

## Membrandepolarisation der Muskelfasern des Öffnermuskels des Flusskrebses auf Nervenreiz und Kaliumapplikation<sup>1</sup>

Die für die Vertebraten-Muskelfaser geltende direkte Beziehung zwischen Ausmass der Membrandepolarisation und der Grösse der nachfolgenden Spannungsentwicklung wurde an Crustaceen-Muskeln teils bestätigt (ORKAND<sup>2</sup>) teils aber in Frage gestellt (HOYLE und Wiersma<sup>3</sup>; ATWOOD<sup>4</sup>). Nach HOYLE und Wiersma soll ein hypothetischer Überträgerstoff und nicht die stark wechselnde Membrandepolarisation die Grösse der Kontraktionsamplitude bestimmen. ATWOOD fand am Öffnermuskel der Schere von *Astacus fluviatilis*, dass die Membran zu folge Nervenreizung weniger depolarisiert werden muss, um eine bestimmte Hubhöhe zu erreichen, als wenn die Depolarisation durch Erhöhung der extrazellulären Kaliumkonzentration geschieht. ATWOOD verglich Potentiale einzelner Oberflächenfasern mit der Spannungsentwicklung des ganzen Öffnermuskels. Es ist somit nicht ausgeschlossen, dass ein unterschiedliches elektrisches Verhalten oberflächlicher und tiefer Faserbezirke für die scheinbar fehlende Parallelität zwischen Membrandepolarisation und Faserspannung verantwortlich ist. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, Membranpotentialänderung nach Nervenreizung, respektive zufolge Erhöhung der Kaliumkonzentration in der Badelösung, in verschiedenen Faserabschnitten des von ATWOOD verwendeten Muskelpräparates miteinander zu vergleichen. Eine vorläufige Mitteilung der Versuchsergebnisse ist bereits erfolgt (IRAVANI<sup>5</sup>).

Die Versuche wurden am Öffnermuskel der Schere des ersten Laufbeins durchgeführt. Die Präparation erfolgte wie bei DUDEL und KUFFLER<sup>6</sup>. Der Muskel besteht aus einigen Faserschichten. Die Muskelfasern sind 200–300  $\mu$  dick und 2–4 mm lang. Die Endigungen des erregenden Nerven verteilen sich über die Muskelfasern und bilden dort Synapsen.

Wir leiteten an 10 Muskelpräparaten systematisch das erregende postsynaptische Potential (EPSP) der Muskelfasern verschiedener Lokalisation ab. Zur intrazellulären Ableitung wurden Glasmikroelektroden von 5–10 MegOhm Widerstand verwendet. Es zeigte sich, dass bei einer konstanten Reizfrequenz die Amplitude des EPSP im gleichen Muskel von Faser zu Faser erheblich verschieden ist. Sie variierte z.B. bei einer Reizfrequenz von 15/sec um das 40fache. Figur 1 gibt die EPSP zweier Fasern eines Muskels bei einer Reizserie von 50/sec über 100 msec wieder. Die maximalen EPSP-Amplituden betragen hier 18,0 und 0,8 mV. In bezug auf die Amplitude des EPSP lassen sich in diesem Muskel drei Fasergruppen unterscheiden. In der Figur 2 ist ein Öffnermuskel nach auflichtmikroskopischer Beobachtung gezeichnet. Die EPSP-Amplituden einiger Muskelfasern sind eingetragen. An Hand dieser Figur wird im folgenden die Gruppenenteilung erörtert:

Gruppe 1: Oberflächliche Fasern im mittleren Abschnitt, die die kleinsten EPSP aufweisen. Hier liegt die Amplitude zwischen 0,3 und 1,2 mV.

Gruppe 2: Fasern, die den tieferen Schichten angehören und durchweg grössere EPSP-Amplituden zeigen als die oberflächlichen Fasern. Die Amplituden liegen zwischen 1,3 und 5,3 mV und sind rund 5mal so gross wie bei den entsprechenden oberflächlichen Fasern.

Gruppe 3: Fasern, die weit proximal und distal in diesem Muskel vorkommen und sehr hohe EPSP zeigen. Bei dem hier angeführten Versuch liegt die Amplitude zwischen 2,5 und 13,0 mV. Wiederholt konnten bei diesen Fasern Aktionspotentiale auf Einzelreiz beobachtet werden.

Erhöhung der Reizfrequenz ändert an dieser Charakteristik nichts; das EPSP vergrössert sich entsprechend der Gruppenzugehörigkeit der Fasern. Morphologisch sind die Fasern einheitlich. Vermutlich entsprechen den grösseren EPSP höhere Zahlen von Synapsen pro Muskelfaser.

In einer anderen Versuchsserie (23 Muskelpräparate) verfolgten wir den zeitlichen Verlauf der Membrandepolarisation der Muskelfasern nach Kaliumapplikation. Die Kaliumkonzentration wurde auf das 3- und 4fache der in der VAN HARREVELD-Lösung<sup>7</sup> erhöht. Die Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengefasst. Hier ist das Verhalten der oberflächlichen Fasern dem der um eine Schicht tiefer liegenden gegenübergestellt. 5 sec nach Zugabe kaliumreicher Lösung zeigen die tiefen Fasern eine geringfügige Membrandepolarisation. Nach 2 min liegen ihre Depolarisationswerte weit unter denjenigen der oberflächlichen. Das neue Potentialniveau stellt sich bei den tiefen Fasern signifikant später ein. Die Diskrepanz der Membrandepolarisation zwischen den oberflächlichen und den tiefen Fasern kommt durch die langsame

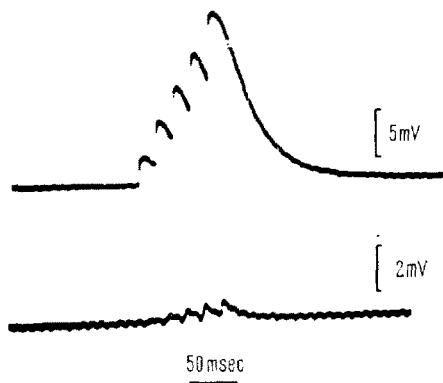


Fig. 1. EPSP zweier Fasern eines Öffnermuskels bei einer Reizserie von 50/sec über 100 msec. Intrazelluläre Ableitung. Beachte die höhere Verstärkung im unteren Bild.

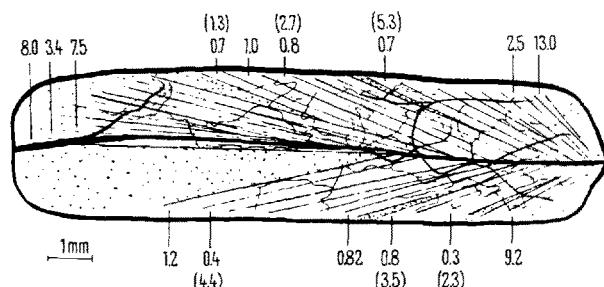


Fig. 2. Zeichnung eines Öffnermuskels bei auflichtmikroskopischer Beobachtung. Der über dem Öffner liegende Schliessermuskel ist entfernt worden. Links: proximal. Rechts: distal. Die EPSP-Amplituden einiger Fasern sind in mV eingetragen. Die Zahlen in Klammern geben die Werte für die tiefen Fasern wieder. Reizfrequenz 15/sec.

<sup>1</sup> Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

<sup>2</sup> R. K. ORKAND, J. Physiol. 161, 143 (1962).

<sup>3</sup> G. HOYLE und C. A. G. WIERSMA, J. Physiol. 113, 441 (1958).

<sup>4</sup> H. L. ATWOOD, Nature 195, 387 (1962).

<sup>5</sup> J. IRAVANI, Pflügers Arch. ges. Physiol. 281, 46 (1964).

<sup>6</sup> J. DUDEL und S. W. KUFFLER, J. Physiol. 155, 514 (1961).

<sup>7</sup> A. VAN HARREVELD, Proc. Soc. exp. Biol., N.Y. 34, 428 (1936).

Membrandepolarisation nach Erhöhung der K<sup>+</sup>-Konzentration auf den 3fachen (16,2 mMol/l) und 4fachen (21,6 mMol/l) physiologischen Wert. Es sind Mittelwerte mit ihren mittleren Streuungen angeführt

	Depolarisation nach 5 sec (mV)	Depolarisation nach 2 min (mV)	Gesamtzeit der Depolarisation (sec)
Faser	$3 \times K^+$	$3 \times K^+$	$3 \times K^+$
oberflächliche	$9,57 \pm 2,75$	$9,08 \pm 4,1$	$17,8 \pm 6,0$
tiefe	$1,0 \pm 2,08$	$2,25 \pm 2,81$	$12,2 \pm 3,59$
		$11,7 \pm 4,07$	$46,1 \pm 30,0$
			$51,5 \pm 17,6$

Diffusion von Kalium in die Tiefe zustande. Dieser Faktor wird von Atwood nicht berücksichtigt. Die Einwirkungszeit von wenigen Sekunden in Atwoods Experimenten ist, wie es aus unseren Daten hervorgeht, für die tiefen Fasern erheblich zu kurz und für die oberflächlichen Fasern nicht ausreichend.

Unsere Versuche zeigen, dass der Befund von Atwood mit hoher Kaliumdepolarisation und kleinen EPSP nur für eine Fasergruppe, nämlich die Gruppe 1 unserer Einteilung, zutrifft. In der kurzen Einwirkungszeit der kaliumreichen Lösung können die tiefen Fasern, die hauptsächlich die Kontraktion auf Nervenreiz unterhalten, keine optimale Depolarisation aufweisen. In den Experimenten dieses Autors hat deshalb der Vergleich der Kaliumdepolarisation mit den EPSP einiger Muskelfasern, die keineswegs als repräsentativ betrachtet werden

können, zu einer nicht statthaften Schlussfolgerung geführt<sup>8</sup>.

*Summary.* Three groups of fibres with different EPSP were differentiated in the claw-opening muscle of crayfish. Small and late depolarization of the deep fibres was observed on application of 3–4 times the normal concentration of KCl.

J. IRAVANI

*Institut für Allgemeine Physiologie der Universität Heidelberg (Deutschland), 25. Januar 1965.*

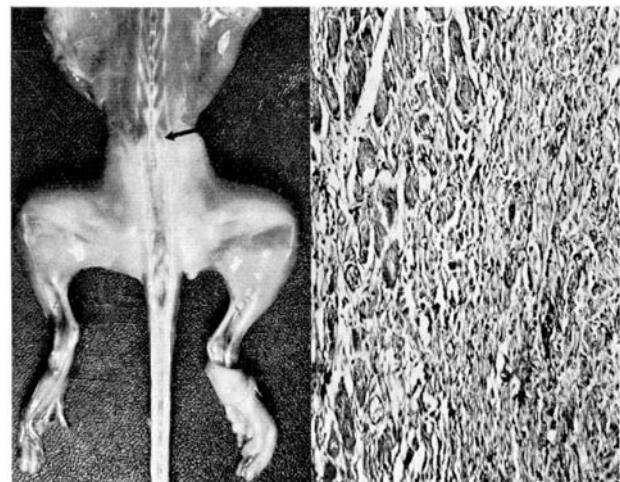
<sup>8</sup> Herrn PD Dr. J. DUDEL sei für die wertvollen Vorschläge und Anregungen verbindlichst gedankt.

### A Muscular Dystrophy Induced by Cold Following Restriction of the Arterial Blood Supply<sup>1</sup>

Muscular dystrophies are known to occur in experimental animals under the influence of hereditary factors, drugs and diets. Yet, the value of these as experimental models of disease is somewhat limited by the complexity of the underlying pathogenic mechanisms, individual variations in susceptibility and the variable distribution of the lesions. Recently, we have succeeded in developing a simple technique for the consistent induction of a severe and predictably localized myolysis by exposing certain skeletal muscle groups to cold following restriction of their arterial blood supply.

In preliminary experiments we tested a variety of procedures for cooling and for the restriction of the blood supply; only the most efficacious combination of techniques was then used in the principal experiment to be described here.

In twenty female Sprague-Dawley rats of the Holtzman Farms with a mean body weight of 105 g (range 96–110 g), the aorta was exposed through a midline incision under ether anesthesia and completely occluded by a nylon ligature just caudad from the origin of the renal arteries. Immediately after the operation, most of the animals showed a slight impairment in the use of their hind limbs, but this soon disappeared, and after two or three days they were able to walk in an essentially normal manner, presumably as the result of adequate collateral circulation. Five of these rats, killed on the fourth day, showed no macroscopically detectable lesion in the musculature of the hind limbs. On the fifth day, the remaining 15



*Left:* Light discoloration of the musculature from waist (arrow) down. *Right:* The muscle fibers undergo lysis while the sarcolemma sheaths proliferate (PAS,  $\times 120$ ).

<sup>1</sup> This work was supported by the Medical Research Council of Canada and the Canadian Arthritis and Rheumatism Society.