© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Abhängigkeit der Giftwirkung von der Stoffwechseleigenart und der Stoffwechselintensität der Zelle.

Atoxyluntersuchungen an Seeigeleiern.

Von

Dr. **J. Moldovan** (Wien).

In früheren Untersuchungen über die Wirkungsart des Atoxyls, Salvarsans und des Menschenserums bei der experimentellen Naganainfektion konnte gezeigt werden, daß diese in vitro unwirksamen Agentien im infizierten Organismus eine von der Stoffwechselintensität der Parasiten abhängige, direkte Wirkung entfalten. Es handelt sich um Mittel, die als solche für die Parasiten indifferent, erst umgewandelt, reduziert werden müssen, um das trypanocide Prinzip entstehen zu lassen. In vitro nun ist der Stoffwechsel der Parasiten so weit reduziert, daß sie jene für die Giftbildung notwendige Reduktionskraft nicht besitzen, das Mittel bleibt für sie indifferent. Im Tierkörper beginnen sie sich im zusagenden Milieu lebhaft zu vermehren, sie werden infolge des gesteigerten Stoffwechsels befähigt, aus dem aufgenommenen indifferenten Mittel das sie tötende Gift zu bilden. Die Empfindlichkeit der Parasiten steigt also mit der Zunahme ihres Stoffwechsels, es besteht eine direkte Abhängigkeit der Wirkungsstärke von der Stoffwechselintensität der Parasiten. Der Parasitotropismus des chemotherapeutischen Agens ist demnach hier nicht allein durch die Konstitution desselben und den Grad seiner Organotropie bestimmt, er ist im wesentlichen auch eine Funktion der Vitalität der Erreger selbst. Er kann also unter sonst gleichen Bedingungen, je nach dem Zustande der Infektion, je nach der Vermehrungs- bzw. Stoffwechselintensität der Erreger variieren.

Wenn früher stets die Beweglichkeit der Parasiten als Maßstab ihrer Vitalität angesehen wurde, schien kein Einwand dagegen vorzuliegen, ein in vitro lebhaft bewegliches Trypanosom bezüglich seines Verhaltens

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

dem Atoxyl gegenüber jenen gleichzustellen, die sich in vivo lebhaft vermehren. Es schien dies um so gleichgültiger zu sein, als man eine Intervention der Parasiten selbst bei der Heilwirkung kaum in Betracht zog, man ließ sie sich vollkommen passiv verhalten, wie etwa Bakterien bei der gewöhnlichen, grobchemischen Desinfektionswirkung. Um also den Widerspruch zwischen der Wirkungslosigkeit des Atoxyls in vitro und seinem Heileffekt in vivo zu erklären, mußte man eine besondere Intervention des Organismus bei der Umwandlung des Mittels, oder eine Mobilisierung besonderer Schutzstoffe supponieren.

Nimmt man jedoch die direkte Abhängigkeit der Wirkungsstärke von der Stoffwechselintensität der Parasiten an, so erscheint es selbstverständlich, daß eine Differenz bestehen muß zwischen den geschädigten, progressiv dem Tode entgegengehenden Vitrotrypanosomen und dem im Tiere lebhaft wuchernden Erregern. Die Intervention des Organismus ist also im Wesen nur insofern Bedingung der Wirkung, als derselbe eine Vermehrung der Parasiten, eine Stoffwechselsteigerung derselben ermöglicht.

Es wurden Trypanosomen, die bekanntlich in vitro selbst durch hohe Atoxylkonzentrationen nicht geschädigt werden, in für Eiweiß absolut undurchlässige Collodiumsäckchen gebracht und in die Bauchhöhle von Ratten versenkt. Es ließ sich feststellen, daß unter diesen Verhältnissen bald eine lebhafte Vermehrung der Parasiten statthat. Wurde nun Atoxyl subcutan oder intraperitoneal injiziert, so kam es bald zur Abtötung und zum Verschwinden der Trypanosomen innerhalb der Säckchen, obwohl ein Durchtreten von Phagocyten oder von anderen Schutzstoffen des Organismus ausgeschlossen war. In einer anderen Versuchsreihe wurde Atoxyl zu den Trypanosomen in die Säckchen verfüllt, welche wieder Ratten in die Bauchhöhle gebracht wurden. Gleichzeitig wurden aber auch ins freie Peritoneum, außerhalb der Säckchen Trypanosomen injiziert. Das Resultat war, daß nur die Parasiten in den Säckchen abgetötet wurden, während die freien Trypanosomen vollkommen unbeeinflußt blieben. Hier konnte die Aktion des Atoxyls nicht anders als eine direkte sein. Die einzige Differenz gegenüber der erfolglosen Versuchsanordnung in vitro bestand darin, daß sich die Trypanosomen innerhalb der Collodiumsäckchen vermehrten, und war es selbstverständlich, in diesem Umstande die Ursache der Atoxylwirkung zu suchen, um so mehr, als sich in besonderen Experimenten zeigen ließ, daß die Infektion um so leichter, d. i. mit um so geringeren Atoxylmengen zu heilen war, je lebhafter die Vermehrung der Parasiten zur Zeit der Einspritzung erschien. Es blieb nur unentschieden, ob die Teilung als solche oder die sie begleitende

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

oder verursachende Stoffwechselsteigerung für die Atoxylwirkung verantwortlich zu machen ist. Es war daher wünschenswert, die Versuche an einem Material fortzuführen, daß die Scheidung jener zwei Probleme ermöglichte und bestimmtere Anhaltspunkte über die Stoffwechselverhältnisse des Zellsubstrates geben konnte.

Während eines kurzen Aufenthaltes in der Zoologischen Station in Neapel suchte ich jene Fragen an Seeigeleiern (von *Strongylocentrotus lividus*) zu entscheiden. Die erste Voraussetzung war, daß zwischen befruchteten und unbefruchteten Eiern, also zwischen einer tätigen, in Teilung begriffenen und einer ruhenden Zelle, eine Differenz in der Stoffwechselintensität bestehen müsse, vergleichbar dem Unterschied zwischen einem Vitrotrypanosom und dem sich im Tierkörper vermehrenden Flagellaten.

Bevor ich auf die einzelnen Fragestellungen eingehe, wird es vielleicht notwendig sein, die Details des Befruchtungsvorganges und der Weiterentwicklung der Seeigeleier kurz zu skizzieren und die in Betracht kommenden Ergebnisse anderer Autoren zu erwähnen.

Werden die Eier erwachsener Weibchen von *Strongylocentrotus lividus* mit frischem, reifem Sperma in flachen Glasschalen in dünner Seewasserschichte zusammengebracht, so erfolgt in wenigen Sekunden die Befruchtung aller Eier und unmittelbar darauf die Bildung der Befruchtungsmembran. Nach etwa 60 Min. beginnt bei allen Eiern gleichzeitig die Kernteilung, die nach etwa 15 Minuten zur Bildung der ersten zwei Furchungszellen führt. 30 Minuten später ist das Vierzellstadium erreicht, und in anscheinend beschleunigtem Tempo folgen nun 8, 16 und 32 Zellstadium. Nach im ganzen 5—6 Stunden beginnt die Morula durch Differenzierung eines Hohlraumes zur Blastula zu werden, die nach weiteren 2—3 Stunden Beweglichkeit erreicht. Die Differenzierung der Gastrula kann schon nach 12 Stunden beginnen, sie ist nach 24 Stunden immer vollendet, die ersten Plutei wurden nach 48 Stunden beobachtet. Es muß hervorgehoben werden, daß unter normalen und gleichartigen Verhältnissen und Ansetzen selbst vieler Proben, nicht bloß innerhalb derselben Probe, sondern auch bei dem Vergleich derselben untereinander, die Eier stets alle gleichzeitig mit nahezu mathematischer Genauigkeit die einzelnen Entwicklungsphasen mitmachen.

Wie Loeb festgestellt hat, geht die Befruchtung selbst auch bei Abwesenheit von Sauerstoff vor sich, für die Weiterentwicklung der Eier ist derselbe jedoch unbedingtes Erfordernis. Die Furchung unterbleibt also gänzlich, wenn der Sauerstoff aus dem Seewasser entfernt, oder wenn Cyankalium zusgeetzt wird. Loeb fand, daß $^1/_2$ cm^3 einer $^1/_{20}$% Kaliumcyanidlösung zu 50 cm^3 Seewasser genügt, um die Wirkung des Spermato-

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

zoons im befruchteten Seeigelei fast sofort zum Stillstand zu bringen. Die Eier werden dadurch nicht abgetötet, denn noch nach 24 Stunden in normales Seewasser zurückgebracht, zeigen sie eine allerdings verzögerte und unvollkommene Weiterentwicklung. Unbefruchtete Seeigeleier können sich dagegen selbst nach zweitägigem Verweilen in Kaliumcyanidseewasser nach vollkommen normal weiter entwickeln. Auch in anderen Versuchen ließ sich eine höhere Empfindlichkeit der befruchteten Eier feststellen. So zeigte es sich, daß hypertonische Neutralsalzlösungen für das sich furchende Ei schädlich sind, während sie für das unbefruchtete relativ indifferent bleiben. Genau das gleiche ließ sich für eine hyperalkalische Kochsalzlösung nachweisen. Bringt man befruchtete und unbefruchtete Eier des Seeigels in eine Mischung von 50 cm^3 $\frac{n}{2}$ NaCl und 1 cm^3 $\frac{n}{10}$ NaOH, so gehen die befruchteten Eier viel rascher zugrunde. Auch eine dem Meerwasser annähernd isosmotische Chlornatriumlösung (und die Lösung jedes anderen Neutralsalzes) erwies sich viel giftiger für die befruchteten als für die unbefruchteten Eier. Die schädliche Wirkung hypertonischer oder hyperalkalischer Lösungen auf befruchtete Seeigeleier kann durch Zufügen einer Spur von Cyankalium oder durch Entfernung des Sauerstoffs paralysiert werden. Die Erklärung für die einzelnen angeführten Beobachtungen ist wohl eine verschiedene, sie haben jedoch nach Loeb insoferne eine einheitliche Ursache, als es die Beschleunigung der Zellreaktionen ist, die Erhöhung des Stoffwechsels, welche die erhöhte Empfindlichkeit befruchteter Eier bedingt. Und unter diesen Zellreaktionen sollen es im wesentlichen die Oxydationsprozesse sein, die durch die Befruchtung eine Steigerung erfahren. Warburg hat dann tatsächlich den Nachweis erbracht, daß der Sauerstoffverbrauch der Seeigeleier nach der Befruchtung auf das 6—7fache steigt.

Während also die Stoffwechseldifferenz zwischen den Vitrotrypanosomen und den sich im infizierten Tier vermehrenden Parasiten nur als selbstverständlich angenommen werden konnte, und ihr Grad allein nach der Vermehrungsintensität der letzteren beurteilt werden mußte, finden wir die auch zwischen ruhenden unbefruchteten, und sich teilenden, befruchteten Seeigeleiern bestehende Stoffwechseldifferenz nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ genauer definiert; es handelt sich zunächst im wesentlichen um eine bedeutende Steigerung der Oxydationsprozesse, demnach auch um eine Zunahme des Sauerstoffbedürfnisses der Zellen.

Es zeigen also die oben angeführten Beobachtungen nicht bloß die Eignung der Seeigeleier für meine beabsichtigten Versuche, sie bilden auch eine willkommene Stütze für die Schlußfolgerungen, die ich aus meinen

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Trypanosomenexperimenten gezogen und welche die Bedeutung der Stoffwechselintensität der Parasiten für den chemotherapeutischen Effekt zum ersten Male erwiesen. Es läßt sich jetzt schon der allgemeine Schluß ziehen, der vielleicht ein pharmakodynamisches Gesetz in sich birgt, daß eine tätige, durch den rascheren Ablauf ihrer Reaktionen charakterisierte Zelle bestimmten chemischen Einflüssen gegenüber empfindlicher ist, als eine ruhende, und daß eine direkte Abhängigkeit der Giftwirkung von der Stoffwechselintensität der Zelle besteht. Voraussetzung ist natürlich, daß es sich nicht um grob chemische oder physikalische Einwirkungen handelt, denen gegenüber sich die Zelle vollkommen passiv verhält.

Bestand jedoch die wesentliche Differenz zwischen unbefruchteten und befruchteten Eiern in der Steigerung der Oxydationsprozesse in den letzteren, in einer Zunahme des Sauerstoffbedürfnisses, so war damit schon die Art des Mittels, das zur Einwirkung gelangen sollte, vorgeschrieben. Es mußte, an sich indifferent, durch einen Reduktionsprozeß leicht in das giftige Produkt überzuführen sein. Diesen Forderungen entspricht bekanntlich das Atoxyl.

Eigene Versuche.

Für meine Untersuchungen verwendete ich ausschließlich die Geschlechtszellen von *Strongylocentrotus lividus*, und zwar zunächst nur von erwachsenen, großen Tieren. Die Eier wurden für jeden Versuch frisch entnommen, möglichst rein in Seewasser gebracht, das dann in dünner Schichte in flache Glasschalen gegossen wurde. Um möglichst günstige Atmungsbedingungen zu schaffen, war die Zahl der Eier eine niedrige, die Wasserschichte nur 5—7 mm hoch und wurden die Schalen nur lose zugedeckt. Zur Befruchtung diente stets frisches Sperma. Die befruchteten Eier nahmen unter normalen Verhältnissen stets genau denselben Entwicklungsgang, wie ich ihn früher kurz skizziert.

Das Atoxyl ist direkt in Seewasser gebracht fast unlöslich. Aus einer 10% Stammlösung in destilliertem Wasser lassen sich jedoch mit Seewasser Verdünnungen anfertigen, in denen das Atoxyl in Lösung bleibt, ohne daß die Salzkonzentration eine für die Entwicklung der Eier nachteilige Änderung erfährt. Die Stammlösung mit dest. Wasser ist nur wenige Tage haltbar, und noch viel rascher geht die Wirksamkeit der Seewasserverdünnungen verloren.

Zunächst wurde geprüft, ob und in welcher Konzentration das Atoxyl auf unbefruchtete Eier giftig wirkt.

Frisch entnommene Eier wurden unter völlig gleichen Bedingungen mit Atoxyl in verschiedener Konzentration durch 24 Stunden behandelt.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Eine Probe ohne Atoxyl diente als Kontrolle. Die Atoxylkonzentrationen waren 1 : 500, 1 : 1000, 1 : 5000 und 1 : 10000. Nach 24 Stunden wurden alle Proben mikroskopiert und zeigten keinerlei wahrnehmbare Schädigung gegenüber der Kontrolle. Hierauf wurden die Eier der einzelnen Proben je in frisches Seewasser übertragen und mit dem gleichen frischen Sperma befruchtet.

Die fortlaufende Kontrolle der Weiterentwicklung ließ eine Differenz gegenüber der Kontrolle überhaupt nicht wahrnehmen. In allen Proben ging die Furchung in einem gleichmäßig verzögerten Tempo vor sich, und war das Pluteusstadium nach 48 Stunden erreicht.

Das Atoxyl übt demnach auf unbefruchtete Seeigeleier keine schädliche Wirkung aus.

In einem zweiten Versuch sollte entschieden werden, ob die Befruchtung selbst durch Atoxyl beeinflußt wird. Es wurden Eier in Atoxyllösungen verschiedener Konzentration suspendiert und hierauf befruchtet. Das Eindringen der Spermatozoen und die Bildung der Befruchtungsmembran erfolgte genau in derselben Weise, wie in den Kontrollen ohne Atoxyl.

Der dritte Versuch sollte darüber Aufschluß geben, wie sich befruchtete Eier dem Atoxyl gegenüber verhalten. Es wurde zunächst nur eine Atoxylkonzentration verwendet, und zwar 1 : 2000. In dieser wurden frische Eier suspendiert und gleichzeitig mit einer normalen Kontrolle befruchtet. In einer zweiten Kontrolle wurden die Eier durch 24 Stunden in der Atoxyllösung belassen und dann erst befruchtet.

I = unbefruchtete Eier in Atoxyl 1 : 2000.
II = befruchtete Eier in Atoxyl 1 : 2000.
III = befruchtete Eier in normalem Seewasser.

	I	II	III
Nach 1 Minute	unverändert.	Membranbildung	Membranbld.
» 1 Stunde	»	größtenteils unverändert, bei einzelnen Beginn einer unregelmäßigen Zweiteilung.	bei allen Beginn der Zweiteilung.
» $1^1/_4$ Stunden	»	größtenteils unverändert, einzelne im 2 Zellstadium, wobei jedoch die zwei Tochterzellen oft in Größe und Form voneinander abweichen.	alle Eier im 2 Zellst.
» $1^3/_4$ »	»	zum Teil ungeteilt mit Zerfallserscheinungen, zum Teil im 2 Zellstadium von unregelmäßiger Form und Größe.	alle Eier im 4 Zellst.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

	I	II	III
Nach 3 Stunden	unverändert.	zum Teil zerfallen, zum Teil in atypischem 2, 4, 8 Zellstadium.	alle Eier im 16 Zellst.
» $4^3/_4$ »	»	zum Teil zerfallen, zum Teil in allen Entwicklungsstadien bis zur Morula. Viele atypische Formen.	Morulae.
» $6^3/_4$ »	»	wie oben.	Blastulae.
» 9 »	»	wie oben, zum Teil bewegliche Blastulae.	bew. Blastulae.
» 24 »	Befruchtung.	zum Teil Gastrulae.	Gastrulae.
» 48 »	Gastrulae.	Plutei.	Plutei.

Aus dem Versuch geht zunächst hervor, daß Atoxyl in der Konzentration 1 : 2000 im Gegensatz zu seiner Wirkungslosigkeit auf unbefruchtete Seeigeleier einen deutlichen schädlichen Einfluß auf befruchtete Eier ausübt, jedoch erstreckt sich diese Wirkung nicht auf alle Zellen gleichartig. Ein Teil derselben kommt, abgesehen von der Bildung der Befruchtungsmembran überhaupt nicht weiter zur Entwicklung und zerfällt, ein zweiter Teil macht die Furchung in verzögerter und unregelmäßiger Art mit, um in verschiedenen Stadien derselben abzusterben, der Rest erreicht verzögert das Ende der unter den gegebenen Verhältnissen möglichen Entwicklung, das Pluteusstadium. Es ist demnach eine weitgehende Differenz zwischen den einzelnen Zellen erkennbar, die ihre Ursache nicht in einer verschiedenen Teilungsenergie haben kann, denn diese ist ja, wie aus den normalen Kontrollen hervorgeht, eine von vorneherein allen Eiern in gleichem Ausmaße gegebene Größe. Dieser Unterschied kommt jedoch nicht allein zwischen den einzelnen Eiern zum Ausdruck, auch die einzelnen Furchungszellen desselben Eies zeigen dem Atoxyl gegenüber sehr oft eine verschiedene Resistenz, die schon im Zweizellstadium deutlich werden kann, indem die eine Tochterzelle zerfällt, während sich die zweite weiter entwickelt. Oft sind auch die Furchungszellen desselben Eies verschieden groß und unregelmäßig gestaltet.

Auffallend ist es bei Betrachtung der Tabelle, daß die Schädigung durch das Atoxyl am stärksten in den ersten Stunden seiner Einwirkung ausgesprochen ist, und daß sich später die Unterschiede gegenüber der Kontrolle verwischen. Zerfall von Eiern konnte überhaupt nur in den ersten Stunden nachgewiesen werden. Es konnte dies darauf beruhen, daß sich die resistenteren Individuen im Laufe der Stunden an das Gift gewöhnen und dann den normalen Entwicklungsgang nehmen, oder aber

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

es konnte diese Beobachtung bei der geringen Haltbarkeit des Atoxyls darin begründet sein, daß dasselbe nach einigen Stunden schon seine Wirksamkeit einbüßte, so daß dann die noch lebensfähigen Eier an der Weiterentwicklung nicht mehr gestört werden. Diese für die Deutung der Versuchsresultate so wichtige Frage suchte ich in der Weise zu entscheiden, daß ich befruchtete Eier in Atoxyl 1 : 2000 suspendierte und nach 6 Stunden die sich noch weiterentwickelnden Zellen in eine frische Atoxyllösung derselben Konzentration brachte. Wäre eine besondere Resistenz oder eine Gewöhnung vorhanden gewesen, so hätten sich die Eier unbeschadet der Erneuerung des Atoxyls weiterentwickeln müssen. Es war jedoch das Gegenteil der Fall, der größte Teil der Eier zerfiel in der frischen Atoxyllösung; die erste Lösung war also unwirksam geworden. Besondere Versuche zeigten, daß das Atoxyl in Meerwasser schon nach 2—4 Stunden seine Wirksamkeit einbüßt.

Durch Erhöhung der Atoxylkonzentration bis auf 1 : 500 ließ sich eine Verstärkung der Wirkung nicht erzielen. Dagegen erlagen schließlich alle Eier der Wirkung, wenn eine selbst sehr geringe Atoxylkonzentration (z. B. 1 : 5000) durch Erneuerung in zweistündigen Intervallen konstant auf derselben Höhe erhalten wurde. Während also Atoxyl 1 : 500, bei der Befruchtung zugefügt, nur einen Teil der Eier zum Zerfall bringt und die überlebenden sich dann weiterentwickeln, vermag eine zehnmal geringere Konzentration eine viel intensivere Wirkung zu erzielen, vorausgesetzt, daß die Kontinuität der Wirkung durch längere Zeit gewahrt bleibt. Die Wirkungsintensität ist demnach — in bestimmten Grenzen — unabhängig von der Konzentration des Mittels, entscheidend ist der Zeitfaktor und die Konstanz der Aktion. Ich werde später auf diese Beobachtung noch zurückkommen.

Ich hatte schon geäußert, daß die Teilungsintensität der Eier wenigstens bis zum Blastulastadium progressiv zuzunehmen schien, obwohl es mir nicht möglich war, hierüber genaue Untersuchungen anzustellen. Um eine etwaige Abhängigkeit der Atoxylwirkung von der Teilungsintensität der Zellen festzustellen, suchte ich in weiteren Versuchen zu entscheiden, ob sich zwischen Eiern verschiedener Teilungsstadien Differenzen in dem Sinne ergeben, daß mit fortschreitender Furchung die Empfindlichkeit gegenüber Atoxyl zunimmt. Es wurden Eier befruchtet und in verschiedenen Stadien der normalen Entwicklung Proben entnommen und in Atoxyl 1 : 500 suspendiert. Die Entwicklung wurde im Vergleich mit normalen Kontrollproben fortlaufend beobachtet.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Ia	Eier sofort nach der Befruchtung	in	Atoxyl	gebracht;		Ib	Kontrolle	ohne	Atoxyl
IIa	» im 4 Zellstadium	»	»	»		IIb	»	»	»
IIIa	» » Morulastadium	»	»	»		IIIb	»	»	»
IVa	» » unbewegl. Blastulastad.	»	»	»		IVb	»	»	»
Va	» » bewegl. »	»	»	»		Vb	»	»	»
VIa	» » Gastrulastadium	»	»	»		VIb	»	»	»

nach	I		II		III		IV		V		VI	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
$1^1/_4$ h	keine Zellteilung	2 Zellst.	z. T. 16 Zellst. unregelmäßig	16 Zellst.	—	—	z. T. in Zerfall	Blastulast.	z. gr. T. unbeweglich, beginnender Zerfall	bew. Blast.	Gastr. Abn. der Beweglichkeit	Gastr.
2 h	z. T. unregelm. Zweizellst.	8 Zellst.	8-16-32 Zellstad. unregelm.	Morula	unregelmäßige Blast.	bew. Blast.	»	bew. Blast.	»	»	»	»
4 h	z. T. zerfallend, z. T. im 2-4-8 Morulastad. unregelm.	Morula	z. T. zerfallen, d. Rest wie oben	Blast.	unregelmäßige Blast. z. T. zerfallen	»	z. gr. T. zerfallen	»	alle Eier i. Zerfall begriffen	»	»	»
6 h	»	Blast.	wie oben z. T. Blastula	»	»	»	»	»	»	»	»	»
8 h	einzelne Blast.	bew. Blast.	»	bew. Blast.	z. T. bew. Blast.	»	»	»	alle Eier zerfallen	Gastr.	»	»
24 h	z. T. im Gastrulastad.	Gastr.	z. T. Gastr.	Gastr.	z. T. Gastr.	Gastr.	einzelne Gastr.	Gastr.	—	»	Pluteus	Pluteus
48 h	z. T. Pluteus	Pluteus	z. T. Pluteus	Pluteus	z. T. Pluteus	Pluteus	einzelne Plutei	Pluteus	—	Pluteus	»	»

Aus diesem Versuche ließe sich der Schluß ziehen, daß tatsächlich die einzelnen Teilungsstadien eine differente Empfindlichkeit dem Atoxyl gegenüber aufweisen, und daß diese ihren Höhepunkt im Blastulastadium erreicht. Dieses Ergebnis wurde auch durch weitere Versuche bestätigt, und schien es zunächst, als ob mit fortschreitender Teilung bis zum Blastulastadium die Empfindlichkeit der Eier zunimmt, um dann im Gastrulastadium wieder zurückzugehen. Es wäre das ein Analogon zu den Ergebnissen bei Trypanosomeninfektion der Mäuse, wo auch mit zunehmender Teilungsintensität der Parasiten die Empfindlichkeit dem Atoxyl gegenüber anstieg. Bei Fortsetzung der Versuche ergaben sich jedoch Unregelmäßigkeiten, die mit jener Progression der Atoxylwirkung nicht in Einklang zu bringen waren. Es wurden einmal schon durch das bei der Be-

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

fruchtung zugesetzte Atoxyl alle Eier zum Zerfall gebracht, ein andermal blieb die Atoxylwirkung vollkommen aus, obwohl die Teilung der Eier mit genau der gleichen Regelmäßigkeit und dem gleichen Tempo vor sich ging wie früher. Es ließ dies den Gedanken aufkommen, daß nicht die Teilung als solche allein die Atoxylwirkung bestimmt, sondern daß eine weitere Ursache mit im Spiele sein mußte. Diese Ursache wurde in der Atmungsintensität der Eier gefunden.

Werden Seeigeleier in Seewasser suspendiert, so kommt es infolge ihrer Schwere bald zur Sedimentierung. Benützt man hierzu flache Glasschalen, so hat man es in der Hand, eine beliebig hohe Wasserschichte gleichartig über alle Eier entstehen zu lassen. Die Atmung der letzteren wird naturgemäß um so ungestörter sein, je geringer die Zahl derselben und je niedriger die bedeckende Wasserschichte ist. Es zeigte sich nun, daß die Furchung bzw. Weiterentwicklung der Eier in gewissen Grenzen ganz unabhängig ist davon, ob die bedeckende Wasserschichte $^1/_2$, 1 oder $1^1/_2$ cm hoch ist und ganz gleichartig mit derselben Geschwindigkeit und Regelmäßigkeit erfolgt. Die Teilungsintensität ist demnach in bestimmten Grenzen unabhängig von der Atmungsintensität der Eier.

	Höhe der Seewasserschichte in cm			
	0,3	0,5	1,0	1,5
nach 1 Min.	Membran	Membran	Membran	Membran
» $^1/_4$ Std.	2 Zellst.	2 Zellst.	2 Zellst.	2 Zellst.
» 2 »	8 Zellst.	8 Zellst.	8 Zellst.	8 Zellst.
» 4 »	Morula	Morula	Morula	Morula
» 6 »	Blastula	Blastula	Blastula	Blastula
» 10 »	bew. Blastula	bew. Blastula	bew. Blastula	bew. Blastula
» 24 »	Gastrula	Gastrula	Gastrula	Gastrula
» 48 »	Pluteus	Pluteus	Pluteus	Pluteus

Wäre nun eine direkte Abhängigkeit der Atoxylwirkung von der Teilungsintensität der Eier vorhanden gewesen, so hätte dieselbe trotz Variation der Höhe der Wasserschichte in den oben angeführten Grenzen gleich bleiben müssen. Die hierhergehörigen Versuche führten jedoch genau zu dem entgegengesetzten Resultat. Trotz der Gleichartigkeit der Entwicklung kam die Atoxylwirkung nur dort zustande, wo die Seewasserschichte weniger als 1 cm betrug, sie war um so intensiver, je dünner dieselbe, je lebhafter also die Atmung der Eier war.

Es geht demnach auch aus diesen Experimenten ganz klar die Abhängigkeit der Atoxylwirkung von der Atmungsintensität der befruchteten Eier hervor. Eine Proportionalität zwischen Wirkungs- und Teilungsintensität ließ sich dagegen nicht mit Sicherheit feststellen.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Die Richtigkeit dieser Ergebnisse vorausgesetzt, mußte das Zufügen von Kaliumcyanid zu den befruchteten Seeigeleiern durch Aufhebung der Oxydationen die Atoxylwirkung unmöglich machen.

Die Versuche zur Entscheidung dieser Frage wurden in der Weise angestellt, daß zu eben befruchteten und zu in verschiedenen Stadien der Entwicklung befindlichen Seeigeleiern gleichzeitig mit dem Atoxyl Kaliumcyanid zugesetzt wurde, und zwar 1 cm³ einer $^1/_{20}$% Lösung auf 50 cm³ Seewasser. Es ist dies, wie aus den Versuchen von Loeb und von Warburg hervorgeht, jene Konzentration, die ohne die Befruchtung selbst zu verhindern die Furchung sicher aufhebt, ohne die Eier innerhalb von 24 Stunden zu töten. Gleichzeitig erfolgt auch eine Sistierung bzw. weitgehende Reduktion der Oxydationen und wohl auch anderer Partialfunktionen der Zellen. Als Kontrollen dienten Proben mit Atoxyl allein, mit Kaliumcyanid allein und solche, denen weder das eine noch das andere Mittel zugesetzt wurde. Nach Verstreichen von 12—24 Stunden wurden die Proben in Spitzgläsern der Sedimentierung überlassen, die Eier je in normales Seewasser übertragen und ihre Weiterentwicklung kontrolliert. Wie bei allen Versuchsreihen stammten auch hier die Eier von ein und demselben Weibchen. Ich führe im folgenden 2 Versuche an.

Versuch I.

I Eier, denen kurz vor der Befruchtung Atoxyl (Endkonzentration 1 : 500) und Kaliumcyanid, zugesetzt wurde.
II Eier, denen kurz vor der Befruchtung Atoxyl (1 : 500) allein zugefügt wurde.
III Eier, denen kurz vor der Befruchtung Kaliumcyanid allein zugesetzt wurde.
IV Befruchtete Eier ohne weiteren Zusatz.
Nach 24 Stunden Übertragen der Eiproben je in frisches Seewasser.

	I	II	III	IV
Nach 1 Min.	Membranbild.	Membranbildg.	Membranbild.	Membranbildg.
» $1^1/_4$ Std.	keine Weiterentwicklung	»	keine Weiterentwicklung	2 Zellst.
» 2 »	»	vereinz. unregelmäß. 2 Zellst.	»	8 Zellst.
» 4 »	»	z. T. ungeteilt, z. T. unregelm. Furchung im 2, 4 u. 8 Zellst.	»	Morula.
» 6 »	»	wie oben, z. T. Morula	»	Blastula
» 10 »	»	wie oben, z. T. zerfallen, vereinz. Blastulae	»	bew. Blastula
» 24 »	»	wie oben, z. T. bew. Gastrulae	»	Gastrula

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Übertragen in normales Seewasser

	I	II	III	IV
nach 2 Std.	2 Zellst.	keine Änderung	2 Zellst.	keine Änderung
» 6 »	Blastula	»	Blastula	»
» 24 »	Gastrula	z. T. zerfallen, z. T. in unregelm. Entwicklungsstadien bis zum Pluteus	Gastrula	Pluteus

Versuch II.

Es wurden Eier verwendet, die sich 9 Stunden nach der Befruchtung im beweglichen Blastulastadium befanden.

I bewegl. Blastulae und Atoxyl 1 : 500 und Kaliumcyanid.
II » » » Atoxyl 1 : 500.
III » » » Kaliumcyanid.
IV » » , Kontrolle.

	I	II	III	IV
Nach 5 Min.	Bew. sistiert	unverändert	Bew. sistiert	unverändert
» 2 Std.	»	z. T. zerfallend, Bew. größtent. sistiert	»	bewegl. Blastula
» 8 »	unverändert	alle Eier im Zerfall begriffen	unverändert	Gastrula
» 24 »	»	alle Eier zerfallen	»	»

Übertragen in normales Seewasser

	I	II	III	IV
nach 2 Std.	z.T. bew. Blast.	alle Eier zerfallen	z. T. bew. Blast.	Gastrula
» 24 »	z. T. Gastrulae	—	z. T. Gastrulae	Plutei
» 48 »	z. T. Plutei	—	z. T. Plutei	»

Aus diesen Versuchen I und II ergibt sich, daß das Kaliumcyanid die Atoxylwirkung auf befruchtete Seeigeleier tatsächlich aufhebt.

Nach allen unseren Experimenten halten wir demnach die direkte Abhängigkeit der Atoxylwirkung von der Atmungsintensität der Seeigeleier für erwiesen.

Schlußfolgerungen.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden zu dem Zwecke unternommen, um neue Beweise zu bringen für die Abhängigkeit der Atoxylwirkung von der Stoffwechselintensität der Zelle. Es ließ sich — wie früher an Trypanosomen — an Seeigeleiern zeigen, daß tatsächlich eine solche Abhängigkeit besteht und daß das für unbefruchtete Eier indifferente Mittel auf befruchtete Eier gerade infolge der bei diesen gesteigerten Stoff-

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

wechsels, speziell der Oxydationen, schädlich wirkt. Wie von den Trypanosomen wird das Atoxyl auch von den in Furchung begriffenen Eiern als solches aufgenommen und in der Zelle mit einer dem Stoffwechsel parallelgehenden Intensität zum Gifte reduziert. Während jedoch bei den Trypanosomen im allgemeinen nur von einer Stoffwechselsteigerung gesprochen werden konnte, beurteilt allein nach der Teilungsintensität der Parasiten, lassen obige Experimente an Seeigeleiern den konkreten auch experimentell gestützten Schluß zu, daß es die von der Teilungsintensität bis zu einem gewissen Grade unabhängige Zunahme der Reduktionskraft, beurteilt nach der Lebhaftigkeit der Oxydationen, ist, welche die Giftwirkung des Atoxyls bedingt. Es ist nicht die Stoffwechselsteigerung im allgemeinen, sondern speziell die Zunahme bestimmter, eng umgrenzbarer Zellreaktionen, welche die Umwandlung des Atoxyls in die giftige Substanz ermöglicht. Wäre die Zunahme der Reduktionskraft der Eizellen oder der Trypanosomen eine geringere, so könnte das Atoxyl nicht in das giftige Produkt umgewandelt werden, es wäre wirkungslos. Darin ist wohl die Ursache zu suchen, daß das Mittel gegen so viele Keimarten unwirksam ist. Wir haben in diesem Gedanken die Möglichkeit der Erklärung einzelner spezifischen Arzneiwirkungen, und wir können sagen, daß zu dem Zustandekommen einer solchen Wirkung zwei Voraussetzungen gegeben sein müssen, 1) ein Mittel, das an sich indifferent, durch einen bestimmten chemischen Prozeß und nur durch diesen in eine hochgiftige Substanz umzuwandeln ist, und 2) eine Zelle, zu deren Eigenart es gehört, unter bestimmten Verhältnissen gerade jenen Umwandlungsprozeß in ausreichendem Maße durchführen zu können, und die für das gebildete Gift empfindlich ist. Das Atoxyl, an sich indifferent, wird durch einen Reduktionsprozeß in das hochgiftige p-Aminophenylarsinoxyd umgewandelt, die Trypanosomenzelle, für letzteres empfindlich, erreicht unter günstigen Verhältnissen jene Reduktionskraft, die für die Umwandlung des Atoxyls notwendig ist. Für die Ermöglichung der Wirkung ist also nur die Steigerung der Reduktionskraft notwendig und — soweit die Zelle empfindlich bleibt — die Steigerung jeder andern Partialfunktion derselben irrelevant. Für jede andere Zelle, welche jene Umwandlung nicht zustande bringen kann, ist das Mittel indifferent. Die Wirkung bleibt, trotz der vorhandenen Reduktionskraft, naturgemäß auch dann aus, wenn diese nicht jenen Grad erreicht, der für die Giftbildung erforderlich ist. Aus diesem Grunde sind Vitrotrypanosomen und unbefruchtete Seeigeleier durch Atoxyl nicht zu beeinflussen. Wir ersehen aus diesen Ausführungen die Bedeutung der Stoffwechseleigenart und der Stoffwechselintensität der Zelle für das Zustandekommen bestimmter Giftwirkungen.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Diese Ergebnisse weisen auf einen neuen Weg hin, auf dem in Zukunft vielleicht spezifische Chemotherapeutika gefunden werden könnten. Ergäbe sich bei dem Studium einer Keimart eine spezifische Zellreaktion von entsprechender Intensität, und ließe man dann auf diesen Keim ein an sich indifferentes Mittel einwirken, das eben auch nur durch jene Zellreaktion in ein keimtötendes Gift umgewandelt wird, so wäre unserer Voraussetzung nach eine spezifische chemotherapeutische Wirkung möglich. Die Stoffwechselverhältnisse der Infektionserreger sind allerdings noch in so geringem Maße studiert, daß ein zielbewußtes Vorgehen noch schwer möglich erscheint. Die große Bedeutung jedoch, die nach unseren Ergebnissen der Stoffwechseleigenart der Zelle bei der chemotherapeutischen Wirkung zukommt, rechtfertigt die Forderung, diese Lücke sobald als möglich auszufüllen.

Aus unseren Ergebnissen lassen sich jedoch noch weitere Schlüsse ziehen. Ist die Atoxylwirkung eine Funktion der Reduktionskraft der Zelle, so ist die Menge des gebildeten Giftes, bestimmt durch die Intensität jener Reaktion und in gewissen Grenzen unabhängig von der Atoxylkonzentration, d. h. man kann über eine bestimmte Konzentration hinaus beliebig hohe Atoxylmengen einwirken lassen, es wird davon unabhängig stets nur so viel Gift gebildet, als der Reduktionskraft der Zelle entspricht. Einen Beweis hierfür sehen wir darin, daß sich die Atoxylwirkung auf befruchtete Seeigeleier durch Erhöhung der Konzentration nicht beliebig steigern läßt, besonders aber darin, daß eine Atoxylkonzentration 1 : 5000 durch längere Zeit (etwa 6 Stunden) konstant wirkend einen viel intensiveren Effekt erzielt, als 1 : 500 kürzer (etwa 2 Stunden) mit den Eiern in Berührung. Dieselbe Erfahrung haben wir bei noch nicht veröffentlichten Trypanosomenexperimenten gemacht. Eine Maus erhielt eine Suspension von Naganatrypanosomen intraperitoneal und gleichzeitig 1 cm^3 Atoxyl 1 : 1000 auf demselben Wege. Fortlaufende Prüfung des Peritonealexsudats ließ jede Atoxylwirkung vermissen. Eine zweite Maus erhielt die gleiche Menge der Trypanosomenaufschwemmung in die Bauchhöhle und wurde nun getrachtet durch $^1/_4$stündige i. p. Injektionen geringer Mengen einer Atoxyllösung 1 : 100000 die Konzentration des Mittels annähernd konstant durch 10 Stunden auf dieser Höhe zu erhalten. Nach diesem Zeitraum waren alle Trypanosomen aus der Bauchhöhle verschwunden. Eine Kontrolle, bei welcher die gleiche Zahl der Injektionen, nur statt Atoxyl reine Kochsalzlösung intraperitoneal injiziert wurde, zeigte noch nach 10 Stunden lebhaft bewegliche Parasiten.

Ehrlich ist schon vor langer Zeit auf Erscheinungen gestoßen, die ganz in diesem Sinne sprechen. Es handelte sich im wesentlichen um die

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Beobachtung, daß bei verschiedenen Heilstoffen durch Fütterung, wo also die Substanz kontinuierlich dem Organismus beigebracht wird, Heilerfolge erzielt worden sind, wenn intravenöse Injektionen vollkommen versagten. Die Heilwirkung des Parafuchsins bei Fütterung war der subcutanen Wirkung überlegen. Browning machte ähnliche Beobachtungen. Beim Chinin fand Morgenroth, daß die Wirkung bei Fütterungsversuchen jener bei subcutaner Einführung überlegen ist. Er verweist auf den Parallelismus mit neueren Beobachtungen bei der Malariatherapie und -prophylaxe. Morgenroth hat auf die entscheidende Bedeutung dieses zeitlichen Momentes bei der chemotherapeutischen Wirkung ganz besonders hingewiesen (therapeutische Monatshefte 1912). Auf Grund der Ergebnisse seiner Arbeiten mit Halberstädter, Rosenthal, Kaufmann und Gutmann, hat Morgenroth wiederholt betont, daß der Zeitraum, während dessen die Infektionserreger im Blut und in den Organen der Wirkung einer bestimmten, wenn auch niedrigen Konzentration des chemotherapeutischen Agens ausgesetzt sind, von besonderer Bedeutung ist. Diese Beobachtungen stützen sich nicht bloß auf Experimente mit Protozoeninfektionen, auch bei der Chemotherapie der Pneumokokkeninfektion ergaben sich ähnliche Schlüsse. Auch Erfahrungen, die wir selbst bei der Luesbehandlung mit Salvarsan gemacht haben, sprechen in dem gleichen Sinne, und zwar die Überlegenheit der Dauerwirkung nach einer intramuskulären gegenüber selbst oft wiederholter intravenöser Einspritzungen und ferner, daß der Erfolg nach intravenöser Behandlung um so ungünstiger ist, in je längeren Intervallen das Mittel zur Aktion gelangt.

All dies zeigt, daß unsere experimentellen Ergebnisse nur der Ausdruck eines allgemeinen Grundgesetzes der Chemotherapie sind. Die therapeutische Wirkung ist demnach nicht einfach eine Resultante der Konstitution des Mittels und seiner Verteilung, sie wird in noch höherem Grade bestimmt durch die Stoffwechseleigenart und die Stoffwechselintensität der Zelle.

Wie bekannt, ist nun die Stoffwechselintensität der Parasiten selbst im Verlaufe ein und derselben Infektion nicht konstant, sie ist am höchsten in akuten Stadien derselben, bei lebhafter Vermehrung der Parasiten, sie ist reduziert bei Zuständen chronischer Infektion und noch weiter vermindert in Stadien der Latenz. Da ferner ein in lebhafter Vermehrung begriffener Parasit die Umwandlung des Mittels in das keimtötende Gift nicht nur sicherer, sondern auch rascher vollführt, muß die Zeitdauer der konstanten Einwirkung des Mittels um so mehr Berücksichtigung finden, je ungleichartiger der Verlauf der Infektion ist. Es ergeben sich daraus Richtlinien für eine individualisierende Behandlung.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Zusammenfassung.

Unbefruchtete Seeigeleier werden durch Atoxyl — gleich den Vitrotrypanosomen — nicht geschädigt.

Befruchtete Seeigeleier werden durch Atoxyl zum Zerfall gebracht, wobei die einzelnen Entwicklungsstadien in ihrer Empfindlichkeit dem Mittel gegenüber nicht gleichartig sind.

Die Intensität der Giftwirkung ist direkt abhängig von der Intensität der Oxydationen im befruchteten Seeigelei.

Die Wirkung des Mittels läßt sich durch Kaliumcyanid paralysieren.

Für die Wirkung des Atoxyls ist die Konzentration desselben bis zu einem gewissen Grade gleichgültig; entscheidend ist die Zeitdauer der Einwirkung.

Literatur.

Moldovan, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 21, S. 481, 1914.

Loeb, J., Biochem. Zeitschr., Bd. 1 und 2, 1906 und: Die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies. Berlin, Springer, 1909.

Warburg, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 57, S. 1, 1908.

Ehrlich, Berl. klin. Wochenschr., 1907, Heft 9—12.

Browning, Journ. of Pathol. and Bacteriol., 1908, Bd. 12, S. 166.

Morgenroth & Halberstädter, Sitzungsber. der Kgl. preußischen Akad. der Wissensch. Physik.-math. Klasse, 1910, Bd. 38.

Morgenroth & Rosenthal, Zeitschr. f. Hygiene, 1912, Bd. 71.

Morgenroth & Kaufmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1912, Bd. 15.

Morgenroth & Gutmann, ebenda, S. 625.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Mittheilungen aus der Zoologischen Station zu Neapel

Jahr/Year: 1914-1921

Band/Volume: 22

Autor(en)/Author(s): Moldovan J.

Artikel/Article: Abhängigkeit der Giftwirkung von der Stoffwechseleigenart und der Stoffwechselintensität der Zelle. Atoxyluntersuchungen an Seeigeleiern. 175-190