

Die beschriebene Verschiebung der prozentualen Metabolitenverteilung im Harn in Abhängigkeit von der Phenacetindosis entspricht nicht den Gesetzmässigkeiten der allgemeinen Pharmakokinetik. In der Regel verlaufen die verschiedenen Abbau- und Eliminationsprozesse, durch die ein gegebenes Medikament aus dem Organismus eliminiert wird, durchwegs nach der Kinetik erster Ordnung, das heisst proportional der Plasmakonzentration des Medikamentes. Entsprechend ist jeweils die prozentuale Verteilung der Metaboliten im Harn, unabhängig von der applizierten Dosis. Es gibt jedoch Ausnahmen von dieser Regel, vor allem dann, wenn ein wichtiger Teilprozess der Abbaureaktionen nach einer Kinetik gemischter oder nullter Ordnung (Sättigungskinetik) verläuft. Bekannt ist der von G. LEVY<sup>14</sup> eingehend untersuchte und abgeklärte Ausnahmefall der Salizylsäure. Es hat sich nun gezeigt, dass auch Phenacetin als Ausnahmefall zu gelten hat, wobei allerdings hier im Unterschied zur Salizylsäure eine genauere Analyse der dem anomalen Verhalten zugrunde liegenden Mechanismen noch aussteht.

**Summary.** Experiments on the metabolism of phenacetin in the rat are reported. Estimations of phenacetin, total

acetyl-*p*-aminophenol, *p*-phenetidine and 2-hydroxyphenetidine-sulfate in the urine excreted after ingestion of phenacetin reveal an unusual dose-dependence of the metabolic pattern. The degradation of phenacetin through deacetylation to phenetidine is greatly enhanced by raising the dose. The results are briefly discussed in view of their possible significance in the development of analgesic nephropathy in man. As a working hypothesis for further experiments it is assumed, that phenetidine is the main toxic agent in nephropathy due to phenacetin abusus.

U. C. DUBACH und J. RAAFLAUB

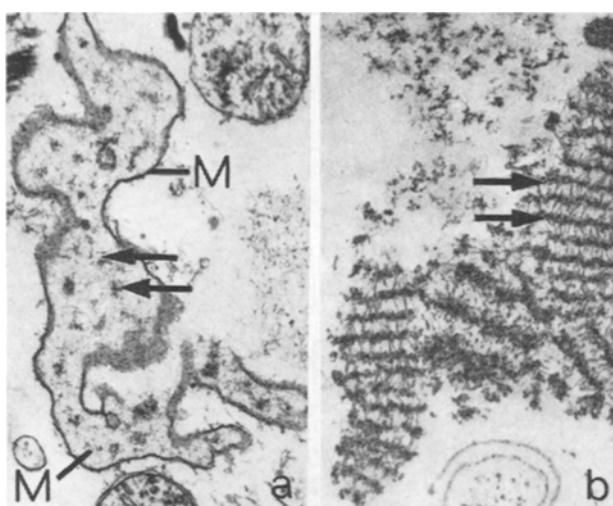
Medizinische Poliklinik der Universität Basel und  
Abteilung für experimentelle Medizin der  
F. Hoffmann-La Roche und Co. A.G.,  
CH-4002 Basel (Schweiz), 23. Juni 1969.

<sup>14</sup> G. LEVY, J. Pharm. Sci. 54, 959 (1965).

### ATP-erzeugte periodische Verdichtungen im endoplasmatischen Retikulum von Fibroblasten

Die Synthese von Kollagenvorstufen in Fibroblasten, einschliesslich Hühnerherzfibroblasten<sup>1</sup>, erfolgt in den Zisternen des endoplasmatischen Retikulums<sup>2,3</sup>. Bei allen für die Elektronenmikroskopie üblichen Fixierungsarten enthalten die erweiterten Zisternen in Fibroblasten mit erhöhter Kollagensynthese ein gleichmässig verteiltes filamentäres Material. Bei Kontraktionsversuchen an glyzerinextrahierten Hühnerherzfibroblasten<sup>4</sup> beobachteten wir ein periodisches Ordnen des filamentären Materials in den Zisternen nach Zugabe einer ATP-haltigen Lösung. Die Glyzerinextraktion (1–12 Tage) erzeugt ein

solches Ordnen nicht. Sie bewirkt eine vollständige Auflösung der Plasmamembran und eine Ruptur beziehungsweise teilweisen Schwund der Zysternenwand und gestattet damit den Zutritt der ATP-Lösung an den Inhalt der Zisternen. Eine Glyzerinextraktion von einem Tag genügt. Die ATP-Lösung enthielt 0,002 M ATP in 0,01 Tris-HCl Puffer pH 7,0; 0,003 M MgCl<sub>2</sub> und 0,12 M KCl. Nach Inkubation der extrahierten Zellen mit der ATP-Lösung treten elektronenoptische Verdichtungen des filamentären Materials in den Zisternen auf (Figur 1a und b). Die Verdichtungen haben eine zylindrische Form mit einem Durchmesser von 800–1000 Å und eine wechselnde Länge, die meist durch die Grösse der Zisterne bestimmt ist. Der Mittelpunktabstand der Verdichtungen voneinander beträgt 1500–1800 Å. Der freie Raum (700 bis 900 Å) zwischen den Verdichtungen wird durch feine Filamente überbrückt. Der räumliche Aufbau der hier gefundenen Strukturen erinnert an die Kollagenanordnung in der Descemetmembran<sup>5</sup>. Extrazellulär wurde in Fibroblastenkulturen ein morphologisch ähnliches Material nachgewiesen<sup>6</sup>, bei dem es sich um eine dreidimensionale Aggregation von Kollagenmonomeren handeln soll. Die Periodizität des extrazellulär gefundenen Materials ist aber mit 850 Å nur etwa halb so gross wie die Periodizität der ATP-erzeugten Strukturen in den Zi-



Verdichtungen (↓) innerhalb des Membransystems (M) des endoplasmatischen Retikulums. (a) in Aufsicht.  $\times 20\,000$ ; (b) in Queransicht.  $\times 12\,000$ .

<sup>1</sup> W. SCHARZ, H.-J. MERKER und A. KUTZSCHE, Z. Zellforsch. 56, 107 (1962).

<sup>2</sup> J. P. REVEL und E. D. HAY, Z. Zellforsch. 61, 110 (1963).

<sup>3</sup> R. ROSS, J. dent. Res. 45, 449 (1966).

<sup>4</sup> D. GRAF KEYSERLINGK und W. SCHWARZ, Naturwissenschaften 55, 549 (1968).

<sup>5</sup> M. A. JAKUS, J. biophys. biochem. Cytol. 2, Suppl. 241 (1956).

<sup>6</sup> B. GOLDBERG und H. GREEN, J. Cell Biol. 22, 227 (1964).

sternen. Übereinstimmung mit einer Periodizität der verschiedenen Typen in vitro rekonstruierten Kollagens besteht nicht<sup>7</sup>. Da ATP bei der Rekonstruktion eine vom natürlichen Kollagen abweichende Zusammenlagerung der Tropokollagenmoleküle bewirkt<sup>7,8</sup>, könnte die um das Doppelte grössere Periode der Strukturen in den Zisternen mit dieser spezifischen Wirkung des ATPs auf das Tropokollagenmolekül in Zusammenhang stehen. Die in den Zisternen des endoplasmatischen Retikulums beschriebenen Strukturen halten wir daher für eine durch ATP erzeugte besondere Aggregationsform von neu synthetisierten Kollagenmonomeren, wobei auch der zusätzliche Einfluss noch anderer Faktoren nicht auszuschliessen ist.

*Summary.* After glycerol extraction of fibroblasts, periodical structures can be produced within the endoplasmic cisternae by ATP which probably consist of atypically arranged collagen monomers.

D. GRAF KEYSERLINGK und W. SCHWARZ

*II. Anatomisches Institut der Freien Universität Berlin,  
D-1 Berlin 33 (Deutschland), 4. März 1969.*

<sup>7</sup> F. O. SCHMITT und A. J. HODGE, Das Leder 11, 74 (1960).

<sup>8</sup> K. KÜHN und E. ZIMMER, Z. Naturforsch. 16b, 648 (1961).

## Histochemisch differenzierbare Sorten von Muskelfasern im M. latissimus dorsi des Huhnes

Bei der Einteilung der Muskelfasern nach ihrer Funktionsweise unterscheidet man phasische Fasern, die nur eine einzelne Endplatte besitzen und auf einen Einzelreiz mit einem überschwelligen Endplattenpotential, einer fortgeleiteten Erregung und einer schnellen Zuckung antworten, und tonische Fasern, die über viele diffus über die ganze Faseroberfläche verteilte Nervenendigungen erregt werden und einen langsamem Zuckungsablauf zeigen. Die beiden Teile des M. latissimus dorsi der Vögel sind häufig benutzte Objekte, weil sie diese Gegenüberstellung besonders deutlich gestalten.

Der M. latissimus dorsi anterior (Lda) ist der einzige bisher beschriebene Vertebratenmuskel, der ausschliesslich aus Fasern mit multilokulärer Innervation besteht<sup>1-3</sup>. Die Charakteristika tonischer Fasern, die sich in der Struktur des sarkoplasmatischen Retikulums<sup>4</sup> und in ihrer elektrischen Antwort auf indirekte Reize zeigen<sup>5</sup>, sind für alle Fasern des Lda beschrieben worden. Nach diesen Befunden wird der Lda als rein tonischer Muskel angesehen. Der M. latissimus dorsi posterior (Ldp) besteht ausschliesslich aus Fasern mit einer einzelnen Endplatte und gilt als rein phasischer Muskel. Seine Kontraktionsgeschwindigkeit ist 5-7mal grösser als die des Lda<sup>4</sup>.

*Material und Methode.* Von erwachsenen Hühnern wurden histochemisch die beiden Teile des M. latissimus dorsi und der M. biventer cervicis (Bc), der nach den Befunden aus der Literatur sowohl tonische als auch phasische Fasern enthält, untersucht. Neben den histochemicalen Reaktionen auf Lipide (Sudanschwarz B) und Glykogen (PAS-Reaktion) wurden an den im Kryostaten (DITTES/Heidelberg) hergestellten 14 µm starken Serienschnitten folgende, innerhalb verschiedener Stoffwechselzyklen wirkende Fermente histochemisch untersucht (Methodik, wenn nicht anders vermerkt: BARKA und ANDERSON<sup>6</sup>): SDH, Succino-Dehydrogenase (EC 1.3.99.1); ICDH (NADP), NADP-spezifische Isozitrat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.42); GDH (NAD), NAD-spezifische Glutamat-Dehydrogenase (EC 1.4.1.2); β-BDH (NAD), NAD-spezifische β-Hydroxybutyrat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.30); LDH, Laktat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.27)<sup>7</sup>. Zur näheren Charakterisierung des histochemicalen Befundes erfolgte eine agar-gel-elektrophoretische Auftrennung der Isoenzyme der LDH aus dem Homogenat (Methodik siehe<sup>8</sup>).

ATPase, pH 9,4 (EC 3.6.1.3)<sup>9</sup>; ATPase, pH 7,2 nach Formalinfixierung zur selektiven Darstellung der Kapillaren<sup>10</sup>; Gesamtphosphorylase<sup>11</sup>.

*Resultate und Diskussion.* Der Ldp erscheint *in situ* auffallend blass. Nach unseren fermenthistochemicalen Befunden setzt sich der gesamte Muskel fast homogen aus Fasern eines Typs zusammen. Auffallend ist im Querschnittsbild die schwache Aktivität der untersuchten mitochondrialen Enzyme; dagegen zeigen sämtliche Fasern eine gleichmässig starke Aktivität der Phosphorylase sowie der myofibrillären ATPase, pH 9,4. Die Kapillarisierung ist dürftig; es lassen sich etwa 180 Kapillaranschnitte pro mm<sup>2</sup> Muskelquerschnittsfläche nachweisen. Nach diesen Befunden (vgl. Tabelle, I) ist der Ldp entsprechend einer Einteilung am Säuger als ein phasischer «weisser» Skelettmuskel anzusehen.

Nativ erscheint der Lda *blassrosa*. In den Faserquerschnitten ist der Gehalt an Lipiden und Glykogen und die Aktivität mitochondrialer Enzyme höher als in den Fasern des Ldp. Mit Hilfe unserer histochemicalen Methodik lassen sich mindestens zwei Typen von Fasern in diesem Muskel voneinander unterscheiden. Eine Fasersorte (Tabelle, II) zeigt hohe Aktivitäten der untersuchten mitochondrialen oxydativen Enzyme und grobgranuläre Formazanablagerungen; ebenso ist die Aktivität der myofibrillären ATPase und der Phosphorylase hoch, wenn auch niedriger als in den Fasern des Ldp. Die zweite Fasersorte (Tabelle, III) zeigt nur eine schwache Reaktion der ATPase und der Phosphorylase; bemerkenswert ist

<sup>1</sup> P. KRÜGER, Zool. Anz. 145, Erg. Bd. 445 (1950).

<sup>2</sup> B. L. GINSBORG und B. MACKAY, Bibliotheque Anat. 2, 172 (1961).

<sup>3</sup> A. HESS, J. Physiol. 157, 221 (1961).

<sup>4</sup> S. G. PAGE und C. R. SLATER, J. Physiol. 179, 58P (1965).

<sup>5</sup> B. L. GINSBORG, J. Physiol. 154, 581 (1960).

<sup>6</sup> T. BARKA und P. J. ANDERSON, *Histochemistry, Theory, Practice and Bibliography* (Höber, New York-Evanston-London 1963).

<sup>7</sup> H. D. FAHIMI und M. J. KARNOVSKY, J. Cell Biol. 29, 113 (1966).

<sup>8</sup> J. H. WILKINSON, *Isoenzymes* (Spon, London 1965).

<sup>9</sup> H. A. PADYKULA und E. HERMAN, J. Histochem. Cytochem. 3, 170 (1955).

<sup>10</sup> M. WACHSTEIN und E. MEISEL, J. Biophys. Biochem. Cytol. 6, 119 (1959).

<sup>11</sup> T. TAKEUCHI, J. Histochem. Cytochem. 6, 208 (1958).