

Aus der Abteilung der Parasitologie. Institut für Mikrobiologie und Epidemiologie
der Allukrainischen Akademie der Wissenschaften.

Über Kernveränderungen bei *Euglena gracilis* (EHRBG.) bei chronischer Arsenvergiftung.

Von

S. B. Rybinsky und L. M. Zrykina.

Die Frage der Wirkung giftiger Stoffe auf das Protoplasma ist von hohem theoretischem wie praktischem Interesse, denn man versucht die funktionellen Veränderungen, die bei Vergiftung mit verschiedenen Giften beobachtet werden, durch morphologische Veränderungen in den Organen, die dabei gefunden werden, zu erklären.

Die Mehrzahl der Autoren arbeiteten mit Wirbeltieren, bei denen die Korrelationsverhältnisse zwischen Organen und die Veränderung der Struktur des Giftstoffes bei der Zirkulation im Blute (selbst bei intravenöser Injektion) die unmittelbare gegenseitige Wirkung zwischen dem lebenden Protoplasma und dem Giftstoffe bedeutend verdunkeln. Selbstverständlich sind von besonderem Interesse diejenigen Gifte, die man gewöhnlich zu den protoplasmatischen Giften zählt, d. h. zu denjenigen Giften, die unmittelbar auf die Zelle wirken. Sie verursachen scharfe degenerative Veränderungen in den parenchymatösen Organen der Tiere. Zu solchen Giften kann man die Arsenpräparate zählen. Allgemein bekannt ist die Theorie von BINTZ, daß in der Zelle selbst das Arsen seine Valenz ändert, d. h. es wird aus dreiatomischen fünfatomisch und ruft die Intoxikation der Zelle hervor. In letzter Zeit vertritt auch JOLLOS (1921) auf Grund seiner Experimente mit Paramaecien dieselbe Meinung, obgleich es unmöglich ist, solche Schlüsse unmittelbar aus seinen Experimenten zu machen wegen des Vorhandenseins von Bakterien in den Paramaecienkulturen, die auch die Intoxikation der Zelle

verursachen können (EPSTEIN, 1931; HARNISCH, 1927), oder der Möglichkeit der Veränderung der Atomität des Arsens in Mischungen mit organischen Stoffen ohne irgendwelche Wirkung von Bakterien.

Die Experimente mit Protozoen schon von BINTZ her zogen die Aufmerksamkeit der Toxikologen auf sich, weil es bei ihnen möglich ist, die Wirkung des Giftes auf das Protoplasma zu studieren, die verwickelten Verhältnisse zwischen den Geweben der vielzelligen Organismen unbeachtet lassend. Solche Forschungen haben auch kolossale Bedeutung für das Problem der Chemotherapie. Aber auch bei den Arbeiten mit Protozoen müssen wir die Anwesenheit anderer Mikroorganismen, insbesondere Bakterien, im Auge behalten, da in solchen Fällen es unmöglich sein wird, welche Veränderungen bei Protozoa unmittelbar durch die toxische Wirkung und welche indirekt durch die Wirkung desselben Giftes auf die Bakterien entstanden sind, festzustellen. Eben dadurch ist man gezwungen, zu vielen toxikologischen Schlüssen von JOLLOS (1921) sich mit einiger Vorsicht zu verhalten. Nur bei Arbeit mit Reinkulturen von Protozoen ist es möglich, diesen Fehlern zu entgehen. Während der siebenjährigen Züchtung von *Euglena gracilis* (EHRBG.) auf dem Nährboden von ZUMSTEIN ist es uns gelungen, festzustellen, daß man dieses Protozoon in verhältnismäßig konzentrierten Lösungen von As_2O_3 zu leben gewöhnen kann. So gibt es bei uns einen Stamm von *Euglena gracilis*, der schon fünf Jahre lang in einer Lösung von Arsen $\frac{1}{10\,000}$ lebt, ohne irgendwelche Spur von Degeneration der Kultur zu zeigen. Es ist wahr, daß bei dem Vergleich mit dem Urstamme sein Entwicklungszyklus etwas verlangsamt war.

Beim Studium der Wirkung von verschiedenen Konzentrationen von Arsen auf *Euglena* ist es uns gelungen, bei einem dieser Stämme die Erscheinungen einer langsamen Degeneration desselben innerhalb 1—2 Monate zu erhalten, trotz der häufigen Überimpfungen. Die Konzentration des Arsens in ZUMSTEINS Nährboden war $\frac{1}{5\,000}$. Die Euglenen vermehrten sich immer langsamer und langsamer; der Teilungsprozeß dauerte bei ihnen länger als gewöhnlich, und endlich gingen die Euglenen zugrunde. Das alles wies darauf hin, daß wir es in diesem Falle mit einer chronischen Vergiftung durch Arsen zu tun hatten. Deshalb scheint es uns wahrscheinlich, daß durch die Wirkung von Arsen die Euglenen degenerative Veränderungen ähnlich der Degeneration der Gewebezellen der Tiere zeigen. Wegen der exklusiven Rolle des Kernes im Teilungs- und Stoffwechselprozesse bei den Protozoen (DOFLEIN-REICHENOW, 1928; WENYON, 1926), wie auch in jeder Zelle (WILSON, 1928), hielten wir es für sehr wahr-

scheinlich, daß diese Degenerationsveränderungen vorzüglich den Kern des Protozoons treffen.

Gründliche Forschungen von WERMEL und IGNATJEVA (1932) haben endgültig die Vergrößerung des Kerns der Zellen bei Wirkung von chronischer Vergiftung durch verschiedene Gifte (Iprit, Luisit und so wenig toxischer Stoff wie Trypanblau dazu gerechnet) festgestellt. Zuerst hat MONWARING (1910) auf die Vergrößerung der Kerne bei der Vergiftung aufmerksam gemacht. WERMEL und IGNATJEVA bemerken in ihrer Arbeit auch, daß bei Hämatoxylinfärbung die Kernsubstanz der Leberzellen der vergifteten Tiere sich bedeutend vergrößerte. Mit der Meinung von MITSCHIN (1923) einverstanden, daß die gegenwärtigen üblichen Kernfärbungsmethoden nicht für eine strenge biochemische Analyse angewandt werden können, weil die Farben chemisch verschiedene Stoffe der Zelle färben (z. B. Hämatoxylin färbt Chromatin wie auch Volutin), wählten wir zur Lösung dieses Problems die von FEULGEN vorgeschlagene Nuclealreaktion (1926). Diese so sorgfältig vom chemischen Standpunkte aus ausgeführte Reaktion zeigt eine Verbreitung von Säuren vom Typus der Tymonucleinsäure im Kern an, d. h. eben desselben Stoffes, welcher eine der charakteristischen Komponenten des Kerns ist. Die FEULGEN'sche Reaktion wurde mit Erfolg bei Kernen vieler Protozoa erhalten. Es ist wahr, daß PAWAN (1931) sie nicht bei Malariaplasmodien fand, aber das ergab sich nur als technischer Fehler, wie es JIROVEC und ČERNÝ (1932) zeigten. Durch die Nuclealreaktion von FEULGEN wurde das Vorhandensein der Kernreaktion bei Bakterien festgestellt (WASSILIÈV, 1932).

Die vielzähligen Forschungen von REICHENOW (1928) haben gezeigt, daß mittels der FEULGEN'schen Reaktion man die Verteilung des Chromatins im Organismus eines Protozoons studieren kann, und deswegen kann man diese Reaktion als eine quantitative Reaktion zur Bestimmung des Vorhandenseins des Chromatins in verschiedenen Teilen des Körpers der Protisten rechnen. Der verschiedenen Intensität der funktionellen Wirkung des Kerns entstand nach REICHENOW ein verschiedenes morphologisches Bild der Tymonucleinsäureverteilung.

Unsere Forschungen haben wir mit absoluten Reinkulturen der *Euglena gracilis* auf ZUMSTEIN'schen Nährboden ausgeführt, wobei in einer Serie der Versuche die Kultur auf der Höhe des Wachstums des Stammes in ein neues Reagensglas übertragen wurde, so daß in diesen Serien der Versuche die Ausschöpfung des Nährbodens die Ansammlung giftiger oder jedenfalls keiner indifferenten Produktion

für den Stoffwechsel der Euglenen keinen Einfluß auf die Kernstruktur erzeugen konnten. In anderen Serien der Versuche verfolgten wir die Kernveränderungen bis zum Eintritt von Cystenbildung und einem teilweisen Zugrundegehen der Euglenen, ohne die Kultur in andere Reagensgläser zu übertragen. Die Bestimmung der Quantität der Euglenen im Kubikzentimeter wurde in einer Zählkammer ausgeführt. Der ganze Versuch ging unter sterilen Bedingungen vor sich. Gleichzeitig mit der Kultur von *Euglena gracilis* in einem Nährboden mit 1:5000 Konzentration von As_2O_3 wurden die Protozoen auf normalem ZUMSTEIN-Nährboden gezüchtet. Es wurden zum Versuche Stämme von *Euglena* gewählt, die nicht an Kultivierung auf Nährboden mit Arsen gewöhnt waren. Die Kultivierung erfolgte bei einer Beleuchtung von gleicher Intensität. Die Technik der FEULGEN'schen Reaktion führten wir streng nach der originalen Vorschrift von FEULGEN aus (1928). Da alle Präparate, die an einem Tage verfertigt wurden, gleichzeitig der Hydrolyse und anderen Manipulationen unterworfen wurden, ist es schwer zu erwarten, daß die Technik der FEULGEN'schen Reaktion eine merkbare Wirkung auf die erhaltenen Resultate erzeugen konnte.

Der normale Kern bei *Euglena gracilis* hat eine bleiche, feinkörnige Struktur bei der Färbung nach FEULGEN.

Es wurden von uns Gradationen sowohl der Intensivität der Färbung (des Färbungsvermögens der Tymonucleinsäure bei dieser Reaktion erhaltenen) als auch der Strukturveränderung der Granulen festgestellt. In letzterem Falle konnten wir vier verschiedene Typen feststellen: eine Verstäubung in sehr feine Körner, eine Feinkörnigkeit des Kerns, eine Grobkörnigkeit in stäbchenförmiger Anhäufung der Tymonucleinsäure im Kern. Der Intensität der Färbung nach teilten sich die Euglenen in schwach (d. h. normal), mittel und stark gefärbte. Unsere Kontrollversuche stellten wir alle 3 Tage während $1\frac{1}{2}$ Monate an. Es wurden jedesmal ca. 25 Euglenen von jeder Serie des Versuches gefärbt und untersucht. Der technischen Ursachen wegen wurde das Untersuchen von einer großen Zahl Individuen, besonders im Anfang des Versuches, wo die Quantität der Protozoen im Reagensglase nicht groß war, recht schwierig. Alle Reagensgläser wurden mit 10000 Protozoen beimpft in 10 ccm des ZUMSTEIN'schen Nährbodens. Da wir die Quantität von 25 Individuen für viel zu gering halten, um eine Kurve der Kernveränderungen daraus ziehen zu können, beschränken wir uns, Individuen mit verschiedener Kernstruktur einzusetzen, die am Anfang und am Ende des Versuches untersucht wurden.

Tabelle 1.

Die Veränderung der FEULGEN'schen Nuclealreaktion bei *Euglena gracilis* unter dem Einflusse der chronischen Arsenvergiftung (As_2O_3).

Stämme		Färbung			Granulation			
		schwach	mittel	stark	staub	fein	grob	Stab.
Auf normalem Boden mit Verimpfung	Bei Beginn des Versuches	90,9	9,1	—	71,4	28,6	—	—
	Beim Ende des Versuches	91,5	8,5	—	67,3	32,7	—	—
Auf normalem Boden ohne Verimpfung	Bei Beginn des Versuches	84,4	15,6	—	62,5	37,5	—	—
	Beim Ende des Versuches	25,6	42,2	31,2	6,9	91,8	1,3	—
Auf Arsenboden mit Verimpfung	Bei Beginn des Versuches	72,0	12,0	16,0	4,3	93,4	—	2,3
	Beim Ende des Versuches	27,4	36,2	36,4	7,7	92,3	—	—
Auf Arsenboden ohne Verimpfung	Bei Beginn des Versuches	76,1	15,6	8,3	6,4	42,9	36,5	14,2
	Beim Ende des Versuches	14,0	20,0	66,0	—	78,0	22,0	—

Aus der angegebenen Tabelle ist zu ersehen, daß bei Euglenen, die bei normalen Bedingungen sich entwickelten, auch am Anfang des Versuches eine Anzahl von Individuen beobachtet wurden mit intensiver gefärbtem Kern wie auch mit größeren Granulationen. Weiterhin änderte sich bei den Stämmen, die regelmäßig verimpft wurden, die FEULGEN'sche Reaktion nicht, da die geringen Abweichungen in den ausgerechneten Prozentsätzen sich eher in den Grenzen des Fehlers des Versuches befinden. Die Anhäufung von Stoffwechselprodukten beim Altern der Kultur ruft auch schon bei normalen Stämmen am Ende des Versuches einige Veränderung der FEULGEN'schen Reaktion hervor. Es erscheinen ca. 30 Proz. intensiv gefärbter Formen, die überwiegende Masse der Individuen zeigt einige Vergrößerung der Tymonucleinsäuregranulen des Kerns. Alle diese Veränderungen treten viel schärfer unter der Einwirkung von chronischer Arsenvergiftung hervor. Schon im Anfang des Versuches erscheinen stark gefärbte Individuen, von denen ein geringer Teil (2,3 Proz.) eine stäbchenförmige Körnung hat. Am Ende des Versuches beobachteten wir selbst bei den Stämmen, die regelmäßig überimpft wurden, eine Menge von Individuen mit erhöhtem Inhalt von Tymonucleinsäure. Aber eine besonders große Veränderung der

Quantität von Tymonucleinsäure wurde bei den Stämmen beobachtet, die nicht verimpft wurden und einer chronischen Arsenvergiftung ausgesetzt waren. Am Ende des Versuches hatten wir in diesem Falle kein einziges Individuum mit einer normalen Kernstruktur. Es ist notwendig, zu bemerken, daß die stäbchenförmige Körnung im Kern von *Euglena gracilis* nur im Anfang der Arsenvergiftung erschien. Wahrscheinlich ist diese Erscheinung analog der Kernpyknose bei der Zellenvergiftung der mehrzelligen Organismen solch eine scharfe degenerative Reaktion, daß solche Individuen weiterhin zugrunde gehen, weil sie nicht imstande sind, sich an das Leben in Anwesenheit von Arsen anzupassen. Allerdings ist es möglich, daß solche Exemplare von Euglenen dank weiterer Anpassung eine andere Form der Verteilung der Tymonucleinsäure bekommen (haben).

Unsere Beobachtungen mit denen von WERMEL und IGNATJEVA vergleichend, können wir im allgemeinen eine Übereinstimmung unserer Beobachtungen bezeichnen. Diese Autoren kamen auf Grund der Kernfärbung mit Hämatoxylin zu der Überzeugung, daß die Chromatinquantität des Kerns sich vergrößerte. Wir führten auch die Messung der Größe des Kerns aus, aber erhielten in unseren Versuchen keine mehr oder weniger charakteristischen Ergebnisse. Die grobe Bearbeitung (Hydrolyse usw.), der die Protisten bei der FEULGEN'schen Reaktion unterworfen wurden, mußte unbedingt die Kerngröße verändern.

Schlußfolgerungen.

Auf Grund unserer Untersuchungen können wir die Schlußfolgerung machen, daß bei chronischer Vergiftung durch As_2O_3 die Quantität der Tymonucleinsäure im Kern von *Euglena gracilis* steigt, und ihre Verteilung nimmt einen anderen morphologischen Charakter an durch Vergrößerung der Granulation. Eine ähnliche (analoge) Erscheinung wird beim Altern der Kultur beobachtet, wahrscheinlich durch Anhäufung giftiger Stoffe im Nährboden.

Zum Schluß erachten wir uns als angenehm verpflichtet, unseren herzlichen Dank Herrn Prof. KRASCHENINNIKOV auszusprechen für seine wertvollen Anweisungen in der Technik der FEULGEN'schen Reaktion.

Literaturverzeichnis.

- BREMDE u. JIROVEC (1932): Bemerkungen über die Nuclealreaktion bei *Laverania malariae* und *Proteosoma Praecox*. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Bd. 126.
- DOFLEIN u. REICHENOW (1928): Lehrbuch der Protozoenkunde I—II. Jena.
- EPSTEIN (1931): Die pathogenen Protisten, Spirochäten und Pilze. Moskau.
- FEULGEN (1926): Die Nuclealfärbung. ABDERHALDEN, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden Abt. 5 Teil 2 H. 10.
- HARNISCH (1927): (cit.) Die pathogenen Protisten, Spirochäten und Pilze. Moskau.
- JIROVEC u. ČERNI (1932): Die Ergebnisse der Nuclealreaktion bei Vogel malaria. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Bd. 126.
- JOLLOS (1921): Experimentelle Protistenstudien. I. Arch. f. Protistenk. Bd. 48.
- MANWARMING (1910): Über chemische und mechanische Anpassung von Leberzellen bei experimentellen Phosphorvergiftungen. Beitr. pathol. Anat. Bd. 47.
- MITSCHEIN (1923): Die Zellenevolution. Moskau.
- PAWAN (1931): FEULGEN Nucleal Reaktion and the Malarial Nucleus. Ann. of Trop. med. u. Parasit. Vol. 25 p. 185—187.
- REICHENOW (1928): Ergebnisse mit Nuclealfärbung der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 61 p. 144—166.
- WASSILJEV (1932): Zur Frage über den Kern bei Bakterien (zur Kernfrage bei Bakterien). (Sonderabdruck.)
- WENYON (1926): Protozoology Vol. 1—2. London.
- WERMEL u. IGNATJEVA (1932): Über die Wirkung von giftigen Stoffen auf die Kerngröße. Arch. f. Anat., Histol., Embryol. No. 2 (russ.).
- WILSON (1928): The cell in development and heredity. New York.
-

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1935

Band/Volume: [85_1935](#)

Autor(en)/Author(s): Rybinsky S.B., Zrykina L.M.

Artikel/Article: [Über Kernveränderungen bei *Euglena gracilis* \(Ehrbg.\) bei chronischer Arsenvergiftung. 334-340](#)