

Über den Zusammenhang zwischen histologischer Struktur und funktionellem Verhalten des Skelettmuskels

Auf Grund ausgedehnter histologischer Untersuchungen kam KRÜGER¹ mit seinen Schülern zu einer Einteilung der Muskelzellen in «fibrillenstrukturierte» und «felderstrukturierte». Auf diesem histologischen Befund aufbauend postulierte KRÜGER, dass die fibrillenstrukturierten Muskelzellen für das tetanische und die felderstrukturierten Muskelzellen für das tonische Verhalten der Skelettmuskulatur auch von Säugetieren verantwortlich seien. Wir prüften diese Hypothese durch gleichzeitige Untersuchungen der Struktur und der Funktion zweier Rattenmuskeln, von denen der eine nur fibrillenstrukturierte Fasern aufwies (*M. serratus lateralis*, kaudaler Teil). In Ermangelung eines rein felderstrukturierten Muskels benutzten wir das aus den beiden Typen von Muskelzellen bestehende Zwerchfell der Ratte (GÜNTHER²).

In der experimentellen Anordnung des Nerv-Muskel-Präparates untersuchten wir das Verhalten dieser beiden Muskeln nach elektrischer Reizung und Zusatz von Azetylcholin und neuromuskulär blockierenden Substanzen. Zwischen den beiden strukturell so verschiedenen Muskeln ergab sich kein unterschiedliches funktionelles Verhalten. Nach Denervierung gewinnt der Skelettmuskel «tonische» Eigenschaften, denn er reagiert auf Zusatz von Azetylcholin mit einer Kontraktur. Das zeitliche Auftreten dieser Reaktionsform nach Denervierung wurde ausführlich von uns (MUSCHOLL und LÜLLMANN³) am Zwerchfell und in Stichproben am *M. serratus* (LÜLLMANN und BRUNNER⁴) untersucht. Nach Reinnervation des Diaphragma zeigt dieses wieder dasselbe funktionelle Verhalten wie der normale Muskel.

Zu diesen einzelnen Stadien stellten wir mit der von KRÜGER benutzten Technik (Susa-Fixierung, Heidenhain-Eisenhämatoxylin) die histologischen Präparate her, um das Verhalten der felder- und fibrillenstrukturierten Muskelfasern bei den verschiedenen Funktionsänderungen zu beobachten.

Während bereits am 2. Tage nach Denervierung des Zwerchfelles durch Zusatz von Azetylcholin eine Kontraktur auszulösen ist, beginnen die ersten Veränderungen im histologischen Bild sich erst am 5. Tage nach Denervierung auszubilden. Am 10. Tage nach Denervierung ist dieser Prozess sehr ausgeprägt: die fibrillen- und die felderstrukturierten Fasern haben die für sie typische Fibrillenordnung verloren und sich in ihrer Struktur einander angeglichen. Sie sind nicht mehr zu unterscheiden. Das Verhalten auf elektrische Reize (Zuckungsdauer und tetanische Verschmelzungsfrequenz) wird vom Denervationsprozess nicht beeinflusst. In dem chronischen Atrophiestadium bleibt dieses funktionelle Verhalten bestehen, obwohl der histologische Destruktionsprozess fortschreitet.

Nach Reinnervation zeigt das Zwerchfell in den von uns geprüften Versuchsanordnungen ein dem normalen Zwerchfell gleiches Verhalten. Der histologische Aufbau dagegen ist völlig von dem des intakten Zwerchfells

verschieden. Alle Zellen zeigen dieselbe Anordnung und dasselbe Aussehen der Muskelfibrillen. Der Aufbau des Muskelzellquerschnittes liegt zwischen der Felder- und der Fibrillenstruktur.

Nach Entnervung ändert auch der rein fibrillenstrukturierte *M. serratus lateralis* (kaudaler Abschnitt) sein funktionelles Verhalten früher, als eine histologische Änderung sichtbar wird. Die Reaktionen des denervierten *M. serratus* gleichen denen des denervierten Zwerchfelles; histologisch tritt ebenfalls ein Verlust der Fibrillenstruktur wie bei den entsprechenden Fasern des Zwerchfells auf. Auf elektrische Reize hin verhält sich dieser denervierte Muskel ebenso wie vor der Denervation, das heisst, er führt schnelle Zuckungen aus.

Eine ausführliche Darstellung der histologischen Befunde erfolgt im Anatomischen Anzeiger.

G. KUSCHINSKY, H. LÜLLMANN,
W. HOEFKE und E. MUSCHOLL

Pharmakologisches Institut der Universität Mainz, den
3. Oktober 1955.

Summary

A simultaneous investigation of the function and the histological structure of two different muscles of the rat showed no relation between the arrangement of the fibrilles in the muscle cell and the function of the muscle. Such a relation between structure and function was assumed by KRÜGER on the basis of histological investigations, but our findings do not support this hypothesis.

Die α -Glycerophosphat-Oxydation des Heuschreckenbrustmuskels (*Locusta migratoria*)¹

Trotzdem die physiologischen Bedingungen und vielleicht auch der Umfang der Muskelarbeit bei den Insekten erheblich von den bei den Vertebraten bekannten Verhältnissen abweichen (zum Beispiel in Sauerstoffversorgung und -verbrauch), liessen sich bis dahin keine Unterschiede im Stoffwechsel der Muskulatur beider Gruppen nachweisen. Lediglich mehrere Beobachtungen auffallend niedriger RQ-Werte, die einige Insektenarten während des Fluges aufweisen (um 0,7)², deuten auf die Möglichkeit hin, dass sich hier vielleicht andere, von den Wirbeltieren mehr oder weniger verschiedene oder wenigstens bei diesen nicht im Mittelpunkt des Stoffwechselgeschehens stehende Reaktionen abspielen könnten. Zur Klärung dieser Frage wurde die Fähigkeit des Insektenmuskels untersucht, die verschiedenen Intermediärprodukte des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels umzusetzen. Versuche mit α -Glycerophosphat (GP) zeigten dabei überraschende Ergebnisse, die wegen ihres besonderen Interesses hier isoliert mitgeteilt werden sollen.

Hauptuntersuchungsobjekt war die Brustmuskulatur der Wanderheuschrecke *Locusta migratoria*, die nach Dekapitierung der Tiere schnellstens herauspräpariert und mit Hilfe eines Homogenisators nach POTTER-ELVEHJEM oder eines einfachen Mörsers homogenisiert wurde. Als Flüssigkeit diente dabei entweder eiskaltes destilliertes Wasser oder 0,154 m KCl-Lösung. Die Durch-

¹ P. KRÜGER, *Tetanus und Tonus der quergestreiften Skelettmuskeln der Wirbeltiere und des Menschen* (Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig 1952).

² P. G. GÜNTHER, *Acta anat.* 14, 54 (1952); *Ärzt. Forsch.* 8, 217 (1954).

³ E. MUSCHOLL und H. LÜLLMANN, *Arch. exper. Path. Pharmacol.* 226, 88 (1955).

⁴ H. LÜLLMANN und H. BRUNNER, *Arch. exper. Path. Pharmacol.* 223, 254 (1954).

¹ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

² A. KROGH und T. WEIS-FOGH, *J. exper. Biol.* 23, 344 (1951). – T. WEIS-FOGH, *Phil. Trans. roy. Soc. [B]* 237, 1 (1952). – E. ZEBE, *Z. vgl. Physiol.* 36, 290 (1954).

führung der Untersuchungen erfolgte dann nach der Warburgtechnik in Standardreaktionsgefässen bei einer Temperatur von 37°C in Luft.

Durch Variation der einzelnen Faktoren unter Konstanterhaltung der übrigen wurden die optimalen Bedingungen für die Oxydation von α -Glycerophosphat durch Homogenat aus Heuschreckenmuskulatur ermittelt³. Als Medium diente dabei 0,05 *m* Phosphatpuffer.

Tabelle I

Konzentration von Glycerophosphat QO ₂		0,257 <i>m</i>	0,175 <i>m</i>	0,087 <i>m</i>	0,044 <i>m</i>	0,009 <i>m</i>	1 2	
		18,6	22,0	45,7	33,9	16,9		
pH	QO ₂	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	9,0
		52,1	54,5	57,0	69,0	75,1	69,0	65,5
								10,0 ²
								43,6

¹ Stets Endkonzentration.

² Mit 8×10^{-6} *m* Cytochrom C, 7×10^{-6} *m* DPN, pH 7,5.

Die stärkste Oxydation von α -Glycerophosphat erfolgte demnach bei einer Konzentration dieses Substrates von 0,087 *m*. Der pH-Bereich, in dem die Reaktion maximal ablief, war verhältnismässig weit und reichte etwa von pH 7,0 bis 9,0. Eine deutliche Spitze lag jedoch bei pH 7,5.

Durch Zusatz von Cytochrom C zum mit Glycerophosphat inkubierten Homogenat liess sich der Sauerstoffverbrauch um etwa 50% steigern. Die Endkonzentration dieser Substanz musste dabei mindestens 8×10^{-6} *m* betragen. Die gleiche Wirkung konnte bei Verwendung von Methylenblau an Stelle von Cytochrom beobachtet werden. Auch mit Hilfe von DPN in der Konzentration von 7×10^{-6} *m* konnte eine Zunahme des Sauerstoffverbrauchs erreicht werden, allerdings nur in wesentlich geringerem Umfange. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Cytochrom C und DPN wurde maximale Atmung festgestellt.

Tabelle II

	GP allein	GP + DPN	GP + Cyt. C	GP + DPN + Cyt. C ¹
QO ₂	44,0	54,3	67,9	76,4

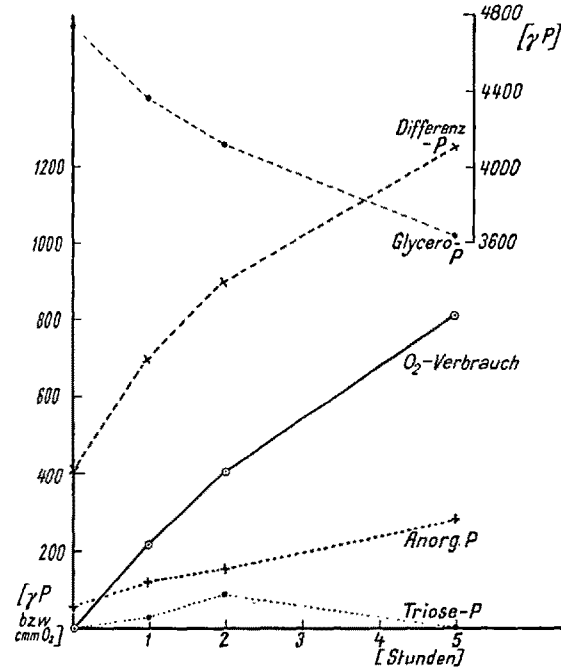
¹ 0,087 *m* Glycerophosphat, pH 7,5.

Dass der Umsatz von Glycerophosphat schon ohne besonderen Zusatz von Cofermenten in beträchtlichem Umfange erfolgte, mag durch den relativ hohen Gehalt der Insektenmuskulatur an diesen Substanzen bedingt sein.

Cyanid bewirkte in einer Konzentration von 6×10^{-4} *m* eine etwa 90%ige Hemmung der Sauerstoffaufnahme, bei der zehnfachen Menge eine vollständige Sistierung, vorausgesetzt, dass als Wasserstoffakzeptor Cytochrom diente.

Um festzustellen, inwieweit der gemessene Sauerstoffverbrauch der Oxydation von Glycerophosphat entspricht und ob und welche weiteren Oxydationsschritte daran ebenfalls noch beteiligt sind, wurde in Parallelversuchen die Reaktion nach verschiedenen Zeiten (1,2 und 5 h) durch Eiweissfällung mit Trichloressigsäure

unterbrochen. Als Medium diente dabei Glykokoll/NaOH-Puffer pH 8,3. Durch Bestimmung der einzelnen Fraktionen des säurelöslichen Phosphats nach der gebräuchlichen Methode von JENDRASSIK konnten deren Veränderungen festgestellt werden. Es wurde der Gehalt des Trichloressigsäureextrakts von Homogenat der Heuschreckenmuskulatur an folgenden Phosphorverbindungen gemessen: Gesamtphosphat, anorganisches Phosphat, Triosephosphat⁴, Glycerophosphat⁵ und aus der Differenz die Summe der übrigen Phosphorsäureester. Der Gehalt an Triosephosphat, also dem ersten Oxydationsprodukt, ergab nach 2 h den höchsten Wert, wenngleich dieser auch nur einen geringen Bruchteil des



auf Grund des Sauerstoffverbrauchs zu erwartenden ausmachte. Nach 5 h liess sich keinerlei Triosephosphat mehr nachweisen. Das anorganische Phosphat zeigte eine konstante Zunahme, bis schliesslich das Vierfache der Ausgangskonzentration erreicht war. Der Anstieg der aus der Differenz ermittelten Phosphorverbindungen erfolgte ebenfalls ziemlich konstant auf das Drei- bis Vierfache der Ausgangsmenge. Die Reaktion war also nicht mit der Bildung des Dioxyacetonphosphats beendet worden, sondern erheblich weiter gelaufen. Mit Fortschreiten der Reaktionszeit wurde trotz Gegenwart grösserer Mengen unoxydierter Glycerophosphats der Anteil der Oxydation dieser Verbindung am verbrauchten Sauerstoff immer geringer. Nach 1 h betrug der aus der Abnahme des Glycerophosphats berechnete Sauerstoffverbrauch 63% des tatsächlich gemessenen, nach 2 h 57% und nach 5 h nur noch 51%.

Es liegt nahe, bei der Deutung einer so ausgeprägten Fähigkeit zur Oxydation von α -Glycerophosphat durch den Heuschreckenbrustmuskel an dessen (direkte?) Ausnutzung von Fetten als Energiequelle für die Arbeitsleistung zu denken. Indessen dürfte wohl der Abbau des Glycerinanteils des Fetts allein das Vorhandensein eines derartig wirksamen Mechanismus nicht befriedigend er-

⁴ O. MEYERHOF und K. LOHMANN, *Biochem. Z.* 271, 89 (1934).

⁵ C. F. BURMASTER, *J. biol. Chem.* 164, 233 (1946), beide zitiert in L. HOPPE-SEYLER/THIERFELDER, *Handbuch der physiolog. und patholog. Chemie* (10. Auf.) III/1.

³ Razemisches Präparat der Firma Fluka, Buchs, Schweiz.

klären, macht er doch nur etwa 10% des Gesamtgewichts des Fettes aus. Aus diesem Grunde erschien es von besonderem Interesse, unter vergleichendem Gesichtspunkt mit der gleichen Methodik Untersuchungen an verschiedenen Gruppen der Insekten einerseits und Vertretern der Wirbeltiere andererseits durchzuführen. Als Bezugssystem und Maßstab für die Aktivität des Glycerophosphatoxydasesystems sowie als Hinweis auf den Grad der Wirksamkeit der übrigen fermentativen Eigenschaften der verschiedenen Muskeln wurde stets das Succinoxidasesystem gleichzeitig und gleichfalls unter optimalen Bedingungen getestet.

Das Ergebnis dieser Experimente bestätigte die schon bekannte Tatsache, dass der Insektenmuskel in seiner Stoffwechselintensität den Wirbeltiermuskel bei weitem übertrifft⁶. Der Q_{O_2} ergibt bei ihm nach Zusatz von Bernsteinsäure Werte, die bis zu einer Zehnerpotenz höher liegen als bei jenem. Der Sauerstoffverbrauch des mit α -Glycerophosphat inkubierten Muskels beträgt bei Ratte und Taube nur einen Bruchteil des mit Succinat gemessenen. Überraschenderweise verhält sich die Muskulatur der untersuchten Insekten in dieser Hinsicht vollkommen anders. Sie besitzt die Fähigkeit, Glycerinphosphorsäure in mindestens dem gleichen Umfange, in einigen Fällen sogar deutlich stärker umzusetzen als Bernsteinsäure.

Tabelle III

	Succinat	Glycerophosphat
<i>Locusta migratoria</i>	69	80,5
<i>Melolontha vulgaris</i>	105	133
<i>Melopsilus porcellus</i>	53	79
<i>Apis mellifica</i>	119	144
Ratte.	14	4
Taube	23	3

Überraschend dabei ist die Tatsache, dass in dieser Eigenschaft anscheinend keinerlei Unterschiede bestehen zwischen dem Stoffwechseltyp derjenigen Insekten, die als Energiequelle für die Muskelarbeit allein Kohlenhydrate auszunutzen vermögen (zum Beispiel Biene), und jenem, der zu diesem Zweck in erster Linie Fette heranzieht (zum Beispiel Wanderheuschrecken und Schmetterlinge). Die so auffällige Fähigkeit zur Oxydation von α -Glycerophosphat in grossem Umfange steht demnach wohl nicht in besonderem Zusammenhang mit dem Fettstoffwechsel. Vielmehr scheint es sich hier um eine spezifische Fähigkeit des Insektenmuskels ganz allgemein zu handeln. Über deren Bedeutung lassen sich vorläufig freilich nur Vermutungen anstellen.

Die Untersuchungen werden erweitert und fortgesetzt.

Herrn PD Dr. G. SIEBERT möchte ich für seine Unterstützung der Arbeit in Rat und Tat danken.

E. ZEBE

Zoologisches Institut der Universität Mainz, den 3. November 1955.

Summary

The conditions were studied for the glycerophosphate oxidation by homogenate from locust flight muscle,

⁶ W. H. McSHAN, S. KRAMER und V. SCHLEGEL, Biol. Bull. 106, 341 (1954).

and the O_2 -consumption was measured. Maximal oxidation rates were found with 0.087 m glycerophosphate, $8 \times 10^{-6}\text{ m}$ cytochrome *c*, $7 \times 10^{-6}\text{ m}$ DPN and pH 7.5. The production of dihydroxyacetone phosphate is followed by further oxidation steps, as could be shown by estimation of the different fractions of acid-soluble phosphate. Comparative studies were made on different insects and vertebrates. The rate of succinate oxidation by insect muscle was found to be ten times higher than that of vertebrate muscle. The relation of glycerophosphate oxidation to succinate oxidation is quite different in insects and vertebrates, but no difference could be detected between the two types of muscle metabolism of insects: the carbohydrate and the fat-utilizing type.

Modifikation der histologischen und hämatologischen Veränderungen bei Ratten nach Gaben von Trichlortriäthylamin-Hydrochlorid-Lösungen durch Äthernarkose

Eine grosse Reihe von chemischen Stoffen wirkt auf die Zellteilung ähnlich wie kurzwellige Strahlungen. Zu solchen Stoffen, welche als Radiomimetika bezeichnet wurden, gehören auch die N-Lost-Verbindungen (DUSTIN¹). In den letzten Jahren verbreitete sich die Anwendung dieser Stoffe in der Klinik bei den verschiedensten Krankheiten.

Betreffend den Wirkungsmechanismus dieser Mitosegifte wurden zahlreiche Untersuchungen unternommen. Am besten sind wir über die Wirkung dieser Stoffe auf Proteine, SH-Substanzen, Nukleinsäuren und Fermente informiert (BACQ², GOLDACRE³, LARIONOV⁴, COLTER und QUASTEL⁵). Eine grosse Reihe von Arbeiten beschäftigte sich mit histologischen und hämatologischen Veränderungen nach Verabreichung dieser Stoffe (KINDRED⁶, JACOBSON⁷, GOHR⁸). Betreffend der Wirkung von N-Lost-Stoffen im tierischen Organismus wurde bisher der Einfluss des Nervensystems nicht in Betracht gezogen. In der uns zugänglichen Literatur findet man nur eine einzige Angabe über diese Frage (LARIONOV⁴), es werden aber keine experimentellen Beweise angeführt.

Da es bekannt ist, dass Narkotika die Reaktion des tierischen Organismus auf Strahlung mindern und die Überlebensrate stark modifizieren (KAHN⁹, PATTERSON¹⁰, PRASLIČKA¹¹), unternahmen wir Versuche, um den Einfluss der Äthernarkose auf histologische und hämatologische Veränderungen bei Ratten nach Trichlortriäthylamin-Injektionen zu verfolgen.

Als Versuchstiere benutzten wir Ratten. Die Gesamtzahl der Tiere betrug 40 Exemplare. Die Menge des ge-

¹ P. DUSTIN, Nature 159, 749 (1947); Bruxelles Méd. 48 (1947); C. r. Soc. biol. Paris 142, 1433 (1948).

² Z. M. BACQ, Exper. 2, 349 (1946); 2, 385 (1946); Nature 159, 478 (1947).

³ R. S. GOLDACRE, A. LOVELESS und W. C. G. ROSS, Nature 163, 667 (1949).

⁴ L. F. LARIONOV, Lečenie belokrovija limfogranulematoza embichinom (Moskau 1951).

⁵ J. S. COLTER und J. H. QUASTEL, Nature 166, 773 (1950).

⁶ E. J. KINDRED, Arch. Pathol. 43, 253 (1947).

⁷ L. O. JACOBSON und Mitarbeiter, J. Lab. Clin. Med. 34, 902 (1949).

⁸ M. GOHR und Mitarbeiter, Z. ges. inn. Med. und Grenzgeb. 15, 692 (1953).

⁹ J. B. KAHN, Proc. Soc. exper. Biol. Med. 78, 486 (1951).

¹⁰ H. M. PATTERSON und Mitarbeiter, Science 115, 547 (1952).

¹¹ M. PRASLIČKA, Čs. Biologie 3, 198 (1954); 4, 88 (1955).