

Seifen-Anstrichmittel **65**, 919 (1963). — 6. DEGWITZ, E. und K. LANG, *Klin. Wschr.* **40**, 542 (1962). — 7. DEGWITZ, E. und K. LANG, *Klin. Wschr.* **40**, 515 (1962). — 8. ROST, H.E., *Fette-Seifen-Anstrichmittel* **64**, 427 (1962). — 9. DUPONT, J. und H. LEWIS, *J. Nutrit.* **80**, 397 (1963). — 10. MACHLIN, L. J. und R. S. GORDON, *J. Nutrit.* **75**, 157 (1961). — 11. BERNER, R. R., D. V. VAZZA und M. E. DETHOMAS, *J. Lipid. Res.* **4**, 341 (1963).

Anschrift der Verfasser:

Privatdozent Dr. A. FRICKER, Dipl. Chem. E. SCHÄFFNER, Prof. Dr. Dr. K. LANG, 6500 Mainz  
Physiolog.-chemisches Institut der Universität

## KURZE MITTEILUNG

*Aus dem II. Institut für medizinische Chemie der Karls-Universität Prag  
(Direktor: Prof. Dr. J. Šulc)*

### Vitamine mit Funktionen in Wachstums- und Entwicklungsprozessen

#### Vorläufige Mitteilung

VON JIŘÍ BERNÁSEK

Mit 2 Tabellen

(Eingegangen am 16. Februar 1964)

Zwecks Feststellung, ob sämtliche fettlöslichen Vitamine bereits bekannt sind oder ob noch weitere fettlösliche Stoffe mit Vitaminfunktionen existieren, untersuchten wir in Rattenversuchen die die Naturfette begleitenden Substanzen auf etwaige biologische Funktionen. Zu diesem Zwecke wurden Versuchsratten mehrere Generationen mit einer Kost gefüttert, aus der sämtliche Naturfette entzogen und durch Margarine ersetzt wurden und welche mit allen bis jetzt als essentielle Nahrungsbestandteile erkannten Stoffen ergänzt wurde.

#### Experimentelles

Bis dahin mit normaler Kost (= Kontrolldiät) gefütterte Wistar-Rattenweibchen wurden am Entbindungstage auf die Versuchsdiät überführt und ihre Jungen wurden nach dem Abstillen zur ersten Versuchsgeneration. In jeder Generation wurden die wichtigsten Lebensäußerungen der Jungen, vor allem Wachstum und Entwicklung, verfolgt. In der ersten und zweiten Generation wurde die Anzahl der Neugeborenen in jedem Wurf gleich nach Geburt immer auf je 3 Männchen und 3 Weibchen beschränkt und als Grundlage folgender Generationen wurde aus jedem Wurf immer das bestentwickelte Weibchen ausgewählt. Von der dritten Generation an wurden alle lebend geborenen Jungen weiter gezüchtet und sämtliche die Geschlechtsreife erreichenden Weibchen wurden gedeckt. Im Alter von 6 Wochen wurden die Jungen immer von der Mutter getrennt.

Die Versuchsdiät bestand aus 600 g Weizenstärke (entfettet), 285 g Kasein (entfettet), 82 g Margarine (angereichert mit 3000 I.E. Vitamin A + 3000 I.E. Vitamin D + 150 mg Vitamin E + 4 g Äthyllinolat + 0,15 mg Vitamin K + 4 mg Ubichinon + 10 mg  $\alpha$ -Liponsäure), 15 g  $\text{CaCO}_3$ , 4 g NaCl, 4 g KCl, 4 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 4 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 1,7 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,25 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,04 g  $\text{MnSO}_4$  und 0,01 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . Weizenstärke und Kasein wurden durch wiederholte Äther-Extraktion entfettet: Die Stärke wurde

je 24 Stunden bei zeitweisem Durchschütteln mit dreifacher Menge Äther fünfmal nacheinander extrahiert, Kasein in derselben Weise dreimal. Bei der Zubereitung dieser Futtermischung wurden zunächst die fettlöslichen Vitamine in geschmolzener Margarine gelöst und die Margarine dann mit Kasein, Stärke und Mineralien vermischt. Vor der Fütterung wurde die Tagesration für jedes Versuchstier mit 1 ml wäßriger Lösung von Vitaminen und Spurenelementen (enthaltend 0,08 mg Thiamin, 0,08 mg Riboflavin, 0,05 mg Pyridoxin, 0,2 mg Niacin, 0,2 mg Pantothensäure, 30 mg Inosit, 2 mg Folsäure, 2  $\mu$ g Biotin, 0,15  $\mu$ g Cobalamin, 50  $\mu$ g KI, 80  $\mu$ g  $\text{ZnCl}_2$ , 2  $\mu$ g  $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 15  $\mu$ g  $\text{AlNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , 5  $\mu$ g  $\text{As}_2\text{O}_3$ , 5  $\mu$ g  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 12  $\mu$ g KBr, 4  $\mu$ g NaF und 1  $\mu$ g  $\text{MoO}_3$ ) durchtränkt, dann mit Wasser vermischt und zu Kugeln geknetet. Diese Kost und Trinkwasser erhielten die Versuchstiere immer ad libitum.

Die Kontrollratten wurden mit einer Futtermischung folgender Zusammensetzung gefüttert: 55% Weizenschrot, 10% Trockenvollmilch, 25% Kasein, 3,2% Trockenluzerne, 4,2% Margarine, 0,7% Lebertran, 1,5%  $\text{CaCO}_3$  und 0,4% NaCl. Mit dieser Kost gefütterte Ratten gedeihen gut, wachsen und vermehren sich ständig normal.

### Ergebnisse und Diskussion

Der Entzug fettlöslicher Extraktivstoffe aus Nahrungsbestandteilen kommt im Rattenversuch deutlich erst in nachfolgenden Generationen zum Vorschein, und zwar zunächst in Form einer Verlangsamung des Wachstums und der Entwicklung, später als letale Entwicklungsstörungen.

Die Angehörigen der *ersten Versuchsgeneration* wachsen normal oder mit einer Herabsetzung der Wachstumsintensität, die nicht immer signifikant ist, denn sie bekamen in der Muttermilch sämtliche erforderlichen Wachstumsfaktoren. Trotzdem ist die Entwicklung gewisser Merkmale z. B. der Fortpflanzungsfunktionen, bereits in dieser Generation verlangsamt.

In der *zweiten Generation* wurde die Entwicklung von 120 Neugeborenen aus 20 Würfen verfolgt. Die Kontrolltiere erzielten eine viel größere Gewichtszunahme (siehe Tab. 1), so daß die Gewichte reifer Versuchstiere im Durchschnitt um mehr als 35% niedriger waren als die der Kontrolltiere.

Tabelle 1. Wachstum der Versuchs- und Kontrolltiere in der 2. Generation

Durchschnittsgewicht in Gramm		Alter				
		1 Tag	3 Wochen	6 Wochen	3 Monate	6 Monate
Männchen	Versuch	5	21 $\pm$ 5	71 $\pm$ 19	177 $\pm$ 22	264 $\pm$ 27
	Kontrolle	5	42 $\pm$ 5	109 $\pm$ 11	286 $\pm$ 16	423 $\pm$ 21
Weibchen	Versuch	5	22 $\pm$ 4	70 $\pm$ 14	139 $\pm$ 13	198 $\pm$ 14
	Kontrolle	5	42 $\pm$ 4	94 $\pm$ 7	192 $\pm$ 11	306 $\pm$ 18

Vereinzelte erschienen in einzelnen Würfen bereits totgeborene Junge oder Junge, die sich anfangs normal entwickelten, vom 10. bis 14. Lebenstage an jedoch kachektisierten und Ende der 3. oder Anfang der 4. Woche starben. Diese Erscheinung wurde dann in der 3. und 4. Generation zur Regel.

Die Versuchsweibchen in dieser Generation erreichten die Geschlechtsreife um 4 bis 6 Wochen später als die Kontrolltiere, denn den ersten Wurf konnten wir bei ihnen erst zwischen 16. bis 18. Lebenswoche (Durchschnitt 17,2 Wochen) erzielen, wogegen bei den Kontrolltieren bereits zwischen 12. bis 14. Woche (Durchschnitt 12,6 Wochen).

In der *dritten Generation*, in Einzelfällen bereits in der zweiten, ist der überwiegende Teil der Neugeborenen von völligem Stillstand in der Entwicklung einiger lebensnotwendi-

ger Organe, vor allem des zentralen Nervensystems, mit nachfolgender Kachektisierung und Absterben der Jungen betroffen. Neugeborene der dritten Generation, die einer normalen Entwicklung fähig sind, entwickeln sich mit derselben Verlangsamung und weisen ähnliche Wachstumsverzögerungen wie Angehörige der 2. Generation auf. Der größte Teil der Neugeborenen wird jedoch entweder tot oder entwicklungsunfähig geboren (siehe Tab. 2), so daß sie entweder gleich nach der Geburt sterben, oder sie fangen nach 10 bis 14 Tagen scheinbar normaler Entwicklung an kachektisch zu werden und sterben zwischen dem 17. und 25. Lebenstage. Einige Tage vor dem Tode erscheinen bei ihnen Muskelschwäche und schrittweise Lähmungen.

Tabelle 2. Schicksal der Neugeborenen der 3. Generation

Weibchen (2. Gen.) No.	1. Wurf		gestorben am 1. Tag	gestorben am 17. bis 25. Tag	Reife erreicht
	insgesamt	davon tot			
1	8	1	0	5	2
2	7	3	4	(von der Mutter gefressen)	
3	5	1	0	2	2
4	3	1	0	2	0
5	9	0	0	9	0
6	7	2	3	0	2
7	10	1	0	7	2
8	9	1	3	2	3
9	2	1	1	0	0
10	5	0	1	4	0
11	2	2	0	0	0
12	7	2	5	0	0
13	8	4	4	(von der Mutter gefressen)	
14	7	0	2	4	1
15	5	0	5	0	0
16	8	0	8	(von der Mutter am 7. Tage gefr.)	
17	5	0	1	4	0
18	0	(Sektionsbefund: Resorptionssterilität)			
19	0	(Sektionsbefund: Resorptionssterilität)			
20	0	(Sektionsbefund: Resorptionssterilität)			

Die niedrigere Anzahl Neugeborener im Versuch (Durchschnitt 6,3 pro Wurf) gegenüber den Kontrolltieren mit 7 bis 12 Jungen im ersten Wurf (Durchschnitt 9,4) wurde dadurch verursacht, daß einige Föten während der Gravidität absterben und resorbiert werden. In der dritten Generation erreichten also nur 12 Versuchstiere die Reife, davon 7 Weibchen. Diese wurden im Alter von 4 bis 6 Monaten gedeckt, fünf von ihnen blieben jedoch steril und wie ihre Sektion dann ergab, handelt es sich um eine Resorptionssterilität, deren Pathogenese nun analysiert wird.

Lediglich von den übrigen zwei Weibchen konnten Würfe erzielt werden (mit 2 und 5 Jungen). Keines dieser Jungen der vierten Generation war aber normaler Entwicklung fähig: Drei von ihnen starben gleich nach der Geburt, die anderen vier starben gelähmt und kachektisch zwischen dem 18. bis 22. Lebenstage, obwohl sie sich anfangs wieder scheinbar normal zu entwickeln begannen. Der Zeitpunkt, in dem Kachexie und Lähmungen erscheinen, muß in ursächlichem Zusammenhange mit Störungen der Myelinisierung und schweren degenerativen Veränderungen der Nervenzellen stehen, die wir an diesem Versuchsmaterial festgestellt haben. Die Pathogenese dieser Entwicklungsstörung wird jetzt ebenfalls eingehend studiert.

### Zusammenfassung

Die Existenz noch unidentifizierter Vitaminfaktoren, die wichtige Funktionen in Wachstums- und Entwicklungsprozessen ausüben, wurde unter den die Naturfette begleitenden Stoffen nachgewiesen. Eine suboptimale Zufuhr dieser Faktoren verursacht eine Verminderung des Wachstums mit Verlangsamung der Entwicklung, bei völligem Mangel dieser Faktoren sterben neugeborene Tiere infolge Entwicklungsstörungen im Nervensystem.

Anschrift des Verfassers:

Dr. med. J. BERNASEK, II. Institut für medizinische Chemie, Prag 2, U nemocnice 5 (CSSR)

## BUCHBESPRECHUNGEN

**Progress in Biophysics and Biophysical Chemistry, Vol. 12** (Fortschritte der Biophysik und der biophysikalischen Chemie, Band 12). Herausgegeben von J. A. V. BUTLER-London, H. E. HUXLEY-London und E. ZIRKLE-Chicago. 350 Seiten mit zahlreichen z. T. farbigen Abbildungen und Tabellen (Oxford 1962, Pergamon Press). Preis: geb. 90 s.

Der 1962 erschienene 12. Band der bewährten „Fortschrittsberichte“ läßt wiederum bekannte Forscher zentraler Gebiete aus dem Bereich der Biophysik und biophysikalischen Chemie zu Worte kommen und gibt ein eingehendes Bild vom neuesten Stand der behandelten Kapitel: Synchronisation der Zellteilung (V. W. BURNS); Der Zellnukleolus (J. L. SURLIN); Ribosomen und Proteinsynthese (K. McQUILLEN); Erregung der Geschmacksrezeptoren (L. M. BEIDLER); Quantitative Färbung in Histo- und Cytochemie (D. SHUGAR); Die Histone (D. M. P. PHILIPPS); Fortschritte der Tritium-Autoradiographie (A. LIMA-DE-FARIA).

Mit dem Gebiet der Ernährungslehre stehen die meisten Artikel, auch der über die Erregung der *Geschmacks-Sinnesorgane* nur in indirekter Beziehung. Dennoch dürften die physiologisch oder biochemisch fundierten Ernährungsfachleute Gewinn aus Diskussionen über die Bedeutung der *Histone* im Zellzyklus oder über die Rolle der *Ribosomen* bei der Proteinsynthese ziehen. Über die Erfolge der Tritium-Autoradiographie namentlich beim Studium der Synthese der Desoxyribonukleinsäuren orientiert ein weiteres Kapitel, aus dem eine größere Dynamik der chromosomalen Umsetzungen folgt, als bisher angenommen wurde. Die quantitative Histochemie dürfte sich mehr als bisher zur Beurteilung des Zustandes konservierter Lebensmittel heranziehen lassen, so daß auch der *Cytochemische Beitrag* von Interesse werden kann. Untersuchungen über die Synchronisation des Zellwachstums und der Zellteilung bei genetisch unvollkommenen, z. B. Desoxyribonukleosid- oder Thymin-bedürftigen auxotrophen Mikroorganismen können teilweise als interessante Beeinflussung von Zellvorgängen durch spezifische Ernährungsfaktoren angesehen werden. Sie könnten aber auch, wenn man an die – nicht erwähnte – Synchronisation des Algenwachstums durch zeitlich geeignete Lichtdosierung denkt, praktische Bedeutung für die Ernährungslehre bei Tieren und Menschen unter besonderen Umständen (z. B. Astronauten) gewinnen.

H. NETTER (Kiel)

**Newer Methods of Nutritional Biochemistry.** With Applications and Interpretations (Neuere Methoden in der Biochemie der Ernährung. Mit Anwendungsbeispielen und Erklärungen) von A. A. ALBANESE - New York. XI, 583 Seiten mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen (New York 1963, Academic Press). Preis: geb. \$ 18.50.

Aus dem Titel des Buches schließt man, daß es sich in erster Linie um eine Darstellung von Methoden handelt, die der Ernährungswissenschaftler braucht. Die Durchsicht zeigt jedoch, daß die meisten Kapitel eine allgemeine Darstellung ernährungsphysiologischer oder biochemischer Fragen bringen mit einigen Bestimmungsmethoden im Anhang.