

## Atmungseffekte bei intermittierender elektrischer Reizung der Medulla oblongata zu verschiedenen Zeitpunkten des Atmungszyklus beim Kaninchen<sup>1</sup>

Wenn bei der Katze und beim Kaninchen der Vagus während der *Inspiration* mit Einzelreizen von schwacher Intensität der Frequenz um 25 Imp/sec afferent gereizt wird, löst jeder Impuls mit kleiner Latenz eine kurze *Hemmung der Phrenicusaktivität* aus (RIJLANT<sup>2</sup>). Im ersten Drittel der Inspiration bleibt die Hemmung oft aus, was als Okklusionsphänomen so erklärt wurde, dass zu diesem Zeitpunkt die Phrenicustomoneure vom Atmungszentrum so stark aktiviert werden, dass die vagal-afferenten Einflüsse nicht wirksam werden können. Mit kurzen Reizserien von 80–140 Imp/sec erzielten BOYD und MAASKE<sup>3</sup> beim Hund vorübergehende Hemmungen der Inspiration; längere Serien beendeten die Inspiration vorzeitig. Verlegung der Serien in den Inspirationsbeginn verminderte deren Wirksamkeit. Afferente Reizung des N. laryngicus superior hemmt ebenfalls die Inspiration (RIJLANT<sup>4</sup>). LARRABEE und HODES<sup>5</sup> reizten bei der Katze diesen Nerven mit Serien von 50 Imp/sec. Um die Inspiration zu beenden, waren nach 7/10 der normalen Inspirationsdauer dreimal weniger Einzelreize nötig als zu deren Beginn. Eine Serie fixer Länge (bei einem Versuch 5 Einzelimpulse) erwies sich zu Inspirationsbeginn als wirkungslos, in deren Mitte hemmte sie diese Phase vorübergehend und gegen Ende der Inspiration beendete sie dieselbe. Die Folgerung wurde gezogen, dass das Atmungszentrum während der Inspiration durch ein höheres Zentrum zunehmend gehemmt wird und dass die Schwelle für Hemmefekte durch Afferenzen deshalb immer niedriger wird. RIJLANT<sup>4</sup> stellte weiterhin fest, dass bei der Katze und beim Kaninchen unmittelbar nach der erwähnten Hemmung durch die Vaguseinzelreize die *Phrenicusaktivität* «synchronisiert» und verstärkt erscheint. Vorübergehende Inspirationshemmung durch 5 Einzelreize verzögert nach LARRABEE und HODES<sup>5</sup> ausserdem den Ablauf der Inspiration merklich, so dass diese im günstigsten Fall um ein mehrfaches der Reizserien-Dauer verlängert wird. FALLERT<sup>6</sup> fand, dass beim Kaninchen mit afferenter Serienreizung des Vagus der Frequenz 90 Imp/sec eindeutig *inspiratorische Effekte* erzeugt werden können. Maschinelle Beatmung, deren Deflationsphasen zu kurz und zu schwach waren um Inspirationen auszulösen, wurden mit einer Reizserie pro In- und Deflation kombiniert; nur der mechanische und der elektrische Reiz zusammen führten zur Inspirationsauslösung. Dieselbe additive Wirkung konnte mittels elektrischer Reizung der Medulla oblongata erhalten werden (FALLERT<sup>7</sup>). Es zeigte sich jedoch, dass der unmittelbare Effekt der Reizserien meist in einer Hemmung der Zwerchfellaktivität besteht, an die sich nach Ende der Serie eine Aktivitätsverstärkung als inspiratorischer Rebound anschliesst (FALLERT<sup>8</sup>). Experimentell gut

belegt ist «die Tatsache, dass verfrühter Abbruch der Inspiration zu einem auch seinerseits verfrühten Einsetzen der nachfolgenden Inspiration führt» (WYSS<sup>9</sup>, p. 251), ungeachtet dessen, ob die Inspiration durch afferente Vagusreizung oder durch Luftsufflation beendet wird (KNOX<sup>10</sup>). Nach CLARK und VON EULER<sup>11</sup> besteht sogar eine lineare Beziehung zwischen der In- und der Exspirationsdauer.

WYSS<sup>9</sup>, (p. 254) reizte den Kaninchenvagus mit atmungphasengesteuerten Serien während der *Exspiration*. Mit 10 Imp/sec erhielt er im Spirogramm eine Verkürzung dieser Phase, eine Anhebung der Inspirationsausgangslage sowie eine Atmungsbeschleunigung. KNOX<sup>10</sup> fand, dass bei der Katze während der zweiten Hälfte der Exspiration in die Trachealkanüle gegebene kurze Luftdruckstöße diese Phase verkürzten, also eine Reaktion, die normalerweise bei erzwungener Deflation beobachtet wird.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Medulla oblongata von Kaninchen zu verschiedenen Zeitpunkten des Atmungszyklus mit Serien gereizt. Es sollte festgestellt werden, ob auch bei zentraler Reizung im Verlauf der Inspiration die Hemmungen und der Rebound eine Schwankung durchmachen und welcher Art die Reizeffekte während der Exspiration sind.

*Methodik.* 17 Kaninchen wurden in Urethannarkose tracheotomiert. Die Atmung wurde mit einem Spirometerkreislauf und der Trachealdruck mit einem «Statham-Transducer» registriert. Dessen Signal steuerte ferner mit Beginn der In- oder der Exspiration über einen Schmitt-«trigger» einen Grass S 4-Rechteckgenerator, welcher nach einer variablen Verzögerung einen Impuls variabler Dauer abgab. Dieser Impuls steuerte seinerseits einen Grass S 9-Stimulator, der die repetierten Serienreize lieferte. Die unipolare kathodische Reizung der Medulla oblongata erfolgte mit Stahlnadeln mit einer blanken Spitze von 0,3 mm gegen eine indifferente Elektrode im Schädeldach. Die Reizelektroden wurden unter Sicht in die freigelegte Medulla oblongata eingestochen. Nach Versuchsende wurde die Lage der Elektrodenspitzen histologisch bestimmt.

*Ergebnisse.* a) Reizung in der Inspiration. Serien von 120 msec Dauer erwiesen sich als genügend lang zur Erzeugung deutlicher Hemmungen der Zwerchfellaktivität. Für 100 Imp/sec und 0,5 msec Impulsdauer lag die Schwelle bei  $0,32 \pm 0,12$  V (Mittel und Standardabweichung); 50 und 20 Imp/sec sowie Impulsdauer 50  $\mu$ sec waren weniger wirksam, mit 150 Imp/sec traten oft somato-motorische Nebeneffekte auf. Bei Steigerung der Intensität um 0,05–0,1 V entwickelte sich der inspiratorische Rebound; noch stärkere Spannungen führten zum Abbruch der Inspirationen. Reizung im ersten Drittel (Figur b) ergab Hemmung mit anschliessendem Rebound. Dieser bestand in einer Verlängerung der Inspiration um einen Betrag, der kürzer war als die Reizserie; zudem überstieg das Zugvolumen nun seine normale Höhe. Reizung im zweiten Drittel (Figur c) ergab eine stärkere Hemmung (ersichtlich an der deutlicheren Positivierung des Trachealdrucks) und einen ebenfalls ausgeprägteren Rebound. Die maximal erreichbare Verlängerung der Inspiration betrug im Mittel  $124 \pm 10$  msec (mittlerer Fehler); dadurch verlangsamte sich die mittlere Atmungsfrequenz von 46,5 auf 42,5 Züge/min. Die Exspiration blieb unverändert. Das Zugvolumen nahm im Mittel von 17,8 auf 21,6 ml zu. Reizung im dritten Drittel (Figur d) führte in allen Fällen zum vorzeitigen Inspirationsabbruch. Nach Ende der Reizserie war ein schwacher Rebound zu erkennen, der jedoch das Lungenvolumen nicht

<sup>1</sup> Unterstützt durch die Freiwillige Akademische Gesellschaft der Stadt Basel und die Sandoz-Stiftung zur Förderung der medizinisch-biologischen Forschung.

<sup>2</sup> P. RIJLANT, Acta biol. belg. 3, 76 (1943).

<sup>3</sup> T. E. BOYD und C. A. MAASKE, J. Neurophysiol. 2, 533 (1939).

<sup>4</sup> P. RIJLANT, Bull. Acad. R. Méd. Belg. Sér. VI, 7, 58 (1942).

<sup>5</sup> M. G. LARRABEE und R. HODES, Am. J. Physiol. 155, 147 (1948).

<sup>6</sup> M. FALLERT, Pflügers Arch. 333, 166 (1972).

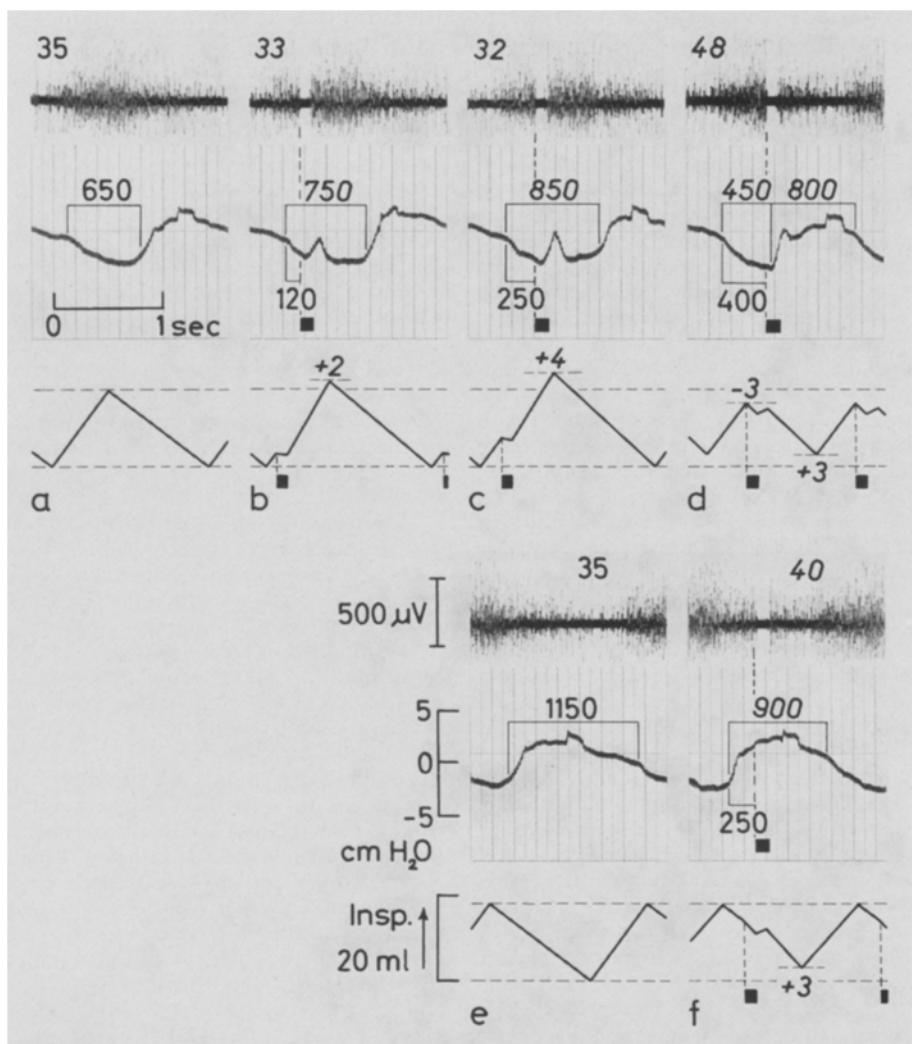
<sup>7</sup> M. FALLERT, Pflügers Arch. 343, 107 (1973).

<sup>8</sup> M. FALLERT, in Vorbereitung.

<sup>9</sup> O. A. M. WYSS, *Ergebnisse der Physiologie, biologischen Chemie und experimentellen Pharmakologie* (Springer Verlag, Göttingen und Heidelberg 1964), vol. 54, p. 1.

<sup>10</sup> C. K. KNOX, J. Neurophysiol. 36, 284 (1973).

<sup>11</sup> F. J. CLARK und C. VON EULER, J. Physiol., Lond. 222, 267 (1972).



Atmungsphasengesteuerte, intermittierende Serienreizung der Medulla oblongata. Reizelektrode in der Formatio reticularis lateralis auf Ebene des Promontorium gliosum. Von oben nach unten: Zwerchfellmyogramm mit Angabe der Atmungsfrequenz. Trachealdruck (kleiner Artefakt als kurze Defektion nach oben in der Expiration); darüber Angabe der Inspirations- (a-d) und der Exspirationsdauer (d-f); darunter Angabe des Zeitintervalls zwischen In- bzw. Exspirationsbeginn und dem Einsatz der Reizserien (unterbrochene senkrechte Linien). Reizserien als schwarze Balken; Seriendauer 120 msec, 100 Imp/sec (entspricht etwa 13 Einzelimpulsen pro Serie), Impulsdauer 0,5 msec, 0,45 V. Schematisiertes Spirogramm, welches die Mittelwerte sämtlicher Versuche repräsentiert, mit Reizserien als schwarze Balken. a) Ruhe-Inspiration. b-d) Reizung während der Inspiration. Mit dem Einsatz jeder Reizserie trat eine kurze Hemmung der Zwerchfellaktivität ein, die sich als Positivierung des Trachealdrucks äusserte. b) Reizung am Inspirationsbeginn verzögerte den Ablauf dieser Phase und verlängerte dieselbe; die Atmungsfrequenz nahm ab. Das Zugvolumen überstieg nach dem Ende der Hemmung nun seine normale Höhe. Expiration unverändert. c) Noch ausgeprägtere Effekte bei Reizung im zweiten Drittel. d) Reizung im dritten Drittel führte zum vorzeitigen Inspirationsabbruch; nach dem Ende der Reizserien erschien ein schwacher inspiratorischer Rebound. Anschliessende Expiration ebenfalls verkürzt, mit verstärkter Restaktivität; die ursprüngliche Inspirationsausgangslage wurde nicht mehr erreicht. Atmung beschleunigt. e) Ruhe-Exspiration. f) Reizung im ersten Drittel der Exspiration erzeugte eine kurze Hemmung und anschliessende Verstärkung der Zwerchfellaktivität. Die nächste Inspiration setzte verführt ein; die ursprüngliche Inspirationsausgangslage wurde nicht mehr erreicht. Atmung beschleunigt.

mehr auf die Höhe zurückbrachte, welche es im Moment des Abbruchs erreicht hatte. Die nächste Inspiration setzte verfrüht ein, bevor die ursprüngliche Inspirationsausgangslage wieder erreicht war. Die Atmungsfrequenz nahm im Mittel auf 60,5 Züge/min zu, was pro Zyklus eine Verkürzung von 295 msec ausmachte. Diese Ergebnisse der bulbären Serienreizung während der inspiration entsprechen somit recht gut den eingangs erwähnten Resultaten anderer Autoren bei afferenter Nervenreizung.

b) Reizung in der *Exspiration* ergab nicht ganz einheitliche Ergebnisse. Von den meisten Reizstellen aus wurden ebenfalls Hemmungen der Zwerchfellaktivität erhalten, insbesondere dann, wenn die expiratorische Restaktivität

relativ gross war und bei Reizung in der ersten Hälfte der Exspiration (Figur f). Nach Ende der Reizserie erschien die Zwerchfellaktivität verstärkt. Die nächste Inspiration setzte verfrüht ein, bevor die ursprüngliche Inspirationsausgangslage wieder erreicht war. Die Exspirationsverkürzung betrug im Mittel 175 msec; dadurch beschleunigte sich die mittlere Atmungsfrequenz auf 54 Züge/min. Die Inspiration war unverändert. Seltener blieb die Reizung ohne Wirkung oder löste eine kurze und schwache inspiratorische Zuckung aus. Im Moment des Übergangs der Exspiration zur Inspiration konnten im allgemeinen keine Hemmungen erzeugt werden. Die histologische Nachprüfung ergab, dass die beschriebenen Effekte aus

grossen Teilen der Formatio reticularis lateralis bis etwa 4 mm rostralwärts (Grenze zum Pons) und 2 mm caudalwärts vom Obex ausgelöst werden konnten.

**Diskussion.** Die Reizserien erzeugen also zweifellos primär Hemmungen der Inspiration. Der inspiratorische Rebound ist ein sekundärer Effekt und wohl am einfachsten damit zu erklären, dass die Inspirationspause auch eine Verzögerung im Aufbau des intrazentralen Hemmungsvorgangs nach sich zieht und dass die Inspiration sich infolgedessen nach der Pause «ungehindert» entwickeln kann. Eine gleiche Erklärung gibt LÜSCHER<sup>12</sup> für seine Atmungeffekte bei afferenter Vagusreizung beim Kaninchen. Der Hemmeffekt kann sich am Inspirationsbeginn nicht oder nur wenig manifestieren, gewinnt mit fortschreitender Inspiration immer mehr an Deutlichkeit (und mit ihm auch der Rebound) und wird im letzten Drittel vollends dominierend, wahrscheinlich wegen der «progressiven Entwicklung eines zentralen (state) während der Inspiration, welcher diese hemmt» (LARRABEE und HODES<sup>5</sup>). Bei Inspirationsabbruch kann sich der Rebound nur noch in einem verfrühten Einsetzen der nächsten Inspiration äussern. Die Reizeffekte während der Expiration zeigten, dass offensichtlich auch in dieser Phase – zumindest wenn noch ein merklicher exspiratorischer Resttonus vorhanden ist – der intrazentrale Hemmmecha-

nismus auf das inspiratorische Substrat noch tätig ist; seine Wirkung kann mit einer kurzen erzwungenen Aktivitätspause des ihn erregenden Substrats vermindert werden.

**Summary.** In urethane-anesthetized rabbits the bulbar reticular formation was stimulated with volleys of 120 msec duration at 100 pulses per sec, the pulse duration being 0.5 msec. When shifted along the inspiration, the volleys caused an increasingly stronger inhibition followed by a rebound activation of the inspiratory activity. Towards the end of the inspiration, the volleys stopped the latter phase and shortened the following expiration. When applied during the expiration, the volleys also caused an inhibition and shortened this phase. Results suggest that the stimulus-induced pause of the inspiratory activity delays the activation by the inspiratory centre of the central inhibitory feedback mechanism.

M. FALLERT

Physiologisches Institut der Universität, Vesalgasse 1,  
CH-4051 Basel (Schweiz), 14. September 1973.

<sup>12</sup> H. LÜSCHER, *Experientia* 29, 746 (1973).

## Retrograde Axonal Transport for Cartography of Neurons

Various authors<sup>1-6</sup> have reported experiments which suggest that a retrograde transport, probably axonal, occurs in the nerves. We therefore decided to investigate whether the muscles could be associated by this means with the corresponding motoneurones, and to compare any results obtained with existing chromatolytic maps. Preliminary experiments, using Evan's blue-coupled albumin (EBA) as a fluorescent marker, have already been described in this journal<sup>7</sup>.

**Materials and methods.** The forelimb of Ivanovas 50 albino rats (50–250 g) were investigated. Since the dye tends to spread from the injection site to surrounding areas, only specially selected muscles or muscle groups are suitable. We used the triceps, which is so large that the

danger of diffusion into neighbouring muscles is small. The lower arm and paw, which form practically closed systems, innervated by several nerves, were also investigated. The dye was, if possible, injected into muscles innervated by one of the nerves and the others were cut. Only perikarya of this remaining nerve should then be marked. Spread of the marker to other muscles can also be easily seen from the blue colouration and the animal can be excluded from the experiment. The animals were anaesthetized before denervation with Nembutal (Abbott; 25–50 mg/100 g body weight). The EBA<sup>4</sup> was then injected as 5–15% solution in saline. The animals were killed 8–144 h after injection and the spinal cord dissected, a needle being stuck in the nerve root C3, for identification. Fixation was carried out in formalin (37% formaldehyde: tap water, 1:3) for about 15 h, followed by washing in water for 20 min. Frontal and transverse cryostat sections, thickness 10 µm and 20 µm, were prepared at a temperature of -18°C to -20°C. In the frontal sections, small guide holes were made with a fine needle on the boundaries between 2 segments, before freezing. The sections were preserved either with a mixture of water and glycerol, or with Eukitt after drying. Both methods had disadvantages; with the former fluorescence was diminished after only 12 h, whereas with the latter the structure was generally not so well preserved. For fluorescence microscopy, a Zeiss Universal microscope was used, with a mercury lamp HBO 200, primary filter Schott BG 12 and secondary filter Schott 53 + 44.

<sup>1</sup> L. LUBINSKA, S. NIEMIERKO, B. ODERFELD, L. SZWARC and J. ZELENA, *Acta Biol. exp.*, *Vars.* 23, 239 (1963).

<sup>2</sup> G. A. KERKUT, A. SHAPIRA and R. WALKER, *Comp. Biochem. Physiol.* 23, 729 (1967).

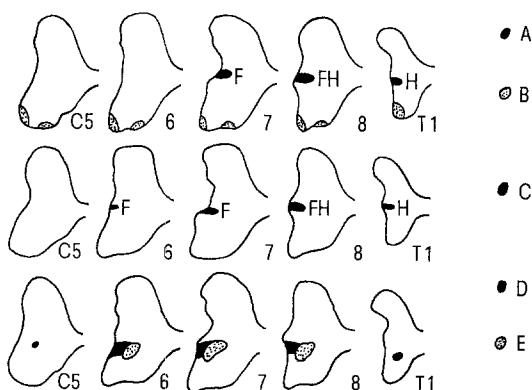
<sup>3</sup> W. E. WATSON, *J. Physiol.*, *Lond.* 196, 121 P (1968).

<sup>4</sup> K. KRISTENSSON, *Acta Neuropath.* 16, 293 (1970).

<sup>5</sup> K. KRISTENSSON and Y. OLSSON, in *Progress in Neurobiology* (Ed. G. A. KERKUT and J. W. PHILLIPS) (Pergamon Press, Oxford 1973), vol. 1, p. 87.

<sup>6</sup> J. H. LA VAIL and M. M. LA VAIL, *Science* 176, 1416 (1972).

<sup>7</sup> H. R. GLATT and C. G. HONEGGER, *Experientia* 29, 771 (1973).



Cartographical summary of spinal regions in grey matter, where marked cell bodies were found after injection into various parts of the forelimb are indicated A–E. A ●, Muscles of forearm (F) and hand (H) innervated by the ulnar nerve. B ●, Rhomboideus, Acromiotorapezius and neighbouring muscles of the back. C ●, Muscles of forearm (F) and hand (H) innervated by the median nerve. D ●, Muscles of forearm innervated by the radial nerve. E ●, Triceps (innervation, radial nerve).