

Schnappatmung («gasping») als Folge eines verstärkten atemhemmenden Vagusreflexes

Über die zentrale Atmungsregulation herrscht die Auffassung, dass die primitive Atemform, das «gasping» (Schnappatmung, bei der die oberen Atmungsorgane des Kopfes stark beteiligt sind) im wesentlichen durch Ausfall der höheren, phylogenetisch jüngeren Zentren oder fehlende Arbeitsaufnahme dieser Zentren nach der Geburt (CROSS¹) entsteht. Durch unvollständige Zerstörung des inspiratorischen Areals der Medulla oblongata konnte VASELLA² beim Kaninchen ein «gasping» erzeugen. Es bleibt dann ein einfaches, älteres Atemzentrum für die Aufrechterhaltung der oft ungenügenden Ventilation übrig (BUCHER³). Bei einer starken Atemhemmung tritt somit bei Säugetieren noch die primitive Respirationsbewegung auf, die vorwiegend durch Kopfmuskeln, besonders Pharynx- und Larynxmuskeln, unter anderem auch der Nasenflügel, ausgeführt wird, die bei der Kiemenatmung der niederen Vertebraten eine aktive Rolle bei der Ventilation übernehmen.

Die höheren Atmungsregulationszentren können sowohl direkt durch *atmdepressive Substanzen* wie auch reflektorisch über *atemhemmende Afferenzen* gedämpft werden. Wie die zentral bedingte Dyspnöe durch Lähmung höherer integrierender Zentralstellen, führt auch eine reflektorisch über den afferenten Vagus induzierte Inspirationshemmung zum Typ des «gasping». Dieser Mechanismus wurde einer Prüfung unterzogen.

Methodik. Bei Hunden, Katzen, Ratten und Meerschweinchen wurde die Atemtätigkeit mit der Mareyschen Kapsel oder ganzkörperplethysmographisch und als Atemfrequenz auf dem Russkymographion aufgezeichnet. Einzelheiten siehe HAPKE⁴. Daneben wurde der Blutdruck aus der A. carotis mit einem Quecksilber-Manometer registriert. Es wurden die Wechselbeziehungen zwischen Protoveratrin A (1, 5 und 10 µg/kg i.v.), das durch Erregung vagaler Rezeptoren eine reflektorische Atemhemmung hervorruft (WANG et al.⁵; ABREU et al.⁶), und Hexobarbital-Na (10 mg/kg i.v.), das zu einer zentralen Atemdämpfung führt, untersucht.

Zur Abschwächung der vagalen Atemhemmung diente Oxypolyäthoxydodecan (3 und 5 mg/kg i.v.), zur Verminderung der zentralen Atemdämpfung wurde Pentylenetetrazol (10 und 20 mg/kg i.v.) angewandt.

Ergebnisse. An Hunden und Meerschweinchen wurde beobachtet, dass infolge starker vagaler Afferenz (Protoveratrin-Effekt) die atmdepressive Wirkung des Narkotikums synergistisch verstärkt wurde. Bei Katzen und Ratten ließen sich derartige Atemtypen durch die angewandte Methode nicht immer eindeutig erzielen. Der zentral gesteuerte Atemzyklus war auf diese Weise sowohl

direkt durch das Narkotikum wie reflektorisch über Vagusafferenzen gehemmt.

Nach einer unterschiedlich langen apnoischen Phase nach der kombinierten Protoveratrin- und Hexobarbital-Injektion trat dann das «gasping» mit einer Frequenz von 12–15/min bei Ratten und Meerschweinchen, von etwa 10/min bei Hunden und Katzen auf, welches entweder in eine terminale, letal endende Apnoe überging oder sich langsam zum regulären Atemtyp zurückbildete.

Während dieser Phase der Schnappatmung war durch intravenöse Injektionen zentral wirkender Analgetika vom Pentylenetetrazol-Typ eine Normalatmung zu erzielen. Durch Fortfall der atemhemmenden Afferenzen nach einer intravenösen Injektion eines endoanästhetisch wirkenden Mittels (ZIPF⁷) trat ebenfalls der normale Atemtyp sofort wieder ein.

Es muss aus den Versuchsergebnissen gefolgert werden, dass die Schnappatmung nicht allein durch Ausfall der höheren Atemzentren infolge einer Lähmung entsteht, sondern ebenfalls reflektorisch durch (vagale) Hemmung des an sich noch funktionstüchtigen Inspirationszentrums. Während der «gasping»-Periode kann durch pharmakodynamische Stimulierung des Inspirationszentrums die Schnappatmung beendet werden, was aber ebenso durch Fortfall atemhemmender vagaler Afferenzen ohne direkte Beeinflussung der Atemzentren geschieht.

Summary. Gasping is discussed as being a primitive type of breathing which may occur after depression of some parts of the central regulating system of respiration. Gasping may likewise occur as a result of reflex-induced inhibition of the inspiratory centre by vagal afferences. Analgesics (pentetetazole) and 'endoanesthetic' acting drugs (hydroxyethoxydodecane) stop gasping, either by stimulating the respiratory centres or by abolishing the reflex-induced inhibition.

H.-J. HAPKE

Pharmakologisches Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover (Deutschland), 21. September 1961.

1 K. W. CROSS, M. KLAUS, W. H. TOOLEY und K. WEISSE, J. Physiol. 151, 551 (1960).

2 F. VASELLA, Helv. physiol. Acta 19, 166 (1961).

3 K. BUCHER, *Reflektorische Beeinflussbarkeit der Lungenatmung* (Wien 1952).

4 H.-J. HAPKE, Arch. int. Pharmacodyn., im Druck.

5 S. C. WANG, S. H. NGAI und R. G. GROSSMAN, J. Pharmacol. exp. Therap. 113, 100 (1955).

6 B. E. ABREU, A. B. RICHARDS, W. M. ALEXANDER und L. C. WEAVER, J. Pharmacol. exp. Therap. 112, 73 (1954).

7 H. F. ZIPF und E. KREPPEL, Arch. exp. Path. Pharmak. 226, 340 (1955).

depuis longtemps¹, risque d'avoir une influence néfaste au cours de l'étude d'une pièce entière.

Nous avons rejeté la technique des broyats; elle ne permet pas d'utiliser une petite quantité de tissu; elle endommage un pourcentage important de cellules; d'ailleurs KREBS² a observé, en utilisant du poumon broyé de lapin, une consommation d'O₂ inférieure à celle qu'il avait obtenue avec des coupes fines. Quant aux homogénats, à partir desquels on isole les fractions subcellulaires, ils sortent du cadre de cette note.

1 A. B. DU BOIS, W. O. FENN et A. G. BRITT, J. appl. Physiol. 5, 13 (1952).

2 H. A. KREBS, Biochim. biophys. Acta 4, 249 (1950).

STUDIORUM PROGRESSUS

Un microtomie pour tissu pulmonaire vivant

La préparation de pièces de poumon en vue d'études métaboliques pose des problèmes propres à cet organe, en raison d'une part des caractéristiques physiques du tissu, d'autre part de ses particularités histologiques.

Nous ne sommes pas partisan des techniques de perfusion de lobe ou de poumon entier, si perfectionnées qu'elles aient été par les physiologistes; un œdème réactionnel, facile à créer malgré toutes les précautions prises, ne peut que perturber les échanges; en outre, la capacité du tissu pulmonaire à stocker le CO₂, connue

Nous pensons que seules les coupes minces permettent d'étudier dans de bonnes conditions le métabolisme du tissu pulmonaire isolé.

Ces coupes doivent respecter cinq conditions:

(1) Le tissu doit rester vivant. Les microtomes habituels des histologues, nécessitant une fixation des pièces, ne peuvent convenir. Les coupes seront réalisées à froid, afin de ralentir les processus enzymatiques entre le moment du prélèvement et le début des mesures de métabolisme; la membrane des cellules sera respectée, il faut donc rejeter la congélation préalable, malgré son intérêt dans un organe aussi peu ferme que le poumon; enfin la technique de coupe sera d'exécution rapide afin d'écourter l'attente et la souffrance du tissu.

(2) L'épaisseur des coupes doit être régulière, afin que les conditions soient identiques d'une expérience à l'autre.

(3) L'épaisseur des coupes ne doit pas dépasser une valeur maximale, au-delà de laquelle les échanges ne pourraient se faire correctement.

WARBURG³ a proposé une formule permettant de calculer l'épaisseur maximale des coupes de tissu dans les mesures de consommation d'oxygène:

$$d' \text{ en cm} = \sqrt[8]{8 \cdot C_o \cdot D/A}$$

C_o = pression partielle de l' O_2 autour des coupes en atmosphères.

D = constante de diffusion, c'est-à-dire la vitesse de diffusion de l' O_2 en ml/min à travers une colonne de tissu de 1 cm^2 de section et de 1 cm de longueur à la pression de 1 atmosphère. Selon KROGH, $D = 0,000014$ à 38°C (valeur moyenne calculée sur plusieurs tissus). Nous avons corrigé D en fonction de la densité du poumon: D pulmonaire = 0,000010.

A = vitesse de la respiration en ml O_2 /min/ml de tissu.

En prenant, pour le poumon de rat, une valeur de QO_2 de 7 $\mu\text{l } O_2/\text{h}/\text{mg}$ de poids sec (valeur moyenne obtenue par nous avec des coupes très fines - 0,3 à 0,5 mm - de quelques mg de tissu), un rapport: poids frais/poids sec de 5 et une valeur de densité de 0,7, nous avons trouvé $d' = 0,07$ en atmosphère d'oxygène pur. Les coupes de poumon de rat doivent donc avoir une épaisseur maximale de 0,7 mm⁴.

Cependant, le poumon est un tissu naturellement découpé grâce aux bronchioles et aux alvéoles. Il est donc probable que d' peut sans inconvénients être supérieur à la valeur calculée.

(4) Le lavage du sang doit être parfait; sinon les mesures concernent en partie le tissu sanguin.

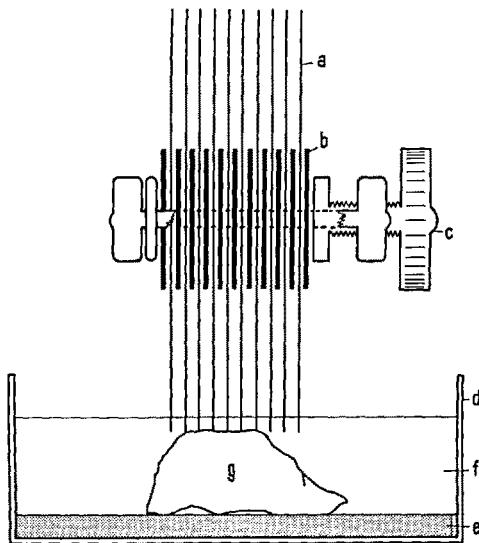
(5) Une coupe ne doit pas être anatomiquement localisée dans un lobe de rat, mais intéresser la section totale de ce lobe, de la plèvre au hile.

Le rasoir à main libre et le microtome de DEUTSCH⁵ ont la faveur de nombreux expérimentateurs; ils nous ont paru trop primitifs, car on ne peut réaliser avec eux des coupes d'épaisseur constante.

Nous avons utilisé successivement 7 techniques de coupe (indiquées de A à G sur le Tableau).

Le microtome de HERBAIN⁶, excellent pour le rein ou le foie, ne découpe pas le poumon en tranches régulières en raison de l'élasticité du tissu qui, même avec une lame parfaitement affûtée, se laisse facilement déprimer; chaque retombée de la lame ne nous a pas fourni une coupe à coup sûr; une coupe peut donc avoir deux ou trois fois son épaisseur théorique; en outre, l'inclusion de la pièce dans la gélose ou le beurre de cacao préalablement liquéfiés par chauffage à 35°C puis le refroidissement de l'ensemble au freezer, nécessitent un certain délai, au cours duquel le tissu peut être détérioré.

Les techniques B et C ont été réalisées, après décollement du feuillet viscéral de la plèvre, avec des ciseaux à



Un microtome pour tissu pulmonaire vivant.

lame fine et courbe, dits de MARTEL-POTTS, utilisés par les neurochirurgiens pour leurs dissections fines; leurs inconvénients ont été l'irrégularité d'épaisseur des coupes, malgré tout le soin que nous prenions à les réaliser, et l'électivité anatomique des coupes, puisque celles-ci intéressaient forcément au départ la corticalité. Nous avons amélioré le QO_2 de 10% environ en travaillant non plus à l'air libre (15 min d'exposition à la température du laboratoire), mais en vitrine réfrigérée⁷ à -12°C. Par contre, l'utilisation d'un matériel de coupe beaucoup plus précis, les pinces-ciseaux de PASCHEFF-WOLFF, qu'emploient les ophtalmologistes au cours des iridotomies, ne nous a pas paru préférable à celle des ciseaux de MARTEL-POTTS, car leur maniement est long et délicat.

Aussi nous avons imaginé et construit un microtome spécial, dont voici la description:

Dix lames de rasoir de sûreté (a), empilées en batterie, sont séparées les unes des autres par des pièces intermédiaires métalliques (b) de 7 mm environ de hauteur et d'épaisseur identique et définie. L'ensemble est fortement solidarisé par une grande pince de MOHR à vis micrométrique (c). D'autre part, on a fait fondre au préalable de la paraffine dure carbonnée dans un cristallisoir (d), dont le fond est recouvert d'une couche de quelques mm (e), qui se durcira par passage au freezer.

Au moment de l'emploi, le cristallisoir est rempli d'une solution glacée de NaCl à 90% (f) et la pièce pulmonaire y est plongée (g). Le microtome est placé au-dessus, les lames étant verticales, puis on lui fait attaquer le tissu par un mouvement de va-et-vient horizontal progressivement descendant. La fixation de la pièce sur le fond paraffiné n'est pas utile. En quelques secondes, on obtient 9 coupes, bien visibles sur le fond noir, qu'il ne reste plus qu'à tronçonner en fragments de 1/2 cm. La paraffine a permis aux lames de dépasser la face inférieure de la pièce, sans que les tranchants soient ébréchés. Après des essais avec

³ O. WARBURG, *Metabolism of Tumours* (Constable éd., Londres 1930).

⁴ Pour le poumon humain, nous avons établi $d' = 0,16$ cm, car $QO_2 = 1,67$.

⁵ W. DEUTSCH, J. Physiol. 87, 56 P (1936).

⁶ M. HERBAIN, Bull. Soc. Chim. biol. 32, 1062 (1950).

⁷ P. MANDEL, Bull. Soc. Chim. biol. 41, 173 (1959).

Étude de différentes techniques de coupe d'un lobe pulmonaire chez le rat

| Nombre d'expériences | Instrumentation | Épaisseur de coupe en mm ^a | Localisation anatomique des coupes dans le lobe | Atmosphère de coupe | Durée de coupe d'environ 250 mg de poids frais | Lavage du sang | QO^2 $\mu\text{l O}_2/\text{h/mg}$ poids sec | Inconvénients des coupes |
|----------------------|---------------------------|---------------------------------------|---|---|--|----------------|--|---|
| A 8 | microtome de HERBAIN | 0,4 théor. | totales | 0°C dans beurre de cacao préalablement chauffé à 35°C | 5 min | médiocre | 4,90 ± 0,71 | 1/2 h d'attente (refroidissement) très irrégulières d'épaisseur |
| B 17 | ciseaux de MARTEL-POTTS | 0,8 à 1,0 | corticales sous-pleurales | à l'air libre | 15 à 20 min 2 fois | assez bon | 5,95 ± 0,49 | irrégulières d'épaisseur lentes à réaliser non totales |
| C 4 | id. | id. | id. | en vitrine frigorifique -12°C | 20 min 2 fois | id. | 6,54 | irrégulières d'épaisseur lentes à réaliser non totales |
| D 3 | ciseaux de PASCHEFF-WOLFF | 0,7 à 0,8 | id. | id. | 25 min 2 fois | bon | 6,38 | assez irrégulières d'épaisseur très lentes et pénibles à réaliser non totales |
| E 2 | microtome spécial | 0,70 | totales | 0°C dans NaCl 90/00 | 3 min | médiocre | 5,71 | leur épaisseur ne permet pas un lavage suffisant |
| F 5 | id. | 0,45 | id. | id. | 8 min | excellent | 6,71 | se dilacèrent |
| G 18 | id. | 0,55 | id. | id. | 5 min | id. | 7,00 ± 0,56 | assez lentes à réaliser |

^a Épaisseur maximale: $\sqrt[3]{8 C_0 D/A} = 0,7 \text{ mm}$

des coupes de 0,70 mm (leur épaisseur ne permet pas un lavage du sang suffisant), puis de 0,45 mm (elles se dilacent), nous avons retenu une épaisseur de 0,55 mm.

Les avantages de ce microtome sont les suivants: (1) Une valeur moyenne de consommation d'oxygène plus forte qu'avec les 6 autres techniques. A condition d'utiliser des lames d'acier d'épaisseur très minime (faciles à trouver dans le commerce⁸), une coupe ne peut guère souffrir d'être «coincée» entre 2 lames; le tissu pulmonaire se laisse déprimer en raison de la présence d'air dans les alvéoles. (2) Une épaisseur de coupe constante. Il faut, bien entendu, que les intermédiaires métalliques soient rigoureusement identiques d'épaisseur et placés de façon correcte; il faut aussi prendre grand soin, lors du serrage de l'étau, de ne pas gauchir les lames, sinon l'épaisseur des coupes ne serait pas uniforme. (3) La rapidité de découpage de 250 mg de tissu (5 min, y compris le lavage des coupes); aucune autre méthode de microtomie ne l'égale sur ce point. (4) Le lavage excellent du sang. (5) Une coupe intéressera la totalité de la section d'un lobe de rat, de la plèvre au hile. (6) Le tissu peut être traité aussitôt après son prélèvement. (7) La construction de l'appareil est facile et son prix de revient modique.

Nous avons utilisé ce microtome en vue de la mesure des échanges gazeux de coupes de poumon chez le rat et chez

l'homme^{9,10} et de l'étude du mode de dégradation du glucose par des coupes de poumon humain^{10,11}.

Summary. Description of a microtome of easy build, permitting rapid production of regular slices of 0.55 mm thickness, from pulmonary tissue without preparation, in an icy liquid medium.

J. HÉRAN,
avec la collaboration technique de
F. WEIGAND

Departement des Applications Biologiques, Centre de Recherches Nucléaires de Strasbourg-Cronenbourg (Bas-Rhin, France), le 27 juillet 1961.

⁸ Nous avons été satisfaits des lames «Swing Extra Quality», de 0,08 mm d'épaisseur, fabriquées par la firme Swing, à Sandviken (Suède).

⁹ J. HÉRAN, P. MANDEL, G. WEILL, L. MANDEL et W. FLORANGE, Société de Biologie (Séance du 22 avril 1961).

¹⁰ J. HÉRAN, P. MANDEL, G. WEILL et W. FLORANGE, Rev. Tub. Pneumologie, sous presse.

¹¹ J. HÉRAN, P. MANDEL, G. WEILL et V. PANTESCO, Communication au XIe Congrès National d'Anesthésiologie, Nancy (Mai 1961).

PRO EXPERIMENTIS

A Cytological Method for Sexing Young Chicks

It is a well known fact that the poultry breeders are very keen to know the sex of the chicks as soon as they come out of the eggs because they have to feed them differently for preparing the males for the table and the females for egg production. The technique of SANDNES¹ for the study of avian chromosomes from the developing pin feathers of birds has, therefore, been modified and adapted for determining cytologically the sex of the newly hatched chicks.

A developing wing feather from a young chick is plucked and the feather base slit with a razor blade. The inside of the proximal part of the feather base is then scraped in a watch glass containing distilled or tap water at 28–30°C. After 10–15 min, small pieces of the tissue are squashed in aceto-carmine or propionic-carmine on a slide. An examination of such a preparation under the high power of a microscope reveals a number of mitotic figures with well separated elements.

In a mitotic plate two groups of chromosomes are seen. There are large elements or macro-chromosomes inter-

¹ G. C. SANDNES, Science 119, 508 (1954).