

Über den Vitamin P-Test*).

Von

A. Bentsáth und N. B. Das.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Universität Szeged.)

(Der Schriftleitung zugegangen am 3. Mai 1937.)

Es wurde bereits früher von Bentsáth, Rusznyák und Szent-Györgyi¹⁾ berichtet, daß Meerschweinchen an einer skorbutogenen Diät länger leben, wenn ihnen geringe Mengen gewisser Phenyl-benzo- γ -pyran-Farbstoffe verabreicht werden. Hieraus wurde auf den Vitamincharakter dieser Farbstoffe geschlossen (Vitamin P). Experimenteller Skorbut erwies sich als eine gemischte C- und P-Avitaminose. Diese Versuche wurden in den Herbstmonaten des vorigen Jahres ausgeführt. Als wir diese Versuche zu Beginn des laufenden Jahres zu wiederholen und erweitern suchten, waren wir nicht imstande, die beschriebene Wirkung der Flavone zu reproduzieren und durch ihre Verabreichung die Lebensdauer der Versuchstiere zu verlängern. Da wir nicht an der Richtigkeit der ursprünglichen Beobachtung zweifeln konnten, galt es, den Grund der Diskrepanz zu finden.

Bei der Analyse unserer Versuche fiel es auf, daß alle Tiere auf der skorbutogenen Diät rascher eingingen, als in den früheren Versuchen. Dies legte den Verdacht nahe, daß die gesuchte Diskrepanz ihren Grund in einem, mit der Jahreszeit verbundenem Faktor, in der Winternahrung hatte, die die Tiere vor Versuchsbeginn beim Züchter bekamen. Während die Meerschweinchen im Sommer bei dem Züchter vorwiegend auf grünem Futter gehalten werden, erhalten die Tiere im Winter oft getrocknetes Futter, wie trockenen Klee, oder Hafer mit der Zulage von Rüben, die sowohl an C- wie an fettlöslichen Vitaminen recht arm sind. Möglicherweise gehen die Carotine auch im Klee bei der Trocknung zugrunde.

*) Diese Arbeit wurde durch die Josiah Macy jr.-Stiftung, New York, unterstützt.

¹⁾ Nature, 138, 798 (1936); 139, 226 (1937).

Um diese Frage zu entscheiden, wurden Meerschweinchen im Februar des laufenden Jahres von denselben Tierhändlern besorgt, dann 10 Tage lang in verschiedener Weise gefüttert und dann dem P-Vitamin-Test unterzogen. Dieser Versuch zeigte, daß die Diskrepanz unserer Resultate tatsächlich in der Natur des Futters zu suchen war, das die Tiere vor Beginn des Versuches bekommen hatten. Die Resultate weisen darauf hin, daß hierbei sowohl das C-Vitamin, wie auch die fettlöslichen Vitamine von Bedeutung waren.

Ein Teil der Tiere bekam vor Versuchsbeginn 10 Tage lang als Futter befeuchteten, getrockneten Klee. Dieses Futter wird im Sommer durch Meerschweinchen längere Zeit anstandslos ertragen. Im vorliegenden Versuche reagierten aber die Tiere meistens schon nach 3 Tagen auf dieses Futter mit einem Gewichtssturz, der sich dann bei der skorbutogenen Diät fortsetzte. Die Tiere gingen durchschnittlich am 7. Tage an dieser Diät zugrunde. (In unseren früheren Versuchen war die durchschnittliche Lebensdauer an dieser Kost 28 Tage.) Der Zusatz von Vitamin P machte keinen Unterschied, da das Leben nicht durch Mangel an dieser Substanz limitiert war.

Eine zweite Gruppe erhielt dasselbe Futter, mit dem Unterschiede, daß während des ganzen Versuchs täglich $\frac{1}{2}$ ml Lebertran verabreicht wurde. Bei diesen Tieren blieb der Gewichtssturz in der Vorperiode aus, um nach Einführung der Skorbutdiät sogleich einzusetzen. Im Mittel lebten die Tiere 8 Tage. Vitamin P verlängerte das Leben nicht, das durch den Mangel an Ascorbinsäure limitiert war. Das Ausbleiben des Gewichtssturzes in der Vorperiode wies auf den günstigen Einfluß des Lebertrans, wenn dieses Mittel das Leben auch nicht verlängern konnte.

In einer dritten Gruppe erhielten die Tiere in der Vorperiode außer der Grunddiät (Klee) täglich 10 mg Ascorbinsäure. Diese Tiere lebten bedeutend länger (21 Tage) und Vitamin P verlängerte das Leben bereits um etwa 5 Tage.

In dieser Gruppe scheint Vitamin P seine Wirkung wegen Mangel anderer lebenswichtiger Substanzen noch nicht vollauf entfalten zu können. Daß diese mangelnde Substanz wahrscheinlich ein fettlösliches Vitamin war, wurde durch die folgende Gruppe bewiesen, die in gleicher Weise gefüttert und behandelt wurde, wie die vorige, mit dem Unterschiede, daß alle Tiere von Beginn ab täglich $\frac{1}{2}$ ml Lebertran bekamen. Auch diese Tiere schienen noch einen Faktor zu entbehren, da sie an Stelle von

28 bloß 23 Tage mit der skorbutogenen Kost am Leben blieben. Bei dieser Gruppe verlängerte aber die Zulage von Vitamin P die Lebensdauer, wie in unseren Herbstversuchen, um 2 Wochen. Prozentuell ist die Verlängerung der Lebensdauer noch höher wie in den früheren Versuchen, da die Kontrolltiere kürzer lebten.

Genau dasselbe Resultat wurde erhalten, wenn die Tiere in der Vorperiode frisches Kraut mit Hafer (ad libitum) erhielten. Die Zugabe von Lebertran verlängerte das Leben nicht.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Versuchstiere für den Vitamin P-Test in guter Verfassung sein müssen und keinen der lebenswichtigen Faktoren entbehren dürfen. Fehlt ein solcher, so kann das P-Vitamin seine lebensverlängernde Wirkung nicht ausüben.

Bei den von Tierhändlern gekauften Tieren scheint im Winter vielseitig ein Defizit an lebenswichtigen Substanzen zu bestehen, obwohl die Tiere ein normales Wachstum zeigen. Dieses Defizit äußert sich erst, wenn die Tiere dem Versuche unterzogen, und auf die skorbutogene Diät gesetzt werden. Das Defizit muß vor Beginn des P-Vitamin-Testes ersetzt werden.

Bei unseren früheren Versuchen beobachteten wir auch, daß der Gewichtsverlust der mit P-Vitamin behandelten Tiere bedeutend geringer war als bei den Kontrollen. Ebenso zeigten die Blutungen bei den P-Vitamin-Tieren eine verschiedene Verteilung und waren auch viel seltener. Keiner dieser beiden Unterschiede konnte im vorliegenden Versuche wiedergefunden werden.

Experimenteller Teil.

Das Experiment bestand aus 7 Gruppen von Meerschweinchen vom mittleren Gewicht von 350 g. Jede Gruppe bestand aus 16 Tieren. Eine von diesen Gruppen wurde als ungeeignet ausgeschaltet, da sich die Zusammensetzung dieses Versuches als ungünstig erwies.

Die von den Tierhändlern bezogenen Tiere wurden 10 Tage lang auf eine später anzugebende Diät gesetzt. Dann sind wir auf die in früheren Versuchen verwendete, wie auch früher, autoklavierte Sherman-LaMer-Campbelsche Skorbutdiät übergegangen. Die Hälfte der Tiere jeder Gruppe erhielt außer der Grundkost 2 mg Vitamin P täglich, welche Substanz in wäßriger Lösung mit einer Pipette verabreicht wurde. Die Tiere wurden jeden zweiten Tag gewogen und ihr Gewicht zugleich graphisch verzeichnet. Die verstorbenen Tiere wurden der genauen pathologisch-anatomischen Untersuchung durch Prof. J. Baló und seine Mitarbeiter unterzogen. Tiere, die wahrscheinlich an einer interkurrenten Krankheit eingegangen waren, die nichts mit dem Versuch zu tun hatte (z. B. Pseudotuberkulose), wurden gestrichen. Die große Anzahl derartiger interkurrenter Krankheiten fiel auf.

Die einzelnen Gruppen wurden folgendermaßen ernährt:

Gruppe I erhielt in der Vorperiode 10 Tage lang getrockneten, mit Wasser befeuchteten Klee und Wasser. Vom 10. Tage an erhielten die Tiere die skorbutogene Diät. Die Untergruppe Ib sowie alle weiteren b-Untergruppen erhielten vom 10. Tage ab den Zusatz von 2 mg Vitamin P täglich.

Gruppe II erhielt dieselbe Nahrung wie Gruppe I, nur erhielten alle Tiere während des ganzen Versuches (Vor- und Hauptperiode) $\frac{1}{2}$ ml Ol. Jecoris Aselli täglich (mit einer Pipette).

Gruppe III. Dieselbe Grundkost wie Gruppe I. In der Vorperiode erhielten alle Tiere 10 mg Ascorbinsäure täglich.

Gruppe IV. Dasselbe, nur erhielten die Tiere in der Vorperiode Ascorbinsäure und während der ganzen Versuchsdauer Lebertran.

Gruppe V. Erhielt in der Vorperiode eine Kost, die aus frischem Kraut und Hafer — ad libitum — bestand.

Gruppe VI. Dasselbe wie Gruppe V, nur erhielten alle Tiere während der ganzen Versuchsdauer Lebertran.

I	a	9	287	173	114	7
	b	4	381	227	154	7
II	a	7	303	204	99	6
	b	6	272	187	85	10
III	a	4	380	253	127	26
	b	7	370	226	144	21
IV	a	8	370	241	129	37
	b	5	348	243	105	23
V	a	6	296	227	69	36
	b	8	409	218	191	22
VI	a	7	332	224	108	36
	b	7	324	223	101	21

Die wesentlichsten Resultate dieser Versuche sind in der Tabelle wiedergegeben. Die erste Kolumne von Zahlen zeigt die Anzahl der Tiere nach Abzug der an interkurrenten Krankheiten verstorbenen Meerschweinchen. Die zwei weiteren Kolumnen zeigen das mittlere Gewicht dieser Tiere zu Beginn (nach Ablauf der Vorperiode) und zu Ende (Tod der Tiere) des Versuches. Kolumne 3 gibt die Differenz, d. h. den Gewichtsverlust. Das wesentlichste des Versuches ist die letzte Kolumne, die die mittlere Lebensdauer in Tagen angibt.

Bei der Sektion wurde hauptsächlich auf folgende Skorbutsymptome geachtet: Schwellung der costochondralen Artikulation, Lockerung der Zähne, Brüchigkeit der Knochen, Blutungen im subcutanen Gewebe, in den Muskeln, in den Artikulationen, im Intestinaltraktus, am Zahnfleisch, in der Blase und der Nebenniere. Alle diese Symptome wurden mit 1—3 Kreuzen, je nach der Schwere des Zustandes, bezeichnet, die Anzahl der Kreuze addiert und davon das Mittel genommen. Unter den a- und b-Untergruppen wurde kein wesentlicher Unterschied gefunden.

Es sei gestattet, Herrn Prof. J. Baló und seinen Mitarbeitern für die mühsame pathologisch-anatomische Untersuchung unseren Dank auszusprechen. Wir sind auch Herrn Prof. A. Szent-Györgyi zu innigem Danke verbunden.