

## Mittelwert von Kreatinphosphat in Muskeln

	Futter	Zustand	Junge Tiere (5–6 Monate alt)		Zahl der Tiere	Alte Tiere (25–35 Monate alt)		Zahl der Tiere
			Mittel	Grenzwert		Mittel	Grenzwert	
1	normal	Ruhe	41,7	(39,2–43,7)	5	24,3	(24,0–25,4)	5
2	normal	nach Arbeit	44,7	(36,1–53,0)	8	20,8	(17,3–25,6)	6
3	mit 50% Glukose	Ruhe	43,8	(32,1–50,6)	4	39,1	(23,1–45,0)	7
4	mit 50% Glukose	nach Arbeit	50,7	(45,0–56,8)	4	42,5	(40,0–44,8)	4

Nach erschöpfender Muskularbeit sinkt Kreatinphosphat bei jungen und alten Tieren auf sehr niedrige Werte von 0–5%. Es wird dann innerhalb 10–30 Min bei jungen Tieren auf normaler Diät bis zu 50% restituiert. Alte Tiere restituieren nach der erschöpfenden Arbeit nur bis etwa 25% Kreatinphosphat, ebenso wie in Ruhe. Hält man aber diese Tiere auf der erwähnten Zuckerdiät, dann können sie auch nach der erschöpfenden Arbeit auf 50% Kreatinphosphat restituieren. Die Tabelle zeigt diese Werte.

Demnach fördert Glukose die Restitution von KP, welche sonst bei den alten Tieren stark vermindert ist. Die Erholungsreaktion  $ADP \rightarrow ATP$  kann nun mit Hilfe der KP-Spaltung durchgeführt werden. Inwiefern Zwischenprodukte des Glukosestoffwechsels in die Phosphorylierung des Kreatins eingreifen, soll weiter untersucht werden. Ebenso bleibt die Rolle von Insulin noch zu untersuchen. Vorläufige Versuche haben noch zu keinen Entscheidungen geführt.

Die Versuche führen zur Frage, ob die Möglichkeit besteht, dass eine Diät mit hohem Glukosegehalt zwecks Förderung von Muskularbeit beim Menschen eventuell zu einer Schädigung der Insulinbildung durch Überlastung führen könnte<sup>4,5</sup>.

**Summary.** It is well known that after exhausting muscle work glucose (or saccharose) leads to quick recovery in man. Experiments on rats have shown that in adult animals 50% of all creatine is present as creatinephosphate (CP). In old animals above 22 months, only about 25% is present as CP<sup>1,2</sup>. Diets with a 50% glucose content lead in old animals, in rest, to 50% CP in the muscle. Also after exhausting work on glucose diet the restitution is so complete that about 50% CP is present. The main reservoir of energy for the restitution of muscle,  $ADP \rightarrow ATP$ , comes from the breakdown of CP<sup>3</sup>. The problem may be discussed whether high glucose diet may be damaging insulin production by exhaustion<sup>4,5</sup>.

F. VERZÁR und M. ERMINI

*Institut für experimentelle Gerontologie,  
Nonnenweg 7, CH-4000 Basel (Schweiz),  
12. März 1970.*

<sup>4</sup> F. VERZÁR und A. VON KUTHY, Pflügers Archiv ges. Physiol. 225, 606 (1930).

<sup>5</sup> A. M. BERTOLINI, Gazz. sanit. Milano, 37, 173 (1966).

## Paramyosin-Struktur und Sperrtonus, Untersuchungen am Byssusretraktor von *Mytilus edulis* mit dem Interferenz-Kontrast-Mikroskop

Der vordere Byssusretraktor (ABRM) von *Mytilus edulis* vermag im sogenannten «Sperrtonus», «catch» oder «fused state»<sup>1</sup> eine einmal aktiv entwickelte Spannung über lange Zeit ohne nennenswerten Energieverbrauch zu halten<sup>2,3</sup>. Einige Untersucher verstehen den Sperrtonus als ein quasi Einfrieren der kontraktilen Bindungen zwischen Aktin und Myosin<sup>3–5</sup>; andere postulieren für den «catch», ein dem kontraktilen Apparat parallel geschaltetes System<sup>6–8</sup>. Dafür würde auch die elektronenmikroskopisch nachgewiesene Aggregation von Paramyosinfilamenten im «catch» sprechen<sup>9</sup>, sowie die im folgenden mitgeteilten lichtmikroskopischen Beobachtungen am überlebenden, unfixierten und ungefärbten Sperrmuskel.

**Methodik.** 0,2 mm dicke Faserbündel von ABRM wurden mit Ursprung (Muschelschale) und Ansatz (Byssus) freipräpariert und bei Ruhelänge auf dem Objektträger mit künstlichem Meerwasser<sup>10</sup> umströmt (Figur 1). «Fasermodelle» von ABRM wurden durch Gefriertrocknung hergestellt und in ATP-Salzlösung suspendiert<sup>11</sup>. Untersuchung mit einem Zeiss-Mikroskop (Auflösungsvermögen ca. 0,2  $\mu$ m) mit Differential-Interferenzkontrast-

Einrichtung nach NOMARSKI<sup>12,13</sup>, welche (bei Einstellung der Faserbündel in die entsprechende Vorzugsrichtung) eine sehr kontrastreiche Darstellung erlaubt. Eine tonische Kontraktion mit «catch» wurde durch Reizung mit 0,5 mM Azetylcholin (ACh), eine Erschlaffung durch  $10^{-7}$  M Serotonin (5-HT), eine phasische Kontraktion durch kombinierte Reizung mit 5-HT und ACh bewirkt<sup>14,15</sup>.

**Resultate.** Frisch präparierte, partiell tonisch kontrahierte ABRM-Bündel zeigen Fasern, die sich durch eine feine Längsstreifung von 0,2–0,4  $\mu$ m Dicke von einer relativ homogenen Umgebung unterscheiden (Figur 2). Nach zusätzlicher tonischer Reizung mit ACh nimmt der gestreifte Bildbezirk zu (auf über 50%, Figur 3, a) und verschwindet nach der Lösung des Sperrtonus mit 5-HT (Figur 3, b), wenn das Präparat auf etwa 115% der Ruhelänge erschlafft; eine Dehnung des gesperrten Muskels auf 115%  $L_0$  bewirkt kein Verschwinden des Streifenmusters. In 5-HT freipräparierte Muskeln zeigen kein Streifenmuster, auch nicht nach phasischer Kontraktion.

Im Gegensatz zu lebenden Fasern sind bei «Fasermodellen» die ionalen Verhältnisse in der kontraktilen

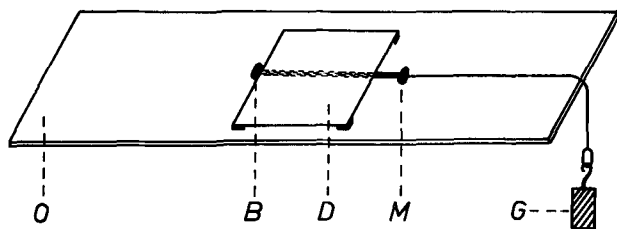


Fig. 1. Versuchsanordnung mit Objektträger (O) und Deckglas (D); darunter das umströmte Faserbündel mit festgeheftetem Byssus (B) und freiem Schalenende (M), an welchem das Präparat isometrisch fixiert oder durch das regulierbare Gewicht (G) gedehnt werden kann.

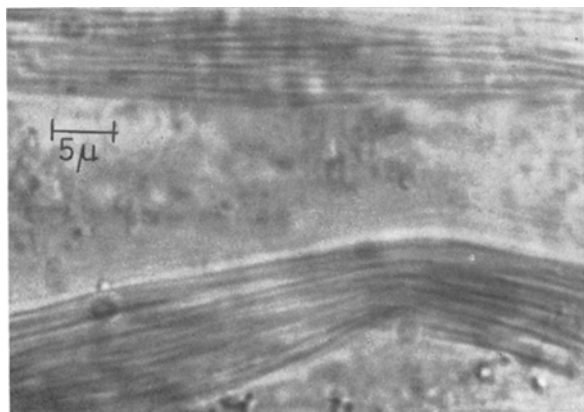


Fig. 2. Typisches Beispiel der Faserstruktur im tonisch kontrahierten, überlebenden ABRM. Zwischen den Fasern mit Streifenstruktur optisch homogene Muskelbezirke.

Struktur definiert. Mit ATP kontrahierte Fasermodelle zeigen nach Hemmung der Aktomyosin-ATPase mit 4 mM EGTA<sup>16,17</sup> bei pH 6,5 noch nach 15 Min einen «catch»-ähnlichen Spannungsrückstand von etwa 60%, der bei einer Erhöhung des pH auf 8,5 (mit Tris-Puffer) innerhalb von 4 Min auf 5–8% der Anfangsspannung (5–8 kp/cm<sup>2</sup>) sinkt. Gleichzeitig verschwindet die bei pH 6,5 deutlich vorhandene Längsstreifung der Fasern (vergleiche Figur 3,c mit 3,d). Dieser pH-Effekt auf die Struktur und die Haltefähigkeit ist reversibel.

**Diskussion.** Liegen die Paramyosinfilamente beim erschlafften Muskel, das heisst in Gegenwart von 5-HT respektive bei pH 8,5, unfusioniert vor, so sind sie bei einer

- <sup>1</sup> B. R. JEWELL, J. Physiol., Lond. 149, 154 (1959).
- <sup>2</sup> F. BAGUET und J. M. GILLIS, J. Physiol., Lond. 198, 127 (1968).
- <sup>3</sup> K. MINIHAN-NAUSS und R. E. DAVIES, Biochem. Z. 345, 173 (1966).
- <sup>4</sup> J. LOWY und B. M. MILLMAN, Phil. Trans. B 246, 105 (1963).
- <sup>5</sup> J. LOWY und J. HANSON, Physiol. Rev. 42 (Suppl. 5), 34 (1962).
- <sup>6</sup> J. C. RÜEGG, Proc. R. Soc. B 154, 224 (1961).
- <sup>7</sup> J. C. RÜEGG, Proc. R. Soc. B 160, 536 (1964).
- <sup>8</sup> W. H. JOHNSON, Physiol. Rev. 42, 113 (1962).
- <sup>9</sup> H. G. HEUMANN und E. ZEBE, Z. Zellforsch. 85, 534 (1968).
- <sup>10</sup> B. M. MILLMAN, J. Physiol., Lond. 173, 238 (1964).
- <sup>11</sup> J. C. RÜEGG, in *Biochemistry of Muscle Contraction* (Ed. J. GERGELY; Little, Brown and Co., Boston 1964), p. 412.
- <sup>12</sup> ZEISS-Informationsschrift Nr. 40-160-d.
- <sup>13</sup> G. NOMARSKI, J. Phys. Radium 16, 9 (1955).
- <sup>14</sup> B. M. TWAROG, J. cell. comp. Physiol. 44, 141 (1954).
- <sup>15</sup> B. M. TWAROG, J. Physiol., Lond. 152, 220 (1960).
- <sup>16</sup> H. J. LEENDERS, Naturwissenschaften 53, 617 (1966).
- <sup>17</sup> M. SCHÄDLER, Pflügers Arch. ges. Physiol. 296, 70 (1967).

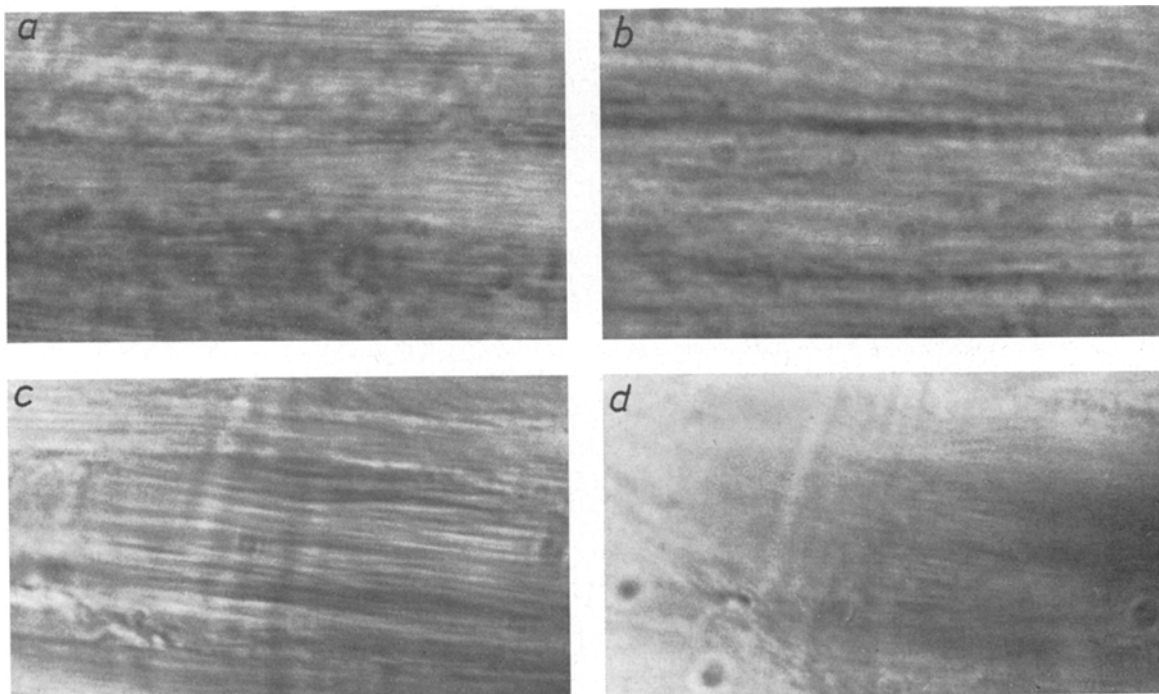


Fig. 3. Abhängigkeit der Faserstruktur vom Funktionszustand: a) überlebendes Faserbündel nach wiederholter Reizung mit Acetylcholin im Sperrtonus und b) dasselbe Faserbündel einige Minuten nach Lösung des Sperrtonus mit Serotonin ( $10^{-7}M$ ). c) Gefriergetrocknetes Faserbündel im Kontraktionsrückstand nach Hemmung der ATP-Kontraktion (mit 4 mM EGTA), pH 6.5 und d) dieselbe Stelle etwas später nach Erschlaffung in pH 8,5. Der Effekt ist reversibel. Beachte das «Verdämmern» der streifigen Faserstruktur nach «Entsperrung» des Kontraktionsrückstandes. Maßstab wie in Figur 2. Lösungen: Meerwasser<sup>11</sup> bei a) und b) bzw. 100 mM KCl, 100 mM Na-azid, 5 mM ATP, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 4 mM EGTA, 20 mM Puffer (Histidin oder Tris) bei c) und d).

maximalen Dicke von 800–1000 Å<sup>9,18</sup> lichtmikroskopisch nicht auflösbar; daraus resultiert ein vergleichsweise homogenes Bild der Fasern. Ordnen sich beim Übergang in den Sperrtonus oder bei pH 8,5 die dicken Filamente um und aggregieren teilweise miteinander, so entstehen scheinbar neue Einheiten, deren Durchmesser in der Größenordnung des lichtmikroskopischen Auflösungsvermögens liegt und die als streifige Struktur in der Faser erkennbar werden. Diese Umordnung und Aggregation wird offenbar durch die mit 5-HT oder bei pH 8,5 bewirkte Erschlaffung wieder rückgängig gemacht, so dass das Aussehen der Faser homogen wird. Durch Aggregation dicker Paramyosinfilamente würde bei «Einschalten» des Sperrtonus ein hochgradig dehnungsresistentes System geschaffen, das Kontinuität über die ganze Faser besitzt und für den Serotonin- beziehungsweise pH-abhängigen hohen Dehnungswiderstand des gesperren Muskels verantwortlich ist<sup>7</sup>. Für eine solche Interpretation spricht auch die Aggregation von gelöstem Paramyosin bei pH 6,5<sup>19</sup> und die analoge pH-Abhängigkeit des Dehnungswiderstandes von künstlichen Proteinfäden<sup>11</sup> aus Paramyosin<sup>20</sup>.

**Summary.** Surviving muscle fibres of a molluscan smooth muscle (ABRM) in 'catch' exhibit a characteristic pattern of longitudinal stripes when examined with the NOMARSKI technique (Differential interference contrast). The pattern appears to be due to aggregated paramyosin-filaments; it disappears after abolishing the catch with 5-hydroxytryptamine or – in freeze-dried preparation – after raising the pH of the ATP-salt solution.

T. SCHUMACHER

*Institut für Zellphysiologie  
der Ruhr-Universität Bochum,  
D-463 Bochum-Quevenburg (Deutschland),  
14. November 1969.*

<sup>18</sup> J. HANSON und J. LOWY, *Nature* 184, 286 (1959).

<sup>19</sup> W. H. JOHNSON, J. S. KAHN und A. G. SZENT GYÖRGYI, *Science* 130, 160 (1959).

<sup>20</sup> Herrn Prof. Dr. J. C. RÜEGG schulde ich grossen Dank für die Anregung zu dieser Arbeit und für viele lehr- und hilfreiche Diskussionen.

### Protective Effect of Ferric Dextran on the Embryopathic Action of Indium

The interaction of indium and ferric dextran in biological systems was first described by GABBIANI et al.<sup>1</sup>. They noted the remarkable protective effect of this iron compound on the severe hepatic damage induced in rats by indium. In addition, ferric dextran completely protected the animals from acute indium intoxication. Following the description of the profound embryocidal and site-specific teratogenic effects of indium nitrate on hamster embryos<sup>2</sup>, further investigation of the interaction of indium and ferric dextran (Imferon) upon the developing mammalian embryo seemed desirable.

**Materials and methods.** These experiments utilizing ferric dextran were identical to previous studies utilizing lead, cadmium and arsenic in teratological investigations<sup>3–5</sup>. In essence, female hamsters in estrus were placed with breeding males overnight and separated the next morning. The day of separation was considered to be the first day of gestation. On the eighth day of gestation the pregnant animals were anesthetized with 6.5 mg/100 g body weight of sodium pentobarbital i.p. and then injected i.v. with varying amounts of indium nitrate (Table) made up so that the volume of the total dose of metal was 0.5 ml/100 g of body weight. Other groups, injected with identical amounts of indium nitrate i.v. under the same conditions, also received 50 mg of ferric dextran (Imferon) i.p. at the same time. The embryos were collected on either the 14th or 15th day of pregnancy. Resorption sites were counted at this time and all embryos were examined for gross external congenital malformations.

**Results.** It is apparent from the Table, as well as from previous data<sup>3</sup>, that increasing the dosages of indium caused an increase in embryonic mortality. Likewise, the number of malformed limbs increased with higher levels of indium. Since all 4 limbs from each animal were possible teratogenic targets the percentage of malformed limbs was calculated on the basis of the total number of limbs in each group, i.e., the number of living embryos times 4.

The administration of 50 mg of ferric dextran at the time of the indium injection had a dramatic effect upon

fetal survival as shown in the Table. The incidence of malformed limbs also dropped appreciably. Treatment with ferric dextran did not, however, affect the type or severity of malformation in those few malformations which did occur in that group. The malformations in both groups consisted principally of stunting of the digits or absence of one or more of the digits. There did not appear to be any preferential site of teratogenic action in relation to any particular digit or to upper or lower limbs. There was no apparent effect of the indium treatment on the mothers during the course of this experiment.

Indium (mg/kg)	No. of mothers treated	Living embryos	Resorption sites	No. of limbs malformed <sup>a</sup>
0.5	7	82	0 (0%)	31 (9.4%)
1.0	5	28	29 (51%)	9 (8.0%)
2.0	6	23	52 (69%)	15 (16.3%)
Indium-Imferon (mg/kg)				
0.5/50	4	42	1 (2%)	0 (0%)
1.0/50	21	238	14 (5%)	5 (0.5%)
2.0/50	12	139	3 (2%)	20 (3.6%)

<sup>a</sup> Percentages of malformed limbs calculated as the number of malformed limbs divided by number of living embryos times 4 (see text).

<sup>1</sup> G. GABBIANI, H. SELYE and B. TUCHWEBER, *Br. J. Pharmac.* 19, 508 (1962).

<sup>2</sup> V. H. FERM and S. J. CARPENTER, *Toxic. appl. Pharmac.*, in press.

<sup>3</sup> V. H. FERM and S. J. CARPENTER, *J. exp. molec. Path.* 7, 208 (1967).

<sup>4</sup> V. H. FERM and S. J. CARPENTER, *Lab. Invest.* 18, 429 (1968).

<sup>5</sup> V. H. FERM and S. J. CARPENTER, *J. Repr. Fertil.* 17, 199 (1968).