

sternen. Übereinstimmung mit einer Periodizität der verschiedenen Typen in vitro rekonstruierten Kollagens besteht nicht⁷. Da ATP bei der Rekonstruktion eine vom natürlichen Kollagen abweichende Zusammenlagerung der Tropokollagenmoleküle bewirkt^{7,8}, 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.

⁷ F. O. SCHMITT und A. J. HODGE, *Das Leder* 11, 74 (1960).

⁸ 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 überschwelligem 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 langsamen Zuckungsablauf zeigen. Die beiden Teile des M. latissimus dorsi der Vögel sind häufig benutzte Objekte, weil sie diese Gegenüberstellung besonders deutlich gestatten.

Der M. latissimus dorsi anterior (Lda) ist der einzige bisher beschriebene Vertebratenmuskel, der ausschliesslich aus Fasern mit multilokulärer Innervation besteht¹⁻³. Die Charakteristika tonischer Fasern, die sich in der Struktur des sarkoplasmatischen Retikulums⁴ und in ihrer elektrischen Antwort auf indirekte Reize zeigen⁵, 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 Lda⁴.

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 histochemischen Reaktionen auf Lipide (Sudanschwarz B) und Glykogen (PAS-Reaktion) wurden an den im Kryostat (DITTES/Heidelberg) hergestellten 14 µm starken Serienschritten folgende, innerhalb verschiedener Stoffwechselzyklen wirkende Fermente histochemisch untersucht (Methodik, wenn nicht anders vermerkt: BARKA und ANDERSON⁶): SDH, Succino-Dehydrogenase (EC 1.3.99.1); ICDH (NADP), NADP-spezifische Isozitat-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)⁷. Zur näheren Charakterisierung des histochemischen Befundes erfolgte eine agaroselektrophoretische Auftrennung der Isoenzyme der LDH aus dem Homogenat (Methodik siehe ⁸).

ATPase, pH 9,4 (EC 3.6.1.3)⁹; ATPase, pH 7,2 nach Formalinfixierung zur selektiven Darstellung der Kapillaren¹⁰; Gesamtphosphorylase¹¹.

Resultate und Diskussion. Der Ldp erscheint in situ auffallend blass. Nach unseren fermenthistochemischen 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 dürrig; es lassen sich etwa 180 Kapillarschnitte pro mm² 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 histochemischen 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

¹ P. KRÜGER, *Zool. Anz.* 145, Erg. Bd. 445 (1950).

² B. L. GINSBORG und B. MACKAY, *Biblioph. anat.* 2, 172 (1961).

³ A. HESS, *J. Physiol.* 157, 221 (1961).

⁴ S. G. PAGE und C. R. SLATER, *J. Physiol.* 179, 58P (1965).

⁵ B. L. GINSBORG, *J. Physiol.* 154, 581 (1960).

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

⁷ H. D. FAHIMI und M. J. KARNOVSKY, *J. Cell Biol.* 29, 113 (1966).

⁸ J. H. WILKINSON, *Isoenzymes* (Spon, London 1965).

⁹ H. A. PADYKULA und E. HERMAN, *J. Histochem. Cytochem.* 3, 170 (1955).

¹⁰ M. WACHSTEIN und E. MEISEL, *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 6, 119 (1959).

¹¹ T. TAKEUCHI, *J. Histochem. Cytochem.* 6, 208 (1958).

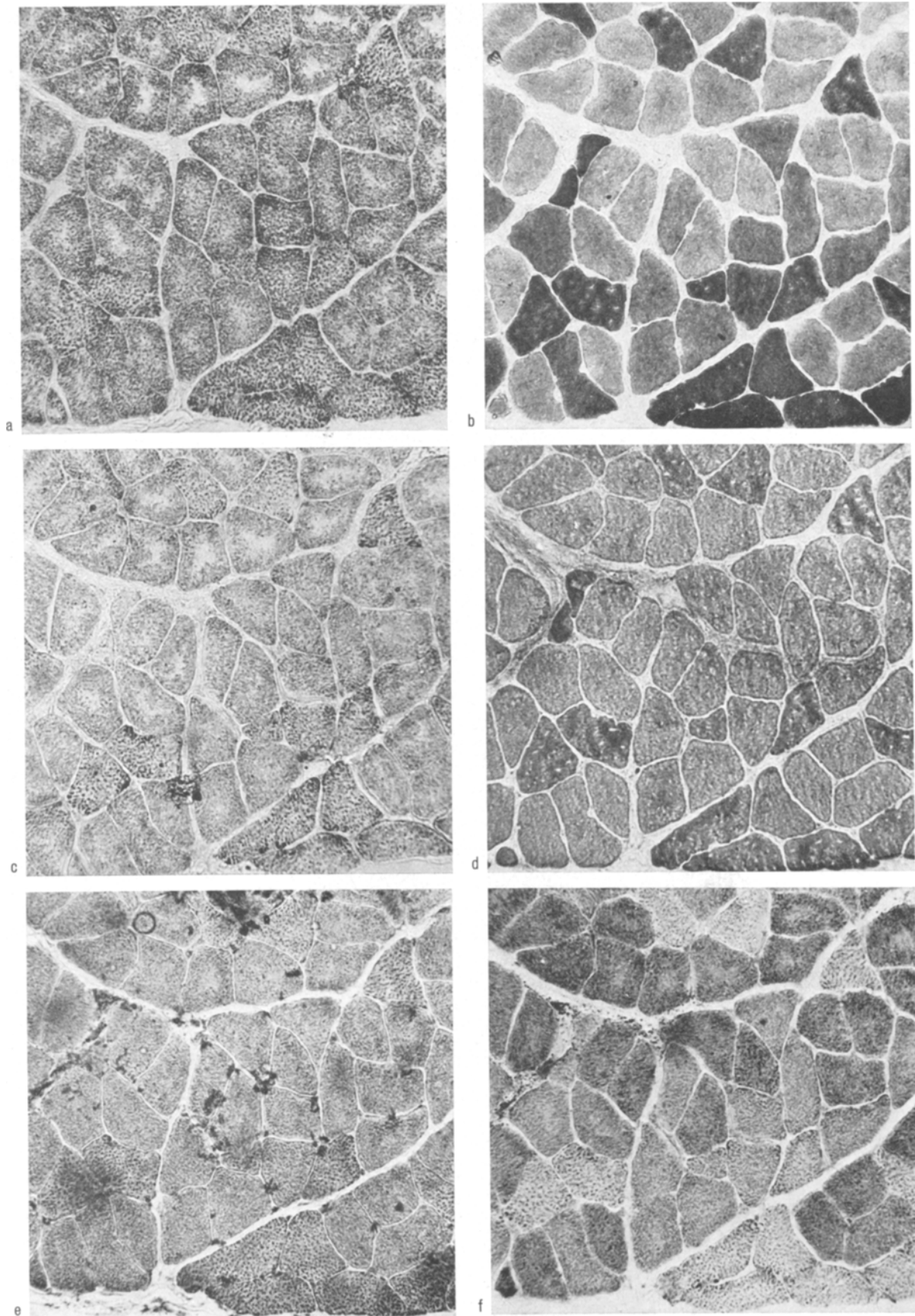


Fig. 1. Huhn; M. latissimus dorsi anterior, querschnitten; Serienschritte 14 μ m; Muskelaussenrand unten im Bild, \times 210. a) Succino-Dehydrogenase; b) Phosphorylase; c) Isocitrat-Dehydrogenase; d) ATPase, pH 9,4; e) Lactat-Dehydrogenase; f) β -Hydroxybutyrat-Dehydrogenase.

M. latissimus dorsi des Huhnes. Differenzierung verschiedener Muskelfasertypen mit Hilfe des Faserdurchmessers, der Kapillarversorgung, der Aktivität und Topik verschiedener Enzyme sowie des Lipid- und Glykogengehaltes

Muskel		Faser- durch- messer (μm)	Kapillaren pro mm^2 Muskel- querschnitt	Oxydative Enzyme				LDH	ATPase pH: 9,4	Phospho- rylase	Lipid- gehalt	Glykogen- gehalt
				SDH	ICDH	GDH	β -BDH					
Latissimus dorsi posterior	I	35-65	180	++	+	(+)	+	+	+++	++++	+	+
Latissimus dorsi anterior	II	25-45	510	++++	+++	++	++	+++	++	+++	++	++
	III	25-40		+++	++	+	++++	++	+	+	++	++

die auffallend starke Aktivität der β -BDH, während die übrigen oxydativen Fermente geringere Aktivitäten und feingranuläre Formazanniederschläge aufweisen. Neben beiden Fasersorten scheint es intermediäre Formen zu geben (vgl. Figur 1).

Die beiden Muskelfasertypen des Lda sind gewöhnlich dünner als die Muskelfasern des Ldp (Tabelle). Die Kapillarversorgung des Lda geht seiner blassrosa Farbe und dem Mitochondriengehalt seiner Fasern parallel: etwa 510 Kapillaren werden pro mm^2 Muskelquerschnitt gezählt. Es ist aber nicht möglich zu entscheiden, ob die Anzahl der den Muskelfasern benachbarten Kapillaren für beide Fasertypen unterschiedlich ist, da beide Fasertypen den Muskel regellos gemischt durchsetzen und daher eine Zuordnung der einzelnen Kapillaren zu der einen oder anderen Fasersorte nicht sicher möglich ist. Die regellose Anordnung der beiden Fasertypen gilt auch für die gesamte Muskeleoberfläche (Figur 1).

Im Bc können nach den genannten Kriterien alle drei beschriebenen Fasertypen identifiziert werden. Sie bauen den Muskel ohne sichtbare Regel gemischt auf. Die Farbe dieses Muskels ist dunkelrot. Etwa 960 Kapillaren werden pro mm^2 Muskelquerschnitt gefunden. Ob in diesem Muskel ein noch mitochondrienreicherer Muskelfasertyp enthalten ist, dem die hohe Kapillanzahl und die makroskopische Farbe zuzuschreiben wäre, kann nach unseren topochemischen Befunden nicht sicher entschieden werden.

Nach den Ergebnissen der agargel-elektrophoretischen Untersuchungen setzt sich die LDH aller drei Muskeln einheitlich aus einem Isoenzymentyp zusammen, der – verglichen mit LDH-Isoenzymauftrennungen an Säugetierorganen – dem Isoenzym LDH_4 (HMMM) entsprechen dürfte. Figur 2 zeigt das Pherogramm für Proben aus den beiden Teilen des M. latissimus dorsi.

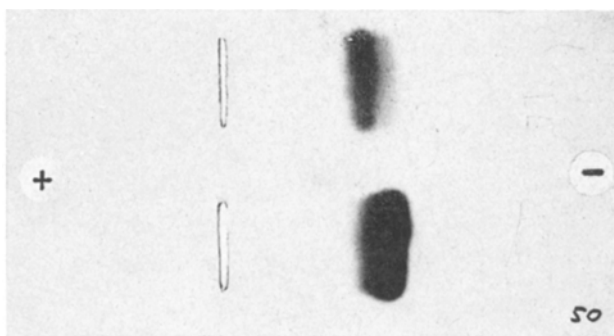


Fig. 2. Agargel-elektrophoretische Isoenzymauftrennung der LDH aus dem M. latissimus dorsi anterior (oben) und dem M. latissimus dorsi posterior (unten) des Huhnes.

Fermenthistochemische Untersuchungen an der Vogel-muskulatur zur Differenzierung einzelner Fasertypen liegen bisher nur spärlich vor. DUBOWITZ und PEARSE¹² beschrieben im M. gastrocnemius der Taube drei Fasertypen: einen «roten» mitochondrienreichen und einen «weissen» mitochondrienarmen sowie einen intermediären Fasertyp. Die Autoren betonen das inverse Verhalten der Aktivitäten der Phosphorylase und der oxydativen Enzyme des Zitronensäurezyklus.

In der vorliegenden Arbeit wurden solche Muskeln histochemisch näher untersucht, über deren Faserzusammensetzung durch physiologische, histologische und elektronenoptische Untersuchungen sichere Befunde vorliegen. In diesem Zusammenhang interessierten besonders die tonischen Muskelfasern. Auf die Ähnlichkeit der Fasern des Lda des Huhnes mit den von KUFFLER und VAUGHAN WILLIAMS¹³ beschriebenen «slow fibers» des Frosches in bezug auf den Innervationsmodus und den langsamen Kontraktionsablauf ist wiederholt hingewiesen worden. Anders als bei den tonischen Froschmuskelfasern ist die Membran der Muskelfasern des Lda jedoch in der Lage, Aktionspotentiale zu leiten⁵. Die Ergebnisse der Untersuchung der Enzymaktivität und der Kapillarversorgung des langsamen Lda sprechen ausserdem gegen eine anaerobe Stoffwechselsituation, wie sie für die tonischen Froschmuskelfasern¹⁴ angenommen wird.

Die tonischen Muskelfasern des Lda haben eine hohe Aktivität oxydativer mitochondrialer Enzyme im Vergleich zu den phasischen Fasern des Ldp. Es ist darüber hinaus darauf hinzuweisen, dass im Lda zwei deutlich differenzierbare Sorten von Muskelfasern vorkommen, so dass die bisher angenommene Homogenität dieses Muskels von histochemischer Seite nicht bestätigt werden kann.

Summary. The activity of several enzymes in cross sections of the M. latissimus dorsi of the adult chick was examined. In the slow anterior latissimus dorsi muscle – which is thought to be composed of fibres of identical physiological properties – certain topochemical differences of the fibres are described.

G. ASMUSSEN, A. KIESSLING
und F. WOHLRAB

Physiologisches und Pathologisches Institut
der Karl-Marx-Universität,
Leipzig (DDR), 28. April 1969.

¹² V. DUBOWITZ und A. G. E. PEARSE, Histochemie 2, 105 (1960).

¹³ S. W. KUFFLER und E. M. VAUGHAN WILLIAMS, J. Physiol. 127, 289 (1953).

¹⁴ A. KIESSLING und F. WOHLRAB, Zool. Anz., im Druck (1969).