VIII ( $4\frac{1}{2}$  Stunden). Inzwischen hat I wieder seinen Höhepunkt erreicht (4 Stunden), gefolgt von II + III ( $4\frac{1}{2}$  Stunden), dann VII (5 Stunden) und zum Schluß VIII ( $5\frac{1}{2}$  Stunden)<sup>1)</sup>. *So ist meines Erachtens der Zusammenhang der Stadien bewiesen.*

Sehr eigentümlich benimmt sich die Granulaphase IV + V + VI (.....-Linie). Beim Hungertier in 12% vertreten, fällt die Quantität schnell ab, ist nach 1 Stunde ganz verschwunden und tritt nicht mehr

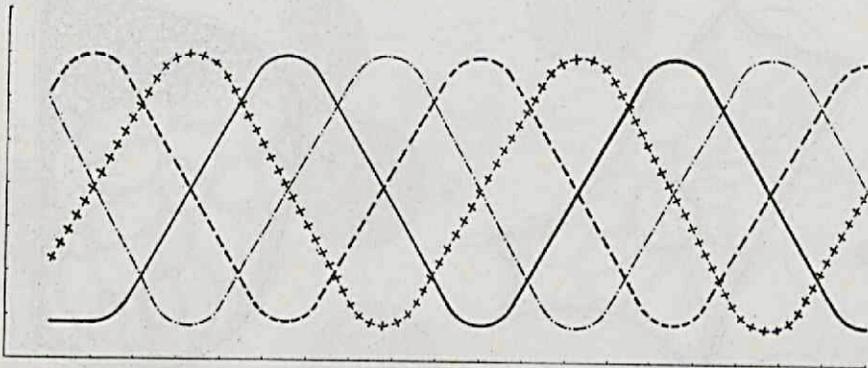


Abb. 19. Hypothetischer Verlauf der Kurven, wenn die Phasen im vorausgesetzten Verband stehen. Man sieht, wie die Kurven sich nachjagen. Nach einem Maximum I folgt ein Maximum II + III, dann IV + V + VI, dann VII, VIII, I usw., wie Abb. 18.

auf. Diese Phase ist also offenbar ausgeschaltet. Die in der Hungerdrüse anwesende Menge wird zum Nutzen der ersten Secretwelle aufgebraucht, und Neubildung aus II + III findet nicht statt. Vielleicht stellen die Granula eine Art Reservezustand dar, welcher nur bei Hungertieren vertreten ist und in aktivierten Drüsen übersprungen oder ersetzt wird. In diesem Fall aber wird während der Fütterung auch ein anderer Cyclus durchlaufen!

### c) Fütterungsbahn, Entstehung des Rhythmus.

An aktivierten Drüsen beobachtete ich zwei Drüsenzelltypen, welche in Hungerdrüsen niemals auftraten und sich folgendermaßen beschreiben lassen:

<sup>1)</sup> Dem Ansteigen von I ( $3\frac{1}{2}-4$  Stunden) zufolge, bevor VIII sein Maximum erreicht hat, zeigt VIII von  $4\frac{1}{2}-5\frac{1}{2}$  Stunden statt zwei nur ein Maximum.

Stadium P (Abb. 20): Kern ziemlich klein, ein wenig gerunzelt, relativ wenig Chromatin, schwach basophil. Plasma zuweilen schwach basophil, immer mit sehr vielen Alveolen, in denen meistens das beschriebene glänzende Präcipitat nachzuweisen ist (BARFURTHS Stadium b, MONTIS Alveolenzelle, LANGES Speichelvacuolenstadium, PACAUT und VIGIERS „cellule alvéolaire“).

Stadium Q (Abb. 21): Kern relativ klein, mit sehr unregelmäßiger Peripherie, sendet manchmal scheinbar Ausläufer ins Plasma hinein, schwach eosinophil, chromatinarm. Plasma teilweise alveolisiert wie im Stadium P, teilweise gefüllt mit Mucinfäden (der von LANGE beobachtete Übergang des Speichelvacuolenstadiums ins Mucinstadium).

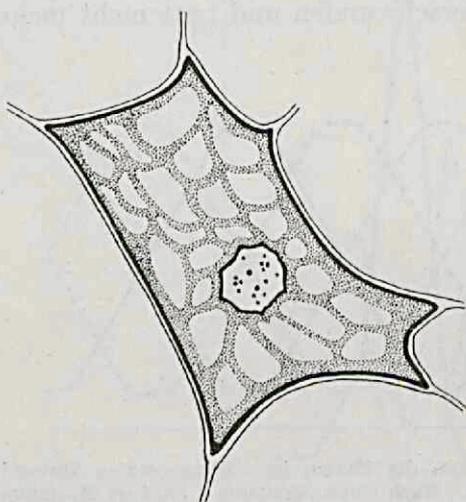


Abb. 20. Vorderdarmdrüsenzellen, wie sie nur in aktivierten Drüsen vorkommen (Stad. P.). Kern ziemlich klein, schwach basophil, Plasma zuweilen schwach basophil, mit vielen Alveolen. (Vergr. 1260 $\times$ .)

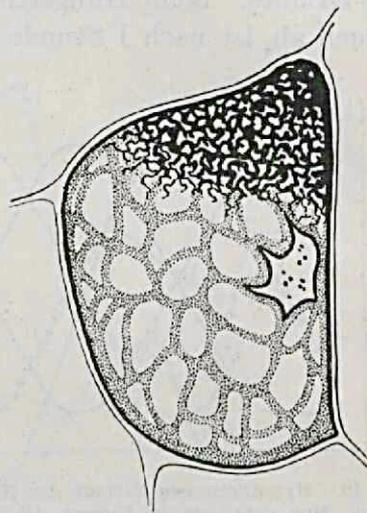


Abb. 21. Vorderdarmdrüsenzellen, wie sie nur in aktivierten Drüsen vorkommen (Stad. Q). Kern klein, schwach eosinophil, sendet scheinbar Ausläufer ins Plasma hinein. Plasma teilweise mit Alveolen wie in der Abb. 20, teilweise mit Mucin gefüllt. (Vergr. 1260 $\times$ .)

Stadium P ähnelt sehr dem Stadium II, nur sind die Alveolen zahlreicher. Wir können es uns aus dem Stadium II durch Weiterbildung der Alveolen entstanden denken. Stadium Q zeigt teilweise die Struktur des Stadiums P, teilweise die des Mucinstadiums VII, und bildet also das Glied, welches P mit VII verkettet.

Wiederholen wir jetzt die Ergebnisse an der Hand der Abb. 22, welche den Zeitcyclus der Zelle im Raum darstellt, so ergibt sich:

*Die Hungerbahn:* Die regenerierte Zelle (I) bildet nach teilweiser Lösung der Kernmembran (II) Alveolen (III); diese verschmelzen zu einer großen Vacuole, in der Granula auftreten (IV). Diese vermehren sich, bis sie die ganze Zelle ausfüllen (V), darauf bildet sich Mucin und die Granula zerfließen (VI). Das Mucin vermehrt sich (VII), die

Zelle scheidet die Secrete aus (Mucin + Enzyme) (VII), und regeneriert (I).

*Die Fütterungsbahn:* Stadium I bildet in bekannter Weise Stadium III. In diesem Stadium aber wählt die Zelle den kürzeren Weg: die Alveolen verschmelzen nicht, sondern vermehren sich (Stadium P). Eine Differenzierung fester Granula findet nicht statt, die Zelle bildet Mucin (Q), wird so zu VII, nach Ausscheidung zu VIII, usw. Die Granulaphase ist also während der Fütterung vollkommen ausgeschaltet.

Frühere Untersucher beobachteten schon, wie ich S. 278—279 sagte, bei Fütterungsversuchen ein Verschwinden der Granulaphase (LANGE: „Die Körnchenzellen treten gerade im Hungerzustande in besonders großer Anzahl auf. Füttert

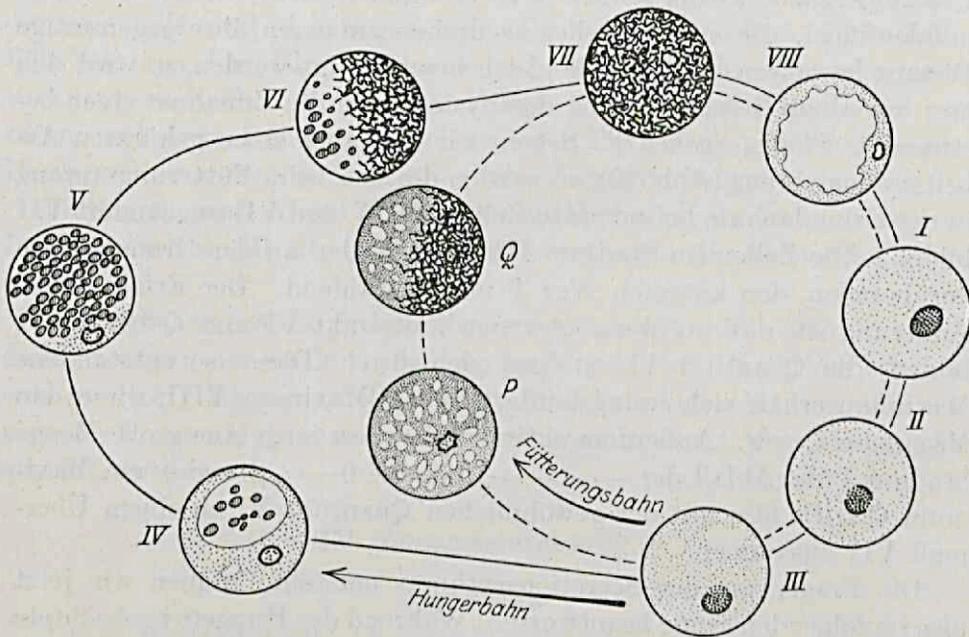


Abb. 22. Schema des Arbeitscyclus während des Hungers und während der Fütterung. Während des Hungers wird aus der ruhenden Zelle (I) über II und III Stad. IV gebildet, dieses bildet via V und VI Stad. VII, wird nach Ausscheidung zu VIII, und dieses nach Regeneration zu I. Während der Fütterung wird die Granulaphase (IV + V + VI) ausgeschaltet. Stad. III bildet durch Alveolenvermehrung Stad. P, dieses Stad. Q, dieses wird zum Stad. VII, welches via VIII wieder I gibt.

man die Tiere, so kann man beobachten, daß die Zahl der Körnchenzellen abnimmt“; PACAUT und VIGIER: „Dans tous les états d'activité, les cellules granuleuses diminuent très sensiblement de nombre. Elle devient d'autant plus rares que l'excitation sécrétoire a été plus forte et plus longtemps prolongée. Elles se régénèrent ensuite pendant le repos fonctionnel de la glande“), sowie ein Auftreten der alveolären Zellen (LANGE: „... daß im Hungerstadium keine oder doch nur sehr wenige Speichelvacuolen zu finden sind, nach der Fütterung aber allmählich ihre Zahl stark zunimmt“; PACAUT und VIGIER: „Chez les animaux dont les glandes ont été fixées après une copieuse ingestion de feuilles de chou, les cellules alvéolaires sont abondantes“).

Was soll nun dieses Verschwinden der Granulaphase bedeuten? Meiner Auffassung nach kann es große Bedeutung haben bei der

#### Entstehung des Rhythmus.

Wenn der Reiz den Secretionsablauf nur beschleunigte, würde die kontinuierliche Hungersecretion sich nie in eine rhythmische Fütterungssecretion umgestalten können, nämlich:

Befindet sich z. B. beim Anfang der Aktivierung eine Anzahl Zellen im Stadium VIII, so werden diese schnell zu Stadium I umgebildet, aber gleich schnell wird aus Stadium VII Stadium VIII gebildet. Die Gesamtmenge VIII ändert sich also nicht, auch nicht die Totalquantität I, weil diese sich wieder schnell in II verwandelt, usw. Gleichwie Windmühlenflügel, die sich schneller zu drehen anfangen, ihre gegenseitige Distanz bewahren, weil sie alle gleich beschleunigt werden, so wird sich hier aus einer Beschleunigung des Systems nie die Zunahme einer bestimmten Phase ergeben<sup>1)</sup>. Setzen wir nun aber einen gekürzten Arbeitscyclus voraus (Abb. 22), so werden die sich beim Fütterungsanfang in der Granulaphase befindenden Zellen (IV, V und VI) ungeändert VII bilden. Die Zellen im Stadium III aber werden an der Granulaphase vorübergehen, den kürzeren Weg P und Q wählend. Der Erfolg dieser Änderung ist, daß an einem gewissen Zeitpunkt VI und Q beide VII bilden; die Quantität VII steigert sich also! Dieses so entstandene Maximum erhält sich zwangsläufig, gibt ein Maximum VIII, dieses ein Maximum I, usw. Außerdem aktiviert der Reiz auch eine große Menge Stadium I (der Abfall der —.—.—.-Linie bei 0— $\frac{1}{2}$  Stunde), ein Maximum Q trifft also mit der gewöhnlichen Quantität VI zu einem Übermaß VII zusammen.

Die Frage, wie der Secretionsrhythmus entsteht, können wir jetzt also im folgenden Sinne beantworten: Während des Hungers beobachtete ich niemals ein Maximum, die Hungersecretion ist also kontinuierlich (chaotisch). Während der Fütterung aber treten deutliche Maxima auf, deshalb eine rhythmische Fütterungssecretion. *Die offenbar kontinuierliche Hungersecretion wird also trotz Fehlens einer Zusammenarbeit der Drüsenzellen durch Ausschaltung der Granulaphase in eine rhythmische Fütterungssecretion umgestaltet.*

#### d) Der Abfall des Rhythmus.

Zum Schluß bleibt noch die Frage: Wie ist es möglich, daß die rhythmische Fütterungssecretion nachher während des Hungers wieder chaotisch wird? Hört der Reiz auf, so wird die Fütterungsbahn verlassen; die Zelle durchläuft wieder ihren Hungercyclus. Logisch scheint

<sup>1)</sup> Graphisch erhielten wir in diesem Falle gleichlaufende horizontale Linien.

es, wenn nun auch hier der Rhythmus sich behauptet; denn das Maximum wird ja automatisch von einem Stadium zum anderen gebracht. Der Abfall des Rhythmus wird nun vielleicht ermöglicht durch das Absterben der Drüsenzellen. PACAUT und VIGIER sagen: „C'est au dépens de l'épithélium des canaux de la glande que se constituent de nouveaux éléments sécréteurs“, und beobachten zahlreiche Übergänge von Kanalepithel zu Drüsenzellen. MEISENHEIMER (28): „Nach mehrfachen secretorischen Tätigkeitsphasen gehen die Drüsenzellen unter charakteristischen Zerfallserscheinungen zugrunde; sie werden erneuert von dem Epithel der Ausführgänge her.“

Wenn nun eine Drüsenzelle verkümmert und vom Kanalepithel ersetzt wird, so wird dies zweifelsohne von einer Verzögerung begleitet; die neue Zelle setzt nicht sogleich den Cyclus der alten fort. Diese Zelle fällt also aus dem Rhythmus aus und bleibt zurück. Immer wieder verkümmern Zellen. So muß der Rhythmus notwendig in Verfall geraten, und so verstehen wir auch, wie die Tiere nach genügend langer Hungerzeit immer eine kontinuierliche Secretion zeigen.

Natürlich muß dieser Hypothese zufolge auch in der aktivierten Drüse endlich ein Rhythmusabfall erscheinen, wenn die Aktivierung lange anhält.

So betrachtet, ist die periodische Secretion nicht an die Aktivierungsdauer, sondern nur an deren Anfangspunkt gekettet. Natürlich können auch andere Faktoren am Rhythmusabfall beteiligt sein; dies alles ist aber noch reine Hypothese und muß erst an genauen Untersuchungen geprüft werden.

#### IV. Zusammenfassung.

##### *Allgemeines.*

1. Zur Beurteilung der Secretionsverhältnisse bei Verdauungsdrüsen genügen nicht Vergleichen von Hungertieren und willkürlich gefütterten Tieren, sondern man muß die Secretion Schritt für Schritt eingehend an Stufenuntersuchungen prüfen. Wir dürfen uns nicht leiten lassen von allgemeinen Eindrücken, sondern können nur Folgerungen ziehen nach Benutzung einer genauen Zählmethodik.

2. Eine Drüse secerniert rhythmisch, wenn sie als Einheit betrachtet den Zellarbeitscyclus zeigt.

3. Zur Feststellung rhythmischer Secretion genügt es, den Rhythmus einer einzigen der Arbeitsphasen nachzuweisen.

##### *Mitteldarmdrüse.*

4. Die von früheren Untersuchern vertretene Meinung, daß die mit Granula gefüllten Zellen der Mitteldarmdrüse die enzymsecernierenden

Zellen darstellten, welche ihre Secrete als gelbbraune Kugeln produzieren, ist richtig, weil die Fermentkraft im Kropfsaft nach jeder Granulaausscheidung steigt.

5. *Die Secretion ist von mir nur in festem Zustand gesehen worden, nachher eine extracelluläre Lösung. Vielleicht findet auch eine Flüssigkeitssecretion nach vorheriger intracellulärer Lösung statt.*

6. *Während der Hungerperiode secerniert die Drüse, erstens, weil immer einzelne secernierende Follikel auftreten, und zweitens, weil der Kropfsaft auch nach langem Hungern nie inaktiv ist.*

7. *Die Secretion während der Fütterung ist rhythmisch, das Secret wird schubweise ausgeschieden.*

8. Die basal in der Drüsenzelle auftretenden, sich mit Hämatoxylin tiefblau färbenden Körnchen sind wahrscheinlich als eine Vorstufe der Granula zu betrachten, weil sie nach einer Granulasecretion auftreten und wieder verschwinden, wenn die neue Secretwelle beginnt.

9. Mitteldarmdrüsenextrakte enthalten keine aktive Cellulase.

#### *Vorderdarmdrüse.*

10. *Die von früheren Untersuchern in der Vorderdarmdrüse beobachteten verschiedenen Zellarten sind lediglich verschiedene Phasen einer Drüsenzellart, Zellveränderungen behufs der secernierenden Funktion. Der in dieser Weise gebildete Secretionscyclus wird von jeder Drüsenzelle über die acht von mir beschriebenen Stadien durchlaufen.*

11. Diese Zellart liefert gleichzeitig Mucin und Enzyme.

12. *Während des Hungers findet eine schwache, kontinuierliche (chaotische) Secretion statt.*

13. *Der Fütterungsreiz schaltet diese kontinuierliche Secretion in eine rhythmische um.*

14. *Dieser Rhythmus wird ermöglicht, weil sich durch die Ausschaltung der Granulaphase ein kürzerer Arbeitscyclus bildet.*

15. *Die Secrete werden während des Hungers zeitweilig als Granula aufbewahrt, während der Fütterung aber sofort nach der Bildung ausgeschieden.*

## Literatur.

1. BARFURTH, D.: Über den Bau und die Tätigkeit der Gastropodenleber. Zool. Anz. **3**, 501. 1880. — 2. Ders.: Über den Bau und die Tätigkeit der Gastropodenleber. Arch. f. mikroskop. Anat. **22**, 473. 1883. — 3. Ders.: Das Glykogen in der Gastropodenleber. Zool. Anz. **6**, 652. 1883. — 4. Ders.: Vergleichend-histochemische Untersuchungen über das Glykogen. Arch. f. mikroskop. Anat. **25**, 269. 1885. — 5. BEST: Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie **23**, 319. 1906. — 6. BIEDERMANN, W. u. MORITZ, P.: Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung. I. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **73**. 1898. — 7. Dies.: Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung. II. Ebenda **75**, 1. 1899. — 8. Dies.: WINTERSTEINS Handb. d. vergl. Physiol. **2** (1), 939. 1911. — 9. BIERRY, H.: Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences **152**, 465 u. 904. 1911. — 10. Ders. u. GIAJA Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **61**. 1906. — 11. BONARDI, E.: Boll. sc. di Pavia **6**, 40. 1884. — 12. BRYGIDER, W.: Über den mikroskopischen Bau der Speicheldrüsen bei den Nudibranchiaten. Zeitschr. f. wiss. Zool. **110**, 358. 1914. — 13. FREDERICQ: Arch. de zool. exp. et gén. **7**, 391. 1878. — 14. GIAJA u. GOMPEL: Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **62**, 1198. 1907. — 15. GORKA, A.: Über die physiologische Funktion der Speicheldrüsen der Weinbergschnecke. Mathem.-naturw. Ber. Ungarn **23**, 156. 1905. — 16. GURWITSCH, A. v.: Morphologie und Biologie der Zelle 1904. 164—197. — 17. Ders.: Vorlesungen über allgemeine Histologie. Jena 1913. 210—250. — 18. HEIDENHAIN, M.: Plasma und Zelle **1**, 327—405. 1907. — 19. HIRSCH, G. CHR.: Die Ernährungsbiologie fleischfressender Gastropoden. I. Zool. Jahrb., Abt. f. Zool. u. Physiol. **35**, 357. 1915. — 20. Ders.: Die Ernährungsbiologie fleischfressender Gastropoden. II. Ebenda **36**, 199. 1917. — 21. Ders.: Der Arbeitsrhythmus der Verdauungsdrüsen. Biol. Zentralbl. **38**, 41. 1918. — 22. JORDAN, H.: Vergleichende Physiologie der wirbellosen Tiere **1**, 305. 1913. — 23. Ders.: ABDERHALDENS Handb. d. biol. Arbeitsmeth. Abt. **9**, **4**, 99. — 24. Ders.: VerdauungspHagocyten bei *Helix*. Aus der Natur **1916**. 49. — 24. Ders.: Phagoeytose und Resorption bei *Helix*. Arch. néerland. de physiol. de l'homme et des anim. **2**, 471. 1918. — 25. KRUKENBERG: Unters. d. physiol. Inst. Heidelberg **2**, 402. 1882. — 26. LANGE, A.: Über den Bau und die Funktion der Speicheldrüsen bei den Gastropoda. Anat. Hefte **19**, 89. 1902. — 27. LEVY, M.: Zeitschr. f. Biol. **27**, 339. 1890. — 28. MEISENHEIMER, J.: Die Weinbergschnecke. Leipzig 1912. 55—63. — 29. MONTI, R.: Le ghiandole salivari dei Gastropodi terrestri diversi periodi funzionali. Mem. dell'Ist. Lombardo **18**, 115—133. 1899. — 30. Ders.: Su le ghiand.

- dole salivari dei Gastropodi nei diversi periodi funzionali. Boll. sc. di Pavia 1899. — 31. PACAUT, M. et VIGIER, P.: Les glandes salivaires de l'escargot. Arch. de l'anat. microscop. 8, 426. 1906. — 32. SCHMALZ, E.: Zeitschr. f. wiss. Zool. 111. 1914. — 33. SEILLIÈRE, G.: Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 58, 409. 1905. — 34. Ders.: Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences 63, 141, 1048. 1905. — 35. Ders.: Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 63, 616. 1907. — 36. SEMPER, C.: Zeitschr. f. wiss. Zool. 8, 359. 1857. — 37. SOMOGYI: Beiträge zur Anatomie, Histologie und Physiologie des Ernährungstractus der Weinbergsschnecke. Inaug.-Diss. Budapest 1887. (Ungar.) — 38. YUNG, E.: Mém. couronnés de l'acad. roy. des sciences de Bruxelles 49. 1887.

et. g. u. 1928, 1928

ARBEITSRHYTHMUS DER  
VERDAUUNGSDRÜSEN  
BEI HELIX POMATIA

II. TEIL:

SEKRETION, RESORPTION UND  
PHAGOCYTOSE

B. J. KRIJGSMAN



---

VERLAGSBUCHHANDLUNG JULIUS SPRINGER  
IN BERLIN · 1928



# ARBEITSRHYTHMUS DER VERDAUUNGSDRÜSEN BEI HELIX POMATIA

II. TEIL: SEKRETION, RESORPTION UND PHAGOZYTÖSE

## PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN  
DOCTOR IN DE WIS- EN NATUURKUNDE  
AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT TE UTRECHT,  
OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS  
DR. H. TH. OBBINK, HOOGLEERAAR IN DE  
FACULTEIT DER GODGELEERDHEID, VOL-  
GENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNI-  
VERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN VAN  
DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUURKUNDE  
TE VERDEDIGEN OP VRIJDAG 21 SEPTEMBER  
1928, DES NAMIDDAGS VIER UUR, DOOR

BEREND JAN KRIJGSMAN  
GEBOREN TE ROTTERDAM

BIBLIOTHEEK DER  
RIJKSUNIVERSITEIT

6. OCT. 1928

UTRECHT.

---

VERLAGSBUCHHANDLUNG JULIUS SPRINGER  
IN BERLIN · 1928



## VORWOORD

Deze brochure is een uitgave van de Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam, die in 1911 is opgericht ter gelegenheid van het 100-jarig bestaan van de Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam.

De Akademie heeft in 1911 het 100-jarig bestaan gevierd en heeft ter gelegenheid daarvan een brochure uitgegeven, die in 1911 is opgericht ter gelegenheid van het 100-jarig bestaan van de Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam.

De Akademie heeft in 1911 het 100-jarig bestaan gevierd en heeft ter gelegenheid daarvan een brochure uitgegeven, die in 1911 is opgericht ter gelegenheid van het 100-jarig bestaan van de Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam.

De Akademie heeft in 1911 het 100-jarig bestaan gevierd en heeft ter gelegenheid daarvan een brochure uitgegeven, die in 1911 is opgericht ter gelegenheid van het 100-jarig bestaan van de Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam.

De Akademie heeft in 1911 het 100-jarig bestaan gevierd en heeft ter gelegenheid daarvan een brochure uitgegeven, die in 1911 is opgericht ter gelegenheid van het 100-jarig bestaan van de Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam.

De Akademie heeft in 1911 het 100-jarig bestaan gevierd en heeft ter gelegenheid daarvan een brochure uitgegeven, die in 1911 is opgericht ter gelegenheid van het 100-jarig bestaan van de Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam.

AAN DE NAGEDACHTENIS VAN JOHAN

AAN MIJN OUDERS

AAN MIJN AANSTAANDE VROUW



## VOORWOORD

...  
Bij het afsluiten van een tijdperk, dat mij zeer dierbaar is en waarvan ik zoo vele mooie herinneringen zal meedragen, is er een gevoel van groote dankbaarheid in mij.

Allereerst wend ik mij tot U, mijn Ouders. Gij hebt zooveel voor mij gedaan, Gij hebt een zoo grooten last van dankbaarheid op mij geladen, dat het niet in woorden uitgedrukt kan worden. Laat ik er daarom mee volstaan U te zeggen, dat ik alles wat ik van U ontving, zal gebruiken en beschouwen als mijn kostbaarste bezit.

Hooggeleerde Jordan, Hooggewaardeerde Leermeester en Promotor. Toen ik voor het eerst Uw boeiende colleges bijwoonde, heb ik gevoeld, dat de richting, waarin Gij U beweegt, voor mij de aangewezen weg was. Uw ruim inzicht in physiologische vraagstukken en Uw wijze van probleemstellen zullen het voorbeeld zijn, waarnaar ik mij zal trachten te richten. Gij hebt mij zeer veel geleerd, wat in mijn leven van groot nut zal zijn; Gij hebt mij groote vrijheid gelaten bij het bewerken van dit proefschrift. Daarvoor ben ik U ten zeerste dankbaar en ik hoop, dat ik nog meermalen Uw oordeel zal mogen vragen.

U, Hooggeleerde Nierstrasz, ben ik zeer erkentelijk voor alles wat Gij voor mij deedt. Ook de tijd, waarin ik het voorrecht had Uw assistent te zijn en daardoor Uw humanen en juisten blik op menschen en dingen leerde kennen, blijft voor mij onvergetelijk.

Hooggeleerde Went, het spijt mij meer dan ik zeggen kan, dat de omstandigheden mij de laatste jaren niet veroorloofden meer van Uw onderwijs te genieten. Voor hetgeen ik van U mocht leeren en voor de vriendelijke wijze, waarop Gij mij altijd tegemoet zijt gekomen, ben ik U hartelijk dankbaar.

Hooggeleerde Pulle, ik dank U zeer voor Uw onderwijs en be- treur het, dat ik zoo weinig gelegenheid had Uw colleges te volgen.

Hooggeleerde Kruyt, Uw in zoo helderen betoogtrant voorgedragen colleges hebben een grooten indruk op mij gemaakt. Ook voor de vriendelijke hulp, die Gij mij bij dit onderzoek verleend hebt, ben ik U zeer dankbaar.

Hooggeleerde de Blicck, U moet ik vooral dankzeggen daarvoor, dat Gij mij de practische zijde van wetenschappelijke vraagstukken hebt leeren kennen en daarvoor, dat Gij mij toestondt dit onderzoek in een laboratorium van Uw instituut uit te voeren.

Zeergeleerde Hirsch, waarde vriend. Van U heb ik methodisch werken geleerd, Gij hebt mij getoond, wat er te bereiken valt met organisatie en energie. In den tijd, dat ik bij U werkzaam was, is een belangrijk deel van den grondslag gelegd, waarop ik mij verder ontwikkelde. Als ik aan dien tijd terugdenk, is het met welgemeenden dank en volle erkenning van wat Gij voor mij deedt. Steeds zijt Gij, evenals nu, bereid geweest, mij behulpzaam te zijn met dikwijls geestdoodend werk. Mogen onze meeningsverschillen nooit de vriendschap, die zich tusschen ons ontwikkelde, verstoren.

Zeergeleerde Entz. De toewijding, waarmee Gij Uw leerlingen terzijde staat en Uw groote kennis op protozoologisch gebied, hebben bij mij groote achting voor U doen ontstaan. Van zeer veel nut is voor mij geweest de tijd, dat ik mij onder Uw leiding met protozoologische problemen bezighield. Voor alles wat ik van U mocht leeren ben ik U hartelijk dankbaar.

Ook U, zeergeleerde v. d. Willigen, een woord van dank voor de vriendelijke hulp mij verleend.

Allen, die mij op eenigerlei wijze behulpzaam waren tijdens mijn studie en bij dit onderzoek, ben ik zeer erkentelijk.

Tenslotte rest mij nog, hen, die mijn studietijd door hun vriendschap rijk maakten aan aangename uren, hartelijk dank te zeggen daarvoor.

### Inhaltsübersicht.

	Seite
Kap. I. Einleitung und Problemstellung . . . . .	188
Kap. II. Allgemeine Methodik . . . . .	189
Kap. III. Allgemeine Technik . . . . .	190
Kap. IV. Die Vorderdarmdrüse . . . . .	192
a) Allgemeines . . . . .	192
b) Methodik . . . . .	194
c) Technik . . . . .	195
d) Die Vorderdarmdrüse während des Hungerns . . . . .	197
aa) Statik der Hungerdrüse . . . . .	198
bb) Dynamik der Hungerdrüse . . . . .	201
e) Die aktivierte Vorderdarmdrüse . . . . .	207
aa) Statik der aktivierten Drüse . . . . .	207
bb) Dynamik der aktivierten Drüse und der Zurückgang zum Hungerzustand. . . . .	209
f) Die Ursachen der beobachteten Verhältnisse. . . . .	217
Kap. V. Die Mitteldarmdrüse. . . . .	221
Subkap. 1. Die Histologie der Mitteldarmdrüsensekretion . . . . .	221
a) Allgemeines . . . . .	221
b) Methodik . . . . .	222
c) Technik . . . . .	223
d) Histologie der Hungerdrüse. . . . .	226
aa) Statik der Hungerdrüse . . . . .	226
bb) Dynamik der Hungerdrüse . . . . .	228
e) Histologie der aktivierten Drüse . . . . .	234
aa) Statik der aktivierten Drüse . . . . .	234
bb) Dynamik der aktivierten Drüse . . . . .	234
Subkap. 2. Die Permeation in die Mitteldarmdrüse. . . . .	240
a) Allgemeines . . . . .	240
b) Die Permeation von diffusionsfähigen Substanzen . . . . .	245
aa) Methodik und Technik . . . . .	245
bb) Die Stufenuntersuchungen . . . . .	246

	Seite
c) Die Phagocytose . . . . .	252
aa) Methodik und Technik . . . . .	252
bb) Die Stufenuntersuchungen . . . . .	256
Subkap. 3. Der Kalziumphosphatgehalt der Mitteldarmdrüse . . . . .	257
a) Methodik und Technik . . . . .	257
b) Orientierende Versuche . . . . .	258
c) Die Stufenuntersuchungen . . . . .	259
Subkap. 4. Die Fermente der Mitteldarmdrüse . . . . .	263
Die Lipase . . . . .	263
aa) Methodik und Technik . . . . .	263
bb) Orientierende Versuche . . . . .	268
cc) Die Stufenuntersuchungen . . . . .	270
Subkap. 5. Wieviele und welche Zellarten gibt es im Epithel der Mittel- darmdrüse? . . . . .	272
Subkap. 6. Kurze Übersicht über die bei der Mitteldarmdrüse erhaltenen Resultate . . . . .	273
Kap. VI. Zusammenfassung . . . . .	275
Schrifttum . . . . .	277

### Kap. I. Einleitung und Problemstellung.

Als ich vor vier Jahren den ersten Teil (55) meiner *Helix*-Untersuchungen anfang, dachte ich die damals gestellten Probleme größtenteils lösen zu können; jetzt, während ich den zweiten Teil abschließe, verstehe ich, daß wir noch am Anfang sind. Manche Fragen habe ich zwar beantworten können, viele aber warten noch auf ihre Lösung und sehr viele neue Probleme tauchten auf.

Im ersten Teile fand ich bei der *Vorderdarmdrüse* eine rhythmische Sekretion während der Fütterung. Wie die Sekretion beim Hungertiere abläuft, wie der Übergang von der Hungerdrüse zur aktivierten Drüse zustande kommt, wie der Hungerzustand aus dem aktivierten Zustande entsteht; welches schließlich die Quellen des Fütterungsreizes sind —: das waren die ersten Aufgaben, welche ich mir in diesem zweiten Teile stellte.

Auch bei der *Mitteldarmdrüse* fand ich im ersten Teile eine rhythmische Sekretion während der Fütterung. In diesem zweiten Teile war es mir vor allem darum zu tun, auch hier das Verhältnis der Hungerdrüse zur aktivierten Drüse zu studieren. Daneben war, weil die Mitteldarmdrüse sich gut zum chemischen Versuch eignet, eine Untersuchung der Fermente in Beziehung zur histologischen Morphe angezeigt. Den Funktionen (Sekretion, Resorption, Exkretion) der Zellen des Mitteldarmdrüsenepithels nachzugehen und die Quellen der Aktivierung zu suchen waren ebenso Aufgaben, mit denen ich mich hier beschäftigte.

Daß dieses mir nur teilweise gelang, hat an erster Stelle seine Ursache darin, daß ich mit der Forschung an einem Punkte anlangte, wo die Stufenmethodik an vielen Tieren versagt. Man konnte dann nur weiter gehen durch Beobachtung der Verhältnisse an einem einzigen Tiere,

dem man in jeder Stufe ein Stück der Drüse entnimmt. Dies war aber bei *Helix* nicht möglich; viele Probleme blieben also unberührt.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. H. J. JORDAN danke ich herzlichst für das Interesse und Wohlwollen, daß er auch dieser Arbeit entgegenbrachte. Herr Prof. Dr. L. DE BLIECK hat mich zu großem Danke verpflichtet, weil er gestattete, daß die Arbeit in einem Laboratorium seines Institutes ausgearbeitet wurde. Mein Freund Dr. G. C. HIRSCH ist mit regem Interesse meinen Untersuchungen gefolgt. Daß ich ihm dafür und für die freundliche Durcharbeitung von Manuskript und Korrektur ganz besonders dankbar bin, brauche ich wohl nicht zu sagen.

## Kap. II. Allgemeine Methodik.

Im ersten Teile habe ich mich damit begnügt, zu untersuchen, wie die Verdauungsdrüsen sich benehmen während permanenter Fütterung; in diesem zweiten Teile habe ich mir, gestützt auf die Resultate des ersten Teiles, andere Aufgaben gestellt, wie ich in der Problemstellung auseinandersetze. Ich wollte jetzt den Einfluß der Fütterung auf die Drüsen studieren. Zu diesem Zwecke mußte ich Tiere, welche möglichst unter denselben Umständen lebten, eine bestimmte Zeit füttern und vor, während und nach der Fütterung den Prozeß verfolgen. Ich ließ also auf einen Ruhezustand die Fütterung als Reiz einwirken und beobachtete die Reaktion.

Um die sich dabei abspielenden Prozesse verfolgen zu können, mußte ich aber unbedingt die *Stufenmethodik* zur Hilfe rufen, bei welcher die zusammenhängenden Geschehnisse auch gleichzeitig registriert werden. Diese Stufenmethodik, welche von G. C. HIRSCH zuerst angewandt wurde (31), und die er in seinen weiteren Publikationen immer würdigte (32, 33, 34, 35, 36, 37) ist die einzige Methode, welche uns Einsicht in einen Prozeß gestattet, wenn es nicht möglich ist, den Prozeß beim lebenden Tiere direkt und ununterbrochen zu verfolgen (siehe auch KRIJGSMAN 55, 56, 57, 58, 59). Es sagt JORDAN in der Einleitung seiner *Vergl. Physiologie* (50 a): „Eine Fülle von Ereignissen erzielt dauernd einen scheinbar stabilen Zustand, wie der Strom eines Flusses an einer bestimmten Stelle eine bestimmte Welle dauernd erzeugen kann, die aus der Ferne den Eindruck erweckt, als sei sie ein einziger fester Körper; doch ist das Wasser, das sie bildet, in jeder Sekunde ein anderes.“ Wenn wir nun nicht imstande sind, die Welle fortwährend zu beobachten, so nehmen wir wenigstens in gewissen Zeitabständen eine Wasserprobe! Es ist dies offenbar sehr klar; und doch sagt BIEDERMANN (5) noch, wenn er die Resorption bei *Helix* bespricht: „Offenbar kommt es sehr darauf an, daß ein ganz bestimmtes Stadium der Verdauung getroffen wird, was nur durch Zufall erreicht werden kann.“ Erst in den letzten Jahren beginnt es

durchzudringen, daß man diesem Zufall wohl einigermaßen zur Hilfe kommen kann!

Es war also hier sicher angezeigt, die Prozesse an Stufen zu studieren; es konnten aber leider die Stufen nicht einem einzigen Tiere entnommen werden; *Helix* erträgt solche Eingriffe nicht. Als Ersatz habe ich nun die Stufen an verschiedenen Tieren verfolgen müssen, welche unter gleichen Umständen lebten und dem gleichen Reiz (der Fütterung) ausgesetzt wurden. Natürlich wird hiermit ein Fehler eingeschleppt: die immer vorhandenen individuellen Unterschiede. Wenn man aber keine Schlüsse zieht, welche möglicherweise auf die individuellen Unterschiede zurückzuführen wären, so lassen sich diese Klippen vermeiden.

Da ich auch Resorption und Phagocytose der Mitteldarmdrüse untersuchen wollte, war es wohl am einfachsten, dem Futter resorbierbare und phagocytierbare Substanzen beizugeben. Dies habe ich getan in der im folgenden Abschnitt besprochenen Weise.

### Kap. III. Allgemeine Technik.

Die Stufenuntersuchungen wurden angestellt Ende November und Anfang Dezember. Ich wählte Tiere, welche im tiefsten Winterschlaf waren. Tiere, welchen Stücke aus Schale oder Schalendeckel fehlten, oder die eine regenerierte Schale hatten, wurden nicht in die Untersuchungen einbezogen, da dies Fehler bei der Kalkuntersuchung hervorrufen könnte. Die Tiere wurden nach sorgfältiger Entfernung der Schalendeckel und ihrer Membranen abgewaschen und in einer feuchten Kammer bei 22° C aufgestellt. Die Schalendeckel und -membranen müssen entfernt werden, weil die Tiere öfters sofort nach dem Erwachen anfangen, diese Dinge zu fressen; es können die Radulabewegungen Einfluß auf die Drüsensekretion ausüben. Ich ließ die Tiere hungernd 48 Std. herumkriechen; Tiere, die dabei Freßbewegungen machten, wurden aus demselben Grunde entfernt.

Nach 48 Std. wurde den Tieren das Futter vorgesetzt; ich ließ sie genau 30 Min. fressen. Tiere, welche diese Zeit nicht ununterbrochen und gerne Futter aufnahmen, wurden entfernt. Das erste Tier tötete ich direkt nach Ablauf dieser Mahlzeit (0 Std.), das zweite  $\frac{1}{2}$  Std. nach dem Ende der Mahlzeit ( $\frac{1}{2}$  Std.), usw. bis 12 Std. nach Fütterungsende. Jede Serie enthielt also 25 Tiere.

Es kommt nun vor, daß Tiere so vom Freßakt in Anspruch genommen werden, daß sie auch noch Radulabewegungen machen, wenn das Futter schon lange fortgenommen ist. Man muß sie dann, um keine Fehler bei der Untersuchung der Sekretion einzuschleppen (der Reiz durfte ja nur 30 Min. dauern), aus diesem Zustande des Genießens erwecken durch einen kräftigen Stich in den Fuß; sanftere Maßnahmen helfen nicht.

Die Tiere wurden folgendermaßen *verarbeitet*: Die Schale wurde schnell zerstückelt und die Farbe des Blutes bestimmt (vgl. Resorption S. 245 und 246). Dann ließ ich das entschaltete Tier auf einem Präparierschälchen mit Wachsboden kriechen und fesselte den Fuß hinten mit einer Stecknadel; dadurch streckte sich das Tier weit nach vorn. Mit einer zweiten Stecknadel stach ich quer durch das ganze Tier hindurch und fesselte es so völlig. Mit Hilfe von Schere und Pinzetten (chirurgische Pinzetten, anatomische Pinzetten haften nicht) schnitt ich das Tier schnell auf. Die beiden Vorderdarmdrüsen wurden vom Kropfe abpräpariert und zusammen in das Fixationsgemisch geworfen; die Mitteldarmdrüse wurde freigelegt und die Verbreitung der Nahrung in den Darmtraktus festgestellt. Schnell wurde ein Stück der Mitteldarmdrüse ausgeschnitten und in das F.A.C.-Gemisch (siehe S. 196 Tab. I) geworfen, der Rest für die Fermentuntersuchung weiter verarbeitet (siehe Technik LIPASE S. 266). Die ganze Präparation nimmt bei einiger Übung nur etwa 4 Min. in Anspruch.

Mittel- und Vorderdarmdrüsen wurden in ihren Gemischen 1 Std. fixiert, sodann (die Vorderdarmdrüse nach Jodbehandlung) weiter geführt bis Paraffin<sup>1</sup>. Die weitere Verarbeitung wird in den speziellen Techniken unten beschrieben.

Als Grundsubstanz für das Futtermischungs wählte ich Mehl. (Kartoffel ist hier nicht zu verwenden, sie läßt sich zu wenig mit den andern Futtersubstanzen mischen.)

Es wurden zwei Parallelserien hergestellt: in der K.B.N.-Serie mischte ich das Mehl mit medizinischem Norit, Staphylokokken und Lithionkarminlösung. In der T.T.-Serie fügte ich dem Mehl Trypanblaupulver und Kohlenpulver C VIII, 45 bei (siehe Technik Phagocytose S. 255).

Es gab einige Schwierigkeiten, die so hergestellten Futtermischungen den Tieren beizubringen, denn die Gemische riechen unangenehm; die Tiere verweigern also die Nahrung; sie kriechen schon in einiger Entfernung vom Futter ab, wenn es ihnen vorgehalten wird. Um diesen Geruch zu ändern, habe ich den Futtermischungen Bergamottöl beigegeben. Das gefiel ihnen schon besser; sie krochen schnell heran und begannen zu fressen. Nach einigen Bissen aber machten sie wieder halt und krochen davon. Das Futter schmeckte also noch unangenehm. Um auch dies zu überwinden fügte ich dem Futter nach einigen mißglückten Versuchen Saccharoselösung und Honig bei. Nun gelang es, die Tiere zu füttern.

Das Futter für die K.B.N.-Serie stellte ich in folgender Weise zusammen: 2 Volumteile Mehl und einen Volumteil Norit wurden im Mörser gemischt, sodann wurden die abzentrifugierten Sedimente der 10 Staphylokokkenculturen<sup>2</sup> zugefügt (siehe Technik Phagocytose S. 254) und wieder gemischt. Dann wurde solange eine Mischung von 200 ccm

<sup>1</sup> Betreffend die Entwässerung in Alkohol absol. sei bemerkt, daß man eine schnelle und vollständige Entwässerung erzielt, wenn man den Boden des Gefäßes mit einer Baumwollschicht bedeckt, es liegen die Objekte dann nicht auf dem Boden, wo sich das schwerere Wasser ansammelt.

<sup>2</sup> Man übe Vorsicht bei der Präparation der Tiere, die Staphylokokken sind nicht harmlos!

Lithionkarminlösung<sup>1</sup> + 20% Saccharose + 2 Tropfen Bergamottöl zugefügt, bis ein dünner Teig entstand.

Das Futter für die T.T.-Serie war: 1 Volumteil Kohlenpulver C VIII, 45 (s. S. 255) und  $\frac{1}{4}$  Volumteil Trypanblaupulver in einem Mörser verreiben, sodann 2 Volumteile Mehl beifügen, gut mischen, dann  $\frac{1}{2}$  Volumteil Honig beifügen und mit der Flüssigkeit A zu einem dünnen homogenen Teig zerreiben. (Flüssigkeit A: Sirup. simplic. 100. + Aqua dest. 100. + Ol. bergamott. gtt II.)

Es tritt bei den *Stufenuntersuchungen* leicht eine gefährliche Subjektivität ein. Um diese ganz auszuschließen habe ich auf meinen histologischen Präparaten niemals die Zeit notiert. Sie bekamen eine Ziffer aus der sich nichts über die Zeit schließen ließ; es stand der Zusammenhang nur im Protokollbuch notiert (die oSt.-Stufe hatte so z. B. die Nummer T. T. 27 oder K. B. N. 9) und wurde nur nachgeschlagen, wenn alle Beobachtungen notiert waren.

#### Kap. IV. Die Vorderdarmdrüse.

##### a) Allgemeines.

Im ersten Teile meiner *Helix*-Arbeit (I. Teil, S. 265) habe ich die Auffassung vertreten, es gäbe im allgemeinen zwei Arbeitsweisen der Drüsenzellen. Das geschah in Anklang an die Zerlegung der Drüsenzellarbeit in verschiedene Phasen, welche Phasen von G. C. HIRSCH (31) in folgender Weise definiert wurden:

1. Die Aufnahme der Rohstoffe aus dem Blute.
2. Die Umarbeitung dieser Rohstoffe zu Vorstoffen.
3. Die Umbildung der Vorstoffe zum Sekret.
4. Die Ausscheidung der Sekrete.

Ich habe damals zwei Arbeitsweisen unterschieden:

a) Die rhythmisch (periodisch) sezernierende Zelle. Die Arbeitsphasen sind zeitlich getrennt; es nimmt also die Zelle erst Rohstoffe aus dem Blute auf, bildet sie dann um zu Sekreten und ist dann erst imstande, diese Sekrete auszuschleiden. Dieser Zelltypus zeigt zu verschiedenen Zeiten eine verschiedene Morphe<sup>2</sup>.

b) Die kontinuierlich sezernierende Zelle. Die Arbeitsphasen sind nicht zeitlich getrennt, sondern geschehen zu gleicher Zeit in einer und

<sup>1</sup> Lithionkarminlösung wird hergestellt aus einer gesättigten wässrigen Lösung von Lithionkarbonat, der man unter Kochen Karminpulver beigibt (3 bis 5 g Karminpulver auf 100 ccm Flüssigkeit). Man läßt kalt werden und filtriert.

<sup>2</sup> Es muß diese Zelle unbedingt rhythmisch arbeiten, denn nach der Ausscheidung der Sekrete ist sie völlig sekretleer, sie befindet sich in einer refraktären Periode und sämtliche Reize werden nicht imstande sein, sie zur Sekretausscheidung zu bringen, weil sie keine Sekrete besitzt.

derselben Zelle. Es nimmt also die Zelle basal dauernd Rohstoffe auf, arbeitet diese stetig zufließenden Rohstoffe dauernd zum Sekret um und scheidet apikal kontinuierlich die sich stetig bildenden Sekrete aus. Dieser Zelltypus zeigt also prinzipiell immer zu verschiedenen Zeiten dieselbe Morphe<sup>1</sup>.

Wie steht es nun mit der Sekretion der Drüse als Ganzes? Wie wir im ersten Teile feststellten, gibt es auch hier verschiedene Möglichkeiten<sup>2</sup>.

a) Die Drüse arbeitet *rhythmisch*. Dies findet statt wenn die rhythmisch sezernierenden Zellen synchron arbeiten, also alle zu gleicher Zeit dieselbe Phase repräsentieren. Es scheidet also die Drüse ihre Sekrete in Wellen aus, die Sekrete fließen intermittierend ab (siehe auch HIRSCH).

b) Die Drüse arbeitet *kontinuierlich*. Dies ist möglich:

aa) Wenn die Drüse aus kontinuierlich arbeitenden Zellen besteht, oder

bb) wenn die rhythmisch arbeitenden Zellen in ihren zeitlichen Beziehungen zueinander chaotisch arbeiten, jede Zelle also unabhängig von den andern Zellen ihren Arbeitszyklus durchläuft. Es werden in diesem Fall wohl in jedem Augenblicke zufälligerweise einige Zellen da sein, welche eben ihre Sekrete ausstoßen; es wird also ein kontinuierlicher Sekretstrom durch den Drüsenkanal abfließen.

Dies alles ist nur dann richtig, wenn der Reiz, von dem die Drüse zur Arbeit angetrieben wird, konstant ist. Wenn dies nicht der Fall ist, so wird die aus kontinuierlich arbeitenden Zellen aufgebaute Drüse äußerlich auch einen Sekretionsrhythmus zeigen können, weil die Zellen eine Zeitlang schneller oder langsamer arbeiten<sup>3</sup>. Dagegen wird bei einer aus rhythmisch arbeitenden Zellen aufgebauten Drüse der erhöhte Reiz, wenn die Zellen synchron arbeiten, nur den bestehenden Rhythmus beschleunigen können; oder es wird, wenn die Zellen nicht zusammenarbeiten, ein äußerlicher Rhythmus vorgetäuscht wie bei der aus kontinuierlich arbeitenden Zellen aufgebauten Drüse.

Im ersten Teile habe ich bewiesen, daß die Vorderdarmdrüse von *Helix* besteht aus rhythmisch arbeitenden Zellen, welche während der

<sup>1</sup> Während wir uns bei der rhythmisch sezernierenden Zelle eine merokrine, apokrine oder holokrine Sekretion vorstellen können, kann die kontinuierlich arbeitende Zelle dagegen nur merokrin sezernieren (vgl. HIRSCH u. JACOBS [36]). H. J. JORDAN hat neuerdings die Begriffe „Morphokinese“ und „Morphostase“ eingeführt; eine Besprechung dieser Begriffe, welche sich mit den oben genannten „rhythmisch“ und „kontinuierlich“ decken, führte zu weit, ich verweise auf die diesbetreffende Arbeit (50).

<sup>2</sup> Wir reden hier nur von der Drüsenarbeit, veranlaßt durch einen konstanten Reiz.

<sup>3</sup> Darum kann man aus Fermentprüfungen allein niemals das histologische Bild rekonstruieren.

Fütterung synchron arbeiten, also zu einer typisch rhythmischen Drüsensekretion Anlaß geben. Weiter behauptete ich, zwar nur durch wenig Beobachtungen gestützt, daß während des Hungerns durch achrone chaotische Arbeit der Zellen eine kontinuierliche Drüsensekretion vorliege. Über die Wiederherstellung des Hungerzustandes und den Rhythmusabfall konnte ich nur Vermutungen äußern. — In diesem zweiten Teile habe ich erstens den Hungerzustand weiter analysiert und zweitens den Zurückgang des Fütterungszyklus zum Hungerzyklus sowie den Abfall des Rhythmus verfolgen können. Wie dies ermöglicht wurde, werden wir bei der Besprechung der Methodik sehen.

#### b) Methodik.

Wir haben damals im ersten Teile gesehen (S. 289), wie beim Fütterungsanfang eine Anzahl Arbeitsstadien ausgeschaltet werden, und schon eine halbe Stunde, nachdem das Tier zu fressen angefangen hat, die Granulaphase des Hungerns völlig überschlagen wird. Es ist also nicht möglich bei Stufen von dreißig Minuten die Entstehung der Fütterungsbahn weiter zu analysieren. Wenn wir aber die Stufen kleiner nehmen, so machen sich die individuellen Schwankungen störend bemerkbar; kürzere Stufen wären also nur durchführbar, wenn wir die Zelldynamik bei einem und demselben Tier verfolgen könnten. Wenn es also nicht möglich ist, bei  $\frac{1}{2}$  Std.-Stufen die Entstehung der Fütterungsbahn zu verfolgen, so besteht doch vielleicht die Möglichkeit, die Entstehung des Hungerzyklus aus dem Fütterungszyklus zu erfassen. Dieser Hungerzyklus wird sich einstellen nach der Fütterung. Darum habe ich (wie S. 189 schon gesagt) gleiche Tiere eine halbe Stunde fressen lassen und die Beobachtung erst nach dieser Fütterung angefangen. Wenn die Wiederherstellung des Hungerzyklus aus dem Fütterungszyklus nun auch innerhalb einer halben Stunde von statten geht, so ist natürlich auch dann ein tieferer Einblick in das Geschehen unmöglich. Geht die Wiederherstellung des Hungerzustandes aber langsamer vor sich, so muß eine Analyse möglich sein. Dabei war auch meine Absicht, die Granulaphase, welche doch eigentlich aus drei Stadien zusammengesetzt ist, in ihre Komponente zu zerlegen. Es sei hier gleich gesagt, daß mir dieses gelungen ist.

Weiter war es, wie schon S. 188 gesagt, meine Absicht, wenn möglich auch den Ursachen dieser Verhältnisse nachzuspüren. Im ersten Teile wurde lediglich untersucht, wie die Drüsenprozesse in der Zeit verlaufen; alle Faktoren, welche diesen Verlauf beeinflussen könnten, wurden konstant gehalten. Dies kann man hinsichtlich des Fütterungszustandes auf zwei verschiedene Weisen tun: man beobachtet die Drüse *während* des konstanten Hungerns oder *während* der konstanten Fütterung. Im ersten Teile beobachtete ich die Drüse hauptsächlich während der Fütterung; jetzt habe ich erstens die Drüse während des Hungerns

untersucht; zweitens aber wurde jetzt verfolgt, welchen Einfluß eine *kurzdauernde Fütterung* auf dieses sich in der Zeit bewegende System ausübt. Ich ließ also einen Faktorenkomplex (die Fütterung) eine bestimmte Zeit (eine halbe Stunde) als Reiz auf die Hungerdrüse einwirken.

Daß ich aber bei der Analyse dieser Vorgänge die Stufenzählmethodik, welche mir damals schon solche guten Dienste geleistet hat (für Einzelheiten und Prinzip KRIJGSMAN (55), JORDAN und HIRSCH [50]), und deren Anwendbarkeit jetzt von HIRSCH und JACOBS (36, 37) durchaus bestätigt ist, wieder verwenden mußte, ist ohne weiteres klar. Die Ausführung derselben wird in der folgenden Technik beschrieben.

### c) Technik.

Für Allgemeines betreffend Stufen und Sekretion sei auf die allgemeine Technik (S. 190) verwiesen. Im ersten Teile habe ich, nachdem orientierende Versuche es mir als das geeignetste Verfahren anwiesen, immer die Fixation der Vorderdarmdrüse mit dem BOUINSCHEN Gemisch vorgenommen. Weil diese Fixierungsflüssigkeit mir jedoch nicht in allen Hinsichten gut gefiel, habe ich hier noch einmal die Wirkung von verschiedenen *Fixierungsgemischen* verglichen. Dabei habe ich vorwiegend die Fixierung des Kernes, des Plasmas, der Granula und des Mucins in Betracht gezogen, weil dies eben die Punkte sind, auf welche es zur Erkennung der verschiedenen Stadien hauptsächlich ankommt. Die Resultate, welche immer an mehreren Färbungsmethoden geprüft wurden, sind kurz in der nächsten Tabelle (Tab. 1) zusammengefaßt.

Eine einstündige Fixation in einem Gemisch von Sublimat und Kaliumbichromat bringt, wie wir sehen, die besten Resultate; Plasma, Granula und Mucin werden gut fixiert und insbesondere die Kernstrukturen kommen schön heraus<sup>1, 2</sup>.

Auch hinsichtlich der *Färbung* habe ich mich in verschiedener Richtung orientieren wollen. Folgende Färbungen wurden versucht: ROMANOWSKY-Feuchtfärbung, Alaunhämatoxylin-Pikrinsäure, Alaunhämatoxylin-Lichtgrün, Alaunhämatoxylin-Eosin, HEIDENHAINS Eisenhämatoxylin, Methylgrün, Gentianaviolett. Die besten Resultate gaben Alaunhämatoxylin-Eosin und Gentianaviolett-färbungen, weil bei der ersten Färbung die Auflösungsstadien der Granula, bei der zweiten Färbungsweise die Granula selbst und ihr Bildungsstadium sehr schön zu studieren waren. Ich habe beide Färbungen immer nebeneinander angewandt.

Es wurde nun bei den Stufenuntersuchungen folgendermaßen verfahren: Die vom Vorderdarm des eben getöteten Tieres (Einzelheiten siehe allgemeine Technik S. 190) abgelösten Vorderdarmdrüsen wurden in das Sublimat-Kalium-

<sup>1</sup> Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, daß Isotonie mit der Fixation nichts zu tun hat (HIRSCH und JACOBS [35]).

<sup>2</sup> Man soll diese Fixierungsflüssigkeit nicht bei einer Temperatur niedriger als 15° C aufbewahren, weil sonst ziemlich viel Sublimat auskristallisiert.

Tabelle 1. Die Fixierung der Vorderdarmdrüse in verschiedenen Flüssigkeiten.

Fixierungs-Flüssigkeit	Fixierte Zeit Stunden	Resultat
Äthylalkohol absol.	1	schlecht
Methylalkohol	1	sehr schlecht
Formalin 7% in Aqua destillata	4 $\frac{1}{2}$	schlecht (insbesondere das Mucin war schlecht fixiert)
Bouin (75 c. c. gesätt. wässrige Pikrinsäure, 25 c. c. Formaldehyde 33 $\frac{1}{3}$ %, 5 c. c. Eisessig)	2 $\frac{1}{2}$	ziemlich gut (das Mucin nicht ganz gut, Granula manchmal nur teilweise erhalten)
ZENKERSche Flüssigkeit	3	gut
F. A. C. Gemisch (Alkohol absol. 60 c. c., Formaldehyde 33 $\frac{1}{3}$ % 20 c. c., Chloroform 20 c. c.) <sup>1</sup>	1	gut, Kernstruktur aber unbefriedigend
Sublimat gesättigt wässrig	2	ziemlich gut
SCHAUDINNSche Flüssigkeit (Sublimat wässrig gesättigt 100 c. c., Alcohol. absol. 50 c. c., Eisessig 3 c. c.)	2	ziemlich gut
Gemisch von Sublimat wässrig gesättigt 100 c. c., Eisessig 2 c. c., hierzu 3 g Kaliumbichromat <sup>1</sup>	1	gut
Gemisch von Sublimat wässrig gesättigt 100 c. c., hierzu 3 g Kaliumbichromat <sup>1</sup>	1	sehr gut

bichromatgemisch gebracht und hierin 1 Std. fixiert. Dann wurde nach Heraus-  
holen die anhaftende Flüssigkeit mittels Filtrierpapier abgesaugt und das Objekt  
gleich in LUGOLsche Lösung (Jod 2 g, Jodkalium 3 g, Alkohol 90% 100 ccm) ge-  
bracht. Nach 24stündigem Verweilen in diesem Gemisch wurden die Drüsen  
weiter durch die Alkoholenreihe, Xylol usw., geführt und in Paraffin zusammen  
eingebettet (Alkohol 70% 2 Std., Alkohol 96% 1 Std., Alkohol 100% 1 $\frac{1}{2}$  Std.,  
Xylol 2 Std., Xylolparaffin 2 Std., Paraffin 2 Std.). Sodann wurden zwei Objekt-  
träger mit Schnitten von 10  $\mu$  Dicke hergestellt, wobei nicht alle Schnitte von  
demselben Teil der Drüse stammten, sondern aus der ganzen Drüse hier und da  
Schnitte genommen wurden, damit bei den Beobachtungen keine lokale Verhält-  
nisse verallgemeinert würden. Einer dieser Objektträger wurde nach Entparaf-  
finierung usw. gefärbt in Alaunhämatoxylin (nach DELAFIELD) 5 Min., abge-  
spült in Leitungswasser, 2 Min. differenziert in salzsaurem Alkohol 35% (1 $\frac{1}{2}$ %  
Salzsäure offiz.), bis zur Blaufärbung in basischen Alkohol (Alkohol 35% + 1 $\frac{1}{5}$ %  
Natriumkarbonat) getaucht, durchgeführt durch die Alkoholenreihe, 30 Sek. ge-  
färbt in Alkohol-Eosin (1% Eosin in Alkohol 90%)<sup>2</sup> und in Kanadabalsam ein-  
geschlossen.

<sup>1</sup> Nach KRIJGSMAN, siehe Mitteldarmdrüse-Technik. S. 223.

<sup>2</sup> Bei Färbung in Eosin muß man darauf achten, daß alles Natriumkarbonat  
des basischen Alkoholes aus den Schnitten entfernt ist, sonst haftet die Eosin-  
färbung nicht.

Die Schnitte des zweiten Objektträgers wurden gefärbt in Gentianaviolett-lösung (betreffend der Herstellung der Farbstofflösung usw. siehe Technik Phagocytose S. 255) 5 Min., sehr kurz abgespült in Leitungswasser, 2 Min. in LUGOLscher Lösung (Jod. 1 g, Jodkalium 2 g, Aq. dest. 300 ccm) eingetaucht, nach Weiterführen durch die Alkoholenreihe usw. in Alkohol 96% eine Differenzierung angefangen, in Alkohol 100% diese Differenzierung vollendet (bis keine sichtbare Farbstoffwolken mehr abgehen) und in Kanadabalsam eingeschlossen.

Die *Ausführung der Stufenzählmethodik* ging in folgender Weise vor sich (siehe auch Teil I, S. 286): Durch vorhergehendes Studium wurde festgelegt, welche Arbeitsstadien der Drüsenzellen ich zählen wollte. Nun wurde in jedem Schnitte in fünf verschiedenen Gesichtsfeldern die Anzahl der verschiedenen Stadien festgestellt und dies bei noch vier andern Schnitten desselben Objektträgers wiederholt. Ich bekam so für jeden Objektträger und für jedes Stadium fünfundzwanzig Zahlen. Davon wurde die Durchschnittszahl bestimmt und diese in Prozenten der gesamten gezählten Zellquantität umgerechnet. Jedes Stadium gab also einen Prozentwert für das Gentianaviolettpräparat und einen für das Hämatoxylin-Eosinpräparat. Zum Schluß wurde von diesen zwei Prozentzahlen der Durchschnitt genommen. Die Fehler, welche bei einseitiger Beobachtung (durch nur eine Art Färbung) einschleichen könnten, wurden also auf diese Weise eliminiert. Die erhaltenen Prozentzahlen sind gewonnen aus fünfzig Zählungen bei zwei verschiedenen Färbungen.

#### d) Die Vorderdarmdrüse während des Hungerns.

Wegen der älteren Literatur verweise ich auf den ersten Teil (S. 277).

Es sind mir in letzter Zeit nur wenig Arbeiten bekannt geworden, welche einigermaßen mit diesem Thema zu tun haben. Es ist dies erstens eine Arbeit von BOWEN (7), welcher sich hauptsächlich mit dem GOLGI-Apparat beschäftigt. BOWEN sagt selbst, daß er eigentlich nicht versteht, wie die Sekretion vor sich geht. Nur sagt er, daß er eine Schwankung in der Anzahl von bestimmten Zelltypen wahrnimmt. Seine Technik, welche auf den GOLGI-Apparat gerichtet ist, genügt nicht, um die Sekretion zu studieren.

Weiter möchte ich noch hinweisen auf die Arbeit von ZIEGLER (112), der histologisch die Speicheldrüsen von Rind, Ziege und Schaf untersucht. Er beobachtet beim Rinde nur eine Zellart, welche Mucin und zu gleicher Zeit Fermente liefern soll. Hier gibt es also keine Trennung in mukösen und serösen Zyklus!

FRANKENBERGER (21) studierte die Speicheldrüsen bei *Arion*, eine Untersuchung im alten Stile, welche doch eine einzige nennenswerte Tatsache bringt. Er beobachtet nämlich die Abstoßung von Zellen in *allen* Stadien der Arbeit in den Ausführungsgang; dies ist wohl ein Herauswerfen der abgenutzten Zellen.

aa) *Statik der Hungerdrüse.*

Im ersten Teile beschrieb ich verschiedene Arbeitsstadien der Drüsenzelle, welche ich nachher zu einem bestimmten Entwicklungszyklus zusammenfügte (S. 281). Da ich jetzt diesen Entwicklungszyklus ausbreiten kann, so kommt es mir nicht überflüssig vor, hier aufs neue die Histologie eingehend darzustellen. Ich habe jetzt folgende Stadien unterscheiden können, welche immer alle in der Hungerdrüse vertreten sind:

*Stadium I* (Abb. 1). Der Kern ist groß, rund, blasenförmig; das in großer Menge anwesende Chromatin ist regelmäßig in Form von Körnern (tiefblau mit Alaunhämatoxylin, dunkelviolet mit Gentianaviolett) im farblosen Kernstroma verteilt. Nucleoli oft nachweisbar. Das Plasma fand ich homogen, manchmal granuliert oder eine Schaumstruktur zeigend; es färbt sich schwach rot mit Eosin.

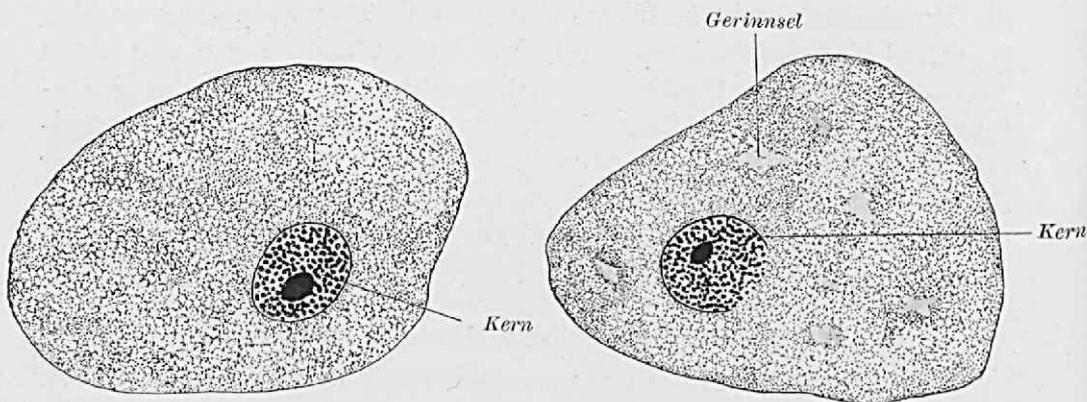


Abb. 1. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. I.  
Erklärung im Text.

Abb. 2. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. II.  
Erklärung im Text.

*Stadium II* (Abb. 2). Der Kern und das Plasma zeigen etwa dasselbe Bild wie im Stadium I, die Kernmembran ist aber teilweise verschwunden. Es macht den Eindruck, als ob Chromatinkörner aus dem Kerne in das Plasma übergehen. Im Plasma treten ab und zu eigentümliche fast farblose Gerinnsel auf, welche mit der angewandten Technik für weiteres Studium unzugänglich sind.

*Stadium III* (Abb. 3). Der Kern ist ziemlich groß, mit ziemlich viel Chromatin, manchmal sind Nucleoli zu sehen; die Kernmembran ist gelegentlich teilweise verschwunden. Im homogenen, mit Eosin sich schwach rot färbenden Protoplasma treten runde Gebilde auf, vielleicht in kleinen Alveolen eingebettet, welche sich mit Gentianaviolett sehr schwach bläulich färben, nach Alaunhämatoxylinfärbung aber niemals nachweisbar sind, weil sie gar keine Farbe annehmen. Nach Alaunhämatoxylinbehandlung ist also eigentlich keiner oder nur ein sehr geringer Unterschied zu sehen zwischen den Stadien II und III. (Darum werden II und III nachher auch zusammen gezählt. Siehe S. 203.)

*Stadium IV* (Abb. 4). Der Kern ist mäßig groß mit mäßigem Chromatingehalt. Das Plasma färbt sich rot mit Eosin. Die Zelle ist dicht angefüllt mit Granula, welche bei der Gentianaviolett färbung tief blauviolett erscheinen, bei der Alaunhämatoxylinfärbung farblos bis gelb-

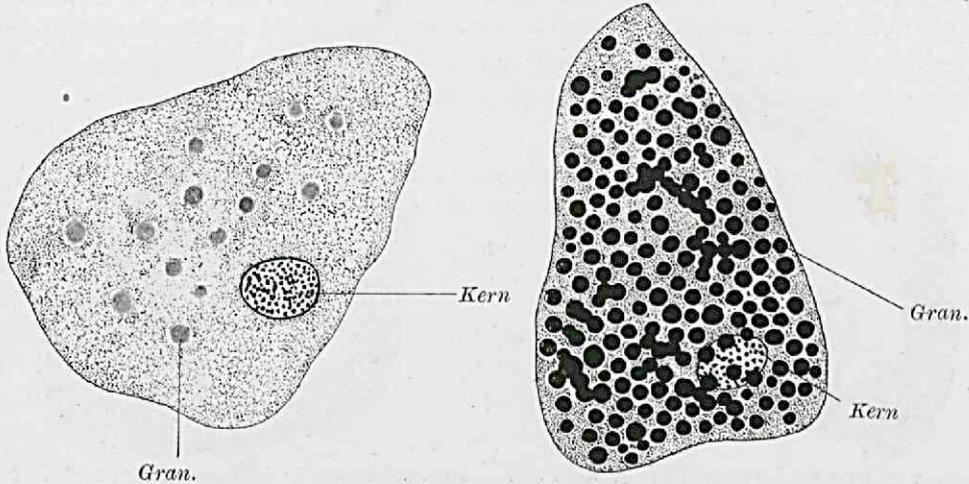


Abb. 3. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. III. Erklärung im Text.

Abb. 4. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. IV. Erklärung im Text.

orange sind, in beiden letzten Fällen aber aufleuchtend. Vom Plasma ist nur wenig zu sehen, da es von den Granula fast völlig verdrängt ist.

*Stadium V* (Abb. 5). Der Kern enthält wenig Chromatin und hat

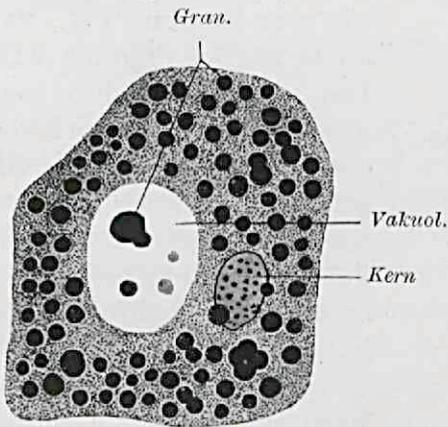


Abb. 5. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. V. Erklärung im Text.

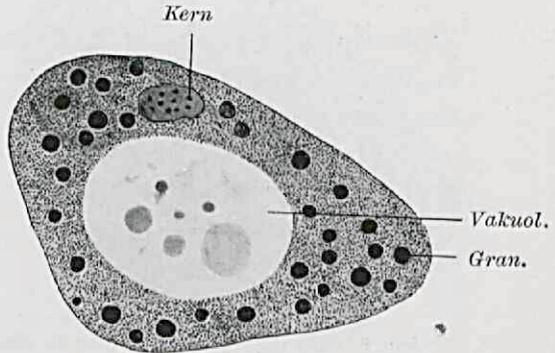


Abb. 6. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. VI. Erklärung im Text.

oft eine mehr oder weniger gerunzelte Kontur. Er färbt sich mit Gentianaviolett rotviolett, in dieser Masse sind noch dunkle Chromatinkörner verkennbar. Das Plasma, welches Granula enthält wie im Stadium IV, färbt sich rot mit Eosin. Es tritt in der Nähe des Kernes eine glattkonturierte Vakuole auf, in der Granula von ungleicher Größe bemerkbar sind, welche sich verschiedenartig färben (violett-rosagelblich).

*Stadium VI* (Abb. 6). Hauptsächlich wie Stadium V, nur ist die Vakuole größer und enthält öfters neben schwach rötlich gefärbten Granula ein präzipitatähnliches farbloses Gerinnsel.

*Stadium VII.* (Abb. 7). Der Kern ist klein, chromatinarm mit gerunzelter Kontur; er färbt sich mit Eosin rot und mit Gentianaviolett

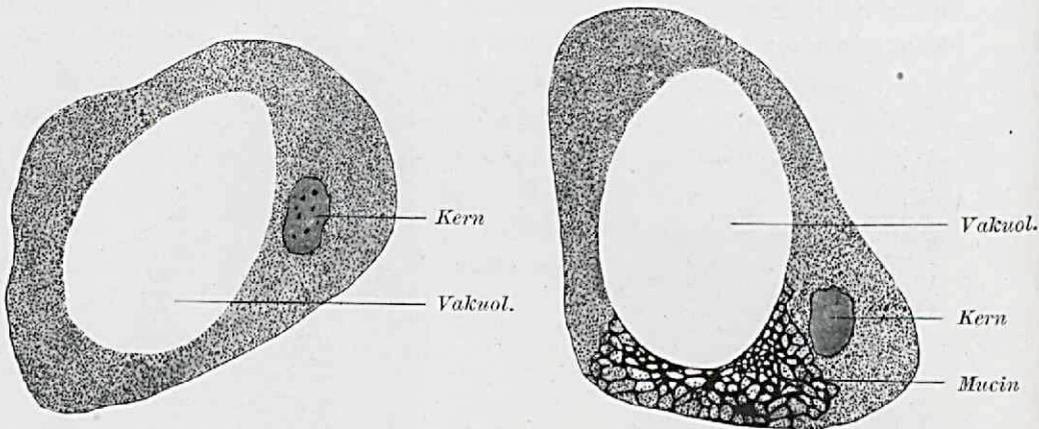


Abb. 7. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. VII.  
Erklärung im Text.

Abb. 8. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. VIII.  
Erklärung im Text.

diffus rötlich-violett. Plasma rotgefärbt mit Eosin, ziemlich homogen. Im Plasma liegt eine große Vakuole ohne wahrnehmbaren Inhalt.

*Stadium VIII* (Abb. 8). Den Kern fand ich klein, chromatinarm, wie beim Stadium VII. Vakuole wie im Stadium VII. Das mit Eosin hellrot tingierte Plasma ist in der Nähe der Vakuole mehr bläulich gefärbt und zeigt da eine unregelmäßige Bläschenbildung. Um den Vakuolenrand herum tritt Mucin (blauviolett) auf.

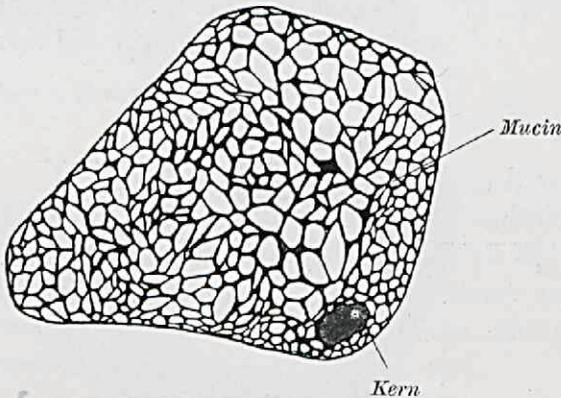


Abb. 9. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. IX.  
Erklärung im Text.

*Stadium IX* (Abb. 9). Der Kern ist klein, zackig, gerunzelt, nach Gentianaviolett-

färbung nur als homogener rotvioletter Fleck wahrnehmbar. Das Plasma ist prall gefüllt mit dem blauvioletten Mucin, welches an dem Rand von unregelmäßigen Bläschen gebunden zu sein scheint.

*Stadium X* (Abb. 10). Der Kern ist klein, chromatinarm wie im Stadium IX; sie liegt an der äußersten Peripherie. Das Plasma ist farblos und liegt in zerfetzten Strängen an der Peripherie, oft hier und da mit etwas Mucin; eine große unregelmäßig konturierte zentrale Vakuole bleibt übrig. Das richtige „Siegelingstadium.“

*Stadium XI* (Abb. 11). Der Kern ist ziemlich klein und gerunzelt bis glatt und ziemlich groß. Plasma zerfetzt oder durch unregelmäßige Vakuolen unterbrochen, farblos bis schwach rötlich.

Wir sehen, daß die jetzt von mir aufgestellten Stadien nicht bedeutend von denen abweichen, die im ersten Teile genannt wurden: es sind nur einige weitere aufgestellt worden. Dies bedeutet eine Erweiterung des im ersten Teil Gesagten. Was den Verlauf der Granulaphase anbelangt, habe ich, wie wir weiter unten sehen werden, einen andern Standpunkt einnehmen müssen.

Die Granula im Stadium IV sind nach Alaunhämatoxylinfärbung farblos bis orange gelb, es scheint also die gelbe Farbe nicht von einem zum Granulaaufbau unbedingt notwendigen Komponenten herzurühren. Vielleicht hat sie nur Bedeutung als ein gelegentlich den Granula beigemischt Exkret.

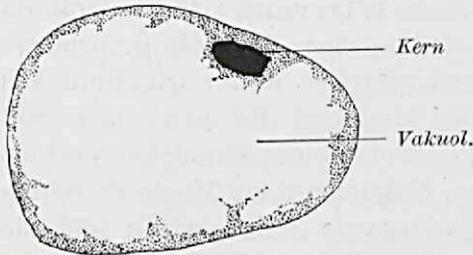


Abb. 10. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. X.  
Erklärung im Text.

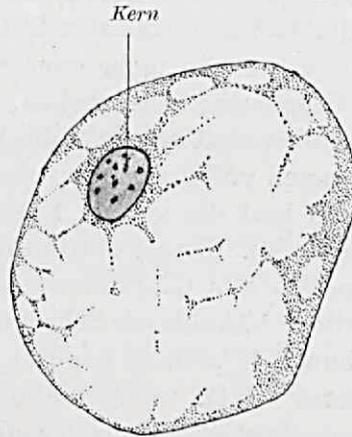


Abb. 11. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. XI.  
Erklärung im Text.

In den *Bindegewebszellen* der Drüse selbst, sowie in denen der Ausführungsgänge lassen sich öfters tief gelbe runde Granula von verschiedener Größe nachweisen, welche sich weder mit Alaunhämatoxylin, noch mit Gentianaviolett färben. Obgleich diese Zellen sehr wohl von den Drüsenzellen zu unterscheiden sind (weil die Bindegewebskerne immer klein sind und eine netzartige Chromatinverteilung aufweisen), so ist es vielleicht doch möglich, daß LANGE (siehe I. Teil) diese Zellen mit dem eigentlichen Stadium IV verwechselt hat, da er dieses Stadium IV als Bindegewebszellen ansieht. — Es sei hier noch bemerkt, daß das Aufstellen der Arbeitsformen der Zelle keine einfache Sache ist; sondern erst nach eingehendem und langwierigem Studium lassen sie sich herausfinden.

#### *bb) Dynamik der Hungerdrüse.*

Es kommt nun darauf an, den Zusammenhang zwischen diesen verschiedenen Arbeitsformen herauszufinden. In Anklang an das, was früher schon über dieses Thema gesagt wurde (Teil I, S. 284) habe ich jetzt folgenden endgültigen *Arbeitszyklus der Vorderdarmdrüsenzelle während des Hungerns aufgestellt* (siehe auch Abb. 19, S. 211). Ich bringe

diesen Arbeitszyklus hier zunächst als Hypothese, unten (S. 213) werde ich den Beweis geben.

Es ist Stadium I die Arbeitsform, in der die Zelle sich von ihrer Sekretionstätigkeit erholt hat und (vielleicht nach einer Pause) eine neue Tätigkeitsperiode beginnt. Das erste Anzeichen dieser Tätigkeit ist eine teilweise Lösung der Kernmembran (Stadium II). (Es sei hier nicht näher auf diese Tatsache eingegangen; in der histologischen Literatur wurden ähnliche Verhältnisse bei andern Objekten beschrieben.) Im Plasma beginnt die Bildung von Sekretstoffen: zu beobachten an dem merkwürdigen Präzipitat, welches manchmal im Plasma wahrnehmbar ist. Im Stadium III kommt es nun zur Bildung von Granula; es werden also die Rohprodukte der Tätigkeit zu festen Gebilden konzentriert, welche sich schon mehr oder weniger durch andersartige Färbung aus ihrer Umgebung hervorheben. In Stadium IV hat diese Aufstapelung ihren Höhepunkt erreicht: die Zelle ist prall mit Granula gefüllt, welche das Plasma völlig verdrängt haben. Sodann beginnen sich die Granula zu lösen und die gelöste Substanz wird in einer Vakuole gespeichert (Stadium V). Dieser Auflösungsprozeß schreitet weiter (Stadium VI) bis endlich alle Granula verschwunden sind und die inzwischen groß gewordene Vakuole die Sekrets substanz als eine klare Flüssigkeit enthält (Stadium VII). Dann beginnt sich am Vakuolenrande Mucin zu bilden (Stadium VIII), welches allmählich die ganze Zelle ausfüllt und die Vakuolenflüssigkeit in sich aufnimmt. Das Ende dieses Prozesses stellt Stadium IX dar, wo die Zelle geladen ist mit reifem Sekret. Sie entleert sich schnell und es bleibt eine kümmerlich aussehende Zelle übrig, die einen großen Teil ihres Plasmas verloren hat (Stadium X). Die Zelle wird jedoch, obgleich sie sicherlich von diesem Arbeitszyklus schwer angegriffen wird, nicht immer direkt geopfert, also abgestoßen. Das ergibt sich aus Regenerationsstadium XI, wo wir verschiedene Übergänge von Stadium X ins Stadium I wahrnehmen können. Wie oft eine Zelle imstande ist, ihren Arbeitszyklus zu wiederholen, weiß ich nicht. Es wird aber wohl, in Anbetracht des tiefgreifenden Prozesses, nicht oft sein.

Wir sehen auch, wie während dieses Zyklus der Kern deutlich sichtbar an der Tätigkeit Anteil nimmt, wie er von groß, rund und chromatinreich nach teilweiser Lösung der Membran immer kleiner, runzlicher und chromatinärmer wird. Die Evolution der Sekretstoffe können wir uns so vorstellen, daß sie zuerst in Form von Granula im Plasma auftreten, nachher in einen flüssigen Zustand übergehen und sich endlich unauflöslieh mit dem zuletzt gebildeten Mucin mischen. Das dabei viele chemische und physikalisch-chemische Änderungen vor sich gehen müssen, ist wohl klar, wenn es auch nicht zu beweisen ist; angedeutet wird es durch die verschiedene Färbbarkeit.

Wie sind nun diese Stadien in Einklang zu bringen mit den von G. C. HIRSCH aufgestellten *Arbeitsphasen*? Wahrscheinlich stellen die Stadien I + II + III eine Aufnahme von Rohstoffen dar; Stadien IV + V + VI + VII eine Bildung von Prosekreten aus diesen Rohstoffen, Stadien VIII + IX eine Umbildung zu den fertigen Sekreten und Stadium X ist sicherlich eine Ausstoßung derselben. Folgende Tabelle, welche ohne weiteres klar sein wird, faßt diese Auffassung nochmal übersichtlich zusammen (Tabelle 2):

Tabelle 2.

Von mir beschriebene Stadien der Vorderdarmdrüsenzellen	Von mir aufgestellte Phasen	Allgemeine Phasen der Drüsenzelle (nach G. C. HIRSCH)
Stadium XI	Regenerations- und Ruhephase	Aufnahme der Rohstoffe aus dem Blute
„ I		
„ II		
„ III	Phase des Tätigkeitsanfangs	
„ IV		
„ V	Granulaphase	Umbildung der Rohstoffe zu Vorstoffen
„ VI		
„ VII		
„ VIII	Phase der endgültigen Sekretbildung	Umbildung der Vorstoffe zum Sekret
„ IX		
„ X	Ausscheidungsphase	Ausscheidung

Es wird in der ersten allgemeinen Phase wahrscheinlich hauptsächlich Konzentrationsarbeit geliefert, in der II. und III. allgemeinen Phase vorwiegend chemische Arbeit. Bei der letzten Phase (Ausscheidungsphase), spielt die chemische Arbeit wohl keine Hauptrolle.

Verläuft nun die Sekretion der Drüse während der *Hungerperiode periodisch* (rhythmisch) oder chaotisch (kontinuierlich)? Wie ich im ersten Teile sagte, dachte ich mir die Hungersekretion kontinuierlich, also als eine chaotische Sekretion. Ich habe diese Auffassung jetzt zu beweisen versucht. Zu diesem Zwecke wurden an verschiedenen gleichen Hungertieren (dreiwöchiges Hungern) Untersuchungen mit der Zählmethodik vorgenommen. In den Schnitten jeder Drüse wurden die Prozentzahlen der verschiedenen Arbeitsstadien bestimmt (S. 286). Es wurden dabei gewisse Stadien zusammengezählt, z. B. Stadium II und III, da Stadium III sich nicht immer unzweideutig vom Stadium II unterscheiden ließ. Um weiterhin die doch schon sehr mühsame Arbeit zu erleichtern und die Resultate übersichtlich zu machen, habe ich nur sehr charakteristische Stadien gezählt, also I, II + III, IV, VII, IX und X. Die daraus erhaltenen Zahlen von acht Hungertieren (es

wurden mehr als acht untersucht; sie gaben alle dasselbe Resultat) sind in folgender Tabelle eingetragen worden (Tabelle 3).

Tabelle 3.

Nummer des Hungertieres	Prozent des Stad. I	Prozent des Stad. II-III	Prozent des Stad. IV	Prozent des Stad. VII	Prozent des Stad. IX	Prozent des Stad. X
H. 2	23	9	10	8	40	8
H. 3	30	14	11	7	32	6
H. 23 A	27	12	10	10	36	7
H. 24	30	10	8	6	37	9
H. 20	28	15	9	8	33	7
H. 6	29	11	11	9	34	5
H. 10	26	10	12	7	36	6
H. 12	34	8	14	10	32	4
Durchschnitt:	28	11	10	8	35	6

Wie wir gleich sehen, schwanken die Werte der einzelnen Stadien nicht erheblich.

Um die Sache übersichtlicher darzustellen, habe ich die Zahlen in Kurven umgearbeitet (Abb. 12). Horizontal sind in gleichen Abständen die verschiedenen Hungertiere abgetragen, vertikal die Prozentzahl der einzelnen Stadien.

Obwohl diese Kurven eigentlich nicht der Ausdruck eines Geschehens sind, weil auf der Abszissenachse kein zeitliches Geschehen, sondern nur gleichwertige Dinge abgetragen worden sind, so bekommen wir doch auf diese Weise eine bequeme Übersicht über das, was wir zu erforschen wünschen. Ich weise nachdrücklich darauf hin, daß hier keine Stufen vorliegen, denn ich habe nur in gleichen Umständen lebende Hungertiere untersucht. Da nun die untersuchte Anzahl der Tiere genügend groß ist, so läßt sich nach der Wahrscheinlichkeitsrechnung folgendes schließen:

Wenn während des Hungerns eine periodische Sekretion stattfindet, so muß z. B. die Anzahl der Zellen in dem Stadium IX schwanken; es wird nach der periodischen Ausscheidung nur sehr wenig vorhanden sein, also ein Minimum wird sich zeigen; einen Augenblick vor der Ausscheidung dagegen wird dieses Stadium ein Maximum aufweisen müssen. Wir sehen aber in der Abb. 12 wie das Stadium IX (+++++ Linie) gar nicht schwankt, besser gesagt, die Schwankungen bleiben alle unterhalb 10%. Diese kleinen Schwankungen liegen wohl innerhalb der Fehlergrenzen, erstens weil natürlich bei der Stufenzählmethodik Fehler gemacht werden; zweitens weil wir verschiedene Tiere vor uns haben, welche, wenn wir sie miteinander vergleichen, selbstverständlich Schwankungen aufweisen werden. Die +++++ Linie des Stadium IX ist also eigentlich eine gerade Linie parallel der Abszissenachse. Das heißt: Die Anzahl der Zellen im Stadium IX vermehrt oder verringert sich

während des Hungerns nicht, denn sie zeigt keine großen Ausschläge. Pro Zeiteinheit kommt immer eine gleiche Anzahl Zellen im Stadium IX an und geht immer dieselbe Menge in X über. *Durch diese entdeckte Aperiodizität eines der Stadien ist die kontinuierliche Hungersekretion bewiesen* (siehe auch Teil I, S. 273 und 287).

Wenn eine der Phasen eine gerade Linie zeigt, so müssen alle andern Phasen dasselbe tun, genau so wie wenn eine der Phasen schwankt, alle

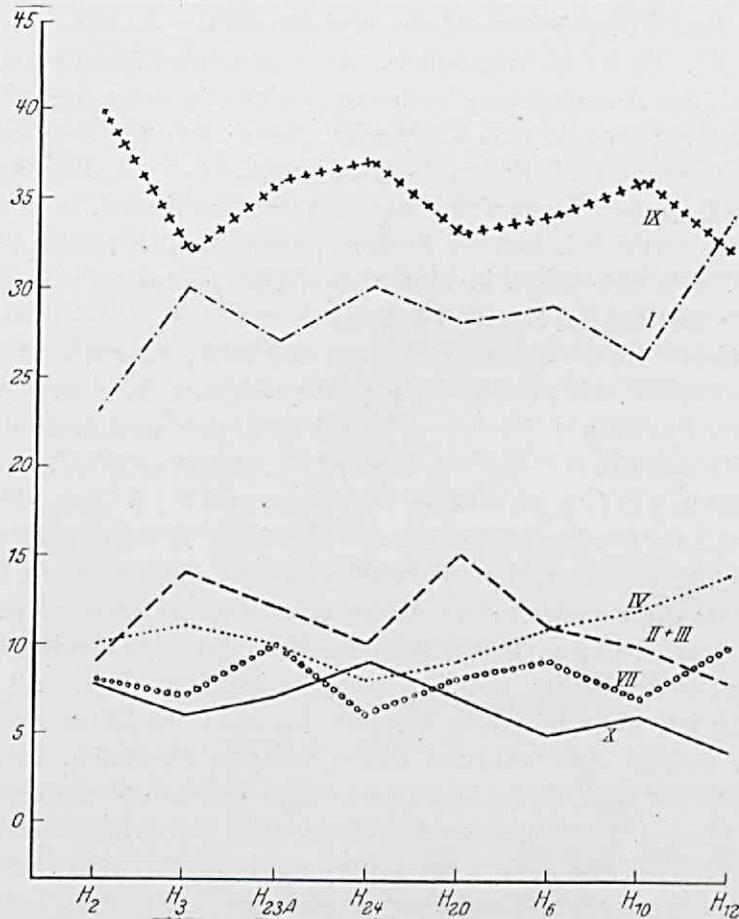


Abb. 12. Die prozentische Anzahl der verschiedenen Stadien der Vorderdarmdrüsenzellen beim Hungertiere. Vertikal % der Stadien, horizontal verschiedene Hungertiere. Erklärung im Text. Stad. I = - · - · - ·. Stad. II u. III = - - - - -. Stad. IV = · · · · ·. Stad. VII = ○ ○ ○ ○ ○. Stad. IX = + + + + +. Stad. X = ———.

Phasen schwanken müssen; sie sind ja nur Stadien einer einzigen Zellart und ein Maximum eines Stadiums muß sich notwendig auch auf die andern Stadien fortplanzen. Tatsächlich sehen wir in der Abb. 12, wie alle Kurven nur innerhalb der Fehlergrenzen (10%) schwanken, also eigentlich gerade Linien parallel der horizontalen Achse zeigen.

*Es ist also festgestellt, daß während des Hungerns eine chaotische (kontinuierliche) Sekretion der Vorderdarmdrüse vorliegt, verursacht durch achronisches Arbeiten der Drüsenzellen.*

Es könnte jetzt noch der Einwand erhoben werden, es fände während des Hungerns gar keine Sekretion statt, die Drüsenstadien wären also keine vorübergehenden Zustände, sondern die Zellen verharren (ruhen) wirklich in dem Stadium, in dem sie wahrgenommen werden. Es gibt doch aber wohl eine bedeutende Tatsache, welche dagegen spricht: Man kann sich freilich vorstellen, eine Zelle ruhe im Stadium I oder im Granulastadium IV oder im Mucinstadium IX; fast unmöglich dagegen scheint es, daß völlig zerfetzte Zellen gleich nach der Ausscheidung ruhen (Stadium X). Es ist nicht möglich, sich vorzustellen, daß so eine Zelle direkt nach der Ausscheidung verharre in einer Stellung der schwersten Erschöpfung. Sie sollte sich doch mindestens noch von dem Stillstand erholen. Da wir nun die Zellen des Stadium X, sowie die Regenerationsstadien (XI) in der Hungerdrüse immer vertreten finden, so können wir wohl daraus schließen, daß die Drüse während des Hungerns sicherlich sezerniert, sich also nicht in einem statischen, sondern sich in einem dynamisch stationären Zustand befindet.

Eine Sache bleibt aus den Kurven der Abb. 12 noch zu erklären übrig. Wir sehen, wie die Stadien alle ihren eigenen Prozentwert haben. So vertritt Stadium I (—·—·— Linie) 28% der Gesamtzellenzahlen, Stadium II und III (— — — — Linie) 11%, Stadium IV (. . . . . Linie) 10%, Stadium VII (o o o o o Linie) 8%, Stadium IX (+ + + + + Linie) 35% und Stadium X (———— Linie) 6% (Durchschnittszahlen). Die einzige Möglichkeit, die zur Erklärung dieses Verhaltens in Betracht kommt, ist: *die verschiedenen Stadien dauern verschieden lange*. Damit sei nicht gesagt, daß z. B. die Zelle im Zustande des Stadium IX nur sehr träge weiter geht; nein, es ist sehr wohl möglich, daß sie sehr stark tätig ist, aber lange die Morphe des Stadium IX zeigt, weil die Prozesse, welche sich während dieser Morphe abspielen, histologisch nicht ergreifbar sind, da sie sich nicht durch eine morphologische Änderung offenbaren. Beim Stadium I, welches auch immer in hohem Prozentsatz vertreten ist, also auch lange durch die Zelle repräsentiert wird, ist dies sehr wohl zu verstehen. Denn das morphologische Stadium I stellt doch eigentlich das Ende des Regenerationsprozesses dar, vielleicht eine Ruheperiode und überdies den allerersten Anfang der Tätigkeit. Schwieriger ist es einzusehen, warum die Zelle nur so kurz (10%) das IV. Stadium zeigt, ist doch diese Phase eigentlich als eine gewisse Aufstapelung von Prosekreten zu betrachten. Erklären kann ich dies nicht, nur müssen wir im Auge behalten, daß von mir bei den Zählungen nur das reine Stadium IV gezählt wurde; Zellen, welche zweifeln ließen, ob sie vielleicht zum Stadium V gehörten wurden nicht mitgezählt. Dadurch ist auch die Zahl des Stadiums IV wohl etwas herabgedrückt; gehören doch die Stadien V und VI eigentlich auch noch zur selben Arbeitsphase.

*Das Studium der Hungerdrüse lehrt uns also:* Es werden von der

Drüsenzelle sehr viele Stadien durchlaufen, welche verschieden lange dauern. Ob ein langdauerndes Stadium der Ausdruck einer trägen Tätigkeit ist, oder ob sich unter der Morphe dieses Stadiums eine rege Tätigkeit versteckt, konnte ich nicht analysieren. Das wäre vielleicht nur möglich durch geschickte Kombination unendlich vieler Färbungs- und Fixationsverfahren.

Diese rhythmisch sezernierenden Drüsenzellen arbeiten nicht synchron. Das führt also während des Hungerns zu einer kontinuierlichen Sekretion der Drüse.

Zum Schluß möchte ich nochmals darauf hinweisen, daß ich also die Auffassung vertrete, es gibt in der Vorderdarmdrüse nur einen einzigen Sekretionszyklus, in diesem Sinne, daß muköser und seröser Zyklus in einer Zelle vertreten sind. Diese zwei Prozesse, welche bei den Speicheldrüsen der Wirbeltiere wohl getrennt vorkommen (eigentlich ist aber die Beobachtung von ZIEGLER; siehe oben S. 197), sind hier zusammengefaßt zu einem. Eigentlich sahen auch PACAUT und VIGIER (siehe I. Teil) schon diese Tatsache; sie betrachteten aber die Schleimbildung in den „Granulazellen“ als eine Degeneration, welche vor dem Absterben auftritt. Weil aber FRANKENBERGER eine Abstoßung von Zellen in allen Stadien (diese Beobachtung ist wohl richtig), also nicht nur von mucingefüllten Zellen, wahrnahm, kann die von PACAUT und VIGIER vertretene Ansicht nicht richtig sein. Es bleibt nur übrig anzunehmen, daß muköser und seröser Zyklus in derselben Zelle vertreten sind, auch wenn es unten nicht bewiesen würde!

#### e) Die aktivierte Vorderdarmdrüse.

##### aa) *Statik der aktivierten Drüse.*

Im ersten Teile beschäftigte ich mich hauptsächlich mit der Vorderdarmdrüse während der Fütterung; hier habe ich, wie ich oben in der Methodik (S. 194) sagte, meine Experimente in etwas anderer Richtung fortgesetzt. Es wurde jetzt folgendermaßen verfahren:

Die völlig gleichen Hungertiere wurden behandelt, wie in der allgemeinen Technik (S. 195) gesagt wurde. Es kamen also von jeder Serie fünfundzwanzig Drüsen zur Beobachtung: die erste Drüse stammte von Tieren, welche nach der halbstündigen Fütterung augenblicklich getötet wurden, die zweite Drüse von Tieren eine halbe Stunde nach dem Beendigen der halbstündigen Mahlzeit, die dritte eine Stunde nach dem Ende der halbstündigen Fütterung, usw. . . . ., die fünfundzwanzigste Drüse zwölf Stunden nach dem Beendigen der halbstündigen Mahlzeit. Die Schnitte aller dieser Stufen wurden in der in der Technik angegebenen Weise hergestellt und behandelt. Bevor ich meine Stufenzählmethodik anwandte, wurden die Drüsen histologisch untersucht.

Wie ich im ersten Teile mitteilte, wurden damals bei der Aktivierung verschiedene *Arbeitsstadien der Vorderdarmdrüsenzelle* beobachtet, welche sich während des Hungers nicht auffinden ließen. Ich nannte diese Stadien Stadium *P* und Stadium *Q* (siehe Teil I, S. 290). Jetzt habe ich feststellen können, daß direkt nach der Fütterung noch mehr Arbeitsstadien auftreten, welche in der Hungerdrüse nicht vertreten sind.

Ich will hier zuerst eine Beschreibung dieser Stadien folgen lassen:

*Stadium P* (Abb. 13). Der Kern ist ziemlich groß, bisweilen ein wenig zackig, mit relativ wenig Chromatin, welches meistens körnig ist. Der Kern ist mit Eosin diffus lichtrot gefärbt. Das Plasma ist zuweilen schwach färbbar mit Gentianaviolett oder Alaunhämatoxylin, sonst farblos; es zeigt eine ausgeprägte alveoläre Struktur. In diesen Alveolen befindet sich oft ein farbloses präzipitatähnliches Gerinnsel.

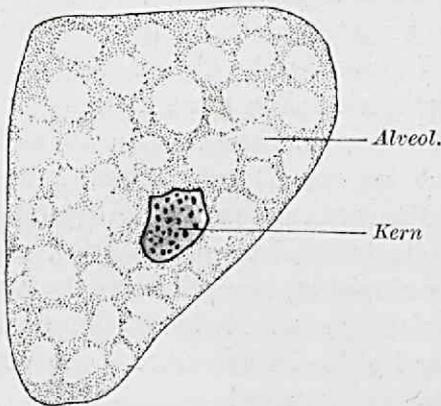


Abb. 13. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. P.  
Erklärung im Text.

*Stadium Q* (Abb. 14). Der Kern ist relativ klein, mit unregelmäßiger

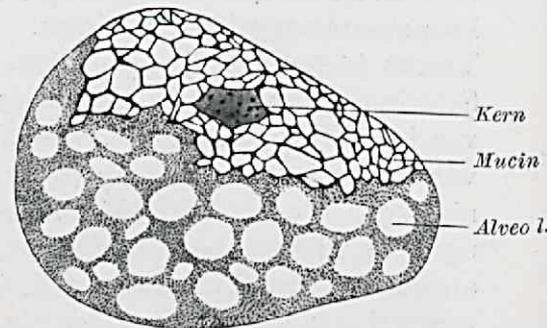


Abb. 14. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. Q.  
Erklärung im Text.

Peripherie, chromatinarm, und färbt sich diffus rot mit Eosin. Das Plasma ist teilweise wie im Stadium *P*, teilweise aber hat es sich differenziert in kleinen unregelmäßigen Bläschen, deren Ränder die Mucinfärbung annehmen.

*Stadium R* (Abb. 15). Den Kern fand ich mäßig groß, mit mäßig viel Chromatin. Im teilweise homogenen Plasma treten die sehr schwach mit Gentianaviolett färbbaren Granula auf, welche wir schon beim Stadium III kennen lernten. Zum Teil ist das Plasma von Mucinbläschen wabig durchsetzt.

*Stadium S* (Abb. 16). (Das im ersten Teil beschriebene, damals mit VI bezeichnete Stadium.) Das Plasma enthält teilweise Granula wie im Stadium IV, teilweise Mucin wie im Stadium IX. Die in der Nähe des Mucins gelegenen Granula färben sich schwächer mit Gentianaviolett als die andern; sie sind ab und zu etwas vakuolisiert und gequollen.

*Stadium T* (Abb. 17). Der Kern ist ziemlich klein, chromatinarm, gerunzelt. Das Plasma ist stark rot gefärbt mit Eosin, enthält Granula

und eine Vakuole wie im Stadium VI. Der Unterschied mit dem Stadium VI ist aber der, daß hier an dem Vakuolenrand im Plasma Mucinbläschen auftreten.

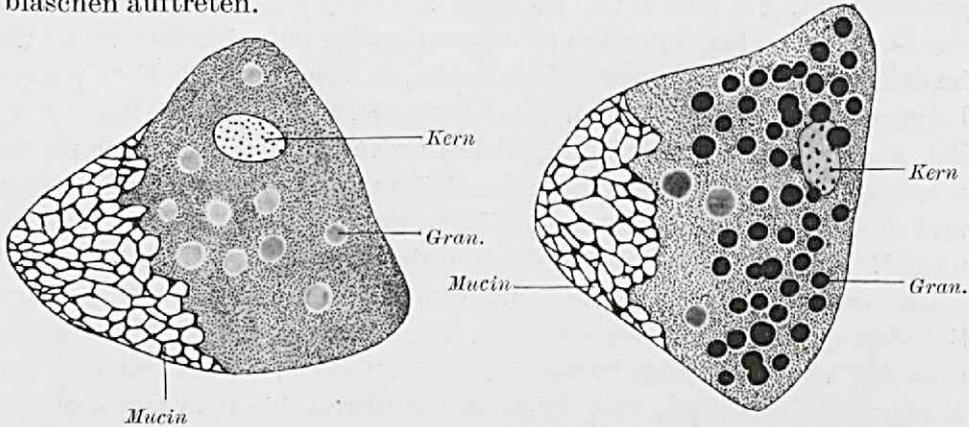


Abb. 15. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. R. Erklärung im Text.

Abb. 16. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. S. Erklärung im Text.

*Stadium W* (Abb. 18). Der Kern ist wie im Stadium T. Plasma stark rot mit Eosin, enthält keine Granula, sondern nur eine große Vakuole, in deren Inhalt sich manchmal unregelmäßige und verschieden farb-

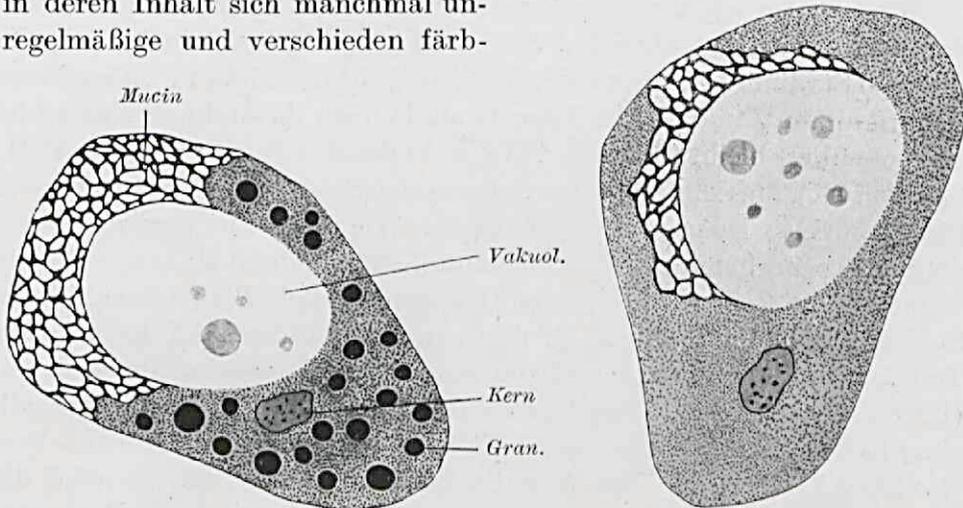


Abb. 17. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. T. Erklärung im Text.

Abb. 18. Zelle der Vorderdarmdrüse im Stad. W. Erklärung im Text.

bare Granula auffinden lassen. An dem Vakuolenrand treten Mucinbläschen auf wie im Stadium T.

Die Stadien P und Q wurden, wie gesagt, im ersten Teile schon beobachtet, neu beschrieben wurden jetzt die Stadien R, S, T, und W.

*bb) Dynamik der aktivierten Drüse und der allmähliche Zurückgang zum Hungerzustand.*

Jetzt kommt es darauf an, die gefundenen Stadien in ihrem richtigen Zusammenhang in den Arbeitszyklus der Drüsenzelle einzureihen.

Eigentümlich ist es, daß die Stadien P, Q, R, S, T und W nur in der Vorderdarmdrüse auftreten, wenn das Tier frißt oder nicht lange vorher gefressen hat. Stadium P und Stadium Q, welche eigentlich nur während der Fütterung selbst auftreten (siehe auch weiter unten), reihte ich schon im ersten Teile so in den Arbeitszyklus ein, daß eine spezielle Fütterungsbahn entstand (Teil I, S. 291). Die Stadien R, S, T und W haben sicherlich auch nichts mit der Hungerdrüse zu tun, lassen sich aber merkwürdigerweise nicht auffinden in der Drüse *während* des kurzen Fressens und sind etwa 8 Stunden *nach* der Fütterung wieder verschwunden (siehe unten). Sie treten also in sehr bestimmten Umständen, d. h. *nach* der Fütterung, auf, sind aber nur temporäre Erscheinungen, weil sie einige Stunden später wieder verschwinden. Zur Erklärung dieser Verhältnisse muß ich einige Voraussetzungen bringen, welche, zusammen mit der Hungerbahnhypothese, mit Hilfe der Stufenzählmethodik unten bewiesen werden.

Versuchen wir zuerst einmal die Sache an der Hand des Schemas der Abb. 19, wo die zeitlichen Verhältnisse räumlich dargestellt sind, zu überblicken.

Wiederholen wir die Hypothese der Hungerbahn und schließen wir daran die zweite Hypothese an! Stadium I verwandelt sich in Stadium II, dieses in Stadium III, Granula erfüllen die Zelle (Stadium IV), diese lösen sich (Stadium V und VI) bis keine Granula mehr da sind und eine große Vakuole übrig bleibt (Stadium VII); es bildet sich Mucin (Stadium VIII, Stadium IX), die Zelle stößt ihre Sekrete aus (Stadium X) und regeneriert (Stadium XI) wieder zu Stadium I usw. Wenn das Tier nun zu fressen anfängt, so beginnen durch unbekannte, weiter unten zu besprechende Ursachen die Zellen im Stadium II augenblicklich P zu bilden, dieses Stadium P bildet Stadium Q, dieses wieder Stadium IX (siehe auch Teil I, S. 291). Es wird also die Hungerbahn teilweise überschlagen (III bis VIII fallen aus) und es stellt sich direkt (jedenfalls innerhalb einer halben Stunde, siehe unten) die Fütterungsbahn ein. (I→II→P→Q→IX→X→XI→I.) Nun hört das Tier zu fressen auf. Es wird die Fütterungsbahn verlassen, nicht aber gleich wieder die vollständige Hungerbahn betreten. Es treten allerhand *temporäre Zwischenbahnen* auf, in denen die Stadien R, S, T und W einen Platz finden. Im Augenblick der Beendigung der Mahlzeit werden die Zellen im Stadium II nicht mehr Stadium P bilden, sondern Stadium III; III bildet Stadium R und R bildet IX. Es durchläuft also die Zelle den Arbeitszyklus I→II→III→R→IX→X→XI→I. Dieser Zustand bleibt nicht lange bestehen, denn die Zellen, welche einige Zeit später von II ins Stadium III eintreten, wählen schon einen etwas längeren Arbeitszyklus, indem sie IV bilden und IV ohne vorhergehende Lösung der Granula via S ins Stadium IX übergeht. Es existiert dann also der Zyklus I→II→III→IV

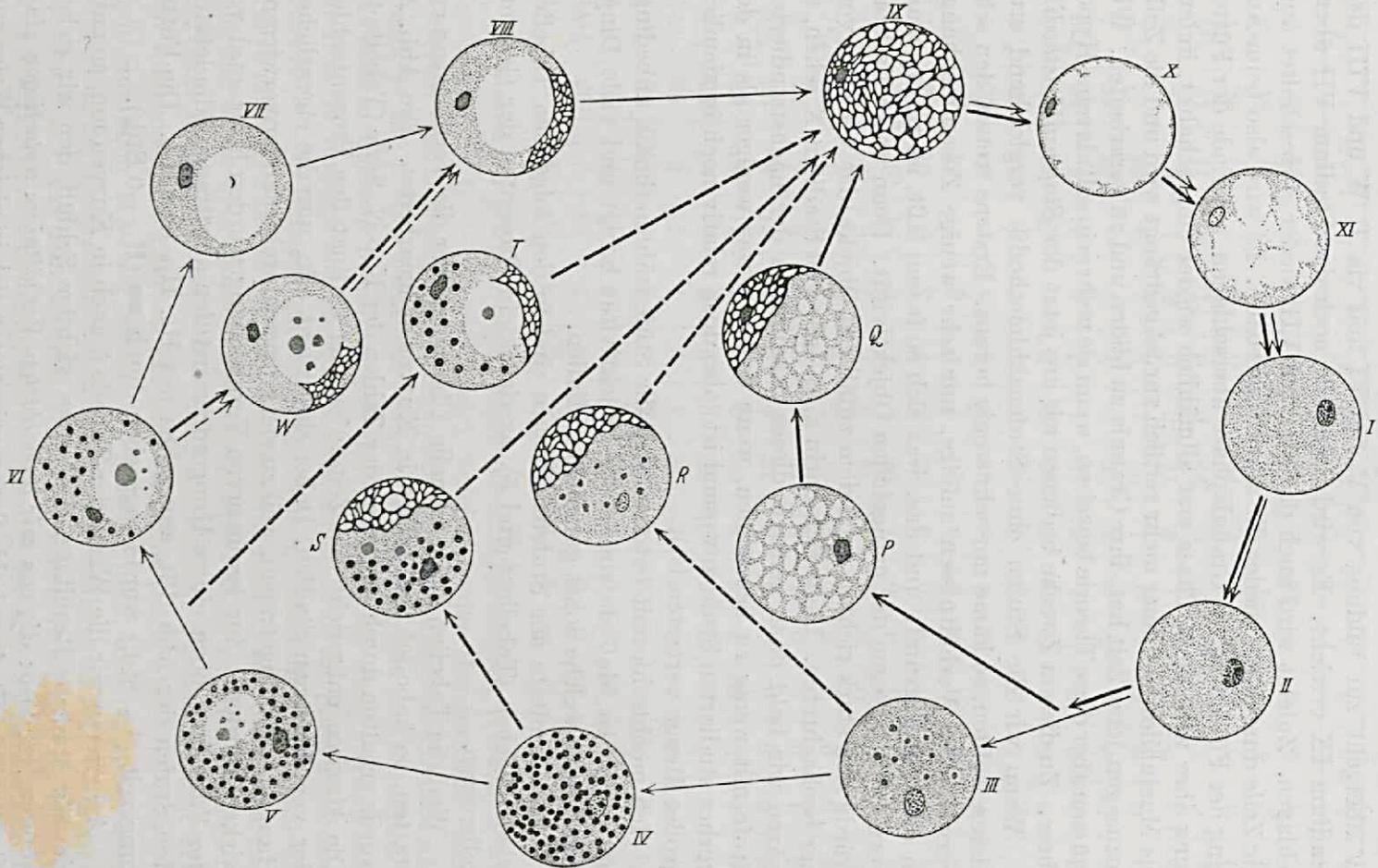


Abb 19. Räumliche Darstellung der Arbeitsbahnen der Vorderdarmdrüsenzelle. Die Hungerbahn ist durch schwarze Pfeile angegeben, die Aktivierungsbahn durch dicke schwarze Pfeile, die Zwischenbahnen durch - - - Pfeile. Erklärung im Text.

→S→IX→X→XI→I. Noch länger wird die Arbeitsbahn, wenn nachher IV übergeht zur Bildung von V und VI und via T, W und VIII das Stadium IX erreicht. Es wird dann nur noch das Stadium VII überschlagen. Zuletzt wird auch das Stadium VII wieder eingeschaltet und die Zelle durchläuft wieder die alte Hungerbahn. Es wird also beim Anfang der Fütterung die Granulaphase überschlagen, am Ende der Fütterung aber wird diese Phase erst allmählich wieder eingeschaltet, indem die Mucinbildung immer mehr zeitlich zurückgedrängt wird und die Zelle sozusagen jetzt Zeit hat, ihre Granula zu bilden und zu verarbeiten. Wir müssen aber diese Theorie beweisen, wenn sie mehr sein soll als reine Hypothese. Zu diesem Zwecke bedienen wir uns jetzt der *Stufenzählmethodik*.

Wenn wir die Stufen ohne Stufenzählmethodik vergleichend studieren wollten, so käme nur sehr wenig heraus. Erstens treten, den sehr verwickelten Verhältnissen zufolge, nur sehr wenige Zusammenhänge in den Vordergrund; und das, was sich so fassen läßt, ist zu ungenau, vornehmlich wegen der mangelnden Objektivität. Denn unser Maßstab würde sich stark richten nach dem zufälligen Objekt, das wir eben vorher beobachteten. Ließe sich darin z. B. sehr viel Stadium X sehen, so wären wir bald dazu geneigt, dieses Stadium in der nächststudierten Stufe mit wenig zu bezeichnen, wenn es nur etwas weniger als in der vorher studierten Stufe anwesend ist (also doch relativ noch in ziemlich großer Menge vertreten ist).

Ich möchte hiermit betonen, daß die Stufenzählmethodik unbedingt notwendig ist, daß sie eine große Objektivität bringt und viele Dinge herausholt, welche sonst gar nicht auffallen.

Die Resultate der Stufenzählungen sind in den folgenden Tabellen wiedergegeben (Tabelle 4 und 5), ausdrückt in Prozenten der Gesamtzellenwert.

Weil die Tabellen keine schnelle Übersicht über die Verhältnisse gestatten, so habe ich die Zahlen in Kurven umgearbeitet. Die Abb. 20 wurde erhalten durch Abtragen der Zahlen der K.B.N.-Serie (Tabelle 4). Die Abszisse entspricht den Zeitstufen, der Ordinaten den Prozentzahlen der verschiedenen Stadien. Dabei sind nicht alle, nur die eigentlichen Hauptstadien eingetragen, weil zu viel Kurven durcheinander verwirrend wirken würden. Zur bequemeren Vergleichung wurden horizontal vor der Fütterung noch einige Hungerdrüsenstufen abgetragen (die letzten drei Stufen der Abb. 12), angegeben mit  $H_6$ ,  $H_{10}$  und  $H_{12}$ . Die Fütterungszeit ( $\frac{1}{2}$  Std.) wurde angegeben durch  $\blacksquare$  ( $H_{12}$ —0 Std.).

Arbeiteten wir die Werte der Tabelle 5 auch in Kurven um, so gäbe sie sehr ähnliche Resultate. Der erste wichtige Schluß, den wir ziehen können, ist also: *die von mir beobachteten Verhältnisse unterliegen einer Gesetzmäßigkeit*, denn beide Serien orientieren sich in gleicher Weise zum Fütterungszustande.

Tabelle 4.

Stunden	I	II+III	IV	V+VI	VII	VIII	IX	X	P	Q	R	S	T	W
0	12	16	0	0	2	0	38	3	20	9	0	0	0	0
1/2	19	17	3	1	0	0	52	4	1	2	1	1	0	0
1	20	12	4	0	0	0	44	14	0	2	4	0	0	0
1 1/2	21	11	6	1	0	0	44	8	2	0	4	3	0	1
2	24	9	7	2	0	2	41	8	1	2	0	6	0	0
2 1/2	24	10	6	1	1	1	40	7	0	1	3	8	0	0
3	28	12	9	2	1	2	35	4	0	2	0	5	0	0
3 1/2	31	8	9	2	2	1	37	9	1	0	0	3	0	0
4	24	14	13	1	2	2	36	3	0	0	0	2	0	1
4 1/2	28	13	14	3	3	1	38	2	2	0	0	1	5	0
5	25	8	12	4	3	2	30	8	0	0	0	2	4	2
5 1/2	29	12	11	3	4	1	32	6	1	0	0	3	4	3
6	22	10	9	2	4	2	39	7	0	0	0	4	2	0
6 1/2	30	9	11	3	2	0	36	4	0	0	0	0	2	1
7	28	6	9	5	4	2	35	6	0	0	0	0	1	6
7 1/2	29	12	7	3	4	2	36	8	0	0	0	0	0	0
8	22	9	9	0	5	2	34	6	1	0	0	0	1	2
8 1/2	26	8	12	4	7	4	31	9	1	0	0	0	0	0
9	24	8	11	3	9	0	35	8	0	1	0	0	0	0
9 1/2	23	10	8	3	6	3	32	10	2	0	0	1	0	1
10	29	9	12	1	8	1	36	4	0	0	0	0	0	4
10 1/2	31	13	9	3	7	3	33	5	0	0	0	0	0	0
11	28	9	11	4	9	2	37	5	0	0	0	0	0	0
11 1/2	26	7	13	1	8	3	38	7	0	0	0	0	0	0
12	29	6	9	2	6	1	34	9	0	0	1	0	1	2

Beweisen wir jetzt die oben aufgestellten Hypothesen: Wir sehen, wie das Stadium I (— · — · — · Linie), welches in der Hungerdrüse einen Mittelwert von 28% zeigt, direkt beim Aktivierungsanfang stark herabsinkt (0 Std. = 12%). Das heißt also: es sind pro Zeiteinheit mehr Stadium I aus diesem Zustand in ein anderes übergegangen als sonst. Wenn nun Stadium II wirklich aus Stadium I entsteht, so muß die Kurve des Stadium II (— — — Linie) zu gleicher Zeit steigen. Tatsächlich sehen wir die Kurve ansteigen bis 16—17%. Dies ist zwar nicht hoch; die Steigerung geht nur wenig über die Fehlergrenze hinaus. Wenn wir aber bedenken, daß beim Hungertier die — — — Linie besteht aus Stadium II und III, und während der Fütterung III gleich ausfällt (siehe oben), so daß wir dann nur noch II allein zählen, so versteht man, daß eigentlich eine Steigerung der Prozentzahl auftritt trotz dem Fehlen von III. Wenn nun das Stadium P aus dem Stadium II (+ III) entsteht, so muß die Steigerung der II-Kurve notwendig eine Steigerung der Kurve des Stadium P (===== Linie) zufolge haben, und wenn Stadium Q aus Stadium P entsteht, so muß auf den Gipfel des Stadium P ein Gipfel des Sta-

Tabelle 5.

Stunden	I	II+III	IV	V+VI	VII	VIII	IX	X	P	Q	R	S	T	W
0	7	18	0	0	2	0	45	6	18	8	0	0	0	0
1/2	4	9	2	0	3	0	56	0	20	9	0	0	0	0
1	6	4	2	1	0	0	62	6	9	12	0	0	0	0
1 1/2	10	14	4	0	0	0	48	14	4	5	2	0	0	0
2	14	8	7	2	0	2	49	15	3	0	4	1	0	0
2 1/2	11	12	12	0	0	0	47	12	0	7	1	2	0	0
3	18	9	9	3	1	2	42	9	0	2	2	6	0	1
3 1/2	20	10	8	6	0	2	43	10	0	0	0	4	0	0
4	17	12	11	2	2	0	38	12	0	0	3	8	1	0
4 1/2	26	8	7	1	2	1	35	8	0	0	0	9	0	0
5	29	10	12	4	0	0	32	6	0	0	0	4	4	2
5 1/2	32	11	9	2	2	1	39	4	0	0	0	3	0	1
6	30	9	14	1	5	2	31	7	0	0	0	1	2	0
6 1/2	32	7	12	1	2	1	37	4	0	0	0	4	1	3
7	26	8	9	0	4	3	34	3	1	0	1	0	4	5
7 1/2	30	7	14	3	4	4	36	5	0	0	0	0	3	1
8	30	12	8	2	5	1	33	8	0	0	0	0	2	3
8 1/2	29	10	11	1	3	1	37	7	0	0	0	0	5	0
9	35	8	9	0	6	2	40	3	0	0	0	0	0	2
9 1/2	24	11	10	0	5	2	39	8	0	0	0	0	1	3
10	28	12	6	4	7	1	35	4	2	0	0	0	0	0
10 1/2	26	7	7	0	11	4	34	7	0	0	0	0	1	2
11	31	10	11	1	9	1	35	5	0	0	0	0	1	0
11 1/2	29	11	9	3	7	3	31	8	0	0	0	0	0	3
12	32	8	10	2	9	5	32	4	0	0	0	0	0	1

dium Q (=== Linie) folgen. Tatsächlich sehen wir den Gipfel der Stadien P und Q entstehen, nur eigentlich nicht nacheinander, sondern zu gleicher Zeit (bei oH). Obgleich in diesem Punkt also eigentlich der biologisch exakte Beweis fehlt, so müssen wir die Sache in dieser Weise erklären, daß bei der Aktivierung P und Q dermaßen schnell aus II entstehen, daß die 30 Minutenstufe zu groß ist, um die Entstehung verfolgen zu können. Wir erblicken also eigentlich in diesen P- und Q-Gipfeln nur die Resultante eines Geschehens.

Gehen wir aber weiter. Wenn Stadium IX während der Fütterung aus Stadium Q entsteht, so muß auf die P- und Q-Gipfel ein Gipfel des Stadiums IX folgen. Dies ist nun tatsächlich sehr schön zu sehen: der Gipfel von IX (+++++ Linie) kommt eine halbe Stunde nach dem von Q. Wenn nun endlich Stadium X aus Stadium IX entsteht, so muß beim Herabsinken von IX eine Steigerung von X (——— Linie) stattfinden. Das ist auch wirklich der Fall (X bei 1 Std.). Wenn beim Eintreten der Fütterungsbahn alle Stadien II in P übergehen, so muß das Stadium IV (..... Linie) direkt schnell herabsinken, weil die noch



vorhandene Menge natürlich in V, VI, und VII übergeht und kein neues IV mehr aus III gebildet wird. Dies ist auch sehr gut zu sehen (. . . Linie sinkt gleich bis Null herab). Auch Stadium V + VI (Tabelle 4) ist in dieser Zeit gleich Null. Stadium VII folgt etwas nach, es ist erst bei  $\frac{1}{2}$  Std. gleich Null geworden (.....Linie), was völlig der Ansicht entspricht, daß es aus IV entstände. Wenn das Stadium I aus X entsteht, so wird beim Herabsinken der X-Kurve (1—2 Std.) wieder eine Steigerung des Stadiums I auftreten. Tatsächlich ist auch dies wahr (—·— Linie 1— $3\frac{1}{2}$  Std.). Wenn beim Ende der Fütterung Stadium P und Q nicht mehr aus II gebildet werden, so müssen P und Q zu Null herabsinken und nicht mehr auftreten. Das stimmt (==== und — — — Linien), wobei noch bemerkt sei, daß Q noch vorhanden ist, wenn P schon gar nicht mehr da ist, eine Tatsache, die wieder die Reihenfolge P→Q demonstriert. II bildet also nicht mehr III, es wird nun aber aus II + III R gebildet. R zeigt tatsächlich bei  $\frac{1}{2}$  Std. bis  $1\frac{1}{2}$  Std. einen Anstieg von Null an, während zu dieser Zeit P und Q schon herabgesunken sind (zu ersehen aus der Tabelle 4). Weil R nur ein „Hilfsstadium“ ist, so muß es schnell wieder verschwinden, weil nachher aus III nicht mehr R sondern IV gebildet wird. Tatsächlich ist R bei 3 Std. wieder verschwunden (Tabelle 4), während die Kurve von IV einen Anstieg erkennen läßt (. . . . . Linie,  $\frac{1}{2}$ —4 Std.). Stadium IV bildet aber noch nicht V und VI, sondern zuerst ausschließlich S. Dies nun läßt sich in der Kurve (oooooo Linie) beobachten, das Stadium S steigt an nach IV, sinkt wieder ab und verschwindet ( $6\frac{1}{2}$  Std.). Inzwischen gehen aus Stadium IV die Stadien V und VI hervor (Tabelle 4,  $1\frac{1}{2}$  Std.). Diese Stadien, wie das Stadium IV, sinken natürlich nicht mehr ab, weil sie zur definitiven Hungerbahn gehören. T und W aber müssen auftreten (Tabelle 4, 4 Std.) und wieder verschwinden (8 Std.).<sup>1</sup> Schließlich tritt VII auf. (Kurve ..... Linie 2 Std.).

Ich glaube, es ist hier genügend gezeigt worden, wie in fast idealer Weise die Kurvenschwankungen aufeinander folgen. Es sei hier bemerkt, daß, obgleich ich hier der Verständlichkeit wegen den Zusammenhang hypothetisch vorausstellte und erst nachher an der Hand der Zählungen diesen Zusammenhang bewies, mir der Zusammenhang erst klar wurde als ich die Zählungen gemacht hatte. Ohne Stufenzählmethodik wären diese Dinge nie herausgekommen.

Fassen wir noch einen Augenblick den *Rhythmus* ins Auge. Im ersten Teil sahen wir, wie während der Fütterung sich eine rhythmische

<sup>1</sup> Stadium W benimmt sich etwas anders, es tritt auch noch später und auch bei der Hungerdrüse auf. Es ist dies wohl ein Stadium, welches so wenig von der Hungerbahn abweicht, daß die Zelle in der Hungerdrüse es gelegentlich „wählt“ und Stadium VII überschlägt.

Sekretion einstellt, welche während der ganzen Fütterungsdauer erhalten bleibt (Teil I, S. 291). Im ersten Teile habe ich allerhand Vermutungen geäußert über *Entstehung und Abfall dieses Rhythmus*; jetzt kann ich mich eingehender mit diesem Probleme beschäftigen.

Wie entsteht die rhythmische Sekretion? Ausschließlich *durch das Auftreten der Fütterungsbahn!* Wenn nämlich die Fütterung anfängt, wird kein neues IV mehr gebildet, die vorhandene Granulaphase wird noch in IX umgesetzt, dann ist es aus. Dies kann nie eine Steigerung des Stadiums IX zur Folge haben, IX wird nur konstant bleiben, bis kein VIII mehr da ist, dann herabsinken bis Null. Bevor es aber so weit ist, tritt die neue Menge von aus Q gebildetem IX mit der gewöhnlichen Menge IX zusammen, die Quantität IX steigert sich dadurch direkt (Kurve ++++ Linie  $\frac{1}{2}$  Std.)<sup>1</sup>. Solange die Aktivierung dauert, wird der Rhythmus wohl auch erhalten bleiben, denn das Maximum von IX pflanzt sich natürlich weiter fort (siehe Teil I, S. 289).

Wie entsteht aber der *Abfall des Rhythmus* nach dem Aufhören der Fütterung? Der Rhythmus muß in irgendeiner Weise abfallen, denn die Hungerdrüse sezerniert kontinuierlich. Im ersten Teile rief ich dazu das Absterben der Zellen und ihren Ersatz durch Kanalepithelzellen zu Hilfe. Das ist aber nicht nötig; es ist klar, daß durch den langsamen Zurückgang zur Hungerbahn, durch das Auftreten der temporären Zwischenbahnen also, der Rhythmus völlig verwischt werden muß. Wenn die Drüse in ihren ursprünglichen Hungerzustand zurückgekehrt ist, so ist von einem Rhythmus nichts mehr zu bemerken. Weiter unten (S. 220) bespreche ich, wie die Ursache des Rhythmusentstehens sowie -abfalls beruhen kann auf Unterschieden in der Flüssigkeitsaufnahme der Drüse und Permeabilitätsänderungen der Drüsenzellwände.

Es ist also die im ersten Teile bewiesene Hungerbahn ergänzt worden: die Granulaphase sieht anders aus und der definitive Hungerzustand stellt sich erst ein nach Einschaltung von verschiedenen temporären Zwischenbahnen. Es ist eine tiefere Einsicht möglich geworden, weil die Zurückkehr vom Fütterungszustand zum Hungerzustand langsamer vor sich geht als die Entstehung des Fütterungszustandes aus dem Hungerzustande (dies wird innerhalb einer halben Stunde erledigt). Was dies nun eigentlich bedeutet, darüber reden wir im folgenden Abschnitt.

#### f) Die Ursachen der beobachteten Verhältnisse.

Wir sahen oben, wie beim Anfang der Fütterung *augenblicklich* die Fütterungsbahn eingeschlagen wird, während beim Aufhören der Fütterung der *Zurückgang* zur Hungerbahn erst *allmählich* vor sich geht. Wir

<sup>1</sup> Diese über die gewöhnliche Quantität hinausgehende Steigerung von IX dauert nur kurz; im nächsten Augenblick sinkt sie wieder herab, weil VIII gleich Null wird (aufgebraucht ist) und nun nur Q noch IX liefert. In dieser Weise entsteht eine Welle (Rhythmus).

wollen diese interessante Erscheinung jetzt beobachten an der Hand der Kurven der Abb. 21, welche zusammengesetzt sind aus typischen Kurven (Stadium I, IV und IX) der Abb. 20, hier aber schematisiert.

Wir sehen ganz deutlich, wie Stadium I (— · — · — · — Linie) beim Hungertier einen Durchschnittswert von 28% zeigend, in der halben Stunde der Fütterung direkt bis zum Minimum herabsinkt und sich vom Ende der Fütterung an zu erholen beginnt, jedoch 3 Stunden braucht, um den Hungerwert wieder zu erreichen. Dasselbe sehen wir beim Stadium IV (..... Linie), welches fast vier Stunden braucht, bevor es wieder seinen Hungerwert zeigt. Stadium IX (++++ Linie) zeigt ähnliches, nur liegt sein Maximum eine halbe Stunde später als die

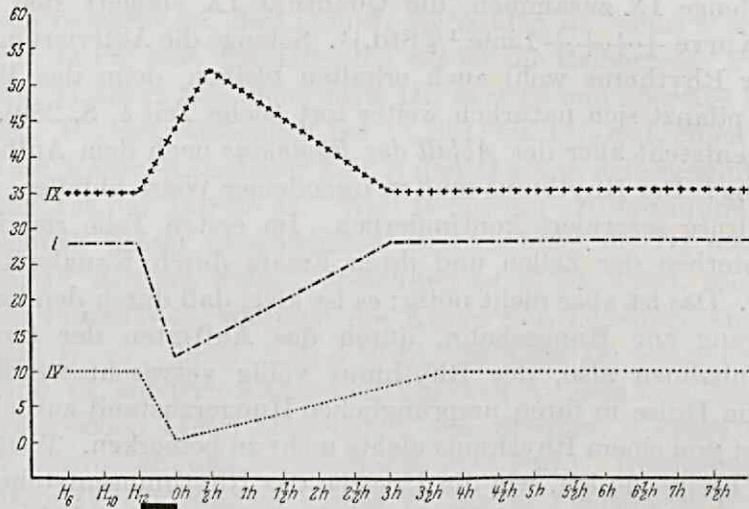


Abb. 21. Die Schwankungen der Stad. I, IV und IX der Vorderdarmdrüsenzellen in Durchschnittswerte ausgedrückt. Horizontal zuerst die Hungertiere  $H_6$ ,  $H_{10}$  und  $H_{12}$ , sodann die Stufen. ■■■■ = Fütterungszeit. Vertikal die % (durchschnittlich) der Stad. Erklärung im Text. Stad. I = — · — · — · —. Stad. IV = ..... Stad. IX = + + + + +.

Minima der Stad. IV und I, weil die durch den Reiz in Bewegung gebrachten Aktivierungsverhältnisse sich nicht gleich in Stadium IX offenbaren (siehe oben).

Wir sehen also, daß der Reiz sicherlich eine schnelle Reaktion der Drüse zur Folge hat.

Dieser Reiz kann an verschiedene Faktoren gebunden sein, welche liegen können: a) im Anfang der Fütterung, b) während der Dauer der Fütterung, d. h. der Reiz bleibt nur während der Fütterungszeit bestehen; c) während der Dauer der Verdauung, d. h. der Reiz bleibt bestehen, solange im Kropfsafte Stoffe sind, die als Reiz fungieren können.

Was wissen wir in dieser Hinsicht nun von dieser Drüse? 1. Sie ist während der Fütterung fortwährend maximal aktiviert (vgl. I. Teil, während sechsständiger Fütterung). 2. Sie reagiert direkt auf das Ende der Fütterung, denn die maximale Aktivierung verschwindet dann augen-

blicklich. Diese letzte Tatsache ist vielleicht am schönsten zu sehen in der Kurve des Stadium IV (. . . . . Linie, Abb. 21): Reagierte die Drüse nicht auf das Ende der Fütterung (0 Std.), so müßte die Kurve auf Null bleiben. Das tut sie nicht, sie steigt bei 0 Std. direkt wieder an.

Wenn nun der Reiz gebunden wäre an den Fütterungsanfang oder an die Dauer der Verdauung, so würde die Drüse nicht reagieren auf das Ende der Fütterung. Das tut sie aber: *also kann der Reiz nur gebunden sein an die gesamte Zeit der Fütterung.*

Welche Faktoren kommen nun überhaupt als *Reizquelle* für die Vorderdarmdrüse in Betracht? Das Tier wird an das Futter gesetzt, riecht es, beginnt zu fressen, seine Radula bewegt sich regelmäßig; das Tier schmeckt das Futter, dieses passiert den Pharynx und der Kropf füllt sich; Verdauung und Resorption fangen an. Als Reizquelle können wir also ansehen: den Geruch, den Geschmack, die mechanische Radulabewegung, vielleicht den Druck des Futters auf die Pharynxwand und die Stoffe im Kropf (indem entweder das Futter selbst oder verdaute Stoffe in chemischem Sinne als Reiz wirken können).

Die letzte Möglichkeit können wir gleich ausschließen, denn wenn der Reiz aus dem Kropfinhalt stammte, so wäre er noch lange Zeit nach dem Ende der Fütterung vorhanden, da der Kropf viele Stunden mit in Verdauung begriffenem Futter gefüllt bleibt. Es bleibt uns also nur übrig, anzunehmen, daß Geruch, Geschmack oder Radulabewegung als Reizquellen in Betracht kommen, also Dinge, welche wirklich nur bei der Aufnahme des Futters auftreten.

Man kann nun noch fragen, ob der Reiz nach dem Ende der Fütterung direkt herabsinkt oder erst allmählich? Geruch, Geschmack und Radulabewegung sind aber Dinge, welche gleich beim Ende der Fütterung völlig aufhören, und andere Reizmöglichkeiten sehe ich nicht. Ich glaube also, wir müssen wohl annehmen, daß der Reiz gleich lange dauert als die Fütterung, beim Ende der Fütterung direkt gleich Null wird.

Geruch, Geschmack oder Radulabewegung können also eine Rolle spielen, denn sie treten nur während der Fütterung auf.

Welcher dieser drei Faktoren es ist, ist eine zweite Frage. Das Tier riecht das Futtergemisch sicherlich, denn es verweigert die Annahme, wenn ein übler Geruch daran ist. Sobald aber das Futter gut riecht (z. B. nach Zufügung von Bergamottöl, siehe S. 191) kriecht es schon von ziemlich großer Entfernung darauf zu und beginnt gleich zu fressen. Doch weiß ich nicht, inwieweit der Geruch als Vorderdarmdrüsenaktivator in Betracht kommen kann. Sind doch Geschmack und Radulabewegung auch Faktoren, welche beim Fressen permanent auftreten. Es hat aber keinen Zweck, jetzt weiter darüber zu reden, hoffentlich habe ich später Gelegenheit, in einem III. Teile dieser Serienarbeit das Experiment entscheiden zu lassen.

Was tut nun eigentlich dieser *Reiz*? Obgleich wir hier darüber zu einer endgültigen Auffassung nicht kommen können, so ist doch wohl einiges darüber zu sagen, was uns weiter bringen kann. Was wissen wir im allgemeinen von einer aktivierten Drüse?<sup>1</sup>

Es hat sich allgemein gezeigt: 1. Die Flüssigkeitsaufnahme der Drüse nimmt zu. 2. Die Permeabilität der Drüsenzellwände erhöht sich. Diese zwei Faktoren arbeiten sehr schön zusammen. Die erhöhte Flüssigkeitsaufnahme bringt pro Zeiteinheit mehr Material, mehr oxydierbare Stoffe und mehr Sauerstoff an die Drüsenzelle heran. Das hätte aber nur einen geringen Effekt, wenn nicht auch zu gleicher Zeit die Drüsenzelle für diese Stoffe zugänglicher, d. h. ihre Permeabilität erhöht würde. Es kommen also pro Zeiteinheit mehr Stoffe in der Zelle an; und die Zellprozesse, welche wir doch wohl als Gleichgewichtsreaktionen ansehen dürfen, gehen auf einmal energischer vor sich, weil die Stoffzufuhr eine Verschiebung der Proportionalität der Reaktionskomponente zur Folge hat.

Was die erhöhte Flüssigkeitsaufnahme der Vorderdarmdrüse von *Helix* anbelangt, so bin ich imstande, eine Beobachtung mitzuteilen, welche wohl mit dieser Frage zu tun hat. Es ließ sich nämlich wahrnehmen, daß bei den Tieren, welche kurz vorher gefressen hatten, die Drüse stark ausgedehnt ist. Je weiter das Tier jedoch vom Fütterungsende entfernt war, je kleiner, gelblicher und kompakter sah die Drüse aus; sie näherte sich dem Habitus der Hungerdrüse immer mehr. Auch war noch ein anderer Unterschied bemerkbar: Die Drüse ließ sich kurz nach der Fütterung nur sehr schwer ohne Zerreißen von dem Kropf ablösen, beim Hungertier aber gelang dies ziemlich leicht. Dies weist doch wohl, obgleich ich es nicht in Zahlen festlegen konnte, auf eine erhöhte Flüssigkeitsaufnahme der Vorderdarmdrüse hin, welche vom Fütterungsende an allmählich wieder zum Hungerzustande herabsinkt.

Von der *Permeabilität* bei der Vorderdarmdrüse von *Helix* wissen wir nichts; ich glaube aber, es ist wohl nicht fehlgegriffen, wenn wir die allgemein anerkannte Tatsache auch auf dieses Objekt ausbreiten, also auch hier eine erhöhte Permeabilität annehmen.

Diese zwei Faktoren, erhöhte Flüssigkeitsaufnahme und erhöhte Permeabilität, welche als erste sichtbare Reizeffekte betrachtet werden können, bringen uns eine vorläufige „Erklärung“ der Verhältnisse. Sie wirken zusammen zur starken Beschleunigung der Sekretbereitung: es wird die Fütterungsbahn eingeschlagen. Hört das Tier zu fressen auf, so ist auch direkt der Reiz verschwunden, die Folgen des Reizes aber, erhöhte Flüssigkeitsaufnahme und vielleicht auch erhöhte Permeabilität, sinken erst allmählich wieder bis zum Hungerniveau herab. Dadurch

<sup>1</sup> Ich verweise hier ohne weiteres auf die betreffende Fachliteratur; Besprechung derselben führt uns zu weit.

verschiebt sich der Fütterungszyklus auch nur allmählich zum Hungerzyklus hin, denn es wird die Zufuhr der benötigten Stoffe allmählich verringert.

Ich will hiermit nicht sagen, daß nur diese zwei Faktoren eine Rolle spielen; sie genügen aber zur vorläufigen „Erklärung“ der Verhältnisse. Ich will ja nur auf die Möglichkeit einer endgültigen Erklärung in dieser Richtung hinweisen.

Ich stelle mir den Zusammenhang zwischen Fütterung und der Tätigkeit der Vorderdarmdrüse folgendermaßen vor: Das Tier hungert, die Vorderdarmdrüsenzelle durchläuft ihre Hungerbahn, die Sekretion der Drüse ist schwach, kontinuierlich. Das Tier fängt zu fressen an, Geruch, Radulabewegung oder Geschmack sind Reizquellen, von denen der Reiz nervös zur Vorderdarmdrüse geleitet wird. Reizeffekte in der Drüse: erhöhte Flüssigkeitsaufnahme und erhöhte Permeabilität der Drüsenzellwände. Effekt: Erhöhung der Zufuhr von benötigten Stoffen. Effekt: Beschleunigung der Zellprozesse, also Einschlagen der Fütterungsbahn. Effekt: Umschaltung der chaotischen Sekretion in eine rhythmische, da sehr viele Zellen *gleichzeitig* Stadium IX erreichen. Dieser Zustand bleibt bestehen solange das Tier frißt. Das Tier hört zu fressen auf. Effekt: der Reiz verschwindet. Effekt: Flüssigkeitsaufnahme und Permeabilität sinken allmählich zurück in den Hungerzustand. Effekt: die Zufuhr in die Zelle sinkt allmählich herab. Effekt: allmähliche Verzögerung der Zellprozesse, die Fütterungsbahn wird verlassen, und zwar durch verschiedene Zellen auf verschiedenem Wege und daher zu anderer Zeit, der Zyklus verlängert sich allmählich, bis die Hungerbahn wieder erreicht ist. Effekt: Die Sekretion wird wieder kontinuierlich.

### Kap. V. Die Mitteldarmdrüse.

Wie ich in der allgemeinen Einleitung und Methodik (S. 188 und S. 189) schon sagte, habe ich in diesem II. Teile die Mitteldarmdrüse während des Hungerns, während und nach der Fütterung an Stufen von 30 Minuten eingehend studiert. Es kamen zur Beobachtung cytologische Verhältnisse, die Sekretionsverhältnisse, Resorption und Phagocytose. Der Kalziumphosphatgehalt wurde histologisch und chemisch verfolgt (siehe S. 257). Zur Kontrolle der histologischen Sekretionsbefunde wurde der Enzymgehalt (Lipase) der Drüsenextrakte aller Stufen gemessen. (Siehe S. 263.) Alle diese Erscheinungen wurden in ihren Beziehungen zueinander studiert.

#### Subkap. 1. Histologie der Mitteldarmdrüsensekretion.

##### a) Allgemeines.

Im ersten Teile, wo ich auch eine Besprechung der älteren Literatur brachte (S. 266), habe ich die alte Auffassung vertreten; es enthält das Mitteldarmdrüsenepithel von *Helix* drei Arten von Zellen:

- a) Fermentzellen, charakterisiert durch eine schwankende Anzahl Granula.
- b) Resorptions- und Phagocytosezellen, keulenförmig in das Follikellumen hineinragend.
- c) Kalkzellen, gefüllt mit Trikalziumphosphatkörnern.

Es ist eine alte Streitfrage, ob Ferment- und Resorptionszellen wirklich verschiedene Zellarten sind. Wurden doch bei andern Mollusken in manchen älteren Untersuchungen diese Zellarten schon für identisch gehalten oder als nur physiologisch verschiedene Stadien einer einzigen Zellart betrachtet. Ich werde weiter unten (S. 272) Gelegenheit finden, auf diese Frage, sowie auf die neuere Arbeit von PECZENIK (86) zurückzukommen.

Was die Art der Sekretion in der Mitteldarmdrüse anbelangt, so konnte ich früher feststellen, daß die Zelle rhythmisch sezerniert und die Drüse *als Ganzes* gleichfalls. Der Rhythmus der Drüsensekretion kommt durch Zusammenarbeiten der Zellen zustande und äußert sich während einer 6 Stunden langen Fütterung in zwei Sekretionsperioden. Während des Hungerns vermutete ich auch eine rhythmische Sekretion, habe dies aber ungenügend argumentiert.

Inwieweit diese Ansichten bestätigt und erweitert werden, wollen wir jetzt sehen.

#### b) Methodik.

(Siehe auch allgemeine Methodik S. 189.) Im ersten Teile habe ich die Histologie der Sekretion während ständiger Fütterung 6 Stunden studiert und bestimmte Verhältnisse herausgefunden. Wie verhält sich nun aber die Mitteldarmdrüse, wenn man die Fütterung nur kurze Zeit einwirken läßt? Das war die Aufgabe dieses zweiten Teiles. Das System war vom ersten Teile her einigermaßen bekannt, Änderungen, hervorgerufen durch eine kurzdauernde Fütterung, während alle anderen Faktoren konstant blieben, mußten zweifelsohne wahrzunehmen sein. In dieser Weise experimentierte ich und gewann so einen tieferen Einblick in die Sekretionsverhältnisse.

Eine zweite Aufgabe war es, die Resorption und Phagocytose zu verfolgen und durch Vergleichung mit der Sekretion neue Tatsachen über die Zellspezifität herauszufinden. Darum mußte die Mitteldarmdrüse in der Gelegenheit sein zu resorbieren und zu phagocytieren: es wurden dem Tiere im Futter immer resorbierbare und phagocytierbare Substanzen geboten. Das Futtergemisch hatte also immer alle Möglichkeiten der Mitteldarmdrüsenaktivierung (betreffend Sekretion, Resorption und Phagocytose) in sich<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Für die Zusammensetzung der Futtergemische siehe allgemeine Technik S. 191.

Da ich einen Zusammenhang zwischen Fermentsekretion und dem Benehmen der Kalkzellen vermutete (siehe auch HIRSCH 32), wurde der Kalziumphosphatgehalt genau verfolgt (S. 257) um mögliche Beziehungen herauszufinden.

Weil in letzter Zeit wieder an der Fermentnatur der Granula in den Fermentzellen gezweifelt worden ist (PECZENIK 86), habe ich auch diese Granula eingehend nach Zahl und Aussehen studiert, um sie später mit den Resultaten der Enzymmessungen vergleichen zu können. Die Beobachtungen wurden mit Hilfe der Stufenmethodik ausgeführt und womöglich durch Zählungen ergänzt.

### c) Technik.

Es sei auch auf die allgemeine Technik verwiesen (S. 190). Im ersten Teile habe ich zur Mitteldarmdrüsenfixation vorwiegend das BOUINSche Gemisch angewandt. Nötig schien es mir aber jetzt noch, die Wirkung von verschiedenen Fixationsgemischen zu vergleichen, weil es nicht ausgeschlossen ist, daß gewisse Zellstrukturen, wie z. B. Ferment- und Kalkgranula in säurehaltigen Fixierungsflüssigkeiten mehr oder weniger gelöst werden. Es wurden darum verschiedene Fixationsgemische geprüft an Teilen ein und derselben Mitteldarmdrüse. Die 10  $\mu$  dicken Schnitte wurden immer mit verschiedenen Färbungen bearbeitet, die Aufmerksamkeit war dabei besonders gerichtet auf gute Fixierung der Fermentgranula, der Kalkgranula und des Cytoplasmas. Es wurde auch auf die gute Fixation von resorbierten Substanzen Rücksicht genommen, also auch Mitteldarmdrüsen von Tieren, welche mit Resorptionsgemischen gefüttert waren, diesem vergleichenden Studium unterworfen. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt (Tabelle 6).

Wir sehen, wie Sublimat und seine Gemische nicht brauchbar sind, weil die Resorptionsbilder durch die nachfolgende Jodbehandlung verwischt werden. Als weitaus das beste Gemisch erwies sich hier das von mir zusammengestellte F.A.C.-Gemisch (Äthylalkohol absol. 6 Teile, Chloroform 2 Teile, Formaldehyd 33 $\frac{1}{3}$ % 2 Teile). Es ist dies eine sehr rasch eindringende Flüssigkeit, was wohl auf die permeabilitätserhöhende Wirkung der toxischen Quantität des Chloroforms zurückzuführen ist. Es enthält dieses Gemisch keine strukturlösende Substanzen: Granula (Kalk- und Fermentgranula) waren immer (verglichen mit den mit andern Fixationsgemischen behandelten Stücken derselben Mitteldarmdrüse) in maximaler Quantität anwesend. Zweitens eröffnet dieses Gemisch die Möglichkeit, die Objekte direkt aus der Fixationsflüssigkeit in starken Alkohol zu übertragen und auszuwaschen. Die resorbierten Substanzen werden darin nicht mehr ausgezogen, wie in mehr wasserhaltigen Flüssigkeiten der Fall sein könnte. Die so hergestellten Resorptionsbilder sind also in dieser Hinsicht einwandfrei. Auch das Plasma wird durch das

Tabelle 6.

Fixierungs-Flüssigkeit	Fixierte Zeit Stunden	Resultat
Äthylalkohol absol.	1	Plasma sehr schlecht fixiert
Äthylalkohol + Chloroform (3 : 2)	1	Plasma sehr schlecht
Methylalkohol	1	Plasma sehr schlecht fixiert
Formaldehyd 7% in Aqua destillata	4 $\frac{1}{2}$	schlecht
BOUINSches Gemisch. (Zusammensetzung siehe Seite 196.)	2 $\frac{1}{2}$	die Fermentgranula sind nicht alle erhalten
ZENKERSche Flüssigkeit	3	Fermentgranula nicht gut. Jodbehandlung verdirbt wahrscheinlich die Resorptionsbilder
Sublimat gesättigt wässrig	2	Allgemeinbild ziemlich gut, Plasma weniger gut, Resorptionsbilder undeutlich
SCHAUDINNSche Flüssigkeit. (Zusammensetzung siehe Seite 196.)	2	wie bei ZENKER
Gemisch von Sublimat, Kaliumbichromat und Eisessig. (Zusammensetzung siehe S. 196.)	1	wie bei ZENKER
Gemisch von Sublimat und Kaliumbichromat. (Zusammensetzung siehe Seite 196.)	1	wie bei ZENKER
F. A. C. Gemisch	1	sehr gut

F.A.C.-Gemisch sehr gut fixiert und läßt eine genaue Beobachtung der Resorption zu. Nur die Kernstrukturen sind weniger schön; dies ist aber in diesem Falle nicht von ausschlaggebender Bedeutung.

Ich möchte noch darauf hinweisen, wie sich hier manifestiert, wie eigentlich jede Untersuchung ihr eigenes Fixationsgemisch erfordert. Die Vorderdarmdrüse ließ sich für meinen Zweck am besten in Sublimat + Kaliumbichromat (S. 195 und 196) konservieren, zur Fixation der Mitteldarmdrüse eignet sich das F.A.C.-Gemisch. Es sollte die Fixationstechnik immer den speziellen Untersuchungszwecken angepaßt werden.

Wie bei der Vorderdarmdrüse habe ich auch hier verschiedene *Färbetechniken* versucht: ROMANOWSKY-feucht<sup>1</sup>, Alaunhämatoxylin-Pikrinsäure, Alaunhämatoxylin-Lichtgrün, Alaunhämatoxylin-Eosin, HEIDENHAINS Eisenhämatoxylin, Methylgrün und Gentianaviolett. Für die

<sup>1</sup> ROMANOWSKY-Färbung ist schon darum nicht durchführbar, weil die Sekretionsgranula mitgefärbt werden und dadurch nicht immer genau beobachtet werden können.

histologischen Untersuchungen der Sekretion gab Alaunhämatoxylin (DELAFIELD)-Lichtgrün die besten Resultate.

Zum histologischen Studium der Stufen wurde also folgendermaßen verfahren: Vom Tiere, dessen Vorderdarmdrüse auch untersucht wurde, fixierte ich ein Stück der Mitteldarmdrüse (immer aus der Umgebung der großen Ausführungsgänge) 1 Std. im F.A.C.-Gemisch. Dann kam das Objekt in Alkohol 96% (viele Stunden mit mehrmaligem Wechseln der Flüssigkeit), Alkohol 100% ( $1\frac{1}{2}$  Std.), Xylol (2 Std.), Xylol-Paraffin (2 Std.) und Paraffin (2 Std.). Es wurden aus verschiedenen Teilen des Objektes  $10\ \mu$  dicke Schnitte hergestellt. Einer der mit Schnitten belegten Objektträger wurde folgendermaßen behandelt: Entparaffinierung, Alkohol 100% bis Wasser, Alaunhämatoxylin 5 Min., kurz abspülen in Leitungswasser, Alkohol 35%, Alkohol 35% +  $\frac{1}{2}\%$  Salzsäure 2 Min., Alkohol 35%, Aq. dest., Lichtgrün ( $\frac{1}{10}\%$  wäss.) 5 Min., kurz abspülen in Leitungswasser, Alkohol 35%, Lichtgrün differenzieren in Alkohol 70% bis der Schnitt nur noch eine schwachgrüne Färbung zeigt, Alkohol 96% usw. bis Kanadabalsam.

Mit einem zweiten Objektträger wurde ebenso verfahren, nur wurden die Schnitte 3 Min. in Hämatoxylin gefärbt und nicht in Salzsäure-Alkohol differenziert. (Behandlung der Schnitte bei Untersuchung von Resorption, Phagoocytose und Phosphatgehalt siehe bei den betreffenden Abschnitten).

In dieser Weise wurde also in jeder Stufe zum histologischen Sekretionsstudium differenzierte Hämatoxylin-Lichtgrünpräparate mit solchen ohne Differenzierung verglichen. Wenn nicht differenziert wird, gehen durch die schwere Hämatoxylinfärbung Einzelheiten verloren, die immer gelb bleibenden Granula sind aber besser erhalten als in den differenzierten Präparaten (der Lösung in Salzsäure wegen). Dagegen lassen sich verschiedene cytologische Einzelheiten meistens besser im differenzierten Präparat studieren.

Die Schnitte der Hungerdrüsen, sowie die aller Stufen wurden nun einem eingehenden Studium unterworfen. Es wurden dabei die cytologischen Unterschiede wie Plasmastruktur usw. notiert. Das Verhältnis der sezernierenden Follikel zu den nicht sezernierenden wurde in verschiedenen Gesichtsfeldern gezählt und in Prozenten ausgedrückt (Technik wie bei der Vorderdarmdrüse). Die Anzahl der Sekretgranula wurde so genau wie möglich festgestellt. Die großen Granula, welche niemals in sehr großen Mengen pro Gesichtsfeld erscheinen, können direkt gezählt werden. Wenn ich unten also z. B. rede von „große Granula = 8,“ so heißt dies, daß durchschnittlich wirklich 8 große Granula pro Gesichtsfeld anwesend sind. Die kleinen Granula sind manchmal in so großen Mengen vorhanden, daß eine direkte Zählung unmöglich ist; man kann sie nur abschätzen. Um übersichtlicher zu arbeiten, wurden nachher diese Abschätzungen wieder in Zahlen ausgedrückt, dies zeigt die Tabelle 7. Wenn ich also unten z. B. von „kleine Granula = 6“ rede, so ist damit gemeint, daß die kleinen Granula durchschnittlich pro Gesichtsfeld häufig vorkommen.

Die Schnitte müssen zur Granulaabschätzung und -zählung genau gleich dick sein, weil wir sonst natürlich Fehler machen, da diese Zahlen absolut sind und nicht Prozentzahlen in Beziehung der Gesamtzellenwert.

Es wurde weiter die Lage und Farbe der Granula in den Zellen bestimmt, wobei wir bei der Lagebestimmung der großen Granula vorsichtig sein müssen, weil diese durch die Behandlung ausgespült und verschoben werden können. Die Größe der Follikellumina sowie die Größe und Form der Sekretzellen wurden abgeschätzt.

Tabelle 7. Diese Tabelle gibt an, wie die Abschätzungen in Zahlen ausgedrückt werden.

Keine	0	Häufig	6
Sporadisch	1	Ziemlich viel	7
Sehr wenig	2	Viel	8
Wenig	3	Sehr viel	9
Mäßig	4	Zelle prall geladen	10
Ziemlich häufig	5		

In der beschriebenen Weise wurde bei Hungerdrüsen und bei allen Stufen verfahren; die Resultate werden wir jetzt besprechen.

#### d) Histologie der Hungerdrüse.

##### aa) Statik der Hungerdrüse.

Das mikroskopische Bild des Hungerdrüsenchnittes wird beherrscht von den zahlreichen quer, schief und längs getroffenen Drüsenfollikeln. Betrachten wir diese Follikel eingehender, so können wir die Epithelzellen, von denen sie gebildet werden, direkt in zwei Abteilungen unterbringen:

- a) Kalkzellen, diese werden später (S. 257) behandelt.
- b) Granula- oder Fermentzellen.

Diese Granulazellen will ich deshalb so bezeichnen, weil sie eigentlich alle gelbe Granula enthalten. Oft sind sie prall damit geladen, oft auch findet man nur basal in der Zelle spärlich Granula. Zwischen diesen beiden Extremen lassen sich allerhand Zwischenstufen entdecken. Der Kern liegt fast immer basal; nur in denjenigen Zellen, wo wenig Granula enthalten sind, ist er etwas mehr zum Apex hin vorgerückt. Oft ist die Zelle ziemlich klein mit grader Front, oft auch ist sie groß und ragt mehr oder weniger kolbenförmig in das Follikellumen hinein.

Es ist sehr schwer, diese Bilder in verschiedenen Typen unterzuordnen; die Übergänge sind ja dermaßen fließend, daß eigentlich kein Zweifel darüber entstehen kann, daß wir es hier mit einer einzigen Zellart zu tun haben; es sind sehr deutlich nur verschiedene Arbeitsstadien einer einzigen Zellart vorhanden.

Die *Granula* selbst sind in zwei verschiedenen Formen anwesend, erstens groß, gelb, manchmal vakuolisiert, fast immer basal in einer großen Vakuole. Zweitens gibt es kleine gelbe Granula, welche die Zelle ganz ausfüllen können.

Was die *kleinen Granula* anbelangt, so sei erstens ausdrücklich betont, daß sie, entgegen der Ansicht von FRENZEL und BIEDERMANN, durch Wasser, Glycerin, und verdünnten Säuren in einigen Stunden vollkommen gelöst werden. Im Sediment der Glycerin-Wasserextrakte (siehe Abschnitt Lipase S. 267) ließen sich nur Gewebsreste und Kalkkörner entdecken; die Granula waren vollständig gelöst. Differenziert man mit Alaunhämatoxylin gefärbte Schnitte in verdünnter Salzsäure, so lösen sich kleine und große Granula, von den kleinen zuerst die meist apikalen, nachher auch die basalen. Weiter unten werde ich hierauf noch zurückkommen.

Die Farbe der kleinen Granula ist hauptsächlich gelb, mehr oder weniger hell-leuchtend. Sie liegen öfters in kleinen Vakuolen, manchmal aber sicherlich direkt im Plasma. Mehr apikal nehmen sie meistens die Plasmafärbung an und sind dann nicht immer leicht vom umgebenden Plasma zu unterscheiden. Sie sind immer homogen.

Die *großen Granula* liegen, wie ich schon sagte, hauptsächlich basal, immer in Vakuolen. Sie sind nur in kleiner Anzahl in den Zellen vertreten, meistens findet man eine große basale Vakuole und darin ein oder sehr wenige große Granula. Die Hauptmenge der Fermentzellen enthält solche Vakuolen. Die Farbe der großen Granula ist leuchtend hellgelb bis dunkelgelbbraun, sie sind homogen bis stark vakuolisiert. Es kommt vor, daß die gelbe Farbe ganz verschwindet, die Granula scheinen sich dann auszudehnen und die ganze Vakuole aufzufüllen. Sie werden farblos, erscheinen aber nach Alaunhämatoxylinfärbung dunkelblau. In diesem Zustand liegen sie entweder basal oder mehr apikal in der Zelle.

Es sei bemerkt, daß häufig an der Frontlinie der Zelle ein sehr eigenartiger Saum erscheint, unregelmäßig mit feinen kleinen Linien durchsetzt. Ich habe dabei an einen Stäbchensaum gedacht, will jedoch damit nicht sagen, daß dieser Saum wirklich etwas mit einem Stäbchensaum zu tun hat, nur auf die äußerliche Ähnlichkeit mit demselben hinweisen. Ich glaube, daß wir es hier zu tun haben mit einer an den apikalen Zellfronten adsorbierten Schicht von Kolloiden, welche in dieser eigentümlichen Gestalt erscheint. Die Flüssigkeit der Follikellumina enthält ja viele Kolloide (z. B. Globuline), welche sich in dieser Weise ablagern können.

Außer den Drüsenfollikeln trifft man in den Schnitten natürlich die Ausführgänge mit ihrem Flimmerepithel. Ich weise darauf hin, daß dieses Epithel manchmal leuchtendgelbe, unregelmäßig konturierte kleine Granula enthält. Ich vermute, daß diese Granula Schleim liefern, da öfters Schleimzellen in diesem Epithel auftreten.

Zum Schluß sei noch erwähnt, daß ich einmal an diesem Flimmerepithel eine merkwürdige Tatsache beobachtet habe: Abschnürung und Abstoßung von homo-

genen runden Plasmaklumpen. Ich habe keine Vermutung darüber, was dieses bedeuten soll und beschränke mich hier einfach darauf, die beobachtete Tatsache zu erwähnen.

bb) *Dynamik der Hungerdrüse.*

Die Zelle.

Im ersten Teile habe ich bewiesen, daß die „Fermentzelle“ der Mitteldarmdrüse rhythmisch arbeitet. Es tritt bei der Mitteldarmdrüse diese rhythmische Zellarbeit mehr in den Vordergrund als bei der Vorderdarmdrüsenzelle; die Mitteldarmdrüsenzelle zeigt ja allerhand Stadien, welche mit sehr kleinen Unterschieden in andere Stadien übergehen. Die gedankliche Aneinanderreihung ist hier viel bequemer als bei der

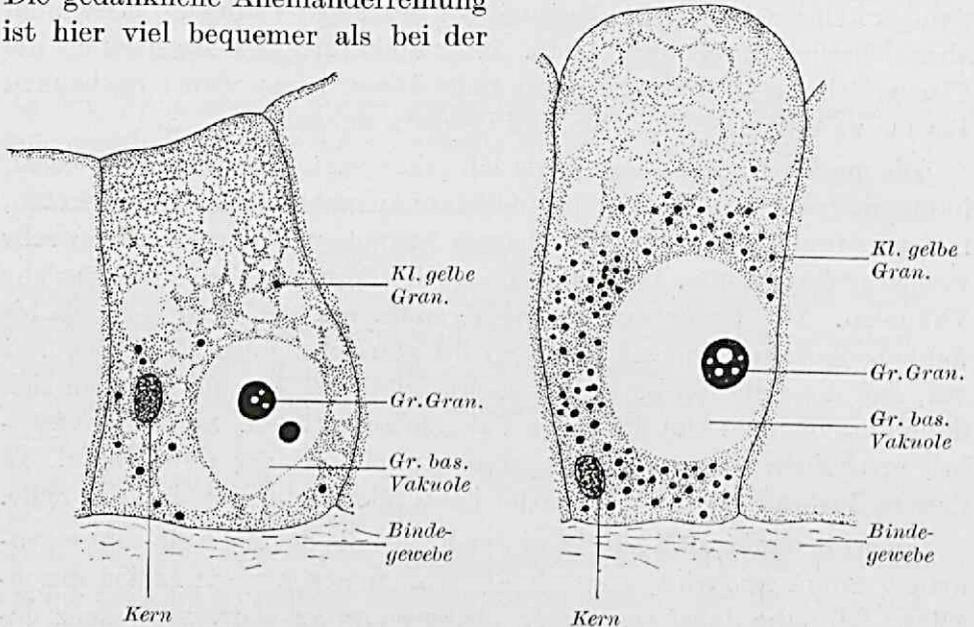


Abb. 22. Fermentzelle der Mitteldarmdrüse im Stad. A. Erklärung im Text.

Abb. 23. Fermentzelle der Mitteldarmdrüse im Stad. B. Erklärung im Text.

Vorderdarmdrüsenzelle; dort gab es andere Möglichkeiten und Lücken, welche nur mit der Stufenzählmethodik zu überbrücken waren.

Ausgehend von dem im ersten Teile gebrachten Beweis des Zellrhythmus will ich hier noch einmal die Arbeitsbahn der „Fermentzelle“ der Mitteldarmdrüse betrachten. Manche Einzelheiten sind darin noch unbewiesen, ich bespreche dieselben später; die Hauptsache aber steht schon fest.

*Stadium A* (Abb. 22). Die Ferment- oder Granulazelle ist erst ziemlich kurz mit gerader Front, sie hat eine scharf zum Lumen hin abgesetzte rechte Apexkontur. Das apikale Plasma ist homogen, zeigt eine Schaumstruktur. Der Kern befindet sich etwa  $\frac{1}{3}$  vor der Basis. Basal im Plasma sind meistens vereinzelt kleine Granula zu beobachten. Oft ist eine basale Vakuole mit einem großen Granulum anwesend.

*Stadium B* (Abb. 23). Die Anzahl der kleinen gelben Granula wächst, sie rücken mehr zum Apex hin, bleiben aber meistens noch auf die untere Hälfte der Zelle beschränkt. Die Zelle beginnt etwas ins Follikellumen hervorzuragen. Basales großes Granulum oft anwesend.

*Stadium C* (Abb. 24). Die Anzahl der kleinen Granula nimmt noch weiter zu, sie rücken noch mehr zum Apex hin. Im proximalen Zellteil zeigt sich an ihnen irgendeine Änderung, die gelbe Farbe verblaßt, sie färben sich mit Plasmafärbestoffen (z. B. mit Lichtgrün; deswegen will ich von jetzt an diese Gebilde kurz als „grüne“ Granula bezeichnen).

Der Kern wird zur Basis hin zurückgedrängt. Der Apex wölbt sich stark in das Follikellumen hervor, enthält neben den „grünen“ Gra-

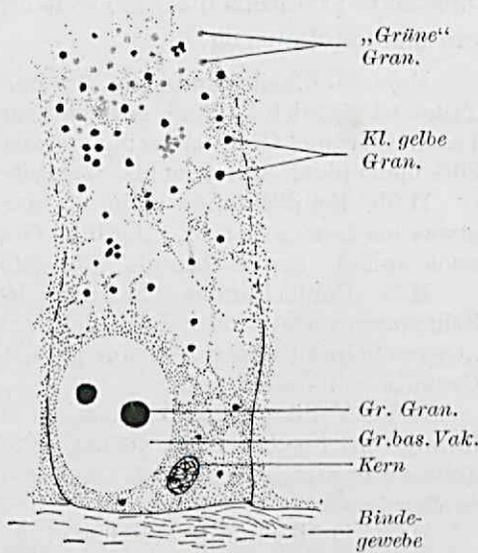
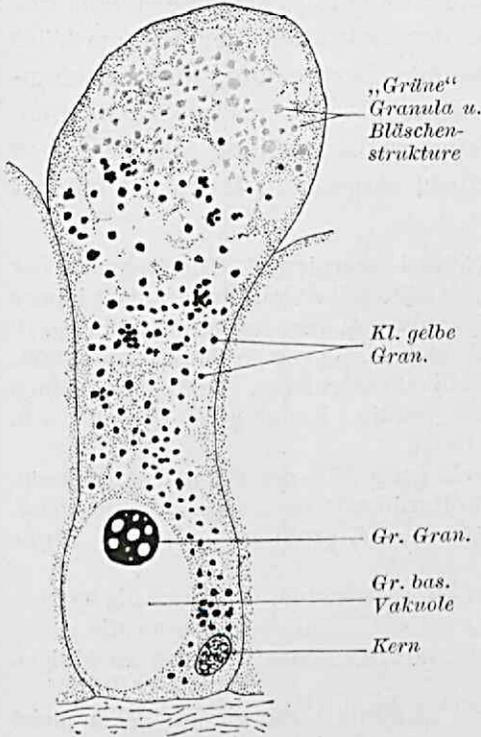


Abb. 24. Fermentzelle der Mitteldarmdrüse im Stad. C. Erklärung im Text.

Abb. 25. Fermentzelle der Mitteldarmdrüse im Stad. D. Erklärung im Text.

nula noch sehr kleine, nicht näher bestimmbare bläschenartige Strukturen („grüne“ Granula in Auflösung?)

*Stadium D* (Abb. 25). Sodann stößt die Zelle den proximalen kolbenförmigen Teil ab, es kommen dabei auch viele, mehr basalgelegene, gelbe Granula mit nach außen. Die Zellfront sieht vollkommen zerfetzt aus, die Grenzen zu den benachbarten Zellen sind nur basal erhalten.

Die Zelle regeneriert dann, sie wird apikal wieder begrenzt, zeigt erst noch unregelmäßige apikale Vakuolen, schließlich verschwinden auch diese, der Kern rückt nach vorne und das Stadium A ist wieder erreicht.

Wie steht es nun mit den großen basalen Granula? Sicherlich werden sie ausgestoßen, ich habe aber, wie wir auch weiter unten noch sehen

werden, keinerlei Zusammenhang zwischen der Ausscheidung der großen und kleinen Granula entdecken können. In allen Arbeitsstadien der Zellen können die großen Granula auftreten und in allen Stadien kann man gelegentlich eine Ausstoßung derselben beobachten, oft nach der oben beschriebenen Ausdehnung und Verfärbung. Weiter unten (S. 233, 238 und 270) werde ich darauf zurückkommen.

### Die Drüse.

Den Rhythmus der Hungerdrüse habe ich im ersten Teile (KRIJGMANN 55) nicht bewiesen. Ich konnte nur eine synchrone Arbeit der Zellen nachweisen. Zwecks Analyse der Sekretion der Hungerdrüse wenden wir uns jetzt zur systematischen Besprechung der histologischen Bilder, welche uns die Drüse zeigt. Zu diesem Zwecke wurden, wie oben gesagt, die Drüsen verschiedener Hungertiere, alle im selben Zustande (Winterschlaf, Ende November) verglichen. Es folgt zunächst ein Protokollauszug.

H 5a. Follikellumina klein, 6% der Follikel sezernieren<sup>1</sup>. Die Mehrzahl der Zellen ist ziemlich kurz mit gerader Front. Kleine gelbe Granula = 3, fast immer basal. „Grüne“ Granula gering. Große Granula = 4, von denen 80% gelb basal, 20% blau apikal. Es findet also wohl eine Ausscheidung von großen Granula statt.

H 5b. Follikellumina klein, 2% der Follikel sezernieren. Die Zellen wölben etwas ins Lumen hervor. „Grüne“ Granula mäßig. Kleine gelbe Granula = 9, auch apikal. Große Granula = 6, gelb, basal.

H 5c. Follikellumina sehr klein oder sehr groß, 25% der Follikel sezernieren. Zellfronten zerfetzt oder Zellgipfel stark kolbenförmig ins Lumen hineinragend. „Grüne“ Granula stark. Kleine gelbe Granula = 4, proximal fehlen sie. Große Granula = 4, basal, gelb.

H 5d. Follikellumina klein, 2% der Follikel sezernieren. Zellen mäßig kolbenförmig. „Grüne“ Granula gering. Kleine gelbe Granula = 8, durch die ganze Zelle verbreitet. Große Granula = 4, gelb, meistens basal, werden an einigen Stellen in dieser Gestalt ausgeschieden.

H 5e. Follikellumina ziemlich groß, 4% der Follikel sezernieren. Zellen meist kurz mit gerader Front. „Grüne“ Granula gering. Kleine gelbe Granula =  $3\frac{1}{2}$ , basal. Große Granula = 3, gelb, basal.

H 6a. Follikellumina ziemlich klein, 5% der Follikel sezernieren. Zellen stark kolbenförmig. „Grüne“ Granula ziemlich stark. Kleine gelbe Granula = 5, gelb, proximal fehlen sie. Große Granula = 5, gelb, basal.

H 6b. Follikellumina mäßig groß, 2% der Follikel sezernieren. Zellen kurz und gerade, apikale Plasma homogen, Schaumstruktur. „Grüne“ Granula gering. Kleine gelbe Granula =  $3\frac{1}{2}$ , basal. Große Granula = 5, basal, gelb.

H 6c. Follikellumina mäßig groß, 1% der Follikel sezernieren. Zellen gerade und kurz. „Grüne“ Granula gering. Kleine gelbe Granula = 3, immer basal. Große Granula = 6, gelb, basal.

H 6d. Follikellumina ziemlich klein, 2% der Follikel sezernieren. Zellen kolbenförmig. „Grüne“ Granula stark. Kleine gelbe Granula = 4, proximal fehlen sie. Große Granula = 7, gelb, basal.

<sup>1</sup> Sekret ausstoßende Follikel darf man nicht verwechseln mit Follikel, in denen ein Klümpchen abgestoßener (degenerierter) Zellen wahrnehmbar ist.



Merkwürdig ist aber die Tatsache, daß gerade beim Tiere H 5 c, wo wir es mit einem Sekretionsanfang zu tun haben (siehe Protokollauszug: die meisten Zellen sind noch stark kolbenförmig), relativ wenig kleine gelbe Granula da sind (— — — Linie).

Dagegen sehen wir, wie die „grünen“ Granula (Abb. 26) bei H 5 c in relativ großer Menge auftreten (. . . . . Linie). Wenn die Zellen stark

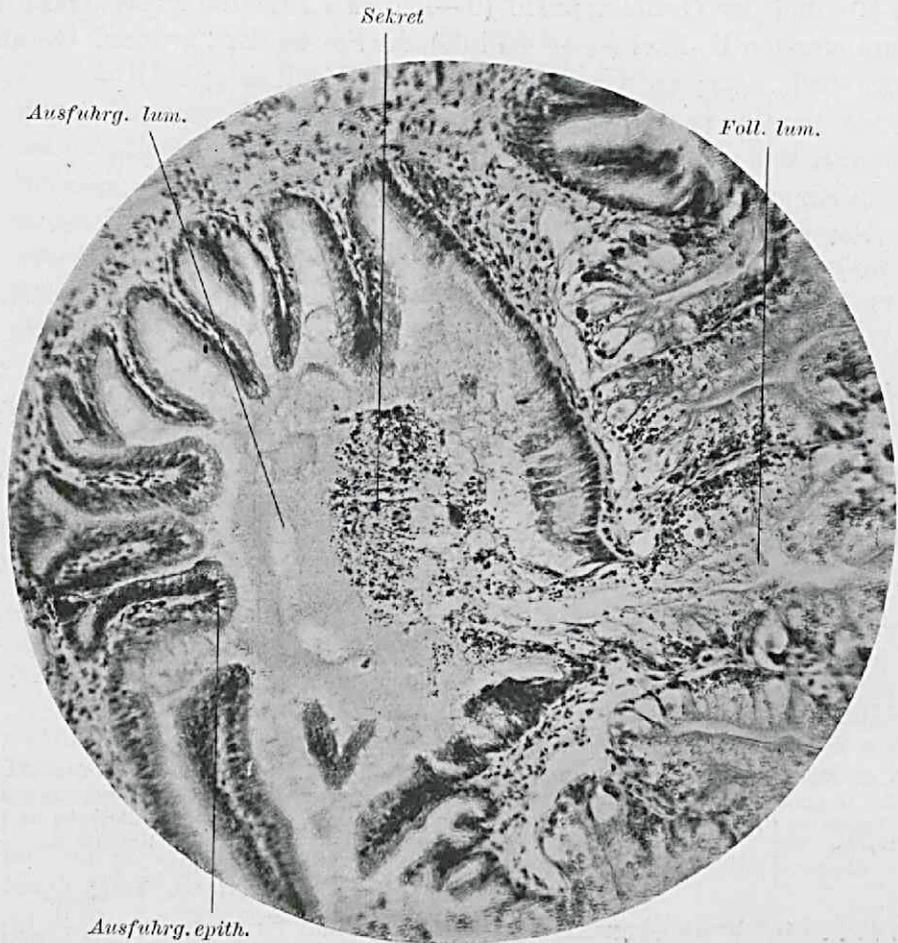


Abb 27. Mitteldarmdrüse. Mikrophoto einer Sekretwelle, welche sich aus den Follikeln in einen großen Ausführgang ergießt. Das Sekret besteht hauptsächlich aus kleinen gelben Granula und Zellresten.

kolbenförmig sind, so tritt immer die Anzahl der kleinen gelben Granula etwas zurück; und es treten apikal in der Zelle große Mengen „grüner“ Granula auf. Ich sagte oben schon, daß ich zunächst diese „grünen“ Granula aus den gelben Granula entstanden denke; später werde ich das (S. 238) beweisen. Der Zusammenhang ist nun z. B. bei H 5 c so: die kleinen gelben Granula sind nicht in sehr großer Menge vorhanden, denn sie haben sich proximal zu „grünen“ Granula umgebildet. Nun wird die Masse ausgestoßen: erstens die „grünen“ Granula, zweitens wird

auch der größte Teil der kleinen gelben Granula mitgeschleppt. Die „grünen“ Granula lösen sich sehr schnell im Lumen<sup>1</sup> (sie lösen sich in der Zelle schon leichter als die gelben Granula, siehe oben); man findet also im Lumen fast nur die gelben Granula.

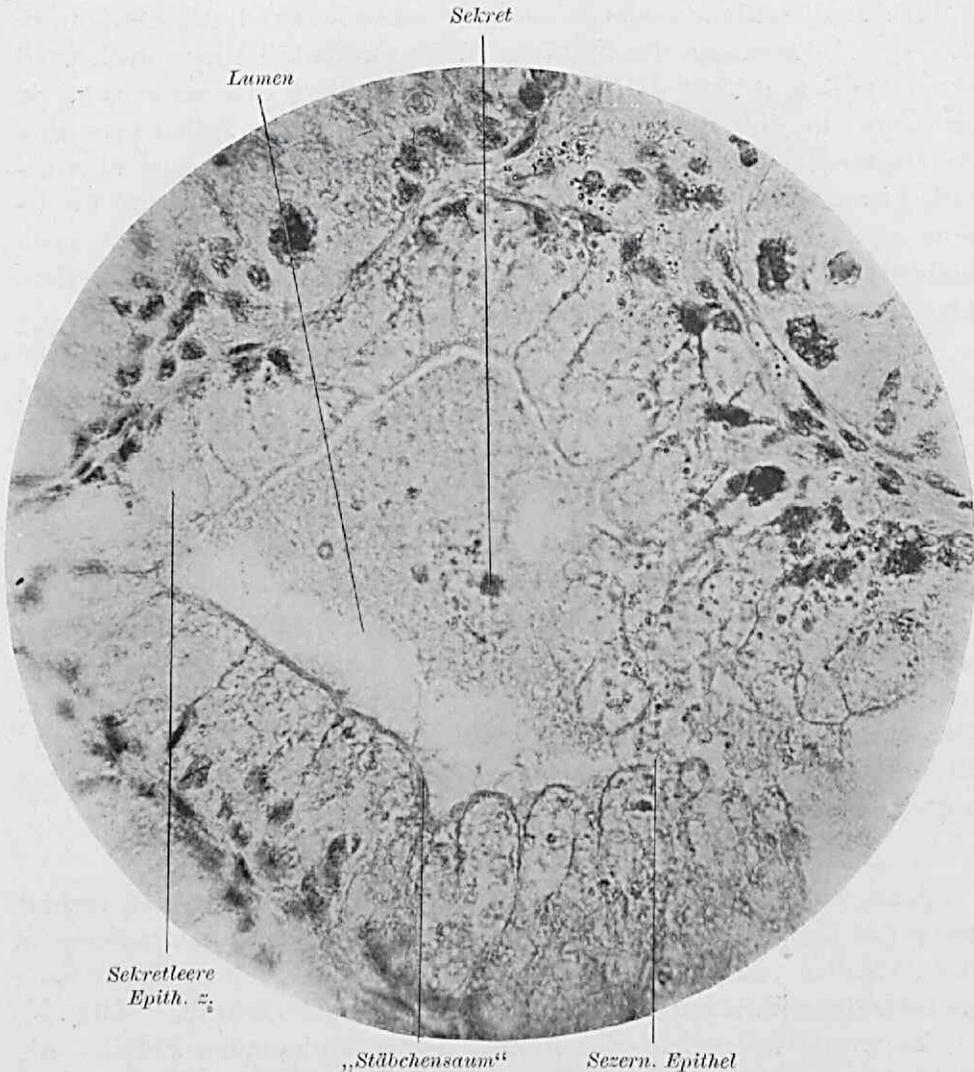


Abb. 28. Mitteldarmdrüsenfollikel, in dem die Zellen links sekretleer sind, das Stadium A repräsentieren. Die Zellen rechts sind noch sekretgefüllt oder mit der Ausstoßung beschäftigt, sie stellen also Stadium D oder einen Zustand sehr kurz vor D dar. Im Lumen Sekret.

Was die großen Granula anbelangt (— · — · — Linie), so kann ich ihr Auftreten und ihre Ausscheidung in keinerlei Beziehung bringen zu den andern Vorgängen in den Zellen. Ich werde weiter unten noch zeigen, daß sie mit den Fermenten wahrscheinlich nichts zu tun haben; ich glaube, die Bildung und Ausscheidung der großen Granula ist ein von den andern hier beobachteten Zellvorgängen unabhängiger Prozeß.

<sup>1</sup> In beobachtete sie nur selten in den Follikellumina.

Die Hungerdrüse lehrt uns weiter, daß, im Gegensatz zur Vorderdarmdrüse, hier die Zellen synchron arbeiten. Die ganze Drüse zeigt eigentlich immer nur die Zellen in demselben Arbeitsstadium. So zeigt z. B. bei H 5 c die Mehrzahl der Zellen (also der Follikel, denn im selben Follikel sind fast immer alle Zellen im gleichen Zustand) das Stadium C, 25% der Zellen zeigen das Stadium D. Natürlich trifft man auch wohl einen Follikel, in dem die Zellen zwei benachbarte Stadien zeigen. So sieht man in Abb. 28 einen Follikel, in dem links die Zellen eben ihre Sekretgranula ausgestoßen haben, fast granulaleer sind und eine gerade Front zeigen (man achte auch auf die eigenartige doppelte Frontlinie, den „Stäbchensaum,“ dieser Zellen), während rechts die noch kolbenförmigen Zellen im Begriffe sind, ihre Sekrete hinaus zu werfen. Das Lumen zeigt ausgestoßene Granula.

Es ist diesen Betrachtungen wohl folgendes zu entnehmen: die Zelle der Mitteldarmdrüse arbeitet rhythmisch, die Zellen arbeiten synchron, also muß die Drüse als Ganzes auch rhythmisch arbeiten. Die Sekretion der Drüse ist also rhythmisch während des Hungerns, es findet eine periodische Ausscheidung von Granula statt.

### c) Histologie der aktivierten Drüse.

#### aa) Statik der aktivierten Drüse.

Es ist über die histologische Morphe der aktivierten Mitteldarmdrüse wenig Neues zu sagen. Es treten hier keine neue Formen auf; alles was ich beobachten konnte, ist auch in der Hungerdrüse schon vorhanden. Der einzige morphologische Unterschied ist wohl, daß die „grünen“ Granula apikal in den „Fermentzellen“ meistens stärker und deutlicher auftreten als bei der Hungerdrüse.

#### bb) Dynamik der aktivierten Drüse.

Jetzt wollen wir nachforschen, wie die Mitteldarmdrüse sich verhält wenn das Tier gefüttert wird. Es kamen zur Beobachtung die Schnitte der 25 Stufen von je einer  $\frac{1}{2}$  Stunde. 0 Std. heißt dann: direkt nach halbstündiger Fütterung getötet (siehe allgemeine Technik, S. 190).

Es wurde festgestellt die Anzahl der sezernierenden Follikel, die Größe der Follikellumina, die Form der Zellen, die Anzahl der kleinen gelben sowie der großen Granula, die Häufigkeit der „grünen“ Granula und die Anwesenheit von Sekreten in den Follikellumina. Ich habe die erhaltenen Tatsachen in der untenstehenden Tabelle zusammengefaßt (Tab. 8).

Weil diese Tabelle nicht sehr übersichtlich ist, habe ich wieder die Kurven zur Hilfe gerufen. Abb. 29 zeigt dies. Die Werte sind in den Kurven in Zahlen ausgedrückt, dabei folgte ich dem Seite 226 angegebenen Schema. Es sind in Kurven abgetragen worden die Zahl der sezernierenden Follikel in Prozenten (— Linie), die Zahl der kleinen

Tabelle 8.

Stufe Stunden	Große Granula	Größe der Lumina	Form der Zellen	Proz. der sezern. Follikel	Kleine gelbe Granula	„Grüne“ Granula	Sekret in den Follikel- lumina
0	7	ziemlich eng	mäßig kolbenförmig	2	4	mäßig	-
1/2	4	eng	kolbenförmig	1	8	mäßig	-
1	4	ziemlich eng	die Mehrzahl kolbenförmig	12	4	häufig	+
1 1/2	3	eng oder weit	kurz oder kolbenförmig	8	2	sehr wenig	++
2	2	ziemlich weit	mäßig kolbenförmig	4	3	sehr wenig	-
2 1/2	4 (sekret.)	mäßig weit	mäßig kolbenförmig	2	1 1/2	mäßig	-
3	4	mäßig weit	mäßig kolbenförmig	1	7	wenig	+
3 1/2	5	sehr eng	kolbenförmig	19	4	viel	-
4	4	weit oder eng	kurz oder kolbenförmig	4	1 1/2	viel	+
4 1/2	5	ziemlich eng	mäßig kolbenförmig	2	3	mäßig	++
5	2 (sekret.)	mäßig weit	mäßig kolbenförmig	0	8	mäßig	-
5 1/2	2	ziemlich eng	mäßig kolbenförmig	0	8 1/2	wenig	-
6	5	ziemlich eng	mäßig kolbenförmig	3	6	viel	+
6 1/2	3 (sekret.)	mäßig weit	meistens kolbenförmig	8	4	viel	+++
7	2 1/2	eng	kolbenförmig	6	3	viel	-
7 1/2	3 1/2	mäßig weit	mäßig kolbenförmig	7	3 1/2	viel	-
8	2 1/2	mäßig weit	kolbenförmig	0	5	sehr wenig	-
8 1/2	4	weit	kurz	3	9	ziemlich wenig	-
9	3	weit	kurz	5	7	wenig	-
9 1/2	4	ziemlich weit	ziemlich kurz	1	4	sehr viel	-
10	6	sehr weit	kurz	40	2 1/2	mäßig	+
10 1/2	4	ziemlich weit	ziemlich kurz	4	3 1/2	wenig	+++
11	5 (sekret.)	weit	kurz	0	1	mäßig	++
11 1/2	4 1/2	ziemlich eng	meistens kolbenförmig	5	4 1/2	mäßig	-
12	4 1/2	mäßig weit	mäßig kolbenförmig	4	3	mäßig	+

gelben Granula (— — — — Linie), die Menge der „grünen“ Granula (— · — · — Linie) und die Form der Zellen (. . . . Linie). Die Form der Zellen, d. h. das mehr oder weniger kolbenförmige Aussehen, wurde in 5 Abstufungen festgestellt: 0 = kurz oder zerfetzt,  $2\frac{1}{2}$  = etwas kolbenförmig, 5 = mäßig kolbenförmig,  $7\frac{1}{2}$  ist ziemlich kolbenförmig und 10 = kolbenförmig.

Es sind zur bequemeren Übersicht am Anfang auch die Werte der Hungertiere (H 5a, H 5b, H 5c, und H 6e) abgetragen, die Fütterungszeit ist durch ■ angegeben. Horizontal sind weiter die Stufen abgetragen (0—12 Std.). Vertikal wurde die Anzahl der sezernierenden Follikel (0—40%) abgetragen und auf einer zweiten Ordinate die Anzahl der Granula usw. (0—10). Unterhalb der Abszisse ist durch + die Anwesenheit und die Stärke der Sekretmassen in den Follikellumina angegeben.

Dieser Abbildung können wir vieles entnehmen. Betrachten wir zuerst die Kurve der relativen Zahl der sezernierenden Follikel (——— Linie). Es zeigt diese Kurve deutliche Maxima bei der 1. Std., bei der  $3\frac{1}{2}$  Std. und der 10. Std.<sup>1</sup> Zwischen der  $6\frac{1}{2}$  und  $7\frac{1}{2}$  Stunde ist die Anzahl der sezernierenden Follikel auch deutlich erhöht; es tritt hier aber kein spitzer Gipfel auf, sondern eigentlich ein abgestumpfter. Es offenbart sich hier einer der schwachen Punkte der von mir gefolgten Methodik. Wie wir unten sehen werden, haben wir während dieser Zeit in Wirklichkeit eine sehr deutliche Sekretwelle; sie würde sich zweifelsohne besser zeigen, wenn ich die Stufen an einem einzigen Tiere vornehmen könnte. Die Sekretwelle zeigt sich hier aber nur wenig, eben weil ich mit verschiedenen Tieren arbeiten mußte, bei denen es ja nicht feststeht, daß sie genau gleich weit vom Anfangspunkt (der Fütterung) entfernt sind; es kann ja die Drüse eines der Tiere langsamer arbeiten als die der anderen (bei *Astacus* beobachtet von HIRSCH u. JACOBS 37). So kann der Punkt bei der  $6\frac{1}{2}$  Stunde den allerersten Anfang einer Sekretwelle darstellen, 7 und  $7\frac{1}{2}$  Std. sind vielleicht Tiere, welche ihre Sekretion fast beendet haben. In dieser Weise wurde der Höhepunkt der Sekretionsperiode gerade nicht getroffen. Daß wir es hier aber wirklich mit einem Ausscheidungsmaximum zu tun haben, wird wohl genügend durch die Anwesenheit von Sekretmassen in den Follikellumina (+ + +), durch die Gestalt der Zellen, welche zu dieser Zeit stark kolbenförmig oder sehr kurz ist, durch die gleichzeitige Gipfelung (6— $7\frac{1}{2}$  Std.) der „grünen“ Granula, durch die Herabsenkung der Menge der kleinen gelben Granula, die Größe der Follikellumina (siehe die Tabelle) und endlich, wie wir weiter unten sehen werden, durch die gleichzeitige Gipfelung der Fermentkurve bewiesen.

Es steht also fest, daß *binnen zwölf Stunden nach der halbstündigen*

<sup>1</sup> Die K.B.N.-Serie gab Maxima bei  $1\frac{1}{2}$ —2 Std.,  $3\frac{1}{2}$  Std., 5—6 Std. und  $9\frac{1}{2}$  Std.

Fütterung vier *Maxima* in der Anzahl der sezernierenden Follikel, also vier Sekretwellen, auftreten.

Wie verhält sich nun die *Menge der „grünen“ Granula* bei dieser Ausscheidung? Trifft man die Mitteldarmdrüse am Anfang der Sekretionsperiode, so werden natürlich viele kolbenförmige Zellen da sein mit vielen „grünen“ Granula. Am Ende der Sekretion dagegen wird man kurze zerfetzte Zellen finden, die „grünen“ Granula sind dann fort, d. h. schon ausgestoßen. Wir sehen, wie jedesmal die Kurve der „grünen“ Granula (— · — · — Linie) ein Maximum während (oder besser gesagt: am Anfang) der Ausscheidung zeigt. Kurz nach der Ausscheidung ist jedoch die Menge der „grünen“ Granula gering, sie wird erst größer kurz vor

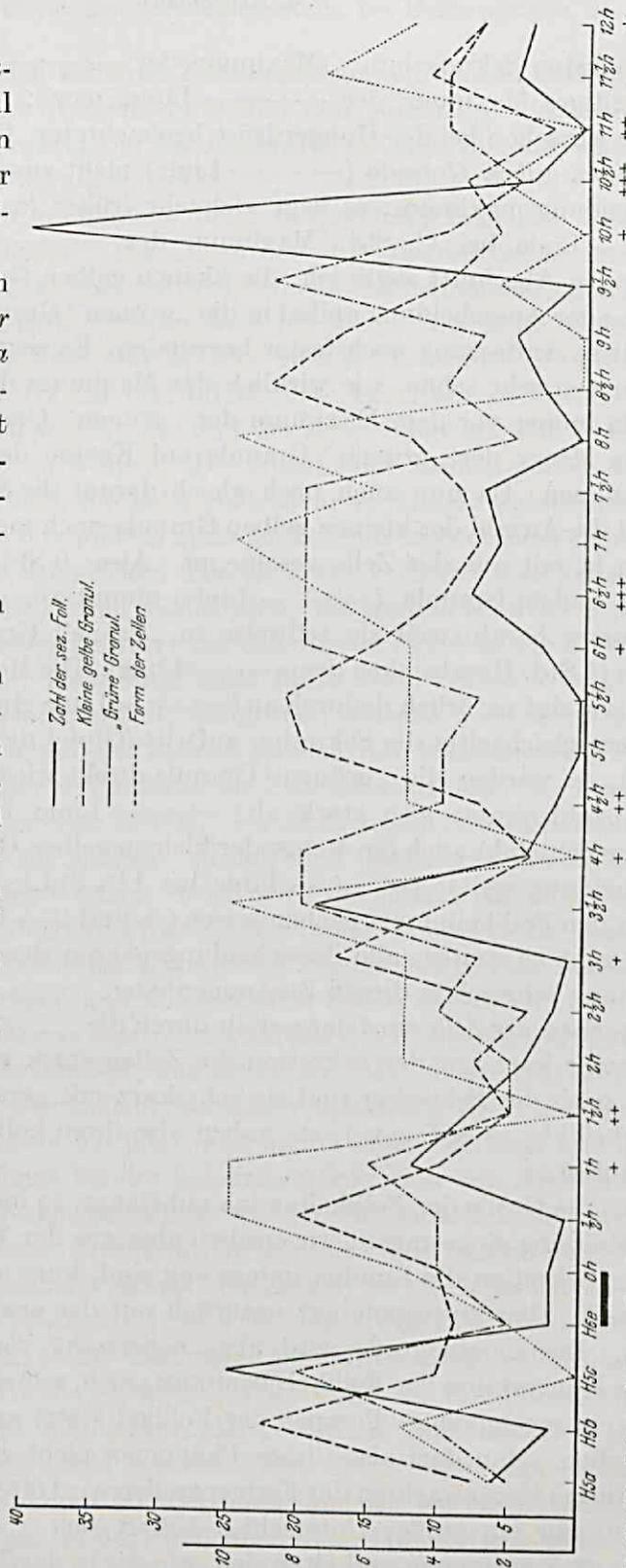


Abb. 29. Die Schwankungen der Prozentzahl der sezern. Foll., der kleinen gelben Granula, der „grünen“ Granula und der Zellform vor, während und nach der Fütterung. Erklärung im Text. % sezern. Foll. = — — — — — „Kleine gelbe Gran.“ = — · — · — — „Grüne“ Granula = — · — · — — Zellform = · · · · · Sekret im Lumen (unterhalb der Abszisse angegeben) = +. Weitere Bezeichnungen wie in der Abb. 26.

dem nächsten Sekretschub. (Maximum der —·—·— Linie bei 1 Std., gleichzeitiges Maximum der ——— Linie, usw.).

Wie wir schon bei der Hungerdrüse beobachteten, fällt ein Maximum der *kleinen gelben Granula* (— — — Linie) nicht zusammen mit einem Ausscheidungsmaximum; es liegt vielmehr früher (z. B. Maximum der — — — Linie bei  $\frac{1}{2}$  Std., Maximum der ——— Linie bei 1 Std.). Im vorigen Abschnitt sagte ich: die kleinen gelben Granula bilden sich kurz vor der Ausscheidung apikal in die „grünen“ Granula um; ich kann jetzt diese Auffassung noch fester begründen. Es zeigt sich nämlich in den Kurven sehr schön, wie wirklich das Maximum der kleinen gelben Granula immer vor dem Maximum der „grünen“ Granula liegt; es hat also die Menge der „grünen“ Granula auf Kosten der gelben Granula zugenommen. Da nun auch noch gleich darauf die Sekretion beginnt, so wird die Anzahl der kleinen gelben Granula noch mehr abnehmen; sie werden ja mit aus der Zelle geschleppt. Also: 0 Std., die Anzahl der kleinen gelben Granula (— — — Linie) nimmt zu, gipfelt bei  $\frac{1}{2}$  St., sinkt dann herab, weil sie teilweise in „grüne“ Granula umgebildet werden (1 Std. Herabsinken der — — — Linie). Die Menge der „grünen“ Granula steigt natürlich dadurch an (—·—·— Linie gipfelt bei 1 Std.); da nun aber gleichzeitig die Sekretion auftritt (Gipfel der ——— Linie bei 1 Std.), so werden die „grünen“ Granula direkt wieder ausgeschieden, ihre Anzahl nimmt also stark ab (—·—·— Linie bei  $1\frac{1}{2}$  Std.). Zu gleicher Zeit sinkt auch die Menge der kleinen gelben Granula infolge der Ausscheidung weiter (— — — Linie bei  $1\frac{1}{2}$  Std.); die Sekretmassen sind in den Follikellumina nachzuweisen (+ und ++ bei 1 und  $1\frac{1}{2}$  St.). — So geht es weiter; alle Ausscheidungsphasen demonstrieren in der Abbildung sehr schön diesen Zusammenhang.

Die *Form der Zelle* wird dargestellt durch die . . . . Linie. Wir sehen, wie immer kurz vor der Sekretion die Zellen stark kolbenförmig sind, direkt nach der Sekretion sind sie sehr kurz mit gerader Front (. . . . Linie bei  $1\frac{1}{2}$ , 4 Std. usw.); sie haben also ihren kolbenförmigen Apex abgestoßen.

Was die Größe der Follikellumina anbelangt, so habe ich sie nicht in die Abbildung eingetragen; wir ersehen aber aus der Tabelle 8, wie kurz vor der Sekretion die Lumina immer eng sind, kurz nach der Sekretion sehr weit. Dies korrespondiert natürlich mit der erwähnten Länge der Zellen. Die Luminagröße wird aber beherrscht von zwei Faktoren: Aktive Kontraktion der Follikel (BIEDERMANN 6, während der Verdauung findet ein regelmäßiges Pumpen der Follikel statt) und Länge der Fermentzellen. Man darf also dieses Phänomen nicht zu streng nehmen; ein geringes Heranwachsen der Fermentzellen wird öfters völlig verwischt werden; nur ein großer Unterschied äußert sich.

*Die großen Granula* verhalten sich, wie wir in der Tabelle sehen, ganz

anders. Es läßt sich keinerlei Zusammenhang entdecken zwischen ihrer Anzahl, Lage oder Ausscheidung und den genannten Prozessen. Ich werde bei dem Vergleich der Fermentkurve mit dem histologischen Bilde (Seite 270) näher darauf eingehen.

Ich glaube, wir können aus dieser Besprechung folgendes *hinsichtlich der Zellarbeit* schließen: Die Zellen der Mitteldarmdrüse arbeiten synchron (siehe auch G.C. HIRSCH 1918); wie diese Zusammenarbeit zustande kommt und beibehalten bleibt, weiß ich nicht. Die Zelle, welche ihre Arbeit anfängt, ist kurz und hat eine gerade Frontlinie. Sie nimmt aus dem Blute Rohstoffe auf und bildet diese basal um zu kleinen gelben Granula. Indessen wächst sie; und der Apex fängt an, sich in das Follikellumen hervor zu wölben. Die Anzahl der kleinen gelben Granula nimmt zu, sie erfüllen die Zelle auch mehr proximal. Jetzt unterliegen die kleinen gelben Granula im apikalen Zellteile irgendeinem chemischen oder physikalisch-chemischen Prozesse; sie verlieren ihre gelbe Farbe und färben sich mit sauren Farbstoffen. Sie werden teilweise gelöst (die beobachtete Bläschenstruktur), der osmotische Druck in der Zelle nimmt zu; die Zelle nimmt Wasser auf (vom Blute sowie vielleicht vom Lumen her), quillt und platzt apikal; die grünen Granula werden frei und mit ihnen wird die Mehrzahl der kleinen gelben Granula hinausgeworfen. Die Zellfront sieht daher zerfetzt aus, die Zelle ist sekretleer. Sie regeneriert und beginnt wieder von neuem. Die Zelle regeneriert sicherlich, denn der Kern bleibt im Zellrest zurück und Regenerationsstadien sind von mir beobachtet worden. Doch wird die Zelle wohl nicht vielmals diesen tief eingreifenden Prozeß wiederholen können. Es lassen sich ja oft in den Follikellumina Klümpchen Plasma mit Kernen beobachten, die wohl abgestorbene und ausgestoßene Zellen darstellen.

Die *Drüse als Ganzes* sezerniert während des Hungerns sowie während der Aktivierung rhythmisch, das ist sicher. Wie dieser Rhythmus (die synchrone Arbeit der Zellen) bei dieser apokrinen Sekretion zustande kommt, darüber kann ich jetzt noch nichts sagen. HIRSCH und JACOBS (36) haben neuerdings bei der holokrinen Sekretion von *Astacus* den da bestehenden Sekretionsrhythmus in der Mitteldarmdrüse auf einen Wachstumsrhythmus zurückführen können: der Sekretionsrhythmus (und also die synchrone Arbeit der Zellen) ist da lediglich die Folge des periodischen Wachstums, weil in den „Vegetationspunkten“ der Drüse durch periodische Teilungen periodisch neue Zellgruppen geliefert werden. Wie die Sache bei *Helix* steht, ist mir unbekannt.

Es ist mir auch nicht ganz klar geworden, *inwieweit die Arbeit der aktivierten Drüse abweicht von der Arbeit der Hungerdrüse*. Unter den 14 von mir untersuchten Hungertieren fand ich bei einem einzigen ein deutliches Maximum (H 5c); weil aber diese Hungertiere keine eigentliche Stufen darstellen, so läßt sich nichts über die Häufigkeit der Sekret-

wellen sagen. Die aktivierte Drüse dagegen liefert innerhalb 12 Std. vier Sekretschübe; vielleicht arbeitet die Hungerdrüse im Gegensatz dazu langsamer und weniger intensiv, ich weiß es nicht. Auf eine intensivere Arbeit der aktivierten Drüse weisen vielleicht die „grünen“ Granula hin: es sind nämlich die „grünen“ Granula, wenn sie auftreten, bei der aktivierten Drüse meistens in größerer Menge anwesend als bei der Hungerdrüse. Ich komme darauf unten noch zurück.

## Subkap. 2. Die Permeation in die Mitteldarmdrüse.

### a) Allgemeines.

Bevor ich zur Besprechung der Resultate übergehe, welche ich hinsichtlich der Permeation bei *Helix* erhielt, scheint es mir nicht überflüssig, zuerst zu versuchen, die jetzt bekannten allgemeinen Tatsachen über Permeation vorläufig zusammenzufassen.

Man vergleiche zu dieser Besprechung JORDAN und BEGEMANN (48), die von G. C. HIRSCH (34) gegebene Begriffsordnung und LIESEGANG (116 und 117).

Es ist in letzter Zeit eine Unmenge von Publikationen auf diesem Gebiete erschienen, manches davon wird später, wenn wir uns eine einigermaßen gut fundierte Theorie der Permeation schaffen können, als Baustein dieser Theorie Verwendung finden, vieles aber wird als wertlos beiseite gelegt werden müssen. Es herrscht hier in vielen Hinsichten noch ein Tasten, Suchen und Stolpern im Dunkeln. Wenn ich also versuche einigermaßen Ordnung in dem Wirrwarr zu schaffen, so sei dabei ausdrücklich betont, daß dieses nur einen sehr vorläufigen Versuch darstellen kann. Auch ist es meine Absicht nicht, hier alle in letzter Zeit erschienenen Arbeiten über dieses Thema zu behandeln, das würde viel zu weit führen.

Wir müssen den Komplexbegriff Permeation zuerst in seine Komponenten zerlegen (HIRSCH 34); es ist die Permeation in gewisser Hinsicht als eine Umkehrung des Sekretionsprozesses zu betrachten:

- a) Die Permeation in die Zelle, also lediglich das Passieren der Zellhaut.
- b) Die Verarbeitung der hineingetretenen Stoffe innerhalb der Zelle.
- c) Die Herausbeförderung derselben aus der Zelle.

Betrachten wir zuerst die erste Komponente, also die Permeation im engeren Sinne.

Aus den bis jetzt publizierten Arbeiten über Permeation lassen sich, wenn auch nicht immer einleuchtend, einige Prinzipien herausholen:

1. Es permeieren lipoidlösliche sowie nichtlipoidlösliche Substanzen.
2. Die Permeation von nichtlipoidlöslichen Stoffen ist bei den Substanzen, deren Partikelgröße bedeutend ist (große Moleküle, Semikolloide) abhängig von der Partikelgröße der permeierenden Substanz (RUHLAND, SCHULEMANN, v. MOELLENDORFF; 98, 101, 65—74).

3. Die Zelle zeigt sehr vielen nichtlipoidlöslichen Substanzen gegenüber eine „physiologische“ Permeabilität (HOEBER 38).

4. Den lipoidlöslichen Stoffen<sup>1</sup> gegenüber besteht keine „physiologische“ Permeabilität (z. B. HOEBER 38).

5. Gewisse Gewebe (z. B. das Darmgewebe der Säugetiere) sind imstande entgegen dem Konzentrationsgefälle Stoffe aufzunehmen.

6. Gewisse Gewebe können Partikel in festem Zustande in sich aufnehmen.

Diese Prinzipien müssen wir in Zusammenhang bringen mit dem folgenden System: Eine Zellmembran<sup>2</sup>, einerseits von dieser eine Flüssigkeit, in der die Teilchen, welche permeieren sollen; andererseits das Protoplasma. Die Partikelchen werden, wenn ein Konzentrationsgefälle von außen nach innen besteht, in die Zelle hineinpermeieren.

Die Zellhaut, durch welche die Partikel hindurchgehen, muß irgendwie intermolekulare oder interkorpuskuläre Poren aufweisen. Wenn nun Membran und Zelle sich passiv (d. h. biologisch passiv) verhalten, so wird die Permeation abhängig sein von den physikalischen und kolloidchemischen Eigenschaften der Membran und von der Größenordnung der permeierenden Teilchen. Wir erhalten so eine rein passive Diffusion, bei den nichtlipoidlöslichen Stoffen abhängig von den Membraneigenschaften, bei den lipoidlöslichen Stoffen abhängig von dem Maße der Lipoidlöslichkeit und bei beiden Gruppen abhängig vom Diffusionsgesetz. Solche Diffusion wird sich an toten Membranen vollziehen können, sie ist keine spezifische Erscheinung der *lebenden* Zelle. Die lipoidlöslichen Stoffe aber scheinen auch in dieser Weise durch die Haut der *lebenden* Zelle zu permeieren. (Die bis jetzt bekannten Tatsachen weisen alle in diese Richtung)<sup>3</sup>.

Eine rein passive Permeation von nichtlipoidlöslichen Substanzen scheint aber bei nicht geschädigten Geweben kaum vorzukommen. Bei der Permeation dieser Stoffe kann erstens die Membran eine regulierende Wirkung auf den Eintritt ausüben. Die Zellmembran kann nämlich zu einer bestimmten Zeit durchlässig sein für die Stoffe, denen sie zu anderen Zeiten den Zugang verweigert. Es ist dies die genannte, von HOEBER aufgestellte „physiologische“ Permeabilität; das erste Anzeichen der Zellaktivität. Von dieser Regulierung wissen wir noch sehr

<sup>1</sup> Inwieweit Lipoidlöslichkeit oder Oberflächenaktivität für die Permeation dieser Substanzen verantwortlich sind, lasse ich unentschieden.

<sup>2</sup> Es ist in letzter Zeit gesagt worden, es gäbe überhaupt keine Plasmamembran. Das scheint mir aber nicht gut möglich. An der Grenze Plasma-Außensubstanz werden doch sicherlich aus beiden Phasen Stoffe adsorbiert (Lipoide, Eiweiß, Phosphatide usw.) in dem Sinne, daß an dieser Stelle eine von der Zusammensetzung der beiden Phasen wenigstens quantitativ abweichende Haut entsteht.

<sup>3</sup> Die Permeation von Fett lasse ich hier außer Betracht, die bei der Fettpermeation auftretenden Vorgänge sind noch nicht genügend festgelegt.

wenig, teilweise kann sie zurückgeführt werden auf eine temporäre Änderung der Porengröße in der Membran innerhalb gewisser Grenzen, auf eine Beeinflussung der Adsorption an die Porenwände und auf dergleichen Erscheinungen (welche auch experimentell an toten Membranen hervorgerufen werden können, vgl. z. B. die Zusammenfassungen von PFEIFFER [87], MOND [76] und die Arbeit von RISSE [92]). Reversible Quellung, reversible Ausflockung der Membrankolloide, elektrische Erscheinungen usw. werden dabei eine Rolle spielen; Stoffe in der Außenflüssigkeit sowie in der Zelle selbst werden zu diesen temporären physikalisch-chemischen Membranänderungen Anlaß geben können.

Wir haben hier also eine Permeation kennen gelernt, welche dem Diffusionsgesetz unterworfen und von den momentanen Membraneigenschaften abhängig ist.

Daneben gibt es noch eine Permeation in die Zelle, bei der auch die Teilchengröße und die Membraneigenschaften eine Rolle spielen können, die jedoch nicht dem Diffusionsgesetz unterworfen ist, da sie sich vollziehen kann entgegen dem herrschenden Konzentrationsgefälle. Es ist dies die *Resorption*. Diese Resorption vollzieht sich immer an Stoffen, welche diffusionsfähig (dialysierbar) sind. Weil bei dieser Permeation aber keine oder entgegenwirkende Konzentrationsgefälle bestehen, so muß die Zelle etwas leisten<sup>1</sup>. Sie muß der bestehenden osmotischen Kraft eine Kraft gegenüberstellen, eine Kraft von gleicher Ordnung. Sie leistet also Arbeit, welche auf dem Gebiete der osmotischen Arbeit liegt. Weil wir nun gar nicht wissen, welche Kraft dies eigentlich ist, so stellen wir uns vorläufig vor, daß hinter der Plasmamembran eine „Saugkraft“ existiert, welche die permeable Substanz hineinzieht, also nur Einfluß ausübt auf die Geschwindigkeit des Permeierens. Es ist diese „Saugkraft“ das zweite, völlig unbekanntes Phänomen, dem wir im Permeationsproblem begegnen.

Wie steht es nun mit der *Aufnahme von Partikelchen*, die zu groß sind um die Membranporen zu passieren? Es kann die Plasmahaut ihre Porenweite nur zwischen bestimmten Grenzen reversibel ändern; Partikel, größer als die maximale Porengröße, werden nicht hineinkommen. Manche, sehr bestimmte Gewebe nun nehmen doch noch größere Partikel auf; es wird diese Permeationsart Phagozytose genannt. Bei dieser Phagozytose muß die Zelle unbedingt Arbeit leisten, eine Diffusion ist nicht möglich:

1. weil diese Partikel nicht diffusionsfähig sind (man denke an Erythrozyten, Bakterien usw.) und
2. weil die Partikel größer sind als die Membranporen.

<sup>1</sup> Der Sauerstoffverbrauch und die Abgabe von Kohlensäure nehmen zu (z. B. BRODIE und VOGT [9]).

Die Arbeit, welche die Zelle bei der Phagozytose leistet, kann aber nicht, wie bei der Resorption, auf dem Gebiete der Osmose liegen, denn es sind hier gar keine osmotische Kräfte da. Es leistet also die Zelle Arbeit irgendeiner unbekanntten Art, die jedoch außerhalb des Gebietes der osmotischen Arbeit liegt. Diese Arbeit ist das dritte Anzeichen einer unbekanntten Aktivität der lebendigen Zelle.

Wir können nun zu der folgenden sehr vorläufigen Auffassung kommen: Es existieren bei der Zelle zwei Arten der Permeation, die erste Art ist noch weiter zu zerlegen.

a) *Permeation von diffusionsfähigen Partikeln*, deren Größenordnung unterhalb der maximalen Membranporenweite liegt oder welche lipoidlöslich sind.

aa) *Reine Diffusion*, es diffundieren nach physikalischen Gesetzen lipoidlösliche Substanzen. Die Zelle liefert keine Arbeit.

bb) „*Physiologische*“ *Diffusion*, es permeieren nach physikalischen Gesetzen diffusionsfähige Partikel, deren Permeation durch Änderungen der Membraneigenschaften beeinflußt werden kann. Es beschränkt sich also die eventuell gelieferte Zellarbeit auf die Membran.

cc) *Resorption*, es permeieren diffusionsfähige Partikel, welche durch eine unbekanntte, von der Zelle gelieferte Arbeit entgegen dem osmotischen Gefälle hinein gelangen können. Diese Permeation ist natürlich auch durch Änderungen der Membraneigenschaften zu beeinflussen. Neben einer eventuellen sich auf die Beschaffenheit der Membran beschränkenden Arbeit liefert die Zelle aber noch eine Arbeit, welche auf dem Gebiete der osmotischen Arbeit liegt.

b) *Phagozytose*, es permeieren nichtdiffusionsfähige Partikel, welche größer sind als die maximale Porenweite. Diese Permeation ist nur möglich durch eine spezifische Zellarbeit, eine Arbeit aber, welche nicht auf dem Gebiete der Osmose liegen kann.

Definition der Resorption: Resorption ist eine durch die Zelle aktiv besorgte Permeation von diffusionsfähigen Partikeln, deren Größenordnung unterhalb der maximalen Membranporenweite liegt.

Definition der Phagozytose: Phagozytose ist eine durch die Zelle aktiv besorgte Permeation von nichtdiffusionsfähigen Partikeln, deren Größenordnung oberhalb der maximalen Membranporenweite liegt.

Wo ist nun die Grenze zwischen Resorption (+ Diffusion) und Phagozytose? Diese Grenze wird festgelegt durch zwei Faktoren.

1. Die maximale Membranporenweite.
2. Die Art der von der Zelle gelieferten Arbeit.

Es existiert eine scharfe Grenze zwischen Resorption und Phagozytose. Die Zelle kann Phagozytosearbeit liefern, oder sie kann es nicht. Alle Zellen lassen gewisse Stoffe hineindiffundieren, viele

Zellen resorbieren auch, aber nur sehr bestimmte Zellen können phagocytieren.

Wenn wir nun die Phagocytose studieren wollen, so kennen wir die maximale Membranporenweite nicht<sup>1</sup> und wir haben keinen Maßstab um die Phagocytosearbeit von der Resorptionsarbeit zu unterscheiden. Darum müssen wir arbeiten mit Partikelchen, welche so groß sind, daß sie sicherlich phagocytiert werden müssen. Die Technik der Phagocytoseuntersuchung soll also festhalten an der von HIRSCH (34) gegebenen Definition der Phagocytose: Phagocytose ist eine Permeation von Partikeln größer als  $0,1 \mu^2$ . Arbeiten wir mit kleineren Teilchen, so sind wir nie sicher, ob wirklich eine Phagocytose vorliegt.

Jetzt will ich mich noch einen Augenblick mit der Verarbeitung der permeierten Stoffe innerhalb der Zelle beschäftigen. Wir wissen eigentlich noch sehr wenig davon (S. HIRSCH 34), ich will daher keine große Besprechung dieser Dinge bringen<sup>3</sup>. Es gibt aber einen Prozeß, der sehr oft bei dieser Verarbeitung auftritt. Es ist dies die Konzentrierung der aufgenommenen Partikel. HIRSCH (33), PECZENIK (86) und andere Untersucher beobachteten nach Phagocytose und andersartiger Permeation oft ein Zusammenballen, ein Konzentrieren der aufgenommenen Partikel innerhalb der Zelle. Es ist dies, wie HIRSCH (34) sagt, ein Prozeß, welcher analog verläuft der Konzentrierung der aufgenommenen sauren Farbstoffe (SCHULEMANN, v. MOELLENDORFF u. a.). SCHULEMANN hat bewiesen, daß diese Konzentrierung direkt abhängig ist vom Dispersitätsgrade der eingedrungenen Partikel; je größer die Teilchen, je schneller und vollkommener werden sie in der Zelle konzentriert (gespeichert). Bei intrazellulärer Verarbeitung der hineingetretenen Partikel tritt also bei geeigneter Teilchengröße oft eine Konzentrationsarbeit auf. Diese Konzentrierung innerhalb der Zelle darf man aber nicht als Anzeichen einer Resorption ansehen. Die Resorption ist ein Aufnahme-prozeß, es wird da bei der *Aufnahme* eine osmotische Arbeit geliefert; die Konzentrierung ist ein Verarbeitungsprozeß, es wird da bei der *Verarbeitung* osmotische Arbeit geliefert. Überdies braucht ein resorbierendes Gewebe die resorbierten Stoffe noch gar nicht zu speichern, es kann sie schnell weitergeben<sup>4</sup>. So konzentriert das resorbierende Darmgewebe der Wirbeltiere viele Stoffe, welche im Organismus in anderen Geweben gespeichert werden, sicherlich nicht. Andererseits finden wir Konzentrierung bei der Verarbeitung von permeierten Stoffen in

<sup>1</sup> Jede Zellart wird seine eigene maximale Porenweite haben können.

<sup>2</sup> Die Poren sind sicherlich kleiner als  $0,1 \mu$ , sonst wären sie mikroskopisch sichtbar.

<sup>3</sup> Siehe Besprechung bei HIRSCH (34) und JORDAN und HIRSCH (50).

<sup>4</sup> Die Speicherung innerhalb des resorbierenden Gewebes gibt ja eine Verzögerung des ganzen Prozesses.

Zellen, von denen wir keine Ahnung haben, ob sie wirklich die Substanz aktiv hineinschleppten, also resorbierten.

Den dritten Teil des ganzen Prozesses, die Herausbeförderung der permeierten Stoffe aus der Zelle, will ich hier außer Betracht lassen, diese Komponente ist wohl noch am wenigsten bekannt.

Jetzt wenden wir uns der Permeation in die Mitteldarmdrüse bei *Helix* zu.

## b) Die Permeation von diffusionsfähigen Substanzen.

### aa) Methodik und Technik.

Zum Studium der Permeation von diffusionsfähigen Substanzen der Mitteldarmdrüse wurde, wie in der allgemeinen Technik gesagt, dem Futter der Tiere in der K.B.N-Serie Lithionkarminlösung, in der T.T.-Serie Trypanblaupulver beigegeben. Ich konnte so an allen Stufen am selben Objekte wie die Sekretion auch die Permeation studieren.

Beide von mir angewandten sauren Farbstoffe sind Semikolloide, sie diffundieren in 10%igem Gelatin in der für Kolloide typischen Weise mit scharfer Diffusionsgrenze, Trypanblau ein wenig schneller als Lithionkarmin. Es sind also die Lithionkarminteilchen wohl etwas größer als die Trypanblauteilchen. Das stimmt mit dem Befunde von SCHULEMANN (101) überein, der sagt, daß Lithionkarmin schneller in die Zellen permeiert und darin stärker konzentriert wird als Trypanblau.

Bei der Trypanblaudiffusion in Gelatin ist sehr deutlich zu sehen, wie die immer dem handelsüblichen Trypanblau beigefügte rote Komponente (Trypanrot) schneller diffundiert als das Trypanblau selbst: es ist nämlich immer in Gelatine vor dem blauen Gebiete eine rote Zone zu sehen. Dies ist natürlich auf die größere Dispersität des Trypanrots zurückzuführen.

Es ist wohl sicher, daß durch das von mir verwendete Fixationsgemisch (F.A.C.) und dessen Nachbehandlung (siehe S. 225) kein Farbstoff aus dem Objekte ausgezogen wird; niemals zeigten die Flüssigkeiten auch nur die geringste Anfärbung.

Zum Studium der Permeation stellte ich von allen Stufen 10  $\mu$  dicke Paraffinschnitte her, welche nicht gefärbt, sondern nur in Xylol entparaffiniert und sogleich in Kanadabalsam eingeschlossen wurden. Es wurde also eine mögliche Auflösung des Farbstoffes in wässrigen Flüssigkeiten usw. ausgeschlossen.

Es wurde nun die makroskopische Farbe der Schnitte festgestellt; weiter wurde das histologische Bild eingehend studiert. Beim Töten der Tiere wurde immer die Farbe des Blutes und die Verbreitung der Farbstoffe im Darne notiert. Auch wurde immer die Intensität der Färbung des Drüsenextraktes bestimmt. Ich konnte dies in sehr einfacher Weise tun, es wurde ja zur Bestimmung der Lipase (siehe weiter unten) von

jeder Stufe eine konstante Menge Drüsenpulver eine konstante Zeit bei einer konstanten Temperatur mit einer konstanten Menge eines konstanten Glycerinwassergemischs extrahiert. Die aus diesen Extrakten erhaltenen Farbwerte konnte ich sehr gut beim vergleichenden Studium der Permeation verwenden.

Zur Feststellung der Permeation in den gleich dicken Schnitten wurde mit einer konstanten Lichtquelle (ZEISS Bogenlampe) gearbeitet.

#### bb) Die Stufenuntersuchungen.

Betreffend der K.B.N-Serie kann ich sehr kurz sein; denn die mit Lithionkarmin erhaltenen Resultate sind nicht so deutlich als die in der T.T.-Serie mit Trypanblau erzielten. Jedoch weichen die Lithionkarminbilder nicht von den Trypanblaubildern ab, sie sind nur weniger demonstrativ. Es findet dies wohl seine Ursache in der langsameren Diffusion des Lithionkarmins und in der dem Futter beigegebenen Menge, diese war ja nicht so groß. Ich will darum nur die T.T.-Serie beschreiben, betone aber nochmals, daß die Lithionkarminpermeation keine wahrnehmbare Abweichungen zeigte.

Studieren wir die Schnitte der T.T.-Serie, so beobachten wir schon eine Stunde nach dem Ende der Fütterung eine apikale Färbung der Drüsenzellen. Diese, zuerst rein *diffuse Plasmadurchtränkung* ist in allen Zellen in allen Follikeln zu sehen, sie schreitet in späteren Stufen allmählich fort, je länger das Trypanblau der Drüse angeboten wird, desto intensiver ist die Färbung und desto weiter schreitet sie zur Zellbasis hin fort.

In den späteren Stufen beobachtete ich apikal in den Zellen ein Auftreten von *Granula*. Diese Granula zeigen einen Färbungsunterschied von lichtblaugrünlich bis hellblau; innerhalb 12 Std. werden sie niemals sehr tief dunkelblau. Es ist so eine Konzentrierung zu reinem Farbstoff in fester Form innerhalb dieser Zeit wohl sehr unwahrscheinlich.

Sehr schön ist an den Stufen zu beobachten, wie auch im Gewebe das Trypanrot schneller eindringt als das Trypanblau. Vor der Diffusionszone des blauen Farbstoffes ist fast immer eine rötliche Färbung zu sehen. Ich komme darauf unten zurück.

Was die *Ausführgänge* und die *Darmteile* anbelangt, beobachtete ich da eine Diffusfärbung der Epithelzellen, welche direkt abhängig ist von der Einwirkungsdauer, d. h. je weiter vom Ende der Fütterung entfernt, desto intensiver ist und desto weiter basal erstreckt sich die Färbung. Farbstoffgranula wurden in diesen Epithelien niemals beobachtet, die Färbung ist da immer rein diffus.

Die Farbe des Blutes ist auch nach 12 Std. immer noch nicht geändert; nur einmal habe ich gezweifelt, ob in der 11<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Std.-Stufe das

Blut nicht einen ungewöhnlichen rötlichblauen Schimmer zeigte; dieser war aber jedenfalls sehr gering.

Innerhalb 12 Std. wurde makroskopisch niemals eine Speicherung der Farbstoffe in anderen Organen beobachtet.

Bei der 8<sup>1/2</sup> Std. tritt zum ersten Male Trypanblau im Kote auf; es ist da in den späteren Stufen regelmäßig zu beobachten.

Die erhaltenen Resultate habe ich in der Tabelle 9 zusammengefaßt. Unter „Allgemeinbild der Zellen“ verstehe ich einfach die Intensität und Ausbreitung des Farbstoffes in den Zellen. Von 4<sup>1/2</sup> Stunden an sind die Zellen meistens bis zur Basis gefärbt, das ist in der Tabelle nicht weiter beigeschrieben. Der Übersichtlichkeit wegen habe ich die Tabelle wieder in Kurven umgearbeitet, dabei die Werte in der schon mehrmals genannten Weise durch Zahlen ersetzt (Abb. 30).

Horizontal sind wieder abgesetzt die Stufen, vertikal die Intensität der verschiedenen Phänomene. Die Farbe des Bindegewebes ist in der Abbildung nicht eingetragen worden; man sieht ja direkt in der Tabelle, wie das Bindegewebe nach einigen Stunden rötlich wird und allmählich an Farbtintensität zunimmt. Bei 12 Stunden ist eine deutliche blaue Farbe zu beobachten.

Bevor ich zur Besprechung der Abb. 30 übergehe, will ich erst darauf hinweisen, wie schön die *Permeation des Trypanrots immer der des Trypanblaus vorausseilt*. In den Drüsenzellen tritt erst nur Rot auf, dann wird dieses Rot von dem Trypanblau verdeckt; es bleibt aber die vordere Grenze immer rötlich.

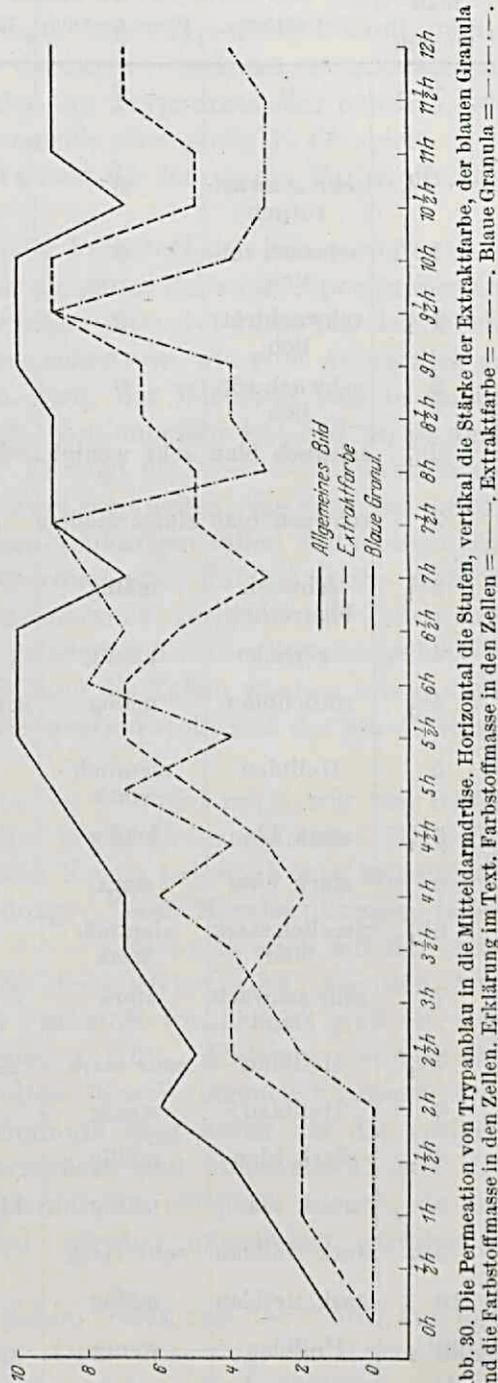


Abb. 30. Die Permeation von Trypanblau in die Mitteldarmdrüse. Horizontal die Stufen, vertikal die Stärke der Extraktfarbe, der blauen Granula und die Farbstoffmasse in den Zellen. Erklärung im Text. Extraktfarbe = - - -, Extraktfarbe = - · - · -, Blaue Granula = - - -.

Tabelle 9.

Stufe Stunden	Extraktfarbe	Blaue Granula	Bindegewebe	Farbstoffmasse in der Zelle
0	0	0		vielleicht hier und da apikal ein lichtroter Schimmer
1/2	sehr schwach rötlich	0		an wenig Stellen sehr schwach rötlich
1	schwach rötlich	0		meiste Zellen apikal schwach blau
1 1/2	schwach rötlich	0		schwach blau, bis 1/5 vom Apex
2	schwach rötlich	0		ziemlich stark blau, bis 1/3 vom Apex
2 1/2	schwach blau	sehr wenig?	schwach rötlich	Hellblau, bis 1/4 vom Apex, weiter basal rötlich
3	schwach blau	einigermaßen		Hellblau, bis 1/3 vom Apex, weiter rötlich
3 1/2	schwach blaurötlich	mäßig		Hellblau, bis 1/2 vom Apex
4	rötlich	häufig		Hellblau, bis 3/4 vom Apex
4 1/2	rötlichblau	mäßig	schwach rötlich	Hellblau, bis Basis
5	Hellblau	ziemlich stark		stark blau
5 1/2	stark blau	mäßig	rötlich	sehr stark blau
6	stark blau	stark	rötlich	sehr stark blau
6 1/2	ziemlich stark blau	ziemlich stark	rötlich	sehr stark blau
7	sehr schwach blau	stark	rötlich	Hellblau
7 1/2	Hellblau	sehr stark	lichtrötlich	stark blau
8	Hellblau	wenig	rötlich	stark blau
8 1/2	stark blau	mäßig	rötlich	stark blau
9	stark blau	mäßig	blaurötlich	sehr stark blau
9 1/2	stark tiefblau	sehr stark	blau	sehr stark blau
10	stark tiefblau	mäßig	blau	sehr stark blau
10 1/2	Hellblau	wenig	blau	ziemlich stark blau
11	Hellblau	wenig	blaurötlich	stark blau
11 1/2	stark blau	wenig	blau	stark blau
12	stark blau	mäßig		stark blau

Das Rot tritt vor dem Blau im Bindegewebe auf und auch an der Änderung der Extraktfarbe sieht man, wie wirklich das Trypanrot zuerst in die Mitteldarmdrüse eindringt. Das Trypanblau kommt immer hinterher, wenn es aber einmal da ist, so verdeckt es natürlich die rote Farbe. Es zeigt dies Voraneilen des Trypanrots sehr deutlich, wie bei dieser Permeation die Teilchengröße eine große Rolle spielt.

Betrachten wir in der Abb. 30 zuerst die Kurve der Farbstoffmasse in der Zelle (——— Linie).

In der Tabelle 9 sahen wir, wie der Farbstoff sich immer weiter nach der Basis hin ausbreitet, bis endlich die ganze Zelle (am Apex immer am intensivsten, an der Basis immer weniger intensiv) diffus mit dem Farbstoff durchtränkt ist. In der Kurve sehen wir, wie vom Augenblick an an dem der Farbstoff angeboten wird, der Farbstoff sich in immer größerer Menge in der Zelle anhäuft. Von ungefähr  $4\frac{1}{2}$  Std. an ist auch das Bindegewebe sichtbar gefärbt. Es zeigt die ——— Linie nach anfänglichem Steigen (bis  $6\frac{1}{2}$  Std.) zwei Senkungen, die erste bei 7 Std., die zweite bei  $10\frac{1}{2}$  Std. Diese Herabsenkungen fallen vollkommen zusammen mit den Maxima der sezernierenden Follikel (siehe Abb. 29 und 31). Bei diesen Ausscheidungsmaxima verlieren die Zellen ihre proximalen, schwer mit Farbstoff geladenen Teile, es ist also selbstverständlich, daß nach dieser Ausscheidung die Zellen weniger intensiv gefärbt sind. Durch weitergehende Permeation stellt sich der alte Zustand wieder ein (Steigerung 7—9 Std.).

Die Kurve der Extraktfarbe (— — — Linie) zeigt, wie von 0 Std. an die Gesamtmenge des Farbstoffes in der Drüse zunimmt. Bei 6 bis 7 Std. und bei  $10\frac{1}{2}$  Std. zeigt diese Kurve jedesmal eine bedeutende Senkung mit nachfolgender Erholung. Diese Herabsenkungen fallen genau mit den Senkungen der ——— Linie, also auch mit den Ausscheidungsmaxima zusammen. Es demonstriert dies, wie der Ausscheidung zufolge der Verlust an Farbstoff wirklich so groß ist, daß er sich im Drüsenextrakte nachweisen läßt. Abgesehen von diesen Ausscheidungsschwankungen ist diese Kurve eigentlich immer weiter ansteigend (jedes folgende Minimum liegt höher als das vorige), sie demonstriert also auch einigermaßen, daß innerhalb 12 Std. der Farbstoff im Gewebe der Mitteldarmdrüse chemisch nicht geändert wird, sich jedenfalls bequem und offenbar ungeändert extrahieren läßt.

Die blauen Granula (— · — · — Linie) treten erst bei 2 Std. auf und nehmen von da an zu bis  $7\frac{1}{2}$  Std. Dann aber zeigt die Kurve einen jähen Sturz, ebenso, nach Erholung, bei 10 Std. Auch die Minima dieser Kurve fallen mit denen der anderen Kurven zusammen. Es bleibt also nur übrig, anzunehmen, daß auch die blauen Granula bei der Sekretion hinausgeworfen werden.

Was sind nun aber die blauen Granula eigentlich? Werden angefärbte präformierte Granula oder durch die intrazelluläre Verarbeitung ent-

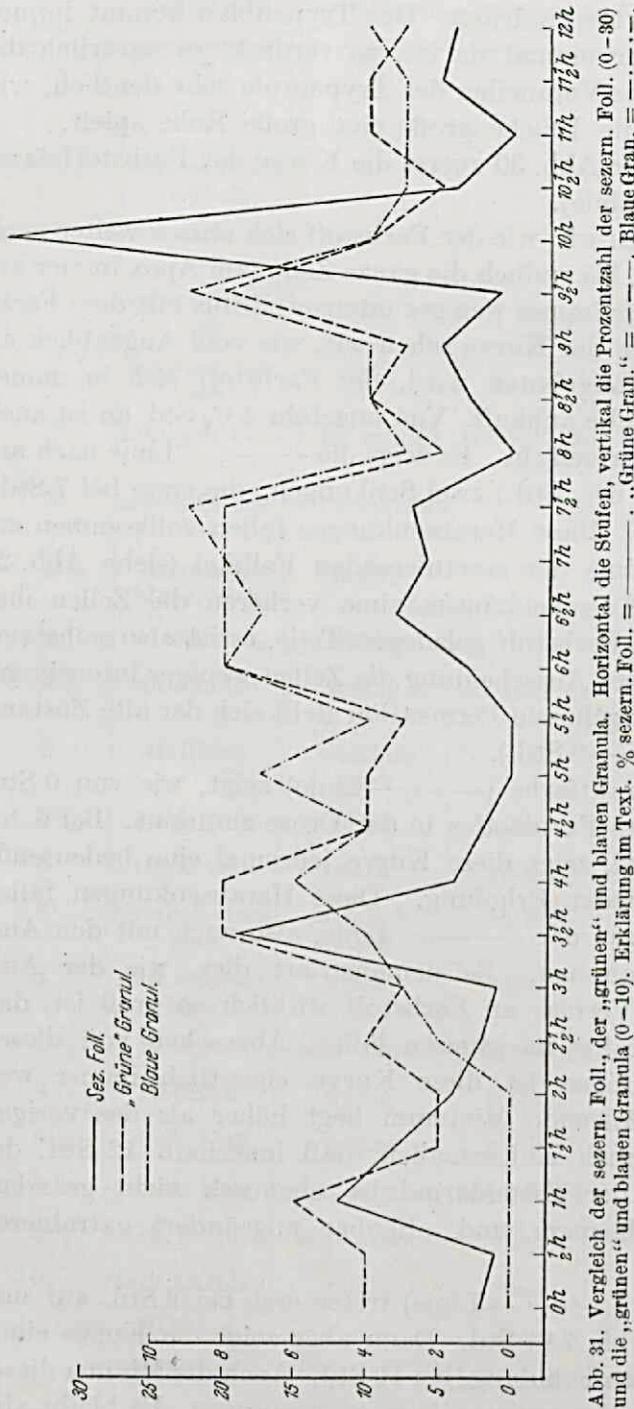


Abb. 31. Vergleich der sezern. Foll., der „grüner“ und blauen Granula. Horizontal die Stufen, vertikal die Prozentzahl der sezern. Foll. (0-30) und die „grünen“ und blauen Granula (0-10). Erklärung im Text. % sezern. Foll. = ———, „Grüne Gran.“ = - - - - - , Blaue Gran. = — · — · —

standene Neubildungen herausgeworfen? Ich vertrete die Auffassung: es sind die blauen Granula, zum größten Teil wenigstens, identisch mit den oben beschriebenen „grünen“ Granula, es sind die „grünen“ Granula von dem blauen Farbstoffe gefärbt worden. Erstens weil die blauen Granula genau dieselbe Struktur zeigen wie die „grünen“, zweitens weil sie Farbunterschiede zeigen von grünlichgelb bis hellblau und drittens weil ihre Menge in überraschender Weise mit der Quantität der grünen Granula parallel geht. Es wird diese letzte Tatsache gezeigt in der Abb. 31, wo ich die Anzahl der sezernierenden Follikel (— Linie), die „grünen“ Granula (— — — Linie) und die blauen Granula (— · — Linie) zusammen abgetragen habe.

Oben (S. 237) sahen wir schon wie jedesmal ein Maximum der „grünen“ Granula zusammen-

trifft mit dem Anfang einer Ausscheidungsperiode. In dieser Abb. 31 sehen wir, wie von 5 1/2 Stunden an die Kurve der „grünen“ Granula

(— — — Linie) eigentlich identisch ist mit der der blauen Granula (— · — · — Linie)<sup>1</sup>.

Nun kann ich natürlich nicht sagen, ob wirklich alle blaue Granula auf eine Anfärbung der „grünen“ Granula zurückzuführen sind, es ist möglich, daß das Plasma nur zu konzentrieren imstande ist in den Momenten, wo sich die „grünen“ Granula bilden. v. MOELLENDORFF (70) ließ in gewissen Geweben einen sauren Farbstoff eintreten, welcher sich zu Granula konzentrierte. Als er nun gleich darauf einen zweiten sauren Farbstoff hineindiffundieren ließ, so wurde dieser zweite Farbstoff teilweise zu neuen Granula konzentriert, teilweise aber auch in den von dem ersten Farbstoff gebildeten Granula angehäuft (Mischgranula). Nun habe ich hier bei meinem Objekte auch mit solchen Mischgranula zu tun: Zwar nicht mit einer Mischung von zwei Farbstoffen, sondern mit einer Mischung von Farbstoff und Sekret. Es wird also der Farbstoff sicherlich intrazellulär verarbeitet, jedoch konzentriert an schon bestehenden Gebilden. So kommt eine Anfärbung der bestehenden „grünen“ Granula zustande.

Ich glaube wie HIRSCH (34), daß in derselben Weise auch die anderen Fälle zu betrachten sind, wo eine scheinbare Beteiligung der eingedrungenen Farbstoffe am Sekretaufbau beschrieben wurde (z. B. PECZENIK 86). Es konzentriert die Zelle ihre Sekrete als Granula, gleichzeitig wird zufälligerweise, weil er sich gleich dem Sekrete zur granulären Verarbeitung eignet<sup>2</sup>, der Farbstoff mitkonzentriert.

*Findet nun bei Helix eine Diffusion oder eine Resorption statt?* Ich habe keinen einzigen Anhaltspunkt dafür, daß hier eine wirkliche Resorption auftritt. Im Gegenteile, die gleichmäßige Durchtränkung des Gewebes in allen Arbeitsstadien der Zellen und das nur langsame Vorrücken des Farbstoffes sind, glaube ich, Argumente, welche gegen eine Resorption sprechen. Vollkommen entscheiden kann ich diese Frage nicht, ich will aber vorläufig die Auffassung vertreten, daß wir hier wirklich mit einer physiologischen Diffusion zu tun haben.

*Meine Permeationsversuche lehren also folgendes:* Es sind bei *Helix* alle Mitteldarmdrüsenzellen<sup>3</sup> in allen Stadien ihrer Arbeit für saure Farbstoffe permeabel. Diese Farbstoffe werden innerhalb 12 Std. in der Weise verarbeitet, daß sie den Sekretgranula „beikonzentriert“ werden. Diese Permeation ist rein kontinuierlich, direkt abhängig von der Zeit, in der der Farbstoff permeieren kann. Von einem periodischen Wechsel

<sup>1</sup> In den ersten Stufen können natürlich die Kurven nicht parallel gehen, es ist dann noch zu wenig Farbstoff in die Zellen eingetreten, um die grünen Granula anzufärben.

<sup>2</sup> Also das Plasma in gleicher Weise reizt.

<sup>3</sup> Ausgenommen die Kalkzellen, diese zeigen niemals eine Anfärbung.

zwischen Sekretion und Permeation, wie ihn z. B. STEUDEL, JORDAN und HIRSCH (50) bei anderen Tieren beschreiben, ist hier also nicht die Rede. Überdies lehren meine Versuche, daß es nur *eine* Art von Drüsenzellen gibt. Die Verteilung in Resorptions- und Fermentzellen ist vollständig falsch: alle Zellen in allen Stadien lassen den Farbstoff gleich gut hineintreten und verarbeiten ihn in gleicher Weise. Ich komme darauf noch S. 272 zurück.

### c) Die Phagozytose.

#### aa) *Methodik und Technik.*

Um die Phagozytose in der Mitteldarmdrüse von *Helix* studieren zu können, wollte ich dem Futter Partikel beimischen, welche phagozytierbar und bequem in den Geweben zu konstatieren sind. Es dürfen aber diese phagozytierbaren Substanzen keine Partikel enthalten, die kleiner als  $0,1 \mu$  sind, denn wir haben in der allgemeinen Besprechung dieses Kapitels gesehen, daß sich damit keine Phagozytose beweisen läßt.

Natürlich habe ich zuerst an die Substanzen gedacht, welche in sehr vielen Untersuchungen als phagozytierbare Stoffe dem Gewebe dargeboten wurden, namentlich Tusche und Karminpulver. Ist es aber sicher, daß diese Substanzen keine Teilchen  $< 0,1 \mu$  enthalten? v. MOELLEN-DORFF hat neuerdings (74) daran gezweifelt; er beobachtete unter anderen eine schwache Diffusion von Tusche in Gelatine. Es sind mehrere Beispiele zu finden, wo ein Fehlen von Teilchen  $< 0,1 \mu$  in Tusche nicht für sicher gehalten wurde. So sagte z. B. vor mehr als 25 Jahren EXNER (18) schon: „ . . . sowie die heute allgemein käufliche flüssige Tusche den größten Teil der Körnchen nicht mehr erkennen läßt“. Es findet ISHIKAWA (42) eine Tuschespeicherung in den Haut- und Schleimhautepithelien von Säugetieren. Ist es aber wahrscheinlich, daß diese Epithelien phagozytieren? Ich könnte noch Fälle zitieren, wo eine Karminpermeation nicht als Phagozytose gedeutet wurde.

Es erschien mir darum nicht überflüssig, *die Tusche- und Karmin-suspensionen auf ihre Teilchengröße zu untersuchen*<sup>1</sup>.

Meine Experimente über die Teilchengröße von *Tusche* gaben folgende Resultate: Es diffundieren die käufliche Wagnertusche, die käufliche Talenstusche und die von mir in Aq. dest. aus fester Tusche hergestellten Suspensionen innerhalb 48 Std. bei Zimmertemperatur ungefähr 4 mm in 10%iger Gelatine, mit der für Kolloide typischen Abgrenzung<sup>2</sup>. Wenn wir diese verschiedenen Tuschepräparate mikroskopisch studieren, so finden wir eine große Anzahl Partikelchen ver-

<sup>1</sup> Herrn Prof. Dr. KRUYT und seinem Assistenten Herrn Dr. v. D. WILLIGEN, die mir bei diesen Versuchen in freundlicher Weise behilflich waren, spreche ich dafür meinen verbindlichsten Dank aus.

<sup>2</sup> Man arbeite dabei steril, sonst kann eine oberflächliche Lösung durch Bakterienentwicklung Täuschungen hervorrufen.

schiedener Größe, welche sich in einem Felde von graubrauner Farbe bewegen. Es läßt sich dieses graubraune Feld auch mit den größten Vergrößerungen (ZEISS-Objektiv  $\frac{1}{2}$  mm) nicht weiter auflösen. Es ist dies schon ein Anzeichen dafür, daß die Tuschepräparate auch Teilchen  $< 0,1 \mu$  enthalten.

Zentrifugieren wir nun die Tusche 1 Std. mit sehr großer Geschwindigkeit<sup>1</sup> (Tourenzahl 6000), so erhalten wir überhalb dem entstandenen Sedimente eine schwarze klare Flüssigkeit, welche mikroskopisch leer ist.

Betrachtet man diese Flüssigkeit unter dem Ultramikroskop, so ist eine sehr große Zahl großer Ultramikrone in einem absolut schwarzen Felde zu beobachten. Geben wir der zentrifugierten Flüssigkeit wenig Bariumchlorid bei, so wird das Kolloid vollständig ausgeflockt; darüber bleibt eine farblose Flüssigkeit stehen.

Es tritt aus diesen Experimenten klar hervor, daß die *käufliche Tusche sehr viele Teilchen  $< 0,1 \mu$  enthält*; es ist ein Suspensoid, in dem sich sehr viele Ultramikrone, keine Amikrone und keine molekular-disperse Tuscheteilchen befinden.

Mit *Karmin* experimentierte ich folgenderweise: Es wurde durch 10 Min. langes Reiben des käuflichen Karminpulvers in einem Mörser mit Aq. dest. eine Karminsuspension hergestellt und diese Suspension filtriert. Das Filtrat sedimentiert nicht mehr freiwillig. In Gelatine diffundiert es in 48 Std. ungefähr 6 mm und zeigt dabei die für Kolloide typische Begrenzung.

Mikroskopisch lassen sich in dieser Flüssigkeit eine Anzahl winzige Teilchen erkennen, welche sich in einem nicht auflösbaren roten Felde bewegen. Zentrifugiert man diese Flüssigkeit 1 Std. (Tourenzahl 6000), so erhält man eine klare rote, etwas visköse Flüssigkeit, welche mikroskopisch leer ist.

Ultramikroskopisch läßt diese Flüssigkeit eine geringe Anzahl Ultramikrone sehen; es tritt aber ein sehr deutliches Tyndallphänomen auf. Bei Alkoholzufügung ändert sich das ultramikroskopische Bild nicht.

Fügt man der zentrifugierten Flüssigkeit wenig  $\text{BaCl}_2$  hinzu, so flockt sie innerhalb 24 Std. teilweise aus; eine trübe rote Flüssigkeit bleibt darüber stehen. Gibt man der zentrifugierten Flüssigkeit wenig  $\text{BaCl}_2$  und viel Alkohol bei, so flockt sie innerhalb 24 Std. vollständig aus; die überstehende Flüssigkeit ist praktisch farblos. Kochenillepulver löst sich in Wasser bedeutend besser als in Alkohol. Gießen wir eine wässrige Lösung derselben in starken Alkohol, so bleibt die Lösung völlig klar; Trübung tritt nicht ein, die Lösung ist also wahrscheinlich kolloidal.

<sup>1</sup> Herrn Prof. Dr. SJOLLEMA, der so liebenswürdig war mir zu diesem Zwecke seine Zentrifuge zur Verfügung zu stellen, danke ich dafür ergebenst.

Aus diesen Experimenten läßt sich schließen, daß die von mir hergestellte *Karmin suspension*, neben natürlich größeren Teilchen, *auch Ultramikrone und sehr viele Amikrone enthält*; echte Lösung kann nur sehr wenig anwesend sein. Es benimmt sich die zentrifugierte Karmin suspension als ein Suspensoid mit lyophilen Eigenschaften.

Diese Untersuchungen zeigen, daß die käufliche Tusche sowie die in gewöhnlicher Weise hergestellten Karmin suspensionen sehr viele Teilchen  $< 0,1 \mu$  enthalten. Sie sind also für Phagocytoseexperimente unbrauchbar. Denn wenn wir Karmin oder Tusche verwenden und wir finden diese nachher in den Zellen zurück, so wissen wir nicht, ob wirklich mikroskopisch sichtbare Partikel aufgenommen sind, oder nur kleinere Partikel, welche in den Zellen zu sichtbaren Klümpchen konzentriert wurden<sup>1</sup>.

Für meine Experimente mußte ich mich also nach anderen Substanzen umsehen. Als phagocytierbare Substanz wählte ich erstens medizinisches *Norit*. Es enthält das von mir verwendete Noritpulver mikroskopische Teilchen, von welchen die kleinsten zirka  $0,25 \mu$  sind. Sie bewegen sich in einem vollkommen farblosen Felde. Eine Suspension sedimentiert schnell und vollkommen; Diffusion in Gelatine findet nicht statt. Es ist also wohl sicher, daß diese Substanz praktisch keine Teilchen enthält  $< 0,1 \mu$ .

Als zweite phagocytierbare Substanz nahm ich *Staphylokokken*. Es sind die Staphylokokken darum besonders geeignet, weil sie erstens sicherlich  $< 0,1 \mu$  sind; zweitens, weil sie eine nicht indifferente Substanz darstellen<sup>2</sup>. Drittens sind diese Staphylokokken grampositiv und müssen sich also bei geeigneter Färbung scharf vom umgebenden Gewebe abheben.

Mit den Staphylokokken wurde folgendermaßen verfahren. Eine Reinkultur von *Staphylococcus albus* wurde gezüchtet in gewöhnlicher Nährbouillon (Kulturröhrchen mit 10 cem Bouillon) und auf gewöhnlichem Agar (Strichimpfung) bei  $37^{\circ} \text{C}$ <sup>3</sup>. Es wurden nun immer 5 Tage alte Kulturen verwendet und zwar fünf solche Bouillon- und fünf solche Agarkulturen. Die Bouillonkulturen wurden geschüttelt und mit dieser trüben Flüssigkeit die Agarkulturen abgespült. Die so erhaltene dicke milchige Aufschwemmung wurde 1 Std. zentrifugiert (Tourenzahl 3000). Das Sediment wurde dem Futter in der in der allgemeinen Technik beschriebenen Weise beigemischt.

<sup>1</sup> Tusche und Karmin benehmen sich wie saure Farbstoffe, eine Konzentration in der Zelle findet also wohl sicherlich statt, dies wurde auch schon von vielen Untersuchern beobachtet.

<sup>2</sup> Viele Tiere nämlich phagocytieren nicht oder kaum indifferente Partikel.

<sup>3</sup> Die Kulturen wurden regelmäßig auf ihre Grampositivität kontrolliert.

Zur Färbung der Staphylokokken in den Schnitten wandte ich eine modifizierte Gramfärbung an<sup>1</sup> (siehe auch ROMEIS [94]): Einer in Wasser konzentrierten filtrierten Lösung von Gentianaviolett wurde gleichviel Alkohol 96% beigegeben (= Stamm A). Eine gesättigte wässrige Lösung von Anilin (6 ccm Anilin + 100 ccm Aq. dest., tüchtig mischen, filtrieren durch feuchtes Filter) = Stamm B. Es wurden nun die Schnitte entparaffiniert und durch die Alkoholenreihe bis zu Aq. dest. gebracht, sodann 5 Min. gefärbt in einer frisch hergestellten Mischung von A und B (1 : 1), sehr kurz abgespült in Wasser, 2 Min. in Lugol (Jod 1 g, Jodkalium 2 g, Aq. dest. 300 ccm) getaucht, wieder sehr kurz in Wasser abgespült, durch die Alkoholreihe bis Alkohol 96% geführt, in Alkohol 96% eine Differenzierung angefangen, diese vollendet in absolutem Alkohol (bis kein Farbstoff mehr abgeht) und eingeschlossen in Balsam.

In den so behandelten Schnitten waren die Kokken tiefblauviolett, das Mitteldarmdrüsengewebe farblos, nur die Zellkerne und die großen Granula während der Ausscheidung erschienen mehr oder weniger gefärbt. Diese beiden Strukturen sind aber leicht von den Kokken zu unterscheiden.

Natürlich besteht die Möglichkeit, daß die Kokken im Kropf schnell verdaut werden und also nicht zu Permeation kommen. Um dies zu entscheiden, habe ich Sedimente von Kokkenkulturen in der feuchten Kammer bei Zimmertemperatur mit Kropfsaft zusammengebracht. Nach 24 stündiger Einwirkung waren die Kokken noch anwesend, vielleicht etwas kleiner als sonst, jedoch gleich stark grampositiv. Weil ich auch in den Stufen fast immer Kokken in den Drüsenlumina beobachten konnte, so habe ich diese Methode als genügend zuverlässig angesehen; ich gab ja lebende Bakterien, tote werden vielleicht schneller verdaut.

Als dritte phagocyitierbare Substanz habe ich noch ein *Kohlepulver* verwenden wollen. Es hat die Firma Wagner in Hannover sich in liebenswürdigster Weise bemüht<sup>2</sup>, mir verschiedene Arten von Kohlenpulver herzustellen, deren Teilchengröße oberhalb  $0,1\mu$  blieb. Unter diesen ist das Kohlenpulver C. VIII. 45 sehr geeignet; es läßt sich sehr bequem mit Wasser zu Suspensionen und in einem Futterteig verarbeiten. Die Suspension sedimentiert freiwillig und vollkommen in einigen Stunden und diffundiert nicht in Gelatine. Mikroskopisch bewegen sich die Teilchen in einem absolut farblosen Felde. Es ist also die Anwesenheit einer großen Menge ultramikroskopischer Teilchen auszuschließen.

Es wurde nun bei den Stufenuntersuchungen der K.B.N.-Serie Kohlen und Norit dem Futter beigemischt; die Tiere der T.T.-Serie bekamen Kohlepulver C. VIII. 45 im Futter. Einzelheiten der Zusammenstellung des Futters siehe die allgemeine Technik Seite 191.

<sup>1</sup> Die ursprüngliche Gramtechnik mit Erwärmung und Phenolbehandlung ist hier nicht brauchbar.

<sup>2</sup> Für diese Liebenswürdigkeit spreche ich auch an dieser Stelle meinen besten Dank aus.

## bb) Die Stufenuntersuchungen.

So lang die Einleitung dieses Abschnittes war, so kurz sind die Resultate. *Es wurde innerhalb 12 Stunden nach Nahrungsaufnahme niemals eine Phagozytose beobachtet.* Weder Norit noch Kohlepulver C. VIII. 45, noch Staphylokokken ließen sich in den Geweben nachweisen.

Worauf ist dies zurückzuführen? Ist die Zeit (12 Std.) zu kurz? Obgleich ich natürlich nicht die Möglichkeit ausschließe, daß eine Phagozytose erst nach 12 Std. stattfindet, so scheint mir dies doch sehr unwahrscheinlich. Es haben andere Untersucher bei anderen Tieren einige Stunden nach der Fütterung schon Phagozytose beobachtet (HIRSCH bei *Murex* 5 Std. nach Fütterung, HYMAN bei *Planaria*  $\frac{1}{4}$  Std. nach Fütterung). Es sind auch bei *Helix* schon in der 0 Std.-Stufe, also gleich am Ende der halbstündigen Fütterung, die phagozytierbaren Substanzen

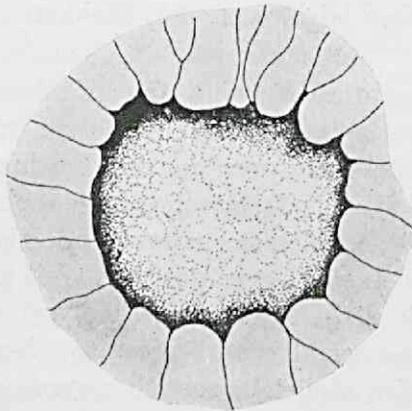


Abb. 32. Kohlepulver in einem Follikellumen der Mitteldarmdrüse (halbschematisch). Erklärung im Text.

bis in den engen Follikellumina vorgeückt<sup>1</sup>; in den späteren Stufen sind sie regelmäßig darin zu sehen. Es erreicht also die phagozytierbare Substanz sicherlich innerhalb einer sehr kurzen Zeit das zu prüfende Gewebe. Es demonstriert dies die Abb. 32, eine halbschematische Abbildung eines Teiles der Mitteldarmdrüse bei 0 Std. Wir sehen hier (in der Mitte der Abb.) wie das Kohlepulver in der ganzen Follikelperipherie den Drüsenzellen eng anschmiegt liegt, es zeigt dies auch, wie die Nahrungsflüssigkeiten den Zellen

zur Permeation nahe gebracht werden. Dergleichen Bildern begegnete ich oft; es ist dies doch wohl ein idealer Zustand für Phagozytose! Ich konstatierte sie jedoch niemals.

Auch die Kokken, die zur Phagozytose sehr geeignete Organismen sind, weil sie nicht, wie Tusche und Norit, indifferente Körper darstellen, wurden innerhalb 12 Std. nie phagozytiert.

Meine Phagozytoseuntersuchungen lehren also: Karminpulver und käufliche Tusche dürfen nicht bei Phagozytoseversuchen verwendet werden, da sie viele Teilchen  $< 0,1 \mu$  enthalten, und wir also nicht wissen, ob ihre Aufnahme in das Gewebe wirklich als Phagozytose gedeutet werden kann.

Eine Phagozytose in der Mitteldarmdrüse von *Helix pomatia* wurde nicht beobachtet.

<sup>1</sup> Oft sogar ziemlich große Stücke.

**Subkap. 3. Der Kalziumphosphatgehalt der Mitteldarmdrüse.****a) Methodik und Technik.**

Es war meine Absicht, den Kalkgehalt<sup>1</sup> der Drüse histologisch und chemisch in den verschiedenen Stufen zu verfolgen.

Zur histologischen Untersuchung wählte ich mit Alaunhämatoxylin-lichtgrün gefärbte, nicht differenzierte<sup>2</sup> Mikrotomschnitte. Darin wurde der Kalkgehalt in den verschiedenen Gesichtsfeldern jeder Stufe abgeschätzt und für jede Stufe der Durchschnittswert bestimmt (in derselben Weise als für die kleinen Granula S. 225). Es wurden weiter möglichst viele cytologische Einzelheiten notiert.

Chemisch habe ich zuerst qualitative Reaktionen an Schnitten vorgenommen. Es lassen sich diese besser an der Hand der Resultate besprechen.

Daneben versuchte ich den Kalkgehalt des Kropfsaftes zu bestimmen. Es ist mit dem Kropfsafte nicht angenehm zu arbeiten. Die nicht konstante, große Menge Eiweiß, die bei den Prüfungen immer niedergeschlagen wird und vielleicht Phosphate mitreißt, die an Intensität wechselnde braune Farbe des Saftes: dies sind Faktoren, welche große Fehler mit sich bringen können. Darum läßt sich mit dem Kropfsafte nur qualitativ arbeiten.

Für die Stufenuntersuchungen mußte ich aber jedenfalls quantitativ arbeiten, um die Resultate direkt vergleichen zu können. Es kommt dafür erstens in Frage die altbekannte Phosphatreaktion, welche darauf beruht, daß man die Kalkkörner löst in konzentrierter Salpetersäure und der Lösung etwas Ammoniummolybdat zugibt. Es tritt dann ein gelber Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammoniak auf.

Diese Methode aber zeigte sich zur quantitativen Untersuchung der Stufen nicht sehr zuverlässig. Zufälligerweise entdeckte ich eine zweite Phosphatreaktion. Beim Nachschlagen der Literatur fand ich, daß diese Reaktion schon bekannt war und in Amerika angewandt wird bei Bodenprüfungen. Sie ist, wenn ich mich nicht irre, auf dem folgenden Prinzip basiert:

Bei Reduktion von neutralen oder mäßig sauren Molybdäntrioxyd- oder Molybdatlösungen bildet sich bei Anwesenheit von Phosphorsäure eine blaue Verbindung. Die Intensität der Blaufärbung wird kolorimetrisch verglichen mit einer Reihe von Standardlösungen.

Für die Stufenuntersuchungen wurde nun, nach sehr vielen orientierenden Versuchen über das geeignetste Verhältnis der benötigten Reagentien, die Reaktion folgendermaßen modifiziert: 5 mg vollkommen trockenes Drüsenpulver wurde in ein kleines Glasröhrchen gebracht. Dazu wurde ein Tropfen offizineller Salzsäure gefügt; die Säure ließ ich

<sup>1</sup> Ich nenne den Kalziumphosphat kurz Kalk.

<sup>2</sup> Nach Differenzierung mit Salzsäure sind öfters große Mengen Kalk gelöst.

5 Min. einwirken. Sodann wurden zehn Tropfen Aq. dest. zugefügt, geschüttelt, 15 Tropfen Ammoniummolybdat (wässrige 3%ige-Lösung) zugefügt, wieder geschüttelt, zehn Tropfen Hydrochinonlösung (frisch bereitete 2%ige Lösung) zugefügt und mehrmals geschüttelt. Die Trübung (Gewebereste) wurde abzentrifugiert, das Röhrchen blieb 10 Min. stehen (es dauert einige Zeit bevor die Farbe maximal ist) und nach dieser Zeit wurde die Tiefe der Blaufärbung an der Skala bestimmt<sup>1</sup>.

Bei der *Zusammensetzung der Skala* erhoben sich einige Schwierigkeiten. Zuerst stellte ich eine Skala her mit verschiedenen starken Lösungen von Natriumphosphat, es war aber diese Skala nicht haltbar, nach einigen Tagen bildeten sich (auch im Dunkeln im Eisschrank) Trübungen und Niederschläge. Überdies haftet der aus der Drüse hergestellte Flüssigkeit immer eine braune Farbe an, welche mit der blauen Reaktionsfarbe eine grünlichblaue Mißfärbung gibt, welche nicht zu vergleichen ist mit der Farbe der Standardlösungen. Darum stellte ich eine Skala her aus verschiedenen starken wässrigen Lösungen von Lichtgrün, nachher noch eine aus alkoholischen Lösungen von Bismarckbraun + Lichtgrün, diese gaben aber nicht die gewünschte Farbnuance. Endlich kam ich zu folgender Skala

a)	konzentrierte Lösung von Methylenblau	in Alkohol 70%,
b)	„ „ „ Bismarckbraun	„ „ 70%,
c)	„ „ „ Lichtgrün	„ „ 70%.

Es wurde aus diesen Lösungen eine Mischung hergestellt (35 Tropfen a + 10 Tropfen b + 20 Tropfen c)<sup>2</sup>.

Es wurden dann von 15 Glasröhrchen jedes mit 4 ccm Alkohol 70% gefüllt und die Farbstoffmischung auf diese Röhrchen in steigender Menge verteilt. In das erste Röhrchen kam 1 Tropfen der Mischung, in das letzte 15 Tropfen. An dieser Skala sind die Reaktionen gut zu prüfen. Wenn ich unten z. B. von „Phosphatreaktion = 5“ rede, so wird damit gemeint, daß der Drüsenextrakt der betreffenden Stufe eine Reaktion gab, dessen Farbintensität gleich dem fünften Röhrchen der Skala war.

#### b) Orientierende Versuche.

Frühere Untersucher stellten fest, daß die Körner in den Kalkzellen des Follikelepithels der Mitteldarmdrüse von *Helix* aus Trikalziumphosphat bestehen. Es läßt sich diese Tatsache sehr deutlich zeigen:

Die Kalkkörner lösen sich nicht oder kaum in Wasser<sup>3</sup>, schnell in konzentrierten Säuren<sup>4</sup>. Fügt man dem ungefärbten Schnitte auf dem Objektträger konzentrierte Schwefelsäure zu, so bilden sich die runden Kalkkörner schnell in Nester von Kalziumsulfatnadeln um. Die Körner

<sup>1</sup> Natürlich hatten die von mir verwendeten Röhrchen alle genau den gleichen Durchmesser.

<sup>2</sup> Wässrige Lösungen sind nicht brauchbar, weil die Farbstoffe sich darin gegenseitig ausflocken.

<sup>3</sup> Es geben auch wässrige oder Glycerinextrakte der Drüse niemals eine positive Reaktion.

<sup>4</sup> Ohne Gasbildung. Bei der Lösung der Kalkkörner im Bindegewebe aber bildet sich Gas, diese Körner enthalten also Karbonate.

enthalten also Kalzium. Erwärmt man einen Schnitt auf dem Objektträger nach Zufügung von mit Salpetersäure angesäuerter Ammoniummolybdatlösung, so entsteht der bekannte gelbe Niederschlag, welcher oft schon makroskopisch sichtbar ist. Phosphor ist also auch anwesend.

Eine sehr demonstrative Probe ist folgende: Man kocht ein Stück der frischen Drüse 2 Min. mit konzentrierter Salpetersäure; die filtrierte Lösung gibt mit Ammoniummolybdat den hellgelben Niederschlag, löslich in Ammoniak, unlöslich in Säuren.

Oder man kocht ein Stück der Drüse 2 Min. mit offizineller Salzsäure, filtriert, verdünnt mit Aq. dest., fügt Hydrochinon- und Ammoniummolybdatlösung zu. Es entsteht eine tiefe Blaufärbung.

Frühere Untersucher konnten im Kropfsafte keine Phosphate finden. Es gelang auch mir mit der alten Methode nicht einen gelben Niederschlag zu erhalten.

Die neue Methode aber gibt bessere Resultate. Man versacht den verdünnten Kropfsaft von einigen Tieren zusammen im Schmelztiegel. Die Asche wird in der gewöhnlichen Weise Salzsäure, Molybdat und Hydrochinon zugefügt. Es entsteht eine sehr deutliche Blaufärbung. Diese Reaktion hat aber den Nachteil, daß man auch den eventuellen Phosphor aus dem anwesenden Eiweiß freimacht und wir wissen nicht wie groß diese Quantität ist. Darum ist folgende Probe zuverlässiger:

Es wird der Kropfsaft von einem Tiere verdünnt mit der zehnfachen Menge Wasser. Man fügt offizinelle Salzsäure zu, die sich bildende Trübung wird abzentrifugiert. Ammoniummolybdat wird beigegeben, es entsteht eine neue Trübung, welche auch abzentrifugiert wird. Fügt man nun der Flüssigkeit Hydrochinonlösung zu, so entsteht eine unzweideutige ziemlich schwach blaugrüne Farbe. Dieser Versuch beweist das Vorhandensein von Phosphaten im Kropfsaft.

### c) Die Stufenuntersuchungen.

Es liegen die Kalkzellen an der Peripherie der Drüsenfollikel; sie sind leicht von den anderen Epithelzellen zu unterscheiden. Sie besitzen immer einen sehr großen Kern mit deutlichem Nukleolus<sup>1</sup>. Das Plasma ist etwas fibrillär und stark färbbar mit sauren Farbstoffen (z. B. Eosin). Im Plasma ist immer eine große, aber schwankende Anzahl runder Körner zu beobachten. Diese Kalkkörner färben sich mit Alaunhämatoxin verschieden, hellrot bis tiefblauviolett. Meistens ist die Färbung homogen-diffus; manchmal ist auch in den Körnern ein schwächer oder stärker gefärbter Kern zu entdecken. Genetische Beziehungen zwischen den verschiedenen Formen konnte ich nicht feststellen. Weder die Kalk-

<sup>1</sup> Der Kern, der in den kleineren Kalkzellen rund ist, zeigt sich in den großen, prall mit Kalkkörnern geladenen Zellen mehr bohnen- bis nierenförmig und gerunzelt.

körner noch das Plasma der Kalkzellen färbte sich in den Permeationsversuchen.

Der Phosphatkalk der Gastropoden, sagte man, wird ausschließlich gespeichert zum Aufbau der Schale und Schalendeckel. Gegen diese Ansicht erheben sich aber Einwände. Es haben z. B. *Arion* und *Limax* Phosphatkalk im Drüsenepithel, jedoch nur Reste von einer Schale, zweitens enthält die Schale meistens nur sehr wenig Phosphate, nur der Schalendeckel ist phosphatreich.

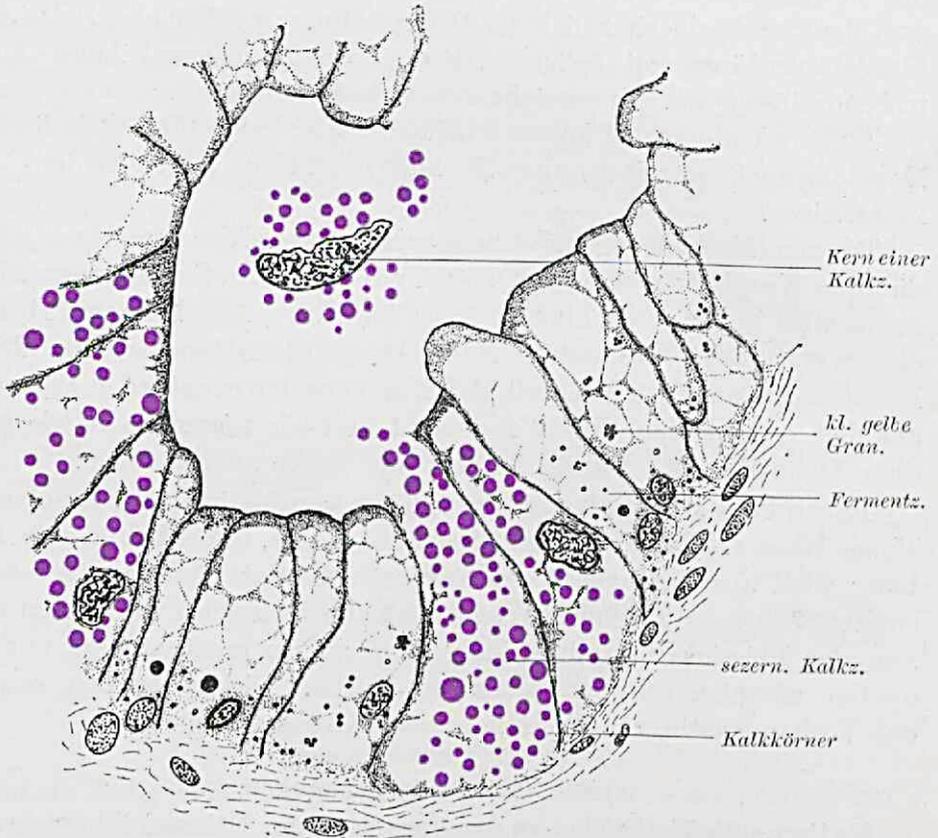


Abb. 33. Teil eines Mitteldarmdrüsenfollikels mit sezernierenden Kalkzellen. Die Kalkgranula sind violett. Erklärung im Text.

Nun habe ich histologisch beobachtet, daß die Kalkzellen ihren Inhalt ausstoßen in die Follikellumina, also nach dem Darne hin. Dies zeigt die Abb. 33.

Wir sehen da wie die Kalkzellen groß und lang geworden und prall geladen sind mit Kalkkörnern. Die untere große Zelle der Abbildung stößt gerade ihren Inhalt aus. Im Lumen liegt ein Kern einer Kalkzelle und viele Kalkkörner.

Solchen sezernierenden Kalkzellen bin ich mehrmals begegnet, überdies lassen sich öfters große Kalkmassen in den Lumina und Ausführgängen nachweisen.

Wir haben hier mit einem Prozesse zu tun, der vollkommen analog ist mit anderen beschriebenen Fällen: Erstens kann ich verweisen auf das klassische Beispiel der Kalkdrüsen im Oesophagus des Regenwurms. Zweitens hat HIRSCH (32) bei *Natica* und *Murex* auch eine Ausscheidung von Phosphaten aus den Kalkzellen des Mitteldarmdrüsenepithels in den Darm beobachtet. Drittens sind bei manchen Evertebraten Phosphate im Darmsaft gefunden worden (z. B. von BIEDERMANN bei der Tenebrionlarve, *Astacus* usw.). — Bei *Helix* war jedoch bis jetzt im Kropfsafte noch niemals Phosphat konstatiert.

Da ich hier die Phosphate im Saft nachweisen konnte und überdies oft histologisch eine Kalksekretion beobachtete, so glaube ich sagen zu können: *die Kalkzellen der Mitteldarmdrüsenfollikel bei Helix scheiden ihre Phosphate nach dem Darne zu aus; es haben diese Phosphate im Darmsaft offenbar eine Funktion als Puffersubstanz.* Fanden doch auch neuerdings DUVAL und FISCHER (17), daß der Helixkropfsaft eine viel größere Pufferkapazität hat als das Blut.

Wenn aber die Phosphate im Kropfsafte als Puffersubstanzen wirksam sein wollen, so müssen sie sich erst im Saft lösen können, in vitro beobachtete ich ja nur eine Lösung in Säuren. Es fanden aber PAULI und SAMEC (85), daß die Löslichkeit von schwerlöslichen Kalksalzen enorm gesteigert wird durch Zufügung von Gelatine oder Serum. Der Kropfsaft wird mit seiner sehr großen Eiweißquantität wohl eine derartige Wirkung haben können.

Die Sekretion des Kalkes ist nun sicherlich ein Prozeß, wobei *die Kalkzelle rhythmisch arbeitet*; es wird ja, soweit ich dem nachgehen konnte, bei der Sekretion immer auch der Kern mit ausgestoßen. Die Zellen, welche sezerniert haben, gehen also zugrunde.

Jetzt wollen wir untersuchen, in welcher Weise die Kalkverhältnisse in das Bild der Drüsenarbeit hineinpassen; wir wenden uns zu diesem Zwecke den *Stufenuntersuchungen* zu.

Ich habe die Resultate in den Kurven der Abb. 34 zusammengefaßt. In dieser Abbildung sind horizontal zuerst eine Anzahl Hungertiere (H 5a—H 6e), dann die Stufen der T.T.-Serie abgetragen. Vertikal geschah dies mit der Intensität der Reaktion und dem Durchschnittswerte der Kalkmenge im histologischen Bilde. Die Existenz einer Kalksekretion wurde durch + unterhalb der Abszisse angegeben.

Diese Kurven zeigen erstens eine weitgehende Übereinstimmung zwischen der Menge der Kalkkörner im histologischen Bilde (— — — Linie) und der Reaktion des Pulvers (———— Linie). Es demonstriert dies wohl die Zuverlässigkeit meiner Phosphatreaktion. Zweitens dürfen wir bei dieser doppelten Feststellung derselben Tatsache die Resultate wohl richtig nennen.

Es zeigen die Kurven sehr deutliche Maxima. Erstens während des Hungerns: der Kalkgehalt der Mitteldarmdrüse von Tieren, welche

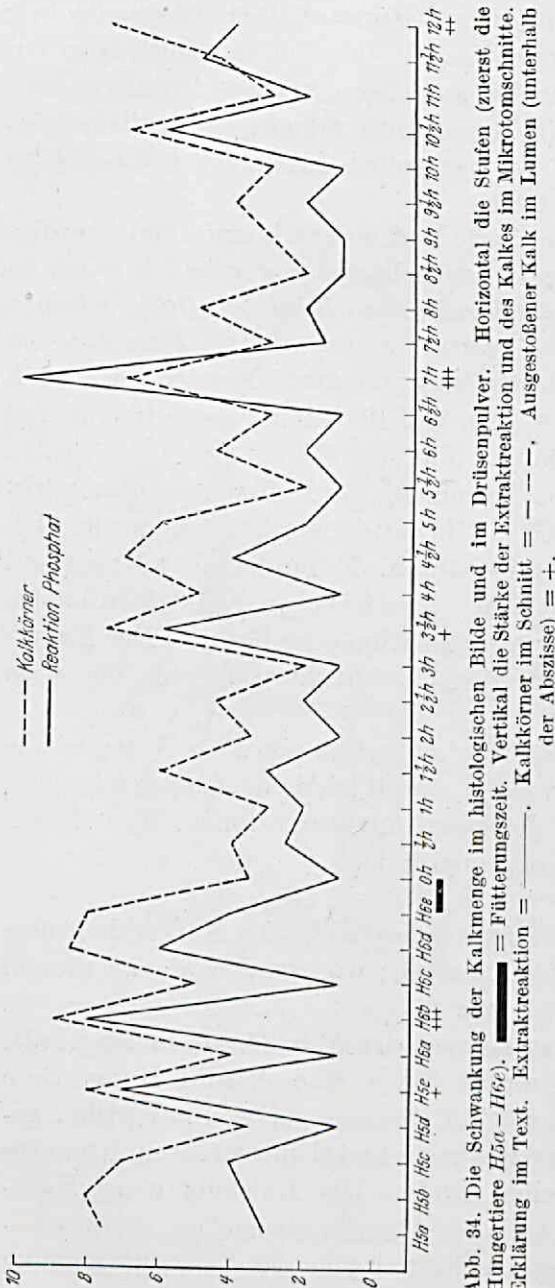


Abb. 31. Die Schwankung der Kalkmenge im histologischen Bilde und im Drüsenpulver. Horizontal die Stufen die Hungertiere H5a-H5c, = Fütterungszeit. Vertikal die Stärke der Extraktreaktion und des Kalkes im Mikrotomschnitte. Erklärung im Text. Extraktreaktion = — — — — —, Kalkkörner im Schnitt = — — — — —, Ausgestoßener Kalk im Lumen (unterhalb der Abszisse) = +.

allgemein in vollkommen gleicher Lage sind, ist also großen Schwankungen ausgesetzt.<sup>1</sup>

Bei verschiedenen Tieren beobachteten wir zweitens eine Kalksekretion (+). Diese Sekretion tritt auf beim Hungertiere sowie bei den gefütterten Tieren und findet immer nur statt, wenn der Kalkgehalt in der Drüse groß ist (3 $\frac{1}{2}$  Std., 7 Std. und 12 Std.). Diese Tatsache weist darauf hin, daß die Sekretion periodisch ist, die Drüse wirft ihren Phosphatkalk rhythmisch hinaus, die Zellen arbeiten in irgendeiner unbekanntem Weise synchron. Da aber bei den Hungertieren auch eine derartige Ausscheidung stattfindet (H6b), so kann dieser Rhythmus nicht dem Fütterungsreiz seine Entstehung verdanken.

Wird aber der Rhythmus von dem Fütterungsreiz beeinflusst? Ich kann mir sehr gut denken, daß die Periodizität der Kalksekretion in der aktivierten Drüse beschleunigt wird, es werden doch wohl Faktoren vorhanden sein (z. B. die erhöhte Flüssigkeitsaufnahme der Drüse), welche diese Beschleunigung möglich machen.

Es läßt sich aber aus den erhaltenen Resultaten nichts

Derartiges schließen. Ich kann nur sagen, daß wahrscheinlich die Beein-

<sup>1</sup> Es sei nochmals darauf hingewiesen, daß nur Tiere benutzt wurden mit vollkommener normaler Schale und Schalendeckel (siehe auch allgemeine Technik S. 190).

flussung der Kalksekretion durch die Fütterung, wenn überhaupt eine solche stattfindet, eine ledigliche Beschleunigung ist. Die T.T.-Serie zeigt eine Kalksekretion bei 3 1/2, 7 und 12 Std.; die K.B.N.-Serie zeigt eine Kalkausscheidung bei 0, 3, 4 1/2 und 9 Std. Der Zustand, in der die Kalkzellen sich beim Fütterungsanfang befinden, ist also absolut entscheidend für den Zeitpunkt der ersten Sekretionswelle, sind die Zellen beim Fütterungsanfang weit von der Sekretion entfernt, so geht die Arbeitsbahn der Zelle in der gleichen Reihenfolge weiter, höchstens findet eine Beschleunigung statt.

Über einen möglichen Zusammenhang zwischen der Sekretion der Kalk- und Drüsenzellen kann ich nichts sagen. — Während HIRSCH bei marinen Mollusken eine rhythmische Kalksekretion fand, die mit der Fermentsekretion in Zusammenhang steht (32), trifft bei *Helix* manchmal ein Maximum in der Anzahl der sezernierenden Follikel mit einer Kalksekretion zusammen, manchmal auch nicht.

*Meine Untersuchungen betreffend den Kalkgehalt zeigen uns:* Es stellt die Kalkzelle des Mitteldarmdrüsenepithels eine rhythmisch arbeitende Zelle dar. Die Drüse sezerniert ihre Kalziumphosphate rhythmisch in das Darmvolumen, während des Hungerns wie nach Fütterung. Das Kalziumphosphat hat sehr wahrscheinlich als Puffersubstanz im Darmsafte Bedeutung und ist im Kropfsaft nachweisbar<sup>1</sup>. Eine Beeinflussung des Rhythmus durch die Fütterung ist nicht auszuschließen, ergab sich aber nicht aus meinen Experimenten.

#### Subkap. 4. Die Fermente der Mitteldarmdrüse.

##### Die Lipase.

##### aa) Methodik und Technik.

Zur Vervollständigung meiner histologischen Befunde war eine gleichzeitige Prüfung des Fermentspiegels im Kropfsaft oder Mitteldarmdrüsenextrakt aller Stufen sehr wünschenswert.

Ich habe im ersten Teil meiner Arbeit den Fermentspiegel verfolgt durch Lichenasebestimmungen am Kropfsaft in einer nicht sehr genauen Weise. Es läßt sich mit dem Kropfsafte schwierig arbeiten, der große Eiweißgehalt und die vorhandene Nahrung beeinflussen die Exaktheit der Resultate stark. Darum habe ich jetzt die Drüsenextrakte untersucht. Im Drüsenextrakt läßt sich aber, wie wir oben sahen, keine Lichenase nachweisen. Ich wählte nun zur Prüfung die Lipase.

Die Lipase von *Helix* ist ein kräftig wirkendes Ferment, welches nach den älteren Untersuchungen von LEVY im Januar und Februar nicht nachgewiesen werden kann. Dieses letzte stimmt natürlich nicht<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Damit sei nicht in Abrede gestellt, daß dem Phosphatkalk auch eine Bedeutung beim Schalenbau zukommen kann. <sup>2</sup> Neuere Literatur über die Lipase der Gastropoden existiert eigentlich nicht. Nur eine Arbeit von JANOUSCH (44) entdeckte ich; diese tschechische Arbeit war mir aber nicht zugänglich.

Zur Bestimmung der Lipase haben wir einige Methoden, aus denen ich für meine Untersuchungen die *stalagmometrische Methode*, eingeführt von RONA und MICHAELIS (95, 96, 97), wählte. Es beruht diese Methode auf dem Theorem von GIBBS-THOMSON, welcher sagt, daß Substanzen in Lösung, welche sich an der Oberfläche der Lösung ansammeln, die Oberflächenspannung des Lösungsmittels herabsetzen (oberflächenaktive Stoffe). Dieses Prinzip wird in folgender Weise bei der Enzymforschung angewandt: Eine bestimmte Menge Aq. dest. wird in derselben Tropfpipette bei konstanter Temperatur immer dieselbe Tropfenzahl geben müssen. Ein Tropfen wächst solange an der Pipette, bis die Oberflächenspannung eine gewisse Größe in Beziehung zum Tropfengewicht hat; dann fällt er ab. Wenn wir nun einen oberflächenaktiven Stoff in Wasser lösen, so ist also die Tropfenzahl der Lösung viel größer als die des reinen Wassers, weil die Oberflächenspannung herabgesetzt ist. — Nun sind gewisse Fettsäure-Ester wie z. B. Tributyrin sehr wenig löslich in Wasser und sehr oberflächenaktiv. Eine gesättigte wässrige Lösung von Tributyrin wird also pro Kubikzentimeter eine viel größere Tropfenzahl geben, als reines Wasser.

Wenn wir nun Lipase auf eine gesättigte Tributyrinlösung einwirken lassen, so entstehen natürlich Fettsäure und Glycerin. Glycerin ist sehr wenig oberflächenaktiv und kommt, da wir mit sehr geringen Mengen zu tun haben (es lösen sich nur etwa 5 Tropfen Tributyrin in 500 ccm Wasser) gar nicht in Frage. Die entstandenen Fettsäuren sind oberflächenaktiv; fügen wir jedoch dem Substrat einen Puffergemisch zu, so binden wir die Fettsäure als Salze; diese Salze sind praktisch nicht oberflächenaktiv.

Lassen wir also Lipase einige Zeit auf die gesättigte Tributyrinlösung einwirken, so wird die Tropfenzahl sinken müssen, da Tributyrin aus der Lösung verschwindet und nicht durch andere oberflächenaktive Stoffe ersetzt wird. Dieser Unterschied in der Tropfenzahl ist ein Maßstab für die Lipasestärke.

RONA und MICHAELIS arbeiten mit einer gewöhnlichen Tropfpipette. Ich habe eine etwas kompliziertere Konstruktion benutzt, welche aber sehr exakte Resultate gibt. Es hat diese Konstruktion gewisse Vorteile. Erstens läßt sich die Geschwindigkeit der Tropfung regulieren und konstant halten; zweitens läßt sich der Apparat sehr schnell reinigen, so daß eine beliebige Anzahl Bestimmungen schnell hintereinander möglich ist; drittens dauert eine Bestimmung nur  $2\frac{1}{2}$  Min. usw.

Die Tropfengeschwindigkeit ist wirklich ein Faktor von Bedeutung. Der oberflächenaktive Stoff braucht nämlich einige Zeit um sich in der sich neu bildenden Oberfläche anzusammeln; es dauert also einige Zeit, bis die statische Oberflächenspannung erreicht ist. Bei der zur Messung geeigneten Tropfengeschwindigkeit ist die statische Oberflächenspannung

noch nicht erreicht, man mißt also einen dynamischen Vorzustand. Das schadet bei der vergleichenden Untersuchung nicht, wenn wir nur immer *denselben* dynamischen Zustand messen. Dazu aber muß die

Tropfengeschwindigkeit derselben Flüssigkeit absolut konstant sein, sonst gibt die Flüssigkeit bei schneller Tropfung eine kleinere Tropfenzahl als wenn die Flüssigkeit langsam austropfte.

Der von mir verwendete Stalagmometer ist abgebildet in der Abb. 35.

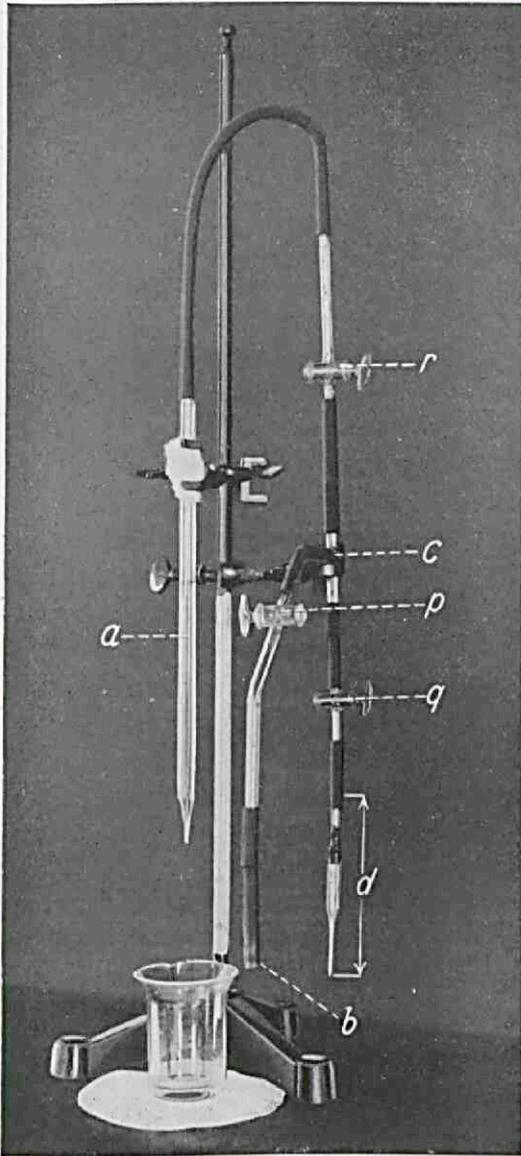


Abb. 35. Stalagmometer nach KRIJGSMAN. Erklärung im Text. *a* = Kalibrierte Pipette. *b* = Mundstück. *c* = T-rohr. *d* = Konstruktion zur Sicherung der konstanten Tropfgeschwindigkeit. *p*, *q* und *r* = Glashähne.

Der Apparat besteht aus einer kalibrierten Pipette *a* von 10 mm Durchmesser, mit so weiter Öffnung, daß in gewöhnlichen Umständen die Flüssigkeit mit breitem Strahl hinausströmt. Die Pipette ist an ihrem oberen Ende mittels eines Gummirohres mit einem T-Rohr *c* verbunden. Das T-Rohr führt einerseits zum Mundstück *b*, andererseits zur Konstruktion *d*. Diese Konstruktion, welche eine

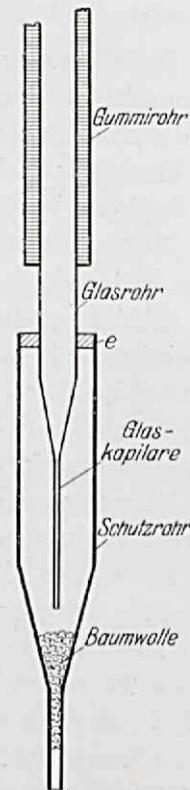


Abb. 36. Schematische Darstellung der Konstruktion zur Sicherung der konstanten Tropfgeschwindigkeit. Erklärung im Text.

absolut konstante Tropfengeschwindigkeit sichert, ist schematisch in der Abb. 36 zu sehen.

In dieser Abbildung erkennen wir, wie das oben mit dem Stalagmometer verbundene Gummirohr unten mit einem Glasrohr verbunden ist, welches zu einer sehr engen Kapillare ausgezogen ist. Dieses Glasrohr ist in einem Schutzrohr eingekittet (bei *e*); im unteren Ende dieses Schutzrohres sitzt ein Wattenbausch, damit die hineintretende Luft filtrierte und die Kapillare nicht verstopft wird.

Es wird nun das in der Flamme ausgezogene Kapillarrohr am Apparat angegeschlossen und so lange Stückchen von der Kapillare abgebrochen, bis die Flüssigkeit in der Pipette die gewünschte Tropfengeschwindigkeit erreicht hat<sup>1</sup>. Sodann wird das Schutzrohr um die Kapillare befestigt. Es sichert diese Konstruktion, welche ich nach verschiedenen mißglückten Aufstellungen fand, eine konstante Tropfengeschwindigkeit und also eine konstante Tropfengröße<sup>2</sup>. Der Luftraum von der Pipettenflüssigkeit bis zu *d* (Abb. 35) darf nicht zu groß sein, sonst tropft die Flüssigkeit unregelmäßig<sup>3</sup>. Ein großer Fehler wird weiterhin eingeschleppt, wenn der wachsende Tropfen seitlich an der Pipette haftet, er wird dann viel größer und es entstehen Fehler bis etwa 20%.

Eine Bestimmung der Tropfenzahl geht nun folgendermaßen vor sich: Man schließt den Hahn *q*; *p* und *r* werden geöffnet und die Pipette wird in die zu untersuchende Flüssigkeit eingetaucht. Man saugt bei *b*, bis die Flüssigkeit in der Pipette bis zur gewünschten Höhe gestiegen ist. Man schließt den Hahn *p*, öffnet den Hahn *q*, die Flüssigkeit fängt an zu tropfen. Nun zählt man die abfallenden Tropfen bis die zur Bestimmung benötigte Flüssigkeitsmenge ausgeflossen ist. Sodann öffnet man den Hahn *p*, schließt *q*, die Restflüssigkeit strömt schnell ab. Man spült die Pipette einige Male mit Aq. dest. nach und das Stalagmometer ist fertig für die nächste Bestimmung.

Zum Vergleich der Lipase der Stufen mußte ich erstens über eine Standardtributyrylcurve verfügen können. Es wurde zu diesem Zwecke die Tropfenzahl von gesättigter Tributyrinlösung, für 90% gesättigter Tributyrinlösung, usw. bis reinem Wasser bestimmt. Die Resultate zeigt die Kurve der Abb. 37. Vertikal ist da abgetragen die Tropfenzahl, horizontal die Tributyrinsättigung (100% = gesättigte Tributyrinlösung, 0% = Aq. dest.). Das Austropfen wurde so reguliert, daß 6 ccm einer gesättigten Tributyrinlösung 220 Tropfen, 6 ccm Aq. dest. 160 Tropfen gaben. Bei den Stufen wurde natürlich immer die Tropfenzahl von 6 ccm Flüssigkeit bestimmt.

Zur *Stufenuntersuchung* wurde nun folgendermaßen verfahren: Beim Töten des Tieres wird der Mitteldarmdrüse der zur histologischen Unter-

<sup>1</sup> Wenn die Luft nur durch die enge Kapillare in den Apparat hineinkommen kann, so wird der Ausfluß aus der Pipette bis zu Tropfung herabgesetzt.

<sup>2</sup> Für eine und dieselbe Flüssigkeit.

<sup>3</sup> Der Hahn *r* hat Bedeutung für das Durchblasen der Kapillare, wenn diese trotz der Filtereinrichtung doch noch verstopft. Hahn *r* wird dann geschlossen, *p* und *q* geöffnet und von *b* aus durchgeblasen (nicht mit dem Munde!).

suchung bestimmte Teil entnommen; der Rest (außerhalb der oberen Spitze, welche die Zwitterdrüse enthält) nach Abpräparieren der Darmschlingen unter kräftigem Wasserstrahl kurz gespült, mit Fließpapier flüchtig abgetrocknet und in einem Uhrschälchen zerzupft. Die Uhrschälchen kamen auf 24 Std. in den Schwefelsäureexsikkator; dann wurden die Drüsen in mit Wattepfropfen versehenen Röhren über Chlorkalzium aufbewahrt.

Später wurde die getrocknete Drüse in einem Mörser zerpulvert und hiervon 25 mg. mit 3 ccm Glyzerin (80%, hergestellt aus Glyzerin S. G. 1,25 + Aq. dest.) verrieben. Die Suspension kam auf 17 Std. in den Brutschrank bei 30° C. Sodann wurde 7 ccm Aq. dest. beigegeben, gut gemischt, 5 Min.

kräftig zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit direkt zur Bestimmung benutzt<sup>1</sup>.

Das Substrat wurde in folgender Weise hergestellt: 100 ccm gesättigter Tributyrinlösung wurde 4 ccm Puffergemisch (Zusammensetzung siehe unten) beigegeben. Diese Quantität wurde in vier Teile geteilt und in die Versuchsflaschen gegossen; drei von diesen

Versuchsflaschen wurde je  $\frac{1}{4}$  ccm zentrifugierter Drüsenextrakt beigegeben, der vierten gekochter Drüsenextrakt<sup>2</sup>.

Gleich nach Zufügung der Drüsenextrakte wurde die Tropfenzahl bestimmt (= etwa 219 per 6ccm, weil das Tributyrin durch die beigegebenen Flüssigkeiten nicht mehr gesättigt ist) und die verschlossenen Versuchskolben ins Wasserbad bei 30° C gestellt. 55 Min. später wurden sie aus dem Wasserbade geholt, ich ließ sie 5 Min. bei Zimmertemperatur stehen und bestimmte dann wieder die Tropfenzahl nach Ausspülung der Pipette mit der zu prüfenden Flüssigkeit. Mit Hilfe der Standardtributyri-rinkurve war dann die gespaltene Menge direkt in Prozenten zu sehen<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Das immer mit in Lösung gehende Trypanblau oder Lithionkarmin schadet in dieser Quantität die Enzymwirkung nicht (siehe auch BRANDI [8]).

<sup>2</sup> Die Lipase ist schon nach 4 Min. Kochen völlig zerstört.

<sup>3</sup> Es wäre natürlich noch besser, wenn alles bei konstanter Temperatur verlief, zu diesem Zwecke könnte man den Stalagmometer in einem Thermostaten einbauen.

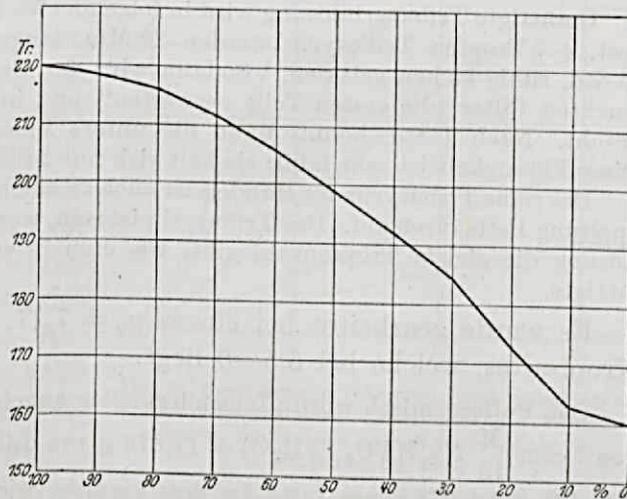


Abb. 37. Die Standardtributyri-rinkurve. Horizontal: gesätt. Tributyrin bis Aq. dest. (100%—0%); vertikal: die Tropfenzahl. Erklärung im Text.

Die Zimmertemperatur blieb auf 20° C konstant, die eventuellen Fehler durch Schwankungen innerhalb 2° wurden korrigiert an der Hand von Wasser- und Tributyrinlösungsbestimmungen bei verschiedenen Temperaturen.

Man wird mir vielleicht entgegenhalten, daß mit Hilfe dieses Stalagmometers keine absoluten Messungen möglich sind, es ist z. B. möglich, daß in der Standardtributyrinekurve die Tropfenzahl 206 nicht genau 60% Tributyrin darstellt. Das bestreite ich nicht, es braucht die Tropfenzahl 206 ja nicht genau 60% Tributyrin zu sein, wenn sie nur einen festen Punkt darstellt, mit dem wir die zu untersuchenden Lösungen vergleichen können.

Gesättigte Tributyrinlösung wird in folgender Weise hergestellt: 500 ccm Aq. dest. + 7 Tropfen Tributyrin werden 20 Min. lange geschüttelt und nachher 16 Std. ruhig stehen gelassen. Sodann wird das Gemisch filtriert durch einen feuchten Filter (die ersten Teile verwerfen!) und in einem Scheidetrichter gebracht. Nach 1 Std. konnte dann die untere Flüssigkeit verwendet werden. Diese Flüssigkeit ist sehr labil; sie hält sich nur 24 Std. (siehe auch RONA [97]).

Das reine Tributyrin des Handels ist auch ziemlich labil. Es treten bald durch Spaltung Fettsäuren auf. Das Tributyrin ist rein, wenn eine in Wasser gesättigte Lösung die gleiche Tropfenzahl gibt, wie eine in schwacher Pufferlösung gesättigte.

Es wurde gearbeitet bei einem  $p_H = 7,17$ , also nicht beim  $p_H$  des Kropfsaftes, welche bei 5,5—6 liegt.

Das Puffergemisch wurde folgendermaßen angefertigt. Von einer Mischung von 7 ccm  $\frac{M}{15}$   $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (= 11,876 g pro Liter Aq. dest.) + 3 ccm  $\frac{M}{10}$   $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (= 9,078 g pro Liter Aq. dest.) wurde, wie obengesagt, jedem 25 ccm Substrat 1 ccm beigegeben. Weil hier sehr geringe Tributyrinmengen gespalten werden und also sehr wenig Säure entsteht, sichert diese Menge Puffermischung ein konstantes  $p_H$ .

Der Stalagmometer wurde öfters durch Bestimmungen an Aq. dest. auf seine Zuverlässigkeit geprüft.

Weiteres betreffend Methodik und Technik siehe KRIJGSMAN (59 a).

#### bb) Orientierende Versuche.

Zuerst wurde eine Anzahl vollkommen gleichwertiger Experimente mit dem Extrakte aus einer einzigen Drüse angestellt, damit ich die Exaktheit meiner stalagmometrischen Methode prüfen konnte. Der Versuch war folgender: 25 ccm gesättigte Tributyrinlösung + 1 ccm Puffer +  $\frac{1}{4}$  ccm Drüsenextrakt. Die gespaltete Tributyrinmenge nach einer Stunde war in fünf Parallelversuchen: 17%, 15  $\frac{1}{2}$ %, 16%, 15% und 16%. Wir sehen also, daß die Schwankung nicht mehr als 2% beträgt, die Methode ist also wohl zuverlässiger als die titrimetrische Methode.

Zweitens wurden Versuche angestellt mit verschiedenen Konzentrationen der Lipase. Zu Versuchsflaschen, in denen das obengenannte Substrat sich befand, wurde gefügt:  $\frac{1}{16}$  ccm,  $\frac{1}{8}$  ccm,  $\frac{1}{4}$  ccm,  $\frac{1}{2}$  ccm

und 1 ccm desselben Drüsenextraktes. Abb. 38 zeigt die Resultate: Horizontal sind abgetragen die Versuchsstunden, vertikal die Prozentzahl der gespaltenen Tributyrinmengen.

Der Kontrollversuch mit gekochtem Enzym zeigt keine Spaltung.  $\frac{1}{16}$  ccm Extrakt gibt innerhalb 3 Std. eine absolut geradlinige Spaltung, ebenso  $\frac{1}{8}$  ccm Extrakt.  $\frac{1}{4}$  ccm,  $\frac{1}{2}$  ccm und 1 ccm zeigen nach einiger Zeit eine Verzögerung, was wohl auf die Anhäufung der Spaltungsprodukte zurückgeführt werden kann. Wir sehen wie  $\frac{1}{4}$  ccm Extrakt bis zu 2 Std. noch geradlinig spaltet. Man erhält also bei den vergleichenden Versuchen mit  $\frac{1}{4}$  ccm Drüsenextrakt bei einstündiger Versuchsdauer zuverlässige Resultate.

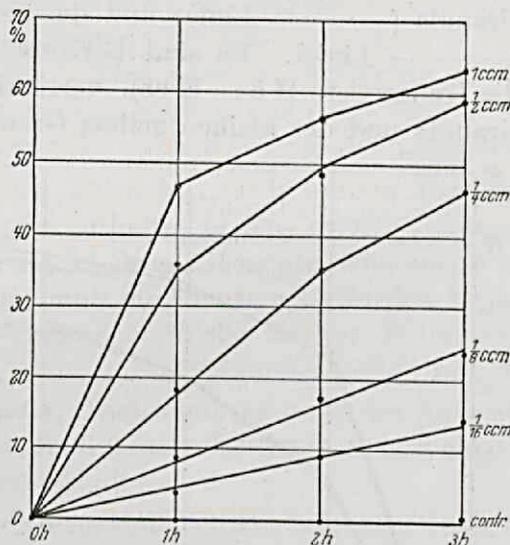


Abb. 38. Spaltung von Tributyrin durch verschiedene Lipasekonzentrationen. Horizontal die Versuchsstunden, vertikal die gespaltene Menge in %. Erklärung im Text.

- a) 25 ccm ges. Tributyrinlösung + 1 ccm Puffer +  $\frac{1}{4}$  ccm 12%  $MgCl_2$  + Enzym.  
 b) 25 ccm „ „ + 1 ccm „ +  $\frac{1}{4}$  ccm Aq. dest. + „  
 c) 25 ccm „ „ + 1 ccm „ +  $\frac{1}{4}$  ccm 12%  $MgCl_2$  + gekochtem Enzym.

Abb. 39 gibt die Resultate zweier solcher Versuche.

Der Kontrollversuch ist vollständig negativ. Die ——— Linien zeigen die Spaltung ohne Magnesiumchlorid im Substrat, die zugehörigen — — — Linien die Spaltung mit Magnesiumchlorid im Substrat. Es sind hier zwei Versuche abgebildet: mit Extrakt aus 50 mg und aus 200 mg Drüsenpulver.

Wir sehen, wie nicht die geringste Spur einer Aktivierung durch das Magnesiumchlorid in der verwendeten Konzentration bemerkbar ist. Die — — — Kurven und die ——— Kurven sind in jedem Versuch identisch, die Abweichungen liegen innerhalb der Fehlergrenze.

Leider hatte ich bis jetzt keine Zeit, die Lipase als solche weiter zu untersuchen, ich mußte mich beschränken auf die für die vergleichenden Untersuchungen unbedingt notwendigen Prüfungen. Es ist aber diese Lipase ein sehr schönes Objekt für weitere physiologisch-chemische Untersuchungen.

## cc) Die Stufenuntersuchungen.

Die Resultate meiner Stufenuntersuchungen der T.T.-Serie<sup>1</sup> habe ich in einer Kurve dargestellt, welche in der Tafel I zu sehen ist. Ich habe in dieser Tafel wiedergegeben erstens die Lipasestärke (— Linie), zweitens noch einmal die Anzahl der kleinen gelben Granula (— — — Linie), die Anzahl der großen Granula (. . . . Linie), die Anzahl der „grünen“ Granula (— · — · — Linie) und die Anzahl der sezernierenden Follikel (— — — Linie). Es sind horizontal die Stufen abgetragen (zuerst die Hungertiere H 5a—H 6e), vertikal erstens die Anzahl der „grünen“ Granula und der kleinen gelben Granula (0—10), zweitens die Anzahl

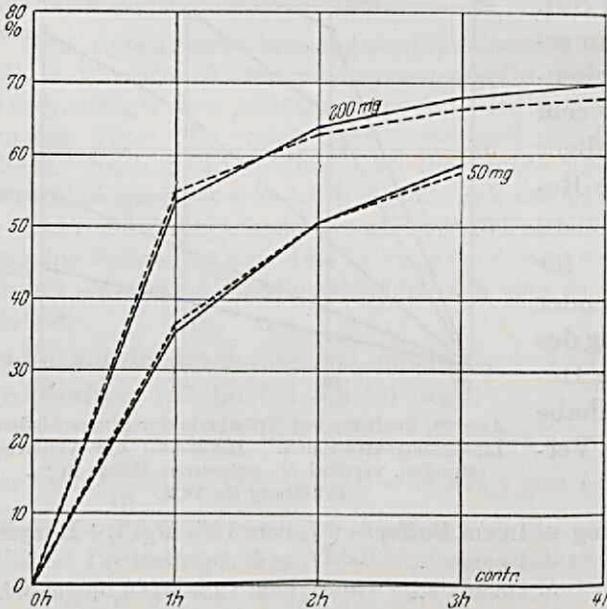


Abb. 39. Die Wirkung des Magnesiumchlorids auf die Tributyrinspaltung durch Lipase bei verschiedener Enzymkonzentration. Bezeichnungen wie in der Abb. 38. Erklärung im Text. — — — = mit Magnesiumchlorid. — — — = ohne Magnesiumchlorid.

Nicht an die kleinen gelben Granula (— — — Linie); diese haben jedesmal ein Maximum, welches vor dem Lipasemaximum liegt (Maxima der — — — Linie bei  $\frac{1}{2}$  Std., bei 3 Std., bei 5— $5\frac{1}{2}$  Std. und bei  $8\frac{1}{2}$  bis 9 Std.) Auch ist sie nicht gebunden an die großen gelben Granula (. . . . Linie), denn die Schwankungen dieser Kurve sind sehr unregelmäßig; es läßt sich nirgends ein eigentliches Maximum herausfinden.

Es trifft nun aber jedes Lipasemaximum zusammen mit einem Maxi-

<sup>1</sup> Die K.B.N.-Serie gab ähnliche Resultate; ich behandle sie hier nicht.

<sup>2</sup> Ich darf an dieser Stelle vielleicht auf die Versuche von Frl. HOEK im Laboratorium von Herrn Prof. JORDAN (unveröffentlicht) hinweisen, die bei gleicher Versuchsanordnung ähnliche Resultate erzielte mit Hilfe einer titrimetrischen Methode.

Prozente (0%—50%) der sezernierenden Follikel und die durch die Lipase gespaltene Tributyrinmenge.

Fassen wir zuerst die Lipasekurve ins Auge (— Linie). Diese Kurve zeigt sehr deutliche Maxima bei H 5c, bei H 6d, bei 1 Std. bis  $1\frac{1}{2}$  Std., bei 4 Std., bei 6— $7\frac{1}{2}$  Std. und bei  $9\frac{1}{2}$  Std. Diese Schwankungen zeigen uns, daß der Gehalt an aktiver Lipase in der Mitteldarmdrüse stark variieren kann<sup>2</sup>.

An welcher Morphe ist nun diese aktive Lipase in der Zelle gebunden?

zum der „grünen“ Granula (Maxima der —·—·— Linie bei H 5c, bei H 6d, bei 1 Std., bei  $3\frac{1}{2}$ —4 Std., bei 6— $7\frac{1}{2}$  Std. und bei  $9\frac{1}{2}$  Std.). Es muß also die aktive Lipase wohl an die „grünen“ Granula gebunden sein.

Da wir oben sahen, daß die „grünen“ Granula rhythmisch ausgeschieden werden und hier in der Tafel wieder deutlich hervortritt, wie auch bei jedem Lipasemaximum die Drüse sich im Stadium der Ausscheidung befindet (die ——— Linie der sezernierenden Follikel)<sup>1</sup>, so ist es klar, daß die *Lipase*, gebunden an die grünen Granula, *periodisch in den Darm ausgeschieden wird*. Dies stimmt auch überein mit dem jedesmaligen jähen Abfall der Lipasestärke nach der Ausscheidungsphase.

Es lassen sich den gefundenen Tatsachen noch weitere Resultate entnehmen: Es ist die aktive Lipase enthalten in den „grünen“ Granula. Die „grünen“ Granula aber sind, wie ich Seite 238 zeigte, entstanden aus den kleinen gelben Granula. Also muß die Lipase auch in den kleinen gelben Granula anwesend sein, aber nicht in der aktiven Form, denn sonst müßten die Maxima der Lipasestärke zusammentreffen mit den Maxima der kleinen gelben Granula. Dies letzte ist nicht der Fall, also ist in den kleinen gelben Granula die Lipase enthalten in einer inaktiven Form, als Proferment oder etwas Ähnliches.

Eigentümlich ist nun die Tatsache, daß bei der Sekretion auch die kleinen gelben Granula, also die inaktive Lipase, mit ausgeworfen werden. Es besteht natürlich die Möglichkeit, daß dieses Proferment dann im Kropfsafte aktiviert wird.

Zum Schluß möchte ich darauf hinweisen, daß nach der Fütterung die „grünen“ Granula im allgemeinen zahlreicher sind als während des Hungerns. Dies bedeutet also, daß während der Verdauung die Drüse eine größere Menge aktiven Fermentes liefert als während des Hungerns. Dies ist eigentlich das einzige Anzeichen der Aktivierung der Mitteldarmdrüsenzelle, die sich meinen Versuchen mit Bestimmtheit entnehmen läßt.

Die Untersuchungen über die Lipase haben uns Folgendes deutlich gemacht: Die Lipase aus der Mitteldarmdrüse von *Helix* ist ein Ferment, welches Tributyrin kräftig spaltet. In den ersten Stunden, bei nicht zu großer Enzymkonzentration, besteht eine direkte Proportionalität zwischen Spaltungszeit und gespalteter Quantität.

Es läßt sich die Helixlipase durch Magnesiumchlorid in der verwendeten Konzentration nicht aktivieren.

<sup>1</sup> H 6d stellt wohl den Zustand einen Augenblick vor der Sekretion dar. „Grüne“ Granula und also aktive Lipase sind schon in großer Menge da, eine Sekretionssteigerung läßt sich aber noch nicht nachweisen.

Die Drüsenzellen enthalten die Lipase in den kleinen gelben Granula als Proferment; kurz vor der Ausscheidung wird dieses zum aktiven Enzym umgebildet; es läßt sich dieses histologisch nachweisen durch Auftreten von „grünen“ Granula. Es existiert hier also ein mikroskopisch wahrnehmbarer Unterschied zwischen Proferment- und Fermentgranula.

Während des Hungerns findet, wie während und nach der Fütterung, eine rhythmische Ausscheidung von Lipase statt.

Das histologische Bild deckt sich vollkommen mit dem Bilde der Lipasestärke.

#### Subkap. 5. Wieviele und welche Zellarten gibt es im Epithel der Mitteldarmdrüse?

Während der Sekretion besteht das Epithel der Mitteldarmdrüse (abgesehen von den Kalkzellen) für z. B. 80% aus sezernierenden Zellen. Während der Resorption zeigt das Epithel z. B. fast 100% resorbierende Zellen. Es ist also klar, daß eine Trennung in „Resorptions“- und „Sekretions“-zellen nicht existiert, die Gesamtzahl der Zellen ist ja 100%, nicht etwa 180%.

Die Antwort auf die über diesem Abschnitt gestellten Frage kann also kurz sein: Es gibt *im Mitteldarmdrüsenepithel nur zweierlei Zellarten*: Die Kalkzellen und die Fermentzellen. Beide Zellarten sind Drüsenzellen, sie sezernieren ihre Produkte periodisch in den Darm: die Kalkzellen ihre Trikalziumphosphatkörner, die Fermentzellen ihre Fermente.

Die Fermentzellen zeigen auch keinen physiologischen Unterschied in Resorptions- und Sekretionsstadien, alle Zellen in allen Stadien haben mit der Sekretbereitung zu tun, alle Zellen in allen Stadien lassen ohne morphologischen Unterschied Farbstoffe in sich hineintreten und verarbeiten diese in gleicher Weise.

Die Bedeutung der *großen Granula* ist mir völlig unklar. Sie können in allen Fermentzellen in allen Stadien vorkommen, sie werden gelegentlich ausgeschieden. Vielleicht liefern sie auch Fermente, vielleicht sind es Eiweißgranula, von denen der Kropfsaft seine Eiweiße erhält. Für die letzte Auffassung spricht vielleicht die Tatsache, daß ich manchmal ausgeschiedene große Granula in den Follikellumina beobachtete, welche anfangen, sich zum selben netzförmigen Gerinnsel umzubilden, welches von den durch die Fixation niedergeschlagenen Saftweißen gebildet wird.

Es ist also bei *Helix* festgestellt worden, daß das Mitteldarmdrüsenepithel, wie auch bei manchen anderen Molusken schon festgestellt war, außer den Kalkzellen nur eine einzige Zellart enthält. Diese Zellart hat eine sekretive und eine „resorptive“ Funktion. Es ist natürlich nicht auszuschließen, daß diese Zellen auch gelegentlich exzernieren, sie werden bei der Sekretion wohl manche Stoffe, welche „zufällig“ mit hinein-

geraten sind, mit hinauswerfen. Wie z. B. das Trypanblau, welches vom Lumen her hereinkam, so werden auch vom Blute aus aufgenommene Stoffe zusammen mit den Fermenten „zufällig“ exzerniert werden können.

Ich möchte in diesem Zusammenhang noch hinweisen auf die älteren Untersuchungen von CUÉNOT (16). Daß in die Leibeshöhle eingebrachte Fremdstoffe in den Zellen des Mitteldarmdrüsenepithels konzentriert und ausgeschieden werden können, beweist, nach dem was wir heutzutage von den Zellprozessen wissen und nach dem was ich oben sagte, gar keine spezifisch exkretive Funktion dieser Zellen (H. J. JORDAN hat früher schon ausdrücklich darauf hingewiesen). Es ist klar, daß Zellen, welche zum Zwecke der Fermentbildung Konzentrations- (Speicherungs-) und Sekretionskapazität besitzen, alle Stoffe, welche zufällig hingeraten sind und denselben Reiz auf das Plasma ausüben, mitkonzentrieren und mit auswerfen.

PECZENIK (86) sagte, es wären die Epithelzellen der Mitteldarmdrüse von *Limnaea* nur Resorptionszellen. Ich will nun nicht davon reden, daß seine Experimente über Phagozytose nach dem was ich S. 252 besprochen habe, nicht beweisend sind. Ich will nur darauf hinweisen, daß seine Auffassung über die Funktion der Drüsenzellen nicht richtig sein kann. Die Epithelzellen der Mitteldarmdrüse sollen nach ihm Resorptions- und keine Fermentzellen sein, weil beim Hungertiere keine Einschlüsse (Granula) darin vorkommen sollten, die Einschlüsse wären immer aufgenommene Futterteile. Das stimmt nicht; ich habe bei *Limnaea*, welche ich zu anderen Zwecken oft untersuchte, viele Male die typischen gelben Sekretgranula während des Hungerns beobachtet.

Zweitens sagt er, die Granula wären Futterballen und keine Sekretgranula, weil nach Tuschepermeation die Furche in den Einschlüssen zu finden ist. Dies beweist aber auch nichts, denn ich sagte oben (S. 251) und andere Untersucher sagten es vor mir (G. C. HIRSCH usw.), daß die aufgenommenen Stoffe sehr gut in die Sekrete mitkonzentriert werden können. Wir sehen hier wieder, wie eine Untersuchung „im alten Stile“ wenig positive Resultate liefern kann.

#### Subkap. 6. Kurze Übersicht der bei der Mitteldarmdrüse erhaltenen Resultate.

Es stellt die Mitteldarmdrüse von *Helix* ein Organ dar, welches in verschiedenen Hinsichten eine große Aufgabe hat. Sie ist das Organ aus dem die Fermente zum Darne hin abgeschieden werden; sie ist auch das Organ, welches die verdauten Stoffe in starkem Maße in sich hineindiffundieren läßt.

In welcher Weise erfüllt nun die Mitteldarmdrüse diese Aufgabe? Sie besteht aus Drüsenzellen, welche rhythmisch arbeiten, ihre sekretive Arbeit also in verschiedenen Phasen erledigen. Es nimmt also die Zelle basal Rohstoffe auf, bildet diese um zu Profermenten (die kleinen gelben Granula), diese werden in räumlicher und zeitlicher Trennung innerhalb der Zellen zu endgültigen Sekreten umgearbeitet, sodann ausgestoßen. Die Zellen arbeiten während des Hungerns wie während der Fütterung; sie arbeiten auch immer synchron. Durch diese Zusammenarbeit entsteht die rhythmische Sekretion der Drüse als Ganzes. Es findet also während der Fütterung und während des Hungerns eine rhythmische Sekretab-

gabe statt. Was diese Ausscheidung beim Hungertiere zu bedeuten hat, weiß ich nicht.

Die Hauptreaktion auf den Fütterungsreiz besteht bei der Vorderdarm- und Mitteldarmdrüse in einer Beschleunigung der Zellarbeit. Bei der *Vorderdarmdrüse* hatte diese Beschleunigung den eigentümlichen Erfolg, daß ein Teil der Arbeitsbahn überschlagen wird, so daß aus einer vollkommen chaotisch-kontinuierlichen Sekretion eine rhythmische Sekretion entsteht. Es war dies gut, am Objekte zu verfolgen.

Bei der *Mitteldarmdrüse* dagegen besteht auch schon während des Hungerns eine rhythmische Sekretion; der Fütterungsreiz kann höchstens noch den schon bestehenden Rhythmus beschleunigen. Dies aber ist an den Stufen nicht zu verfolgen, denn wir wissen nicht, in welchem Tempo der Rhythmus bei der Hungerdrüse vor sich geht. Das könnte man nur untersuchen an einem und demselben Tiere; die Stufenmethodik versagt hier. Daß aber die Zellarbeit während der Aktivierung intensiver vor sich geht, das geht wohl aus der größeren Menge „grüner“ Granula hervor. Die „grünen“ Granula aber stammen letzten Endes aus den aufgenommenen Rohstoffen; es müssen also mehr Rohstoffe aufgenommen worden sein, d. h. die Permeabilität der Zellmembran hat sich erhöht. (Ich greife wohl nicht fehl, wenn ich auch eine erhöhte Flüssigkeitsaufnahme der Drüse als Faktor mit in Betracht ziehe.) Wie bei der Vorderdarmdrüse können wir also auch hier die Folge der Aktivierung auf eine erhöhte Permeabilität der Zellmembran zurückführen. Diese Permeabilitätserhöhung muß eine Beschleunigung der Zellprozesse mit sich bringen.

Was ist nun die Reizquelle bei der Mitteldarmdrüse? Bei der Vorderdarmdrüse konnte ich sie zurückbringen auf Geruch, Geschmack oder Radulabewegung, bei der Mitteldarmdrüse geht dies nicht, der Aktivierungszustand bleibt sicherlich bis 12 Std. nach der Fütterung erhalten. Der einzige in Betracht kommende Faktor ist also der Inhalt des Kropfes. Ob dieser direkt chemisch von den Lumina der Drüsenfollikel aus auf die Zellen einwirkt, oder auf einem anderen komplizierteren Wege, weiß ich nicht und will darüber nicht spekulieren<sup>1</sup>.

Was die *resorptive Funktion* der Mitteldarmdrüse anbelangt, so ist es sicherlich richtig, daß die Drüse sich reichlich mit hineinpermeierenden Stoffen durchtränkt, welche vom Blute abgeführt werden können. Inwieweit bei der Permeation die Zellen osmotische, resorptive Arbeit verrichten, weiß ich nicht. Es wird sicherlich auch bei nicht aktiver Aufnahme die Mitteldarmdrüse bei *Helix* als Ausbreitung der Darmoberfläche Bedeutung haben für die Abfuhr von verdauten Stoffen zum

<sup>1</sup> Die maximale Aktivierung ist also nicht gebunden an die Fütterungsdauer, sondern an die Verdauungsdauer. Die Möglichkeit, daß der Reiz hier an den Fütterungsanfang gebunden ist, scheint wenig wahrscheinlich.

Blute hin. Überdies existiert hier noch ein längerer Darmteil, durch den die Stoffe ins Blut geraten können, sei es auch nur durch Diffusion (H. J. JORDAN und H. BEGEMANN [48]). Die Verhältnisse liegen hier anders als z. B. bei *Astacus*. Da stellt die Mitteldarmdrüse eigentlich den einzigen Darmteil dar, durch die die verdauten Stoffe ins Blut eintreten können (H. J. JORDAN, der Enddarm ist semipermeabel), die Substanzen, welche an der Mitteldarmdrüse vorbeigegangen sind, sind also für das Tier verloren. Eine kräftige resorptive Funktion dieser Drüse bei *Astacus* ist also von grundsätzlicher Bedeutung.

Phagocytose wurde bei *Helix* nicht beobachtet. Wenn nun hier wirklich keine Phagocytose stattfände, woher bekommt dann das Tier seinen Stickstoff? Im Darne findet keine Eiweißspaltung statt. Vielleicht aber werden nur flüssige Stickstoffverbindungen aufgenommen und intrazellulär verarbeitet. (Die Anwesenheit einer intrazellulären Protease in der Mitteldarmdrüse ist sicher, H. J. JORDAN [47]) oder die Proteasen werden nur lokal abgeschieden nach Kontakt mit Eiweißstoffen. Das werden künftige Untersuchungen lehren müssen.

### Kap. VI. Zusammenfassung.

(Siehe auch I. Teil, S. 293.)

#### Allgemeines.

1. Die Stufenzählmethodik ist die einzige Methodik, welche uns eine Einsicht bringen kann in die Zelldynamik bei verwickelten Prozessen, wo diese nicht am lebenden Tiere verfolgt werden können.

2. Diffusion, Resorption und Phagocytose werden kurz vom allgemeinen Standpunkte aus besprochen.

3. *Experimente mit Karmin- oder Tuschesuspensionen beweisen keine Phagocytose*; zur Feststellung der Phagocytose kann man zur Zeit nur experimentieren mit Teilchen  $>0,1 \mu$ .

4. *Mit Hilfe eines neuen Stalagmometermodells lassen sich sehr exakte vergleichende Lipasebestimmungen anstellen.*

#### Die Vorderdarmdrüse.

1. *Die Zelle der Vorderdarmdrüse arbeitet immer rhythmisch.*

2. Es wird die im 1. Teile entdeckte Arbeitsbahn dieser Zelle erweitert.

3. Es findet bei *Helix* keine Trennung in einen mukösen und serösen Zyklus statt; beide Prozesse sind in derselben Zelle vertreten.

4. Die Arbeit der Vorderdarmdrüsenzelle wird während der Fütterung dermaßen beschleunigt, daß eine verkürzte Arbeitsbahn auftritt.

5. Dadurch wird die während des Hungerns chaotisch-kontinuierliche Sekretion der Drüse in eine periodische Sekretion umgestaltet.

6. *Nach der Aktivierung kehrt die Zelle erst allmählich, mit Hilfe von temporären Arbeitsbahnen, wieder zum Hungerzustand zurück.*

7. Dieser allmähliche Rückgang der Zellen verursacht den vollständigen Abfall des Drüsenrhythmus, so daß in wenigen Stunden wieder der chaotische Sekretionszustand erreicht ist.

8. Der Aktivierungsreiz ist streng gebunden an die Fütterungsdauer und kann zurückgeführt werden auf Geruch, Geschmack oder Radulabewegung.

9. Die Reizeffekte werden zurückgeführt auf erhöhte Flüssigkeitsaufnahme der Vorderdarmdrüse und erhöhte Permeabilität der Membranen ihrer Zellen.

#### Die Mitteldarmdrüse.

1. Es gibt im Mitteldarmdrüsenepithel nur zweierlei Zellarten: Fermentzellen und Kalkzellen.

2. Die Fermentzelle der Mitteldarmdrüse arbeitet immer rhythmisch.

3. Es wird für diese Zelle eine Arbeitsbahn aufgestellt, welche sich über vier Stadien erstreckt.

4. Die Fermentzellen arbeiten immer zusammen; die Drüse sezerniert also immer rhythmisch.

5. Es wird durch die Fütterung der bestehende Rhythmus höchstens beschleunigt.

6. Die Reizeffekte sind wahrscheinlich dieselben wie bei der Vorderdarmdrüse: Erhöhte Flüssigkeitsaufnahme und erhöhte Permeabilität der Zellwände.

7. Den Ursprung des Reizes muß man wohl suchen in dem Inhalt des Kropfsaftes; er ist nämlich nicht an die Fütterungsdauer gebunden.

8. Es sind alle Fermentzellen in allen Stadien gleich permeabel für saure Farbstoffe.

9. Phagozytose wurde von mir in der Mitteldarmdrüse nicht beobachtet.

10. Im Helixkropfsafte läßt sich Phosphat nachweisen.

11. Die Kalkzellen sezernieren während des Hungerns und während der Fütterung rhythmisch ihre Trikalziumphosphatkörner zum Darne hin; dies hat sehr wahrscheinlich Bedeutung für die Regulierung des  $p_{\text{H}}$  des Kropfsaftes.

12. Die „grünen“ Granula, welche apikal in den Fermentzellen temporär auftreten, enthalten aktive Lipase.

13. Diese Granula sind entstanden aus den kleinen gelben Granula; diese wiederum müssen also eine Vorstufe der Lipase enthalten.

14. Die Lipase aus der Mitteldarmdrüse von Helix spaltet Tributyrin in den ersten Stunden vollkommen gradlinig, es besteht also eine direkte Proportionalität zwischen Spaltungszeit und gespalteter Quantität. Die Lipase läßt sich nicht durch Magnesiumchlorid (in der von mir verwendeten Konzentration) aktivieren.

## Schriftenverzeichnis.

(Siehe auch Teil I.)

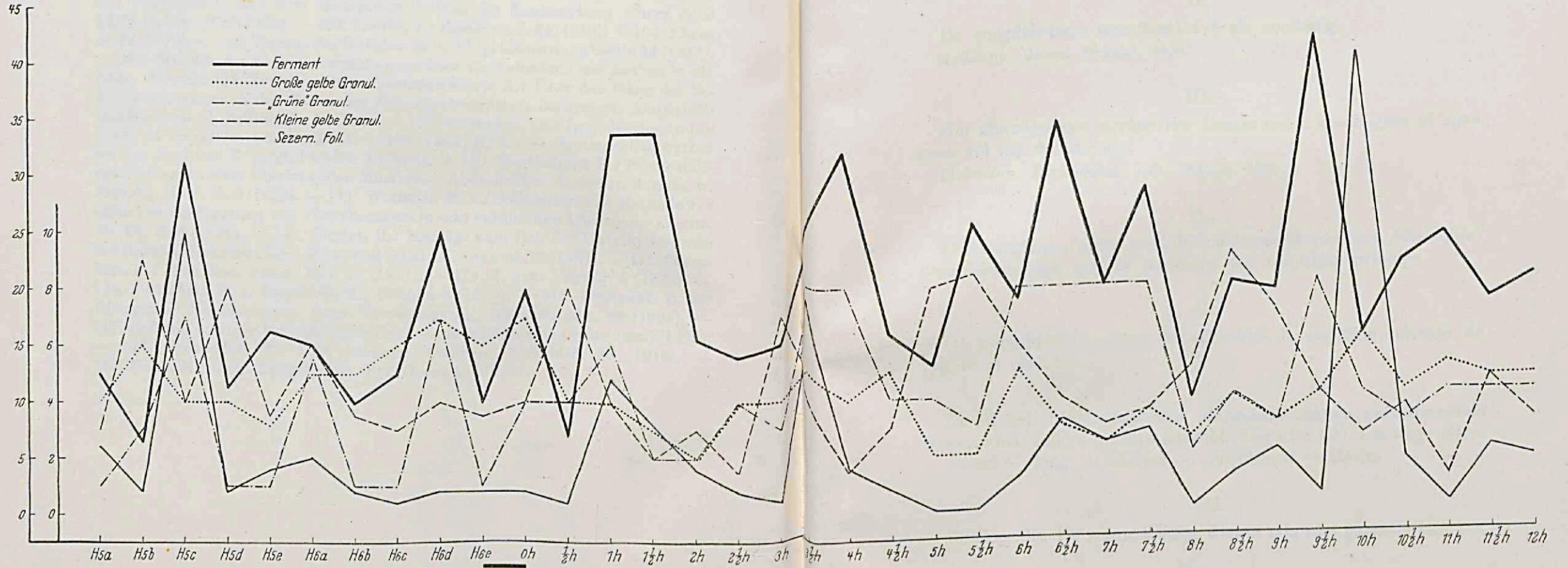
1. Bayliss, W. M.: Grundriß d. allg. Physiol. Berlin: Deutsch (1926). —
2. Bethe, A.: Wien. med. Wschr. Nr 14 (1916). — 3. Kolloid-Z. 27 (1920). —
4. Der Einfluß der H-ionenkonzentration auf die Permeabilität toter Membranen, auf die Adsorption der Eiweißsolen und auf den Stoffaustausch der Zellen und Gewebe. Biochem. Z. 127 (1922). — 5. Biedermann, W.: Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung. I. Die Verdauung der Larve von *Tenebrio molitor*. Pflügers Arch. 72 (1898). — 6. Biedermann, W. u. Moritz: Die Aufnahme, Verarbeitung und Assimilation der Nahrung. Wintersteins Hdb. d. vergl. Physiol. 2, 1 (1911). — 7. Bowen, R. H.: Studies on the Golgi-Apparatus in gland-cells. I. Glands associated with the alimentary Tract. Quart. J. microsc. Sci. 70 (1926). — 8. Brandi, B.: Autolyse und Vitalfarbstoffe. Bruns' Beitr. 135, H. 4 (1926). — 9. Brodie u. Vogt: J. of Physiol. 40, 135 (1910). — 10. Brooks, Math, M.: Studies on the permeability of living cells. VII. The effects of light of different wave lengths on the penetration of 2-, 6-, dibromophenol indophenol into Valonia. Protoplasma 1, 305. (1926). — 11. The permeability of protoplasma to ions. Amer. J. Physiol. 76 (1926). — 12. Studies of the permeability on living cells. VIII. The effect of chlorides upon the penetration of Dahlia into *Nitella*. Protoplasma 2 (1927). — 13. Chambers, R. u. Pollack, H.: Micrurgical studies in cell physiology. IV. Colorimetric determination of the nuclear and cytoplasmic  $p_H$  in the starfish egg. J. of gen. Physiol. 10, 739 (1927). — 14. Chapman, L. M., Greenberg, D. M. a. Schmidt, C. L. A.: Studies on the nature of the combination between certain acid dyes and proteins. J. of biol. Chem. 72, 707 bis 729 (1927). — 15. Chlopin, N. G.: Experimentelle Untersuchungen über die sekretorischen Prozesse im Cytoplasma. I. Über die Reaktion der Gewebelemente auf intravitale Neutralrotfärbung. Arch. exper. Zellforschg 4, H. 4, 462 bis 599 (1927). — 16. Cuénot: Arch. Zool. expér. (3) 7, 25 (1899). — 17. Duval, M. et Fischer, P. H.: Propriétés physico-chimiques du liquide gastrique d'*Helix pomatia*. C. r. Soc. Biol. 96 (1927). — 18. Exner, Sigm.: Bemerkungen zur vorstehenden Abhandlung von Dr. L. Hofbauer „Über die Resorption künstlich gefärbter Fette“. Pflügers Arch. 84 (1901). — 19. Fedele, M.: Sulle strutture e funzioni dei ciechi epatopancreatici nei molluschi opistobranchi. Boll. Soc. Biol. sper. 1, Nr 4, 484—488 (1926). — 20. Fischer, E.: Sur l'absorption digestive chez les crustacés décapodes: Les pigments carotinoides. C. r. Soc. Biol. 95, Nr 25, 438 (1926). — 21. Frankenberger, Z.: Sur le cycle sécrétoire des cellules granuleuses (cellules à ferment) dans les glandes salivaires des gastéropodes pulmonés. Arch. d'Anat. microsc. 19 (1923). — 22. Garmus, A.: Z. Biol. 58, 185 (1912). — 23. Gellhorn, E.: Ionenwirkung und Zelldurchlässigkeit. Prinzipielles zum Permeabilitätsproblem auf Grund vergleichend-physiologischer Untersuchungen. Protoplasma (Berlin) 1 (1927). — 24. Studien zur vergleichenden Physiologie der Permeabilität I, II u. III. Mitt. Pflügers Arch. 216 (1927). — 25. Gieklhorn, J.: Über vitale Kern- und Plasmafärbung an Pflanzenzellen. Protoplasma (Berlin) 2 (1927). — 26. Gieklhorn, J. u. Keller, R.: Organspezifische Differenzierung des Tierkörpers durch elektive Vitalfärbungen. Biol. generalis (Wien) 2, 537 (1926). — 27. Grafe, V.: Das Lipoidproblem. Naturwiss. 15, 513—521 (1927). — 28. Gurchof, Ch.: Reversible permeability of membranes and its relation to cell metabolism. J physiol Chem. 30 (1926). — 29. Hatt, P.: Le début de l'évolution des Porospora chez les Mollusques. Arch. Zool. expér. 67, Nr 1 (1927). — 30. Heilbrunn, L. V.: The physical structure of the protoplasm of sea-urchin eggs. Amer. Naturalist 60 (1926). — 31. Hirsch, G. Chr.: Die Ernährungsbiologie fleischfressender Gastropoden. I. Zool. Jb. 35 (1915). — 32. Die Ernährungsbiologie fleisch-

- fressender Gastropoden. II. Der Kalk, seine Ablagerungsstätte, seine Morphologie, Bildung und osmotische Lösung. Ebenda 36 (1917). — 33. Der Weg des resorbierten Eisens und des phagocytierten Karmins bei *Murex trunculus*. Z. vergl. Physiol. 2 (1924). — 34. Probleme der intraplasmatischen Verdauung. Ebenda 3 (1925). — 35. Hirsch, G. C. u. Jacobs, W.: Experimentelle Untersuchungen über das Wesen der Fixierung. Z. Zellforschg 3 (1926). — 36. Der Arbeitsrhythmus der Mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*. I. T.: Methodik und Technik. Der Beweis der Periodizität. Z. vergl. Physiol. (1928). — 37. Arbeitsrhythmus usw. II. T.: Wachstum als Ursache des Rhythmus der holokrinen Sekretion. Ebenda (1928). — 38. Hoerber, R.: Physikalische Chemie der Zelle und Gewebe (1924). — 39. Hupert, M.: Beobachtungen an Magen- und Darmkanal des Frosches bei Verfütterung oder Injektion von Farbstoffen. Z. Zellforschg 3, 602 (1926). — 40. Hyman, L. H., Willier, B. H. a. Rifenburgh, S. A.: Physiological studies on planaria. VI. A respiratory and histochemical investigation of the source of the increased metabolism after feeding. J. exper. Zool. 40 (1924). — 41. Irwin, M.: On the nature of the dye penetrating the vacuole of *Valonia* from solutions of methylene blue. J. gen. Physiol. 10 (1927). — 42. Ishikawa, S.: Über die Phagocytose der Epithelien, insbesondere der menschlichen. Acta dermat. (Kioto) 9, H. 6, 541—549 (1927). — 43. Ischimoto, Y.: Über die Rolle der Lipide der Mikroben bei ihrer Phagozytose im Blutkreislaufe der Versuchstiere. Zbl. Bakter. I Orig. 101 (1927). — 44. Janoušek, St.: Lipase bei Weichtieren. Biol. Listy (tschech.) Jg. 11 (1926); Ref. Ber. wiss. Biol. 1, H. 1/2 (1926). — 45. Jordan, H. J.: Zool. Jb., Suppl. 15 (1912). — 46. Jordan, H. J. u. Lam.: Tijdschr. Ned. Dierk. Ver. 281 (1918). — 47. Jordan, H. J.: Phagocytose und Resorption bei *Helix pomatia*. Arch. néerl. Physiol. 2, 4, 471 (1918). — 48. Jordan, H. J. u. Begemann: Zool. Jb. 38 (1921). — 49. Jordan, H. J.: Abderhaldens Hdb. d. biol. Arbeitsmeth. 9, 4 (1922). — 50. Jordan, H. J. u. Hirsch, G. Chr.: Hdb. d. norm. u. pathol. Physiol. 3, 24—101. — 50 a. Jordan, H. J.: Vergl. Physiol. der wirbellosen Tiere. 1 (1913). — 51. Kajan, M.: Zur Kenntnis der Farbstoffresorption durch die Darmschleimhaut. I. Versuche mit Trypanblau Einführung in den Darm bei Mäusen. Z. Zellforschg 5, H. 5, 665—674 (1927). — 52. Karrer, P.: Einführung in die Chemie der polymeren Kohlenhydrate. Leipzig 1925. — 53. Komori, K.: Mikrochemische Untersuchung über die Sekretion der verschiedenen Verdauungsdrüsen, mit besonderer Berücksichtigung der Pepsin-Salzsäuresekretion der Magendrüsen. Sci. Rep. Gov. Inst. inf. Dis. Tokyo 1926. — 54. Krebs, H. A. u. Nachmansohn, D.: Vitalfärbung und Adsorption. Biochem. Z. 186, 478—484 (1927). — 55. Krijgsman, B. J.: Arbeitsrhythmus der Verdauungsdrüsen bei *Helix pomatia*. I. T.: Die natürlichen Bedingungen. Z. vergl. Physiol. 2, H. 3, 264—296. (1925). — 56. Wie werden im Intestinaltraktus des Wirtstieres die Sporozoitien der Coccidien aus ihren Hüllen befreit? Arch. Protistenkunde 56, 116 bis 127 (1926). — 57. De Therapie der Coccidiose. I. T.: De therapie der koinjencoccidiose. Tijdschr. v. Diergeneesk. 53, H. 18—19, 1—23 (1926). — 58. Het opengaan der coccidienocysten in den darm van het zoogdier. Nederl. Tijdschr. Hyg. 1, Nr 3, 180—192 (1926). — 59. Die Therapie der Kokzidiose. Zbl. Bakter. I Orig. 101, 108—126 (1926). — 59 a. Stalagmometrische bepaling van lipasen. Vlaamsch natuurwetensch. Tijdschr. (1928). — 60. Küster, E.: Über vitale Protoplasmafärbung. Z. wiss. Mikrosk. 43, H. 3 (1926). — 61. Lueke, B. a. McCutcheon, M.: The effect of salt concentration of the medium on the rate of osmosis of water through the membrane of living cells. J. gen. Physiol. 10 (1927). — 62. Mac Dougal, D. T. a. Moravek, V.: The activities of a constructed colloidal cell. Protoplasma (Leipzig) 2, H. 2, 161 (1927). — 63. Mathis, J.: Über Sekretionserscheinungen in Gallengängen; zugleich ein Beitrag zur Lehre von

- der apokrinen Sekretionsart. Z. mikrosk.-anat. Forschg. **10**, H. 3/4. (1927). — 64. Meyer, K. H.: Zur Physik und Chemie der Färbvorgänge. Naturwiss. Jg. **15**, H. 5 (1927). — 65. Möllendorff, W. v.: Anat. H. **53** (1915). — 66. Kolloid-Z. **18** (1916). — 67. Über das Eindringen von Neutralsalzen in das Zellinnere. Ebenda **23** (1918). — 68. Zur Morphologie der vitalen Granulafärbung. Arch. mikrosk. Anat. **90**, Abt. 1 (1918). — 69. Die Bedeutung von sauren Kolloiden und Lipoiden für die vitale Farbstoffbindung in den Zellen. Ebenda **90**, Abt. 1 (1918). — 70. Vitale Färbungen an tierischen Zellen. Erg. Physiol **18**, 141—306 (1920). — 71. Erg. Anat. **24** (1922). — 72. Über die Anteilnahme des Darmepithels an der Verarbeitung enteral und parenteral zugeführter saurer Farbstoffe. Münch. med. Wschr. **1924**. — 73. Erg. Anat. **25** (1924). — 74. Beiträge zur Kenntnis der Stoffwanderungen bei wachsenden Organismen. IV. Die Einschaltung des Farbstofftransportes in die Resorption bei Tieren verschiedenen Lebensalters. Z. Zellforschg. **2** (1925). — 75. Mommsen, H.: Über den Einfluß der H-Konzentration auf die Diffusion von Farbstoffen in eine Gelatiningallerte (Ein Beitrag zum Zellpermeabilitätsproblem). Biochem. Z. **168**, H. 1/3, 77 (1926). — 76. Mond, R.: Neuere Untersuchungen über Aufbau und Funktion der Zellmembranen. Dtsch. med. Wschr. **1927**, 283. — 77. Über die elektromotorischen Kräfte der Magenschleimhaut vom Frosch. Pflügers Arch. **215**, 468 (1927). — 78. Nagel, A.: Über die Lebendbeobachtung und Beeinflussung von Vitalfärbungsvorgängen bei der Larve von *Corethra plumicornis*. Z. Zellforschg **6**, H. 1/2, 285—314 (1927). — 79. Nassonow, D.: Die physiologische Bedeutung des Golgi-Apparates im Lichte der Vitalfärbungsmethode. Ebenda **3**, H. 3, 472 (1926). — 80. Nirenstein, E.: Über das Wesen der Vitalfärbung. Pflügers Arch. **179**, 233 (1920). — 81. Okuneff, N.: Studien über parenterale Resorption. IV. Die Beeinflussung der intraperitonealen Resorption von Trypanblau durch einige adsorptionsfähige Substanzen. Biochem. Z. **168**, H. 4/6 (1926). — 82. Parker, F. W.: Soil phosphorus studies. III. Soil Sci. **24**, Nr 2, 129—146 (1927). — 83. Parker, F. W. et Fudge, J. F.: Soil phosphorus studies. I. Ibid. **24**, Nr. 2, 109—117 (1927). — 84. Patrick, D. M.: An experimental study of the cells of the hepatopancreas of ligia. Brit. J. exper. Biol. **4** (1926). — 85. Pauli u. Samec: Biochem. Z. **17**, 235 (1909). — 86. Peezenik, O.: Über intrazelluläre Eiweißverdauung in der Mitteldarmdrüse von *Limnaea*. Z. vergl. Physiol. **2**, H. 3 (1925). — 87. Pfeiffer, H.: Über die Mitwirkung elektrokapillarer Effekte bei der Vitalfärbung pflanzlicher und tierischer Protoplasten. Biol. Zbl. **47** (1927). — 88. Pierre, W. H. u. Parker, F. W.: Soil phosphorus studies. II. Soil Sci. **24**, Nr 2, 119—128 (1927). — 89. Pischinger, A.: Die Lage des isoelektrischen Punktes histologischer Elemente als Ursache ihrer verschiedenen Färbbarkeit. Z. Zellforschg **3**, H. 2, 169—197 (1926). — 90. Diffusibilität und Dispersität von Farbstoffen und ihre Beziehung zur Färbung bei verschiedenen H-ionenkonzentrationen. Ebenda **5** (1927). — 91. Ponder, E.: A contribution to the theory of phagocytosis. J. gen. Physiol. **9**, Nr 6, 827 (1926). — 92. Risse, O.: Über die Durchlässigkeit von Collodium- und Eiweißmembranen für einige Ampholyte. II. Quellungsinflüsse, Versuche an Gelatine- und Stromamembranen. Pflügers Arch. **213**, H. 5/6 (1926). — 93. Rhode, K.: Ebenda **168** (1917); **182** (1920). — 94. Romeis, B.: Taschenbuch der mikroskopischen Technik. 11. Aufl. (1924). — 95. Rona, P. u. Michaelis, L.: Über Ester- und Fettspaltung im Blute und im Serum. Bioch. Z. **31**, 345 (1911). — 26. Rona, P.: Hdb. d. biochem. Arbeitsmethoden 302 (1915). — 97. Praktikum der physiol. Chemie. I. Fermentmethoden. Berlin 1926. — 98. Ruhland, W.: Zur Kritik der Lipoid- und der Ultrafiltertheorie der Plasmahaut nebst Beobachtungen über die Bedeutung der elektrischen Ladung der Kolloide für ihre Vitalaufnahme. Biochem. Z. **54** (1913). — 99. Rumjantzew, A. u. Kedrowsky, B.: Untersuchungen über Vitalfärbung

- einiger Protisten. *Protoplasma* (Leipzig) **1**, 189 (1926). — 100. **Scarth, G. W.:** The influence of external osmotic pressure and of disturbance of the cell surface on the permeability of spirogyra for acid dyes. *Ebenda* **1**, H. 2, 204 (1926). — 101. **Schulemann, W.:** Die vitale Färbung mit sauren Farbstoffen in ihrer Bedeutung für Anatomie, Physiologie, Pathologie und Pharmakologie. *Biochem. Z.* **80** (1917). — 102. **Schumacher, J.:** Zur Chemie der Zellfärbung. VIII. Über den Nachweis der Lipoide in Zelle und Gewebe. (Zugleich ein Beitrag zum Problem der Vitalfärbung und dem chemischen Aufbau der Leukocyten.) *Chem. Zelle* **12**, H. 5, 433—472 (1926). — 103. **Traube, J.:** *Biochem. Z.* **24** (1910). — 104. *Ebenda* **42** (1912). — 105. Theorie des Haftdrucks und Lipoidtheorie. *Ebenda* **54** (1913). — 106. **Tröndle, A.:** Neue Untersuchungen über die Aufnahme von Stoffen in die Zelle. *Ebenda* **112** (1920). — 107. **Tschassownikow, N.:** Über den Gang des Sekretionsprozesses in den Zellen des Magendeckelepithels bei einigen Amphibien und Säugern. *Z. Zellforsch* **5** (1927). — 108. **Vincent, S.:** An Introduction to the study of secretion. London 1924. — 109. **Vonk, H. J.:** VerdauungspHagocytose bei den Austern. *Z. vergl. Physiol.* **1** (1924). — 110. **Wertheimer, E.:** Permeabilitätsstudien an einer überlebenden Membran. *Abderhalden, Fortschr. d. naturw. Forschg, N. F. H.* **2** (1927). — 111. **Wrangell, M. v.:** Colorimetrische Methode zur schnellen Bestimmung von Phosphorsäure in sehr verdünnten Lösungen. *Landw. Jb.* **63**, H. 5 (1926). — 112. **Ziegler, H.:** Beiträge zum Bau der Unterkieferdrüse der Hauswiederkäuer: Rind, Ziege und Schaf. *Z. Anat.* **82**, 73 (1927). — 113. **Chambers, R.:** *Proc. Soc. exper. Biol.* **18** (1921). — 114. *J. gen. Physiol.* **5** (1922). — 115. **Chambers, R. a. Reznikoff, T.:** *Ebenda* **8** (1926). — 116. **Liesegang, R. E.:** *Biologische Kolloidchemie. Wiss. Forschungsber., Naturw. Abt.* **20** (1928). — 117. Beiträge zu einer Kolloidchemie des Lebens (Biologische Diffusionen) (1923). — 118. **Freundlich, H.:** Über abnorme Osmosen. *Kolloid-Z.* **18** (1916). — 119. **Kaho, H.:** *Univ. Dorpat, Inst. Bot. Opera* **18** (1924).





Tafel I. Die Schwankungen der Lipase, der kleinen gelben Granula, der großen Granula, der „grünen“ Granula und der sezern. Foll. vor, während und nach der Fütterung. Horizontal zuerst die Hungertiere H<sub>5a</sub>—H<sub>6e</sub>, weitere Bezeichnungen wie in der Abb. 26 und 29. Lipase = —. Kleine gelbe Gran. = - - - - Große Gran. = ..... „Grüne“ Gran. = - . - . - . Sezern. Foll. = - - - -.

# STELLINGEN

## I.

Het is onmogelijk het bestaan van een plasmamembraan te bestrijden.

## II.

De zoogdierdarm resorbeert vet als zoodanig.

Mellanby. Journ. Physiol. 1926.

## III.

Het chloragogene weefsel der Lumbriciden speelt geen of bijna geen rol bij de excretie.

Liebmann. Zool. Jahrb. Abt. Physiol. 1927.

## IV.

De bewegingen, uitgevoerd door de zweepdraden der „éencellige” organismen, zijn niet te herleiden tot eenzelfde principe.

## V.

De ontwikkelingscyclus der Coccidia is haploide, slechts de zygote is diploide.

## VI.

De in het darmkanaal van idiotherme dieren parasiteerende Nematoden volgen bij hun ontwikkeling niet alle den weg: darm — bloed — long — trachea — oesophagus — darm.

## VII.

De Coccidia der warmbloedige dieren zijn niet gastheerspecifiek.

## VIII.

Bloed is een secreet, geen weefsel.

## IX.

Het is onmogelijk, surra uit te roeien door vernietiging van de broedplaatsen der Tabaniden.

## X.

Indien de parasitologen zich meer op een physiologisch standpunt stelden, dan tot nu toe dikwijls het geval is, zou dat de parasitologie zeker zeer ten goede komen.









