

deren o.a. Kombination eine nachweisbare Eiweiss-synthese, wie sie in der Literatur bereits beschrieben wurde⁵. Bei der nachfolgenden elektrophoretischen Auf-trennung war das in diesen Systemen aufgebaute Eiweiss jedoch nicht als den Serumproteinen zugehörig identifizierbar.

Summary. In the serum of rabbits, *in vitro* protein-synthesis takes place only in the presence of mitochondria

(liver) and only with amino acids. Proteins synthesized in this manner are not identifiable with the serum proteins.

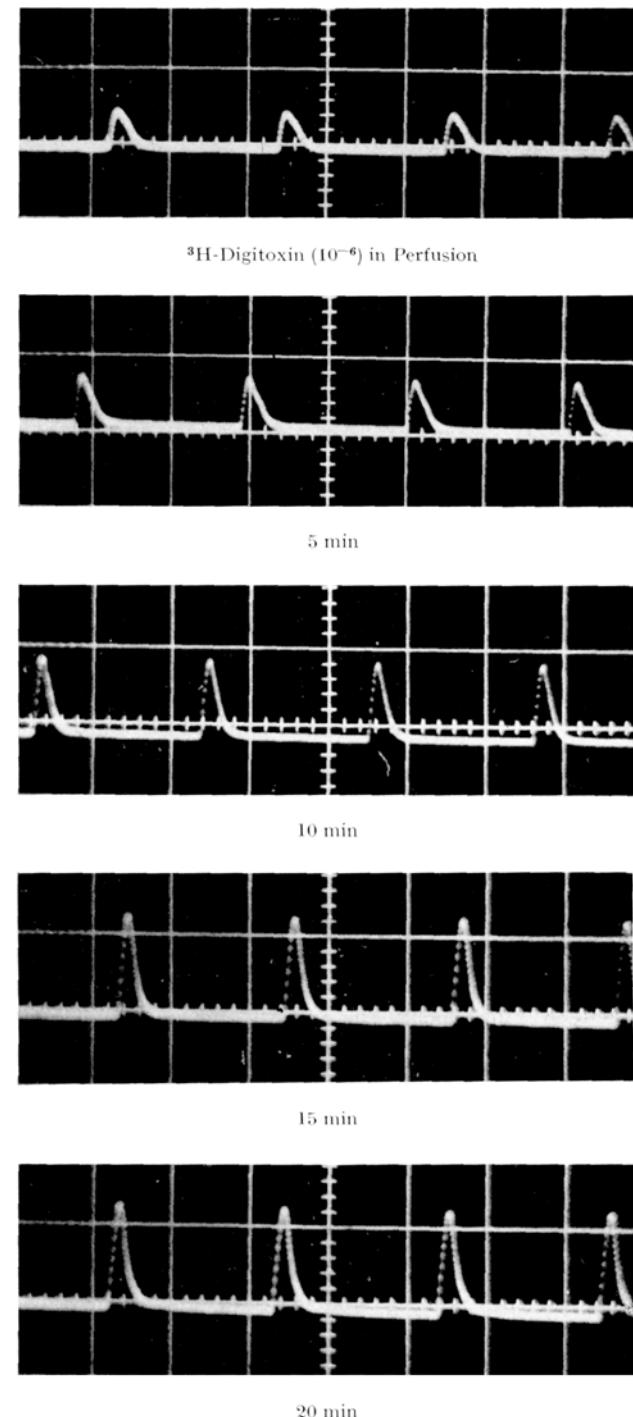
G. SCHUBERT und J. PANY

Physiologisches Institut der Universität Wien (Österreich),
5. Oktober 1961.

Nachweis von ^3H -Digitoxin in der Herzmuskelzelle

Über den Wirkungsort der Herzglykoside im Herzmuskel sind verschiedene Ansichten bekannt geworden. Einerseits scheinen sie an der Membran der Muskelzelle den Austausch vor allem von Kalium-, vielleicht auch von Calciumionen, zu beeinflussen¹ und die Membran-ATP-ase zu hemmen²; andererseits sind in Modellversuchen sehr deutliche Veränderungen der kontraktilen Proteine festgestellt worden³, welche wahrscheinlich mit der Verbesserung der Muskelkontraktion des insuffizienten Herzens zusammenhängen. Voraussetzung dafür ist das Eindringen der Glykoside ins Innere der Muskelzelle und direkte Einwirkung auf den Kontraktionsapparat. Obwohl verschiedene Versuche unternommen wurden, um Herzglykoside in den Protoplasmafraktionen der Herzmuskelzelle nachzuweisen⁴, fehlt bis heute ein eindeutiger Beweis.

Wir haben diese Frage mit der folgenden *Methodik* untersucht. Interventrikulare Muskelbündel aus der rechten Herzkammer von Kälbern wurden in einem temperaturkonstanten Bad (37°C) durch eine kleine Arterie mit einem konstanten Strom von oxygenierter Tyrode-Lösung perfundiert. Sie kontrahieren sich zuerst spontan unregelmäßig und wurden daher mit aussen aufgelegten Elektroden mit Reizimpulsen von 60 V und einer Frequenz von 30/min zu regelmäßigen Kontraktionen gebracht. Die Grösse derselben wurde mit einer «mechanoelectrical» Transducer-Röhre (RCA 5734) in Spannungsstöße umgewandelt und mit einem Kathodenstrahl-oscillographen registriert. Sobald die Höhe der registrierten Kontraktionsimpulse während einiger Zeit konstant war, wurde ^3H -Digitoxin ($1\text{ mg/l} = 10^{-6}$) in Tyrode perfundiert, wodurch die Muskelkontraktionen 2-3 mal grösser wurden (Figur 1). Nachdem sich die Kontraktionen während einiger Minuten auf ihrem Maximum konstant gehalten hatten, wurde der Versuch unterbrochen. In eini-



- 1 S. HAJDU und E. LEONARD, *Pharm. Rev.* **11**, 173 (1959).
- 2 H. J. PORTIUS und K. REPKE, First Int. Pharmacol. Meeting, Stockholm 1961 (Pergamon Press Ltd.).
- 3 P. G. WASER, *Cardiologia* **29**, 214 (1956); First Int. Pharmacol. Meeting, Stockholm 1961 (Pergamon Press Ltd.).
- 4 S. ST. GEORGE, M. FRIEDMAN und T. ISHIDA, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **83**, 318 (1953). — S. C. HARVEY und G. R. PEEPER, *J. Pharmacol.* **114**, 14 (1955). — J. L. SPRATT und G. T. OKITA, *J. Pharmacol.* **124**, 115 (1958).

Fig. 1. Mechanogram (Kathodenstrahloscilloskop) des Herzmuskelbündels vor und nach ^3H -Digitoxin, 10^{-6} in Tyrode 37°C , Reizfrequenz 30/min.

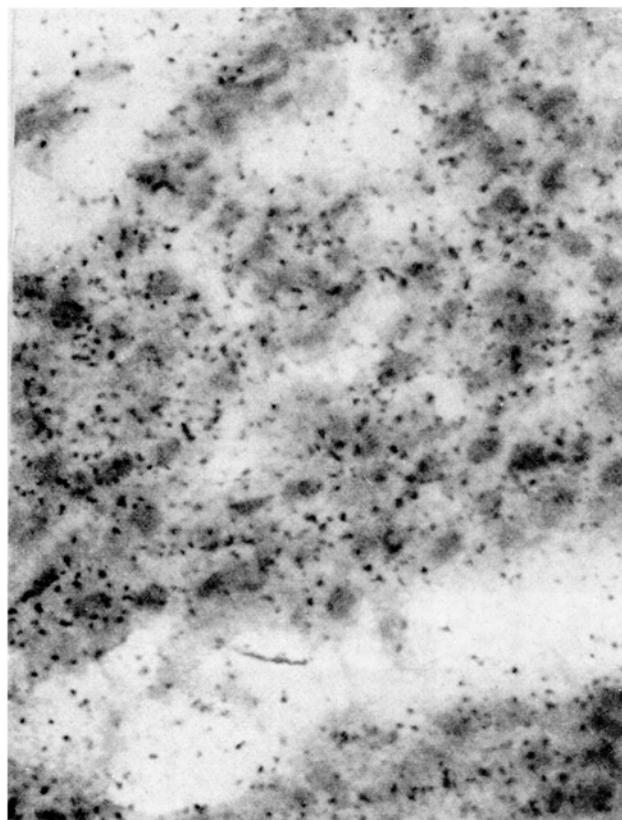


Fig. 2. Autoradiographie, gleiches Herzmuskelbündel quer geschnitten (10μ), auf NTB-Emulsion aufgezogen. Silberkörner im Bereich des Muskelgewebes.

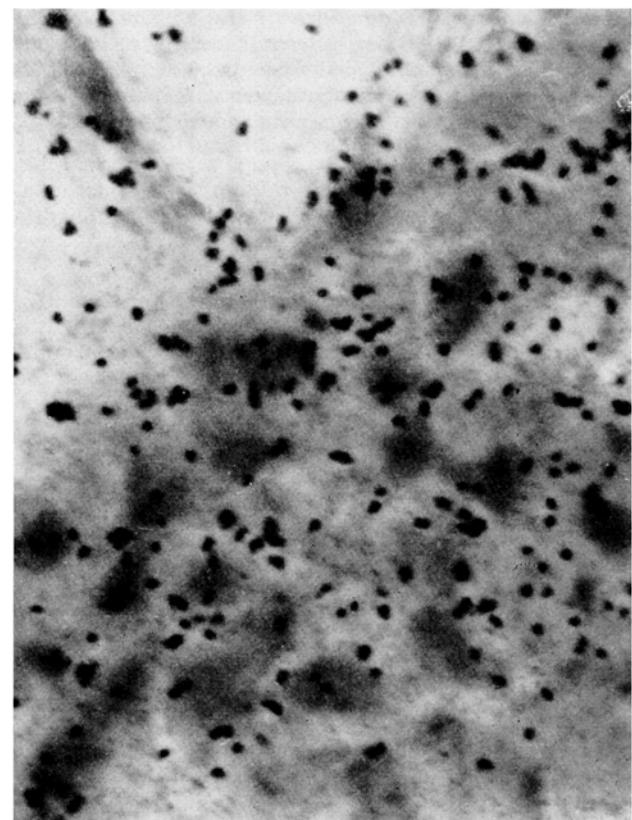


Fig. 3. Wie Figur 2, Ölimerision. Silberkörner ziemlich diffus verteilt, oft in der Nähe von Muskelzellkernen.

gen Versuchen wurde dann mit digitoxinfreier Tyrode-lösung während 5 min nachgewaschen. Das Muskelbündel wurde sofort mit CO_2 -Schnee eingefroren und später im Linde-Kryostaten bei -25°C quergeschnitten, die 10μ dicken Schnitte im Kryostaten auf NTB-Emulsionen (Kodak) gebracht und diese während 2-4 Monaten bei -25°C im Dunkeln exponiert. Dann wurden Muskel-schnitte und Filme gemeinsam entwickelt und mit Hämalaun-Eosin gefärbt.

Das nach der Wilzbach-Methode tritierte Digitoxin erwies sich als radiochemisch rein ($18 \mu\text{C}/\text{mg}$) und biologisch voll wirksam⁶.

Die Autoradiographien (Figur 2, 3) zeigen Querschnitte von Herzmuskelfasern und die durch das radioaktive Digitoxin exponierten Silberkörner in der darunterliegenden Filmschicht. Diese wurde für die Abbildung scharf eingestellt; daher sind Zellgrenzen und Zellkerne nur unscharf zu erkennen. Die Silberkörner haben eine Grösse von $1-2 \mu$ und liegen unregelmässig verteilt in der Muskulatur. Häufig sind sie um die Kerne, das heisst deutlich innerhalb der Zellen gruppiert, ohne dass daraus eine bestimmte Verteilung erkennbar ist. Ringförmige Anordnungen, wie sie bei ausschliesslicher Besetzung der Membranen erwartet würden, fehlen. Einzelne Silberkörner sind auch im Interstitium und in den Gefässen zu finden.

Da die β -Strahlung von Tritium ausserordentlich schwach ist ($\text{Emax} = 0,018 \text{ Mev}$) und bei der verwendeten «mounting»-Technik eine gute Auflösung von minimal $1-2 \mu$ zu erwarten ist, die Herzmuskelzellen aber einen Durchmesser von $8-12 \mu$ haben, kann aus der

Körnerverteilung mit Sicherheit geschlossen werden, dass sich das ^3H -Digitoxin nicht nur an den Membranen, sondern im Moment der maximalen inotropen Wirkung zu einem guten Teil auch in den Muskelzellen befindet. Diese Verteilung kann nicht Folge einer Diffusion von Digitoxin nach Beendigung der Perfusion sein, indem der Muskel, außer einem kurzen Moment zur Streckung der Schnitte bei 0°C , dauernd bei $-25/-27^\circ \text{C}$ gehalten wurde. Aus den Abbildungen lässt sich nicht entscheiden wo der genaue Wirkungsort ist und es sind auch weitere Untersuchungen zur Abklärung des quantitativen Wirkungsverlaufes notwendig⁶.

Summary. In autoradiographs of intraventricular muscle bundles of beef heart, tritiated digitoxine is found outside the membrane and inside the muscle cell at the moment of maximal inotropic action.

P. G. WASER

Pharmakologisches Institut der Universität, Zürich (Schweiz), 6. Oktober 1961.

⁵ J. L. SPRATT, G. T. OKITA und E. M. K. GEILING, Int. J. appl. Rad. Isotopes 2, 167 (1957).

⁶ Wir danken Herrn Dr. G. T. OKITA, University of Chicago, für die Überlassung von 1 mg ^3H -Digitoxin, Herrn Prof. S. WEIDMANN, Universität Bern, und Herrn Dr. E. BERMAN, University of Southern California, für ihre technische Hilfe sowie dem Schweizerischen Nationalfonds für die finanzielle Unterstützung.