

that it is the light in the UV-range that induced the increase of MEPP frequency.

During prolonged irradiation with light containing UV, the MEPP frequency continued to increase in a few minutes to a level more than 200 Hz, and thereafter declined to re-attain the control level. The minimum irradiation time required for the production of this effect was 3–4 min (Figure 1a).

The NMJ irradiated by UV was not completely disrupted, since the MEPPs persisted for at least 3–4 h after the cessation of irradiation. Furthermore, when UV was re-applied during the period of declining frequency of MEPP following initial application, high frequency discharge of MEPPs could be reproduced. In this case, however, the latency of this second burst was as short as 10 sec (Figure 1b).

Now the question is whether UV affected only the pre-synaptic terminals or also the post-synaptic membrane, by increasing its sensitivity to ACh. It was difficult to make precise measurements of individual MEPP amplitudes during high frequency discharges (more than 100 Hz). However, during the period when the MEPP discharge rate was increasing and measurement of the amplitude of single MEPPs could still be accurately done, the shape of single MEPPs and their amplitude histogram showed no definite change from control (Figure 2); nor did the resting potential of the post-synaptic membrane fluctuate significantly. These facts can be taken as strong evidence to exclude the possible involvement of the post-synaptic membrane. Hence, it is

more likely that UV affected exclusively the pre-synaptic terminal, resulting in an enhanced release of ACh vesicles.

Examination of the possibility of calcium dependency of the induced MEPP burst is currently in progress. We have preliminary data that the extracellular calcium level does not influence the MEPP burst phenomenon.

Summary. The discharge frequency of miniature end-plate potentials was increased by the UV-light application. This phenomenon can be attributed to the effect on the presynaptic terminal⁶.

J. GOTO⁷ and H. KURODA⁸

Department of Physiology, School of Medicine, Nagoya University, Showa-ku (Japan), 6 June 1975.

¹ J. I. HUBBARD, S. F. JONES and E. M. LANDAU, *J. Physiol., Lond.* 197, 639 (1968).

² H. E. LONGENECKER, JR., W. P. HURLBUT, A. MANO and A. W. CLARK, *Nature, Lond.* 225, 701 (1970).

³ Y. ITO, R. MILEDI and ANGELA VINCENT, *Proc. R. Soc. Lond. B.* 187, 235 (1974).

⁴ A. FORER, *J. Cell Biol.* 25, 95 (1965).

⁵ R. E. STEPHENS, *J. Cell Biol.* 25, 129 (1965).

⁶ Thanks are due to Dr. T. SATOH for his reviewing of the manuscript and also to Dr. L. M. VERNON for correcting English.

⁷ Department of Physiology, School of Medicine, Nagoya University, Nagoya, Japan.

⁸ Department of Physiology, School of Dentistry, Aichi-Gakuin University, Nagoya, Japan.

Untersuchungen über den Einfluss von Thrombozyten und Temperatur auf die Vollblut- und Plasmaviskosität als Vergleichsmessung zwischen einem Kapillar- und Platte-Kegel-Viskosimeter

Investigations on the Influence of Thrombocytes and Temperature the Whole Blood- and Plasma-Viscosity as Comparative Measurements Between a Capillary- and a Plate-Cone-Viscosimeter

Viskositätsmessungen am Vollblut und Plasma gewinnen in der Medizin zunehmend an Bedeutung^{1–3}. Die derzeit gebräuchlichsten Konstruktionsprinzipien – das Kapillar- und Platte-Kegel-Viskosimeter – sollten hinsichtlich ihrer Reproduzierbarkeit und Genauigkeit untereinander verglichen werden. Gleichzeitig sollte dabei das Ausmass der Veränderung der Fließeigenschaft des Blutes bei physiologischen Temperaturänderungen sowie unterschiedlichen Thrombozytenkonzentrationen dargestellt werden.

Material und Methodik. Zur Prüfung der Messgenauigkeit beider Geräte wurde ein Eichöl mit einer Viskosität von $\eta_{20}^{\circ}\text{C} = 4,51$ cps und einer Dichte von $\rho = 0,826$ g/cm³ (PTB Braunschweig) genommen, da nur durch diese beiden Angaben ein Vergleich zwischen den unterschiedlichen Messeinheiten möglich ist (s. Berechnung).

Da Vollblut im Gegensatz zum Plasma als Nicht-Newtonsscher Flüssigkeitstyp charakterisiert ist, sind Aussagen über die Fließeigenschaft des Vollblutes nur unter gleichzeitiger Angabe der Fließbedingungen, d.h. der Schergrade sinnvoll und Messungen nur in Geräten, die diese Bedingungen erfüllen, erlaubt. Das Fließverhalten des Plasmas ist dagegen schergradunabhängig, so dass hierfür einfache Kapillarviskosimeter ausreichen.

Als Kapillarviskosimeter wurde der Viskotimer (Firma Jenaer Glaswerk Schott und Gen. Mainz) benutzt, der aus einem Thermostaten (Messgerätewerk Lauda) besteht, und einem Ubbelohde-Viscosimeter⁴, das einem automatischen Zeitregistriergerät mit Drucker angeschlossen ist. Für die Überprüfung der Messgenauigkeit wurden drei

verschiedene Kapillarviskosimeter verwendet (Kapillare 1: $\varnothing 0,32$ mm, Kapillare 1c: $\varnothing 0,42$ mm, Kapillare 2: $\varnothing 0,57$ mm). Zur Prüfung jeder Kapillare wurde je 30 mal die Durchlaufzeit bei konstanter Temperatur von 20°C gemessen. Bei den Plasmamessungen wurden die Kapillare 1 mit dem Durchmesser 0,32 mm verwendet und jeweils 10 Einzelmessungen pro Probe durchgeführt. Die Materialproben wurden von 5 gesunden Normalpersonen gewonnen.

Die Vollblutviskositätsmessung erfolgte mit einem Wells-Brookfield Microviscosimeter (Firma Brookfield Engineering Laboratories, Massachusetts, USA), das vorher nach Firmenangabe mit dem Eichöl (Lot No. 042872, Temp. 25°C, Viscosity 8,9 Centipoises, Fluid 10) eingestellt wurde⁵. Die Messung erfolgte bei den Schergraden 230, 115, 46, 23, 11,5 und 5,75 sec⁻¹ bei 20°C. Die Messung bei einem Schergrad bestand aus 12 Einzelmessungen, wobei zwischen jeder Messung der Teller abgenommen und das Eichöl durch Schütteln neu um-

¹ F. W. AHNEFELD, C. BURRI, W. DICK und H. HALMAGYI, *Mikrozirkulation* (Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1974).

² N. BOSS, S. KOENIG und G. RUHENSTROTH-BAUER, *Klin. Wschr.* 53, 385 (1975).

³ S. WITTE, *Die angiologische Bedeutung der Mikrozirkulation* (Herrenalber angiologisches Gespräch 1971); (Verlag Gerhard Witzstrock GmbH, Baden-Baden/Brüssel 1973).

⁴ W. WEBER und W. FRITZ, *Rheologica Acta* 3, 3 (1963).

⁵ R. E. WELLS, R. DENTON und E. W. MERRILL, *J. Lab. clin. Med.*

Gegenüberstellung der Messwerte zwischen Kapillar- und Platte-Kegel-Viscosimeter sowie gegenüber dem Eichöl.

	Kapillare	Gemessene Werte [cps]	Abweichung in % vom Sollwert [4,51 cps]	Variationskoeffizient [% Abweichung von \bar{X}]
Viscotimer mit Mikro-KPG-Ubbe- lohde Viskosimeter	I \varnothing 0,32 mm	4,58	+ 1,55	0,08
	Ic \varnothing 0,42 mm	4,61	+ 2,22	0,04
	II \varnothing 0,57 mm	4,60	+ 2,00	0,04
Platte-Kegel Viskosimeter (Wells-Brookfield)	Schergrad 230 sec ⁻¹	4,59	+ 1,77	1,11
	115 sec ⁻¹	4,66	+ 3,33	1,21
	46 sec ⁻¹	4,60	+ 2,00	1,87
	23 sec ⁻¹	4,88	+ 8,20	3,04
	11,5 sec ⁻¹	6,50	+ 44,10	4,62
	5,75 sec ⁻¹	8,88	+ 96,90	7,88

gekippt wurde. Bei jedem neuen Schergrad wurde das Eichöl ausgewechselt und zum Temperaturausgleich 5 min vorgesichert.

Die rechnerische Auswertung erfolgte mit dem Olivetti-Programm. Auf Grund der Angabe über die Dichte bei dem Eichöl war es möglich, nach der Formel

$$\text{Poise} = \text{Stokes} \times \text{Dichte}$$

vergleichbare Masseinheiten zu bekommen. Die Ablesung bei dem Kapillarviskosimeter erfolgte in sec. Zur Ausrechnung der Centistokes (cSt) muss dieser Wert mit einem kapillarspezifischen Faktor multipliziert werden ($\text{sec} \times 0,00706 = \text{cSt}_{\text{Kapillare}}$). Die Ablesung bei dem Platte-Kegel-Viskosimeter erfolgte in Skalenteilen (Skt). Zur Angabe in Centipoise (cps) muss dieser Wert mit einem Multiplikationsfaktor (bei 115 sec⁻¹: Skalenteil $\times 0,2 =$ cps, bei 46 sec⁻¹: Skalenteil $\times 0,5 =$ cps; bei 23 sec⁻¹: Skalenteil $\times 1,0 =$ cps) berechnet werden. Berechnet wurden die Mittelwerte (\bar{x}), die Standardabweichung (SD) und der Variationskoeffizient, der die Standardabweichung in Prozent vom Mittelwert angibt.

Der Einfluss der Thrombozyten wurde durch die Herstellung eines thrombozytenarmen Vollblutes und Plasmas durch Ausfällung von Thrombozytenaggregaten mit ADP hergestellt. Hierzu wurde aus Citratblut die Thrombozytenzahl bestimmt und nach Einstellung auf ein Hämatokrit von $40 \pm 0,1$ Vol% die Basis-Plasma- und Vollblutviskosität bestimmt. Zur Verminderung der Thrombozytenzahl wurde ein vorher abgetrennter Teil des Citratblutes bei 37°C 5 min im Wasserbad inkubiert und anschliessend mit ADP-Lösung versetzt, so dass eine Endkonzentration von 10^{-5} molar ADP entstand. Nach

nochmaliger Inkubation bei 37°C über 5 min wurde die Vollblutlösung durch ein Filter filtriert. In diesem filtrierten Teil wurde nochmals der Hämatokritwert, der sich meist nicht geändert hatte, bestimmt, ein Teil zur erneuten Thrombozytenbestimmung abgenommen sowie aus dem anderen Teil die Vollblutviskosität und nach Zentrifugation mit 3000 rpm aus dem Plasma die Plasmaviskosität bestimmt. Auf Grund der Thrombozytenzählung konnten regelmässig über 90% der vorhandenen Thrombozyten ausgefällt werden, so dass im thrombozytenarmen Rest-Blut bzw. -Plasma nur noch 10% der Ausgangszahl von Thrombozyten vorhanden waren. Zur Vereinheitlichung des Ausgangswertes wurden hierfür 5 Proben von Normalpersonen mit ca. 200 000 Thrombozyten pro ml ausgesucht.

Zur Messung der Temperaturabhängigkeit des Plasmas wurde eine Probe EDTA-Plasma bei einem Ausgangswert von 35°C im Kapillarviskosimeter, wie oben beschrieben, gemessen und danach die Temperatur schrittweise um jeweils 1°C erhöht. Zur Messung der Temperaturabhängigkeit des Vollblutes wurde ebenfalls EDTA-Vollblut, das vorher auf ein Hämatokrit von $40 \pm 0,1$ Vol% eingestellt war, bei den Schergraden 115 und 46 sec⁻¹ bei der Ausgangstemperatur von 35°C gemessen. Die Messung bei jedem Schergrad bestand aus 10 Einzelmessungen, wobei zwischen jeder Messung das Blut neu im Teller vermischt wurde. Nach jeder abgeschlossenen Temperaturmessung wurde die Temperatur um 1°C erhöht und eine neue Blutprobe eingefüllt.

Ergebnisse. Die Ergebnisse zur Überprüfung der Messgenauigkeit und Reproduzierbarkeit des Kapillarviskosimeters und des Platte-Kegel-Viskosimeters zeigt die Tabelle. Die Ergebnisse der Plasma- und Vollblutviskositätsmessung bei unterschiedlichen Thrombozytenkonzentrationen zeigt Figur 1. Die Veränderungen der Fliess-eigenschaft des Vollblutes und Plasmas in Abhängigkeit von der Temperatur zeigt Figur 2, a + b.

Diskussion. Als Ursache für Änderungen in der Fliess-eigenschaft des Blutes werden unterschiedliche Parameter diskutiert⁶. Im wesentlichen sind hierfür Konzentrationsänderungen der Plasmaproteine Fibrinogen und γ -Globulin mit Einfuss auf die Plasmaviskosität^{7,8}, Störungen im Fliessverhalten des Einzelerythrozyten (Flexibilität)⁹ eine gesteigerte Aggregationstendenz der Gesamterthro-

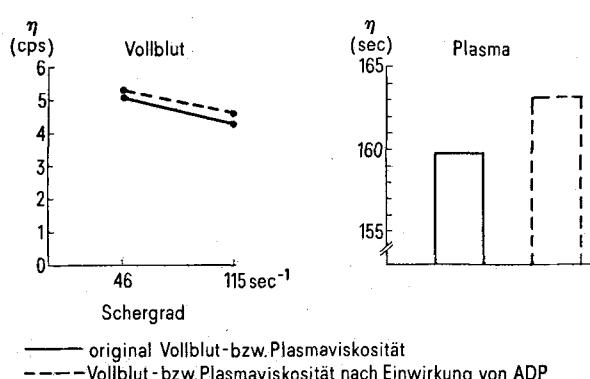


Fig. 1. Verhalten der Vollblut- und Plasmaviskosität nach weitgehender Thrombocytenverminderung.

⁶ T. SOMER, Acta med. scand. suppl. 180, 456 (1966).
57, 646 (1961).

⁷ G. A. MAYER, Am. J. clin. Path. 45, 273 (1966).

⁸ G. A. MAYER, J. FRIDRICH, J. NEWELL und J. SZIREK, Biorheology 3, 177 (1966).

⁹ H. SCHMID-SCHÖNBEIN, Schweiz. med. Wschr. 101, 1766 (1971).

zyten^{10,11} oder eine Erhöhung bzw. Erniedrigung des Hämatokrits von Bedeutung⁶. Zu einer umfassenden Charakterisierung der Fließeigenschaft gehörten daher auch Messungen der entsprechenden Einzelparameter⁹. Für Routinemessungen sowie als Suchmethode über die eventuelle Bedeutung der Viskosität haben sich die Messungen der Plasma- und Vollblutviskosität bewährt¹⁰.

Zur Messung der Plasmaviskosität sind seit langem Kapillarviskosimeter ausreichend geeignet. Die Vollblutviskosität bedarf jedoch wegen des strukturviskosen Verhaltens des Blutes weiterer und anderer Messvoraussetzungen^{9,12}. Wesentlich ist hierbei die Messung bei unterschiedlichen Schergraden. Besonders interessant

für medizinische Aussagen sind die Schergrade unter 100 sec^{-1} , da etwa in diesem Bereich das Blut von einem Newtonschen Fließverhalten in ein plastisches bzw. bei extrem niedrigen Schergraden in ein pseudoplastisches Fließverhalten übergeht^{9,12}. Ideal für die Messung der Vollblutviskosität wäre daher ein Gerät, das bei extrem niedrigen Schergraden, d. h. unter 50 sec^{-1} , optimale Messbedingungen aufweist. Für Geräte, die mit dem Platte-Kegel-System arbeiten und damit preislich erschwinglich sind, ist dies nach unseren Untersuchungen nur beschränkt möglich und verlangt zumindest Erfahrung in der Messtechnik.

Die Ergebnisse beim Kapillarviskosimeter zeigen wegen der gröszenordnungsmässig gleichen Abweichung vom Eichwert bei drei unterschiedlichen Kapillaren, dass der limitierende Faktor dieser Messkette wahrscheinlich in der Temperatureinstellung und eventuellen Temperaturkonstanz liegt. Die Bedeutung der Temperatur auf die Viskosität zeigen die weiteren Untersuchungen. Hierbei führen geringe Temperaturerhöhungen nicht nur zu einer Senkung der Plasmaviskosität, sondern darüber hinaus muss ein direkter Einfluss auf die Erythrozyten angenommen werden, da das Vollblut prozentual eine fast doppelt so grosse Verminderung der Viskosität gegenüber dem Plasma zeigt. Nur durch zusätzliche Messungen der Aggregation und Flexibilität könnte dieser Effekt näher differenziert werden.

Ohne Einfluss auf die Fließeigenschaft bleibt dagegen eine Verminderung der Thrombozyten, obwohl damit nicht ausgeschlossen ist, dass extrem hohe Thrombozytenzahlen, wie bei der Thrombophilie, doch eine Bedeutung auf die Vollblutviskosität haben könnten.

Summary. The capillary viscosimeter (Viscotimer) tested with different Ubbelohde-viscosimeters is suitable for measurements of plasmaviscosity; the limiting factor of the measuring method is the exact adjustment of the temperature. When testing the plate-cone-viscosimeter (Wells-Brookfield Microviscosimeter), we achieved scientifically adequate results only when using shear rates $230, 115$ and 46 sec^{-1} . An influence of different thrombocyte-concentrations on the viscosity of whole blood and plasma could not be detected. The flow capacity of whole blood and plasma is distinctly dependent on the temperature.

H. LEONHARDT und I. STELTER

Medizinische Klinik und Poliklinik im Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin, Hindenburgdamm 30, D-1 Berlin 45 (Bundesrepublik Deutschland, BRD), 14. Mai 1975.

¹⁰ A. M. EHRLY, Habilitationsschrift, Frankfurt/Main (1969).

¹¹ A. M. EHRLY und H. E. MÜLLER, *Acta haemat.* **36**, 323 (1966).

¹² H. SCHMIDT-SCHÖNBEIN, in *Zelluläre Physiologie der Mikrozirkulation* (Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1974), p. 1-18.

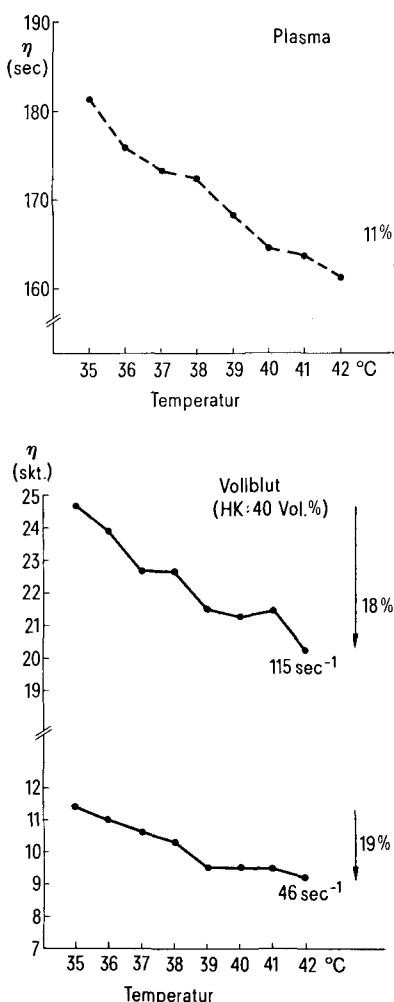


Fig. 2, a + b. Verhalten der Vollblut- und Plasmaviskosität bei physiologischen Temperaturänderungen.

Collagen in Aging Muscles

Collagen of mammals accumulates rapidly during growth in organs rich in connective tissue at a rate exceeding that of some other proteins¹. According to FISHER and RAMSEY², HELANDER³, and GUTH⁴, there is a relative increase in collagenous proteins and a decrease in myosin and total proteins in muscular atrophy of various types. However, the different fractions of collagen and their quantitative changes during aging with reference

to slow, fast, and cardiac muscles in the rat have not been reported so far, and hence the present study.

¹ D. A. LOWTHER, *Int. Rev. connect. Tissue Res.* **7**, 63 (1963).

² E. FISHER and V. W. RAMSEY, *Am. J. Physiol.* **143**, 571 (1946).

³ E. HELANDER, *Nature Lond.* **182**, 1035 (1958).

⁴ L. GUTH, *Neurosci. Res. Progr. Bull.* **7**, 1 (1969).