

Über eine Steigerung des Reizeffektes am Herzvagus der Ratte bei Mangel an fettlöslichen Vitaminen in der Nahrung.¹

Von

Bertel von Bonsdorff und Ragnar Granit.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Helsingfors.)

(Mit 8 Figuren im Text.)

Im Hinblick auf die nahen Beziehungen der Rachitis zur infantilen Tetanie ist es von vornherein nicht unwahrscheinlich, daß ein Mangel an fettlöslichen Vitaminen in der Nahrung eines Versuchstieres irgendwie die Reizbarkeit der autonomen Nerven beeinflussen könnte. Zwar ist die experimentelle Rachitis ätiologisch nicht nur dem Mangel an fettlöslichem Vitamin *D* zuzuschreiben, sondern es spielt, wie Mc Collum und seine Mitarbeiter gezeigt haben, auch das Verhältnis Ca:P in der Nahrung eine große Rolle — um nur einen der wichtigsten mitwirkenden Faktoren zu erwähnen —, aber der Mangel an *D* ist schon darum von zentraler Bedeutung in der Rachitisätiologie, weil das Vitamin so gut wie immer gegen Rachitis schützt.²

Als wir unsere Versuche begannen, war der Nachweis von u. a. Windaus und Hess³, daß bestrahltes Ergosterin in minimalen Gaben stark antirachitisch wirkt, noch nicht bekannt. Es erschien uns auch aus anderen Gesichtspunkten vorteilhafter, zunächst der Frage eine allgemeinere Fassung zu geben und die fettlöslichen Vitamine nicht einzeln zu untersuchen, sondern als Grundnahrung eine Mischung zu benutzen, aus der fettlösliche Faktoren möglichst vollständig entfernt worden waren. Ist doch die Methodik derartiger Fütterungsversuche heutzutage ziemlich gut herausgearbeitet. Dies ist aber nicht der Fall bezüglich der Methoden, die Sensibilität der autonomen Nerven zu untersuchen. Wie

¹ Der Redaktion am 24. Mai 1928 zugegangen.

² Park, The Etiology of Rickets. *Physiol. Reviews*. 1923. Bd. III. S. 106.

³ Windaus und Hess, Sterine und antirachitisches Vitamin. *Nachr. v. d. Ges. d. Wiss. Göttingen. Kl. Mathem. u. Physik.* 1926.

u. a. Schilf¹ und Metzner² mit Recht betont haben, muß man sich gegen Schlüsse auf Sensibilitätsverhältnisse im vegetativen Nervensystem auf Grund der Erfolge von Injektionen „sympathischer“ und „parasympathischer“ Pharmaka sehr kritisch verhalten. Wir fanden es daher notwendig, eine einfache Anordnung der direkten Reizung auszuarbeiten, die mehrere Ratten schnell nacheinander zu untersuchen erlaubte. Im Prinzip wurde so vorgegangen, daß der Herzvagus bei 4 bis 5 verschiedenen Rollenabständen faradisch gereizt und nachher die prozentuelle Herabsetzung der Pulsfrequenz der unter sich gleich langen Reizperioden berechnet wurde. Es diente mit anderen Worten die chronotrope Wirkung des Vagus als Indikator der Sensibilität. Wenden wir uns nunmehr den Versuchen zu.

Anordnung der Diätversuche.

Die Ratten wurden auf eine Grundnahrung von Hafer, rohen Kartoffeln, Roggenbrot und Mohrrüben, alles ad libitum, gehalten. Doch wurden in den meisten Fällen während der letzten Zeit der Laktation die an A-Vitaminen besonders reichen Mohrrüben aus der Nahrung entfernt, um eine allzu hochgradige Vitaminenanspeicherung in der Leber³ der Ratten zu verhindern. Werden derartige Vorsichtsmaßnahmen nicht beachtet, so trifft es bekanntlich leicht ein, daß die Vitaminenvorräte der Ratten für die ganze Wachstumsperiode ausreichen.

Das Rattenzimmer war gut ventiliert und erwärmt, die Tiere direktem Sonnenlicht nicht ausgesetzt. Die Käfige waren aus Blech. Das graue Filtrierpapier am Boden der Käfige wurde täglich gewechselt. Die Nahrung der Versuchstiere wurde in folgender Weise zusammengesetzt:

Reisstärke	26	Proz.
Kartoffelstärke ⁴	26	„
Kasein	18	„
Erhärtetes Kokosfett	15	„
Trockenhefe	5	„
Zitronensaft	5	„
Salzmischung	5	„

¹ Schilf, *Das autonome Nervensystem*. Leipzig 1926.

² Metzner, *Das autonome Nervensystem. Jahresbericht über die ges. Physiologie*. 1920.

³ Vgl. z. B. Coward, Lush und Palmer, *Lancet*. 1923. Bd. CCIV. S. 124.

⁴ Die ungereinigte Kartoffelstärke dürfte ein wenig A enthalten. (Mündliche Mitteilung von Herrn Prof. Drummond, der früher eine ähnliche Diät benutzt hat.

Das Kasein wurde von der Firma British Drug House Ltd. als direkt brauchbares Präparat geliefert. Das Salzgemisch hatte folgende Zusammensetzung, die im Prinzip mit der bekannten Mc Collumschen Salzmischung Nr. 185 identisch ist, nur einige Zusätze enthält:

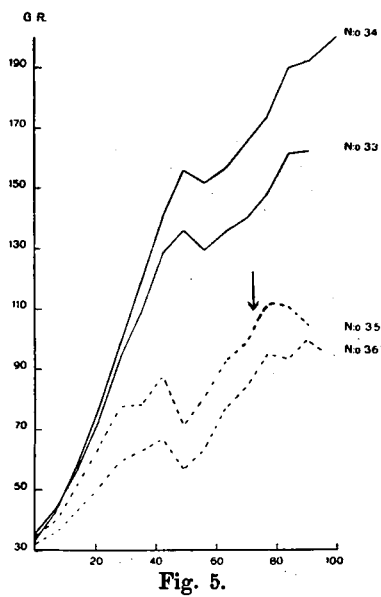
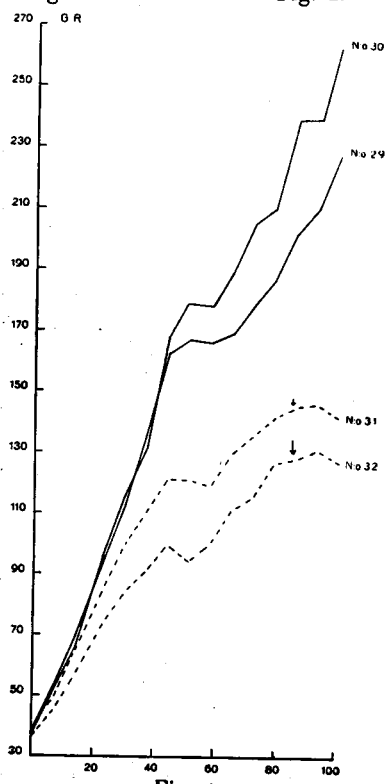
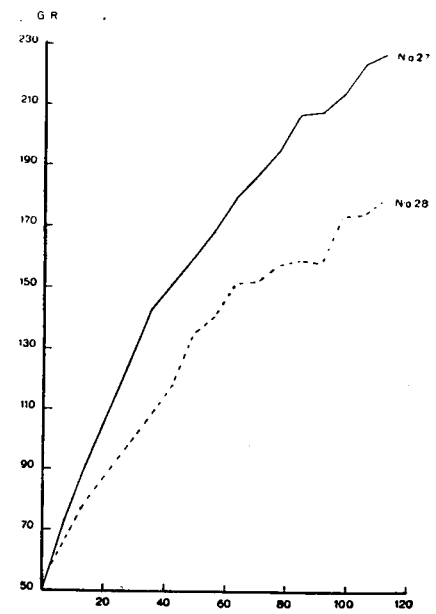
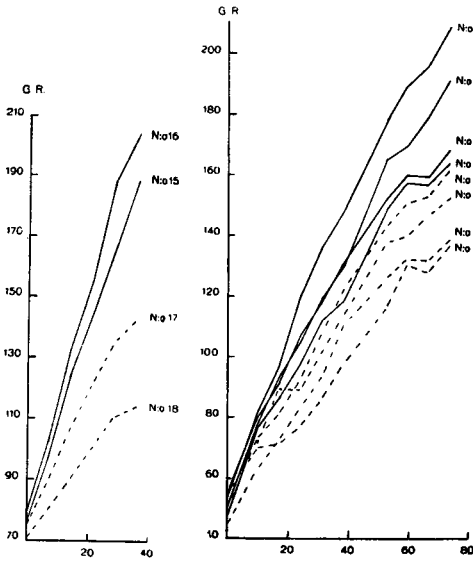
Ca-Laktat + 5H ₂ O	3·900 g
K ₂ HPO ₄	2·860 „
CaHPO ₄ + H ₂ O	1·620 „
NaH ₂ PO ₄ + H ₂ O	1·041 „
MgSO ₄	0·798 „
NaCl	0·518 „
Fe-Oxydulcitrat	0·355 „
KJ	0·010 „
MnSO ₄	0·002 „
NaF	0·0004 „

Xerophthalmie wurde sehr oft beobachtet und zwar verschiedenen Grades, niemals fanden sich sichere makroskopische Zeichen von Rachitis; beinahe immer deutliche Wachstumshemmung. Blutserumanalysen und histologische Untersuchungen wurden nicht vorgenommen. Wie weit sich die einzelnen avitaminotischen Symptome zur Zeit des Versuches entwickelt hatten, beruht auf verschiedenen Umständen: Vitamingehalt der Nahrung des Muttertieres, Alter der Jungen beim Beginn und Länge der Diätperiode sowie eine Anzahl unkontrollierbarer Voraussetzungen individueller Art, denn auch bei größtmöglicher Gleichförmigkeit der äußeren Bedingungen verhalten sich bekanntlich alle Tiere nicht ganz gleich bezüglich Ausbruch und Schwere der avitaminotischen Symptome (vgl. die Wachstumskurven Figg. 1 bis 7).

Methodik der Vagusreizung.

Wie schon oben erwähnt wurde, benutzten wir faradische Reizung des Vagus in situ. Die Tiere mußten zu diesem Zwecke narkotisiert werden. Vorzüglich eignete sich dazu Chloralhydrat, 0·2 bis 0·5 cem einer 30 prozent. Lösung subkutan injiziert.

Den Strom lieferten 6 bis 8 parallel gekoppelte Akkumulatoren. Im primären Stromkreis wurde der bekannte Bernsteinsche elektromagnetische Hammer statt des gewöhnlichen Hammers des Zimmermannschen Induktoriums benutzt. Ein Voltmeter konnte durch einfaches Umlegen eines Stromwenders eingekoppelt werden, um die relative Konstanz der Stromspannung zu kontrollieren. Der sekundäre Strom wurde während des Versuches direkt zu einem kleinen Kontaktapparat geleitet, nachher aber auf dem Umwege der Wheatstoneschen Brücke, um eine Bestimmung des Nervenwiderstandes zu ermöglichen. Als Kontaktapparat wurde eine



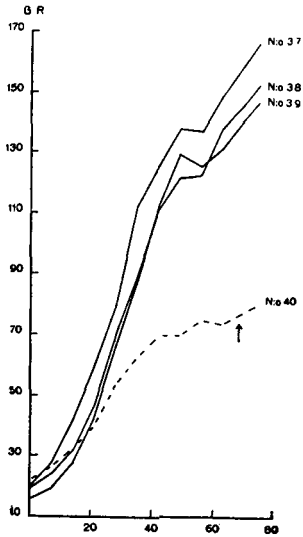


Fig. 6.

Figg. 1 bis 7.

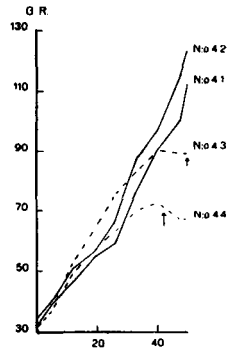


Fig. 7.

Die Wachstumskurven der Versuchstiere. Die Abszisse gibt die Zeit in Tagen, die Ordinate das Gewicht in Gramm an. — Normaltiere, --- avitaminotische Tiere. ↑ bezeichnet das Auftreten von Ophthalmie.

kreisrunde Metallscheibe benutzt, die während ihrer Rotation einen Kontakt 8 Sek. lang schloß. Mit diesem Apparat standen die Elektroden — Ludwigs Modell — in Verbindung. Die Bestimmung des Nervenwiderstandes wurde in der üblichen Weise durchgeführt: Vergleichung mit einem bekannten Widerstand bei maximaler Stromstärke, so daß ziemlich kleine Verschiebungen des Gleitkontaktes der Brücke Veränderungen der Schallstärke eines Telephons erzeugten. Nur in seltenen Fällen war der Nervenwiderstand so hoch, daß eine auch nur verhältnismäßig exakte Bestimmung unmöglich war.

Nach beendigter Präparation wurde die Elektrode durch einen Seitenschnitt in der Gegend des linken Ohres unter Muskeln und Faszien zu dem kopfwärts abgebundenen linken Vagus eingeschoben und gut versenkt. Die rechte Karotis wurde über ein kleines metallenes Stativ gezogen und dadurch etwas gehoben, was eine direkte Registrierung ihrer Pulsation mit Hilfe einer Lichtprojektion nach der zu derartigen Zwecken besonders geeigneten Methode von C. Tigerstedt¹ ermöglichte. Das Gefäß erscheint demnach als Schatten in einem Lichtkegel, der durch ein Mikroskop einer bewegten photographischen Platte zugeleitet wird, welche die pulsatorischen Bewegungen des Schattens in geeigneter Vergrößerung aufnimmt. Die Zeit in Sekunden und die Reizperiode wurden ebenfalls markiert (vgl. Fig. 8).

¹ C. Tigerstedt, *Acta soc. scientiarum Fennicae*. 1918. Bd. XLVIII. Nr. 2.

Der Versuch gestaltete sich folgendermaßen: Die Reizung wurde mit einer Zwischenzeit von 2 Minuten, die an einer Stoppuhr abgemessen wurde, bei bzw. 20, 15, 10, 5 und 0 cm Abstand der sekundären Rolle vorgenommen. Falls Herzblock bei irgendeinem Rollenabstand eintrat und somit maximale Wirkung erreicht worden war, wurde der Versuch schon bei diesem Rollenabstand abgebrochen. Der Strom wurde nachher durch die Wheatstonesche Brücke geschickt, und 4 bis 5 Bestimmungen des Nervenwiderstandes mit je 1 Minute Zwischenraum folgten. Der Mittelwert dieser Bestimmungen ist in die Tabelle (S. 36) eingetragen. In den meisten Fällen war der Widerstand jedes Tieres

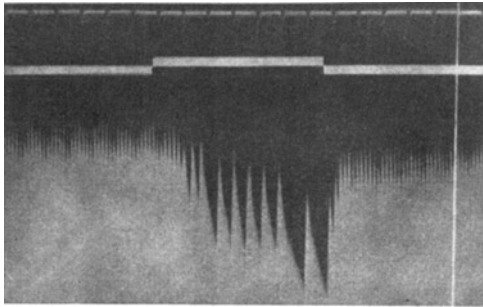


Fig. 8.

Einfluß der Vagusreizung auf die Frequenz des Pulses in der Karotis.

Die oberste Linie: Zeit in Sekunden.

Die folgende Linie: Reizungsperiode. Unten: Der Schatten des pulsierenden Gefäßes.

ziemlich konstant, variierte aber von Tier zu Tier recht erheblich. Oft kam es auch vor, daß der Nervenwiderstand während der Messungszeit allmählich sank. Da indessen der Nervenwiderstand — wie näher ausgeführt wird — in keiner regelmäßigen Beziehung zu der durch prozentuelle Schlagverminderung ausgedrückten Vagussensibilität steht, haben wir immer nur die abgerundeten Mittelwerte angegeben.

Betrachten wir nunmehr die Tabelle (S. 36 bis 37). Die linke Hälfte bezieht sich auf die Kontrolltiere, die also die Grundkost erhielten, in der rechten Hälfte sind die Resultate der Versuche mit den auf vitaminfreier Diät gehaltenen Tieren dargestellt, und zwar so, daß Kontroll-

¹ In der Gruppe VIIa wurde den Kontrollratten dieselbe Diät wie den Avitaminotischen gegeben, nur wurden 5 Proz. Fett durch Ol. jecoris aselli ersetzt.

Übersicht über die

Kontrolltiere.

Bezeichnung	Geschlecht		Alter beim Versuch (Tage)	Beobachtungsperiode (Tage)	Gewicht beim Versuch; g	Pulsfrequenz pro $\frac{1}{10}$	Frequenzabnahme in Proz. bei der Vagusreizung					Nervenwiderstand (Ohm)
							Rollenabstand in cm					
							20	15	10	5	0	
Vorversuche	1	♂	56	31	89.0	34-35	—	—	×	×		
	2	♂			84.0	34-38	—	—	—	14.7		
	3	♂			85.0	36-38	—	—	18.4	33.3		
	4	♂	67	44	117.0	39-40	—	—	57.5	70.0		
	5	♂			64.0	27-30	—	—	63.0	89.6		
	6	♂	68	43	72.0	34-36	—	30.5	33.3	41.2		
	7	♂	54	23	65.0	34-35	—	—	38.2	82.8		
Mittelwert						—	4.4	35.1	55.3			
Ia	15	♂	etwa 100	36	188.5	47-48	—	39.6	×	82.9	100	2510
	16	♂			203.0	40-43	—	—	65.8	100	100	4720
Mittelwert						—	19.8	65.8	91.9	100		
IIa	19	♂	104	73	209.0	34-35	—	—	80.0	85.3	100	2920
	20	♂			164.0	24	—	—	100	100	100	3240
	21	♂			168.0	33-38	—	—	—	—	100	3010
	22	♂			192.0	20-22	—	—	—	80.9	100	3220
Mittelwert						—	—	45.0	66.5	100		
IIIa	27	♂	143	115	227.0	46-47	—	—	71.1	100	100	7230
	Mittelwert						—	—	71.1	100	100	
IVa	29	♂	120	102	228.0	39-40	—	56.4	100	100	100	6760
	30	♂			263.0	29-31	—	10.3	×	100	100	3030
Mittelwert						—	33.4	100	100	100		
Va	33	♂	114	94	162.0	38	—	—	100	100	100	6770
	34	♂			200.0	39-40	—	—	60.5	100	100	2040
Mittelwert						—	—	80.2	100	100		
VIa	37	♂	96	74	165.5	26-28	46.4	48.1	84.6	100	100	4000
	38	♂			152.0	32-34	—	78.1	100	100	100	6980
	39	♂			146.0	35	74.3	85.7	100	100	100	17200
Mittelwert						40.2	70.6	94.8	100	100		
VIIa	41	♂	75	49	112.0	37	—	10.8	100	100	100	×
	42	♂			124.0	39-40	—	—	—	100	100	4800
Mittelwert						—	5.4	50.0	100	100		

× bezeichnet Mißlingen

Versuchsergebnisse.

Avitaminotische Tiere.

Bezeichnung	Gruppe	Nr.	Geschlecht	Alter beim Versuch (Tage)	Diätperiode (Tage)	Gewicht beim Versuch; g	Pulsfrequenz pro 1/16	Frequenzabnahme in Proz. bei der Vagusreizung					Nervenwiderstand (Ohm)
								Rollenabstand in cm					
								20	15	10	5	0	
Vorversuche	8		+O ₂	56	31	44·0	22-24	—	4·2	75·0	86·4		
	9		+O ₂			37·0	24-26	11·5	64·0	70·8	×		
	10		+O ₂			67·0	39-40	—	10·0	25·0	51·3		
	11		O ₂	67	44	75·0	31-33	—	21·9	74·2	×		
	12		+O ₂			70·0	45-46	13·0	32·6	51·1	71·1		
	13		+O ₂	65	42	70·0	32-35	5·7	26·5	48·6	81·2		
	14		+O ₂			76·0	41-43	—	16·3	24·4	57·0		
Mittelwert								4·3	25·1	52·7	69·4		
Ib	17		♂	etwa 100	36	142·5	44-46	—	21·7	100	100	4020	
	18		♂			114·0	42-43	—	—	×	100	100	5290
Mittelwert								—	10·9	100	100		
IIb	23		O ₂	104	73	136·5	33-35	—	—	8·8	100	3570	
	24		O ₂			152·5	39-40	—	65·0	100	100	100	2510
	25		O ₂			162·0	35-36	—	—	—	100	100	2580
	26		O ₂			139·0	40-41	60·0	68·3	100	100	100	8130
Mittelwert								15·0	33·3	52·2	100	100	
IIIb	28		♂	143	115	179·0	33-36	45·5	80·6	100	100	6930	
Mittelwert								45·5	80·6	100	100	100	
IVb	31		+O ₂	120	102	141·5	35-38	—	69·4	100	100	11740	
	32		+O ₂			127·0	33-34	—	90·9	100	100	100	16310
Mittelwert								—	80·2	100	100	100	
Vb	35		+O ₂	114	94	104·0	26-27	—	84·6	100	100	12000	
	36		+O ₂			121	101	96·0	24-26	—	—	100	100
Mittelwert								—	42·3	100	100	100	
VIb	40		+O ₂	96	74	80·0	35-36	77·8	100	100	100	100	20300
	+												
Mittelwert								77·8	100	100	100	100	
VIIb	43		O ₂	75	49	89·0	38	—	26·7	100	100	8990	
	44		+O ₂			67·0	32-36	36·1	— (!)	81·8	100	100	14670
Mittelwert								18·0	13·4	90·9	100	100	

der Registrierung.

ratten und avitaminotische Ratten desselben Wurfes mit gleichen Gruppenbezeichnungen (I, II, III usw.) nebeneinander zu finden sind. Es erwies sich bald, daß nur Tiere desselben Wurfes miteinander verglichen werden konnten. Die gefundenen Unterschiede, wenschon deutlich vorhanden, waren doch nicht so hochgradig, daß sie in allen Fällen Ungleichheit der Versuchsbedingungen wie Alter der Jungen, Vitamingehalt der Nahrung usw. hätten überkompensieren können. Nur in den acht obersten Horizontalreihen, die statt mit der betreffenden Gruppenbezeichnung als „Vorversuche“ bezeichnet sind, haben wir auch einige Tiere verschiedener Herkunft und verschiedenen Alters miteinander verglichen. In den „Vorversuchen“ führten wir noch keine Bestimmungen des Nervenwiderstandes aus. Mit Tieren desselben Wurfes wurden alle Reizversuche innerhalb 1 bis 2 Tagen angestellt, um die Bedingungen möglichst gleichförmig zu gestalten. Bei jeder Ratte ist in der Tabelle angegeben: Wurf, Nummer, Geschlecht, Alter beim Versuch, Dauer der Beobachtungs- bzw. Diätperiode, Gewicht am Versuchstag. Die übrigen Angaben wie Wachstumskurven und dergleichen finden sich in den Tafeln (Figg. 1 bis 7). Außerdem gibt die Tabelle das Resultat der Reizungsversuche an: die Herzfrequenz vor der Reizung ist pro $\frac{1}{10}$ Min. berechnet, die Reizung bei Rollenabständen von bzw. 20, 15, 10, 5 oder 0 cm setzt die Frequenz um ein gewisses Prozent des Ausgangswertes herab. Diese Zahl findet sich unter den verschiedenen Rollenabständen. Totaler Herzstillstand ist somit gleich 100 Proz. Frequenzabnahme. Die fett gedruckten Zahlen sind die Mittelwerte jedes Wurfes, nur in der obersten Reihe (Vorversuche) Mittelwerte verschiedener Würfe.

Der Vergleich dieser Mittelwerte der rechten und linken Seite der Tabelle zeigt, daß bei den avitaminotischen Ratten ein Vagus-effekt in der Regel bei einem Rollenabstand eintritt, bei dem noch keine Vaguswirkung auf das Herz der Kontrollratten festzustellen ist, und daß er bei den Rollenabständen, wo ein Vaguseffekt auf sowohl normal wie avitaminotisch ernährte Ratten eintritt, bei den Kontrolltieren deutlich schwächer ist. Erst wenn der sekundäre Strom sehr stark wird, gleichen sich diese Differenzen aus. In beiden Fällen ist dabei Herzblock oder wenigstens sehr hochgradige Hemmung vorhanden.

Nicht nur die Mittelwerte aus den Versuchen mit den verschiedenen Würfen deuten auf eine Steigerung der Vagussensibilität bei Mangel an fettlöslichen Vitaminen, sondern auch die bei den einzelnen Tieren er-

haltenen Resultate sind so gut wie immer in demselben Sinne ausgefallen: es kam vor, daß einzelne avitaminotisch ernährte Ratten für die Vagusreizung nicht besonders empfindlich waren, die relative Unempfindlichkeit der Kontrolltiere bei den längeren Rollenabständen erscheint uns aber zu auffallend, als daß sie sich übersehen ließe. Ist es doch bei der Schwierigkeit, über die Natur der gefundenen Sensibilitätssteigerung im Vagus etwas Bestimmtes auszusagen, unmöglich anzugeben, inwiefern der ganz unzureichend definierte Zustand der Avitaminose gerade die Faktoren beeinflußt hat, die mit der Vagussensibilität in Zusammenhang stehen. Solange die einzelnen Wirkungsmodi der fettlöslichen Vitamine noch nicht genauer untersucht sind, läßt sich, mit anderen Worten, nicht angeben, ob im einzelnen Fall die Ratte derartig vom Vitaminmangel beeinflußt ist, wie es eine Steigerung der Vagus-sensibilität erfordern würde. Nur in drei Fällen haben wir beobachtet, daß eine Kontrollratte empfindlicher für die Reizung war als eine avitaminotisch ernährte Ratte desselben Wurfes. Wenn aber mehrere Tiere eines und desselben Wurfes zur Verfügung stehen, gleichen sich derartige Unregelmäßigkeiten aus. Es muß auch in Betracht gezogen werden, daß die Präparation des Vagus ein Unsicherheitsmoment in die Versuche einführt, da der Nerv Beschädigungen ausgesetzt sein kann, die keine exakte Beurteilung gestatten.

Wie die Tabelle zeigt, variiert der Nervenwiderstand in hohem Grade von Tier zu Tier. Es ließe sich erwarten, daß ein stärkerer Vagus-effekt mit einem niedrigen Nervenwiderstand parallel gehen würde, dies ist aber keineswegs der Fall. Vielmehr haben einige sehr empfindliche Nerven hohe Widerstände, so daß es scheint, als ob die irgendwie erworbene höhere Sensibilität des Vagus von derartigen Variationen der Stromstärke, welche eine Veränderung des Nervenwiderstandes um einige 1000 Ohm veranlassen können, unabhängig wäre.

Bei der Beurteilung der Resultate haben wir auch andere Gesichtspunkte berücksichtigt. Es galt in erster Linie nachzuweisen, daß Geschlecht und Gewicht des Tieres oder Dosis des Narkosemittels die Ergebnisse nicht beeinflußt hatten. Leider fanden sich unter den avitaminotischen Ratten mehr weibliche Tiere als unter den Kontrollratten¹, aber ein Blick auf die Tabelle zeigt, daß zwischen Vagus-effekt und Geschlecht kein regelmäßiger Zusammenhang besteht. Das gleiche gilt für die Wirkung der angewandten Chloraldosis, die in der Tabelle nicht an-

¹ Beim Beginn eines Diätversuches sind die Ratten zu jung, um geschlechtliche Differenzen erkennen zu lassen.

gegeben ist. Vergleicht man wiederum das Gewicht der sensiblen mit dem der weniger empfindlichen Tiere, so finden sich auch in den Würfen verschiedenen Alters mehrere avitaminotische, hochempfindliche Ratten, die schwerer sind als die Kontrollratten anderer Würfe. Es ist daher unwahrscheinlich, daß die Größe des Tieres an sich für die Empfindlichkeitssteigerung im Vagus bestimmend wäre.

Daß in der Tat die Avitaminose für den Ausgang des Vagusreizversuches bei den empfindlicheren Ratten ausschlaggebend ist, erhält eine weitere Bestätigung durch den Sachverhalt, daß in den Würfen III bis VII, wo die avitaminotischen Symptome (Wachstumshemmung, Xerophthalmie, schlechte Haltung und Selbstpflege der Tiere) deutlich zum Ausdruck kamen, auch die Sensibilität größer war als in den Gruppen I bis II, wo vor dem Ausbruch der Symptome die Tiere geprüft wurden. Leider erfolgt mit zunehmender Avitaminose eine hochgradige allgemeine Schwäche der Tiere, so daß ein großer Prozentsatz unserer avitaminotischen Tiere infolgedessen während des Versuches starb oder in agone war (vgl. z. B. Gruppe VIIb) und das Material somit erheblich reduziert wurde.