

Aus dem Hirnpathologischen Institut der Deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie, Max Planck-Institut, München (komm. Direktor: Prof. Dr. W. SCHOLZ) und der II. Medizinischen Klinik der Universität München (Direktor: Prof. Dr. Dr. G. BODECHTEL)

Elektronenmikroskopische Untersuchungen bei myotonischer Muskeldystrophie*

Von
W. WECHSLER und **H. HAGER**

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 15. Dezember 1960)

Die myotonische Dystrophie stellt eine auf Grund des klinischen Erscheinungsbildes und des pathologisch-anatomischen Befundes gut abgrenzbare Myopathie dar und wird allgemein zu den primär degenerativen Erkrankungen der quergestreiften Skelettmuskulatur gerechnet. Detaillierte Angaben über Organbefall, Symptomatologie und Verlauf dieser erblichen Krankheit sind aus der vorangehenden Arbeit von ERBSLÖH zu entnehmen. Während zur Histopathologie der Skelettmuskelveränderungen seit über fünf Jahrzehnten eine Fülle von lichtmikroskopischen Untersuchungen vorliegt (ROSSOLIMO 1902; BATTEN u. GIBB 1909; STEINERT 1999, 1910; CURSCHMANN 1912, 1915, 1922, 1936; SLAUCK 1936; WOHLFART 1951; ADAMS u. Mitarb. 1953 u. a.), sind elektronenmikroskopische Befunde im Schrifttum bisher nicht mitgeteilt. Die Fortschritte der elektronenmikroskopischen Technik ließen den Versuch aussichtsreich erscheinen, die Kenntnis der Cytopathologie menschlicher Muskelerkrankungen durch feinstrukturelle Untersuchungen an biotisch gewonnenem Material zu vertiefen. Im folgenden wird über Ergebnisse bei myotonischer Muskeldystrophie berichtet.

Material und Methode

In cutaner Lokalanästhesie wurden aus dem M. brachioradialis eines klinisch gesicherten Falles¹ in möglichst kurzer Zeit kleinste Muskelstücke entnommen und in 1%iger, mit Veronalacetat nach PALADE (1952) auf pH 7,4 gepufferter Osmiumsäure fixiert. Die Einbettung erfolgte in einem Gemisch von Butyl- und Methyl-metacrylat im Verhältnis 9:1, die Polymerisation bei 54° C. Unter Verwendung von

* Im Auszug vorgetragen auf der Tagung der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, der Schweizerischen Neurologischen Gesellschaft und der Vereinigung Deutscher Neuropathologen und Neuroanatomen, Zürich 1960.

¹ Herrn Prof. ERBSLÖH danken wir für die Auswahl dieses in der voranstehenden Arbeit erwähnten, relativ frühen Falles (Gruppe II) zur elektronenmikroskopischen Untersuchung.

Glasmessern wurden an zwei Mikrotomen (Porter-Blum und Leitz) ultradünne Schnitte hergestellt, auf mit Formvarfolien versehenen Elektrolytikupfernnetzen aufgenommen und mit einem Siemens Elektronenmikroskop ÜM 100¹ untersucht. Lichtmikroskopische Vergleichsuntersuchungen wurden am osmiumfixierten metacrylateingebetteten Gewebe im Hellfeld an nach Angaben von DE HARVEN (1956) gefärbten Schnitten und im Phasenkontrast durchgeführt.

Befunde

Im *lichtmikroskopischen Übersichtspräparat* des zur elektronenmikroskopischen Untersuchung gelangten Muskelabschnittes sind Muskelfasern wechselnder Breite mit normalem Streifungsbild und zentral oder peripher gelegenen Kernreihen zu beobachten. Daneben finden sich durchmesserreduzierte Fasern mit und ohne Veränderungen des Streifungsbildes, welche stets eine erhebliche Kernvermehrung aufweisen. Schließlich sind noch mehr- und vielkernige, manchmal schlauchartig gewundene Sarkoplasmamassen, also sogenannte myogene Riesenzellen, zu erkennen. Im Bereich des Gefäßbindegewebsapparates fehlen entzündlich-infiltrativ Erscheinungen sowie stärkere Fibrosierungen. Unsere lichtmikroskopischen Befunde entsprechen den von ERBSLÖH in Abb. 7 (untere Bildhälfte) demonstrierten Skeletmuskelveränderungen. Die im Lichtmikroskop ein normales Streifungsbild aufweisenden Muskelfasern zeigen zum Teil auch im *Elektronenmikroskop* normale Strukturverhältnisse (Abb. 1a und b). Es findet sich innerhalb der Muskelfasern die bekannte Myomerensegmentierung des Myofibrillenbestandes (Abb. 1a). Die Zusammensetzung der Myofibrillen aus feinen, parallel zur Längsachse angeordneten Filamenten oder Protofibrillen ist im Quer- und Längsschnitt gut zu erkennen (Abb. 1b). Auch über die dem Querstreifungsbild zugrunde liegenden feineren Strukturprinzipien gibt das Elektronenmikroskop Aufschlüsse. Die Z-Streifen durchziehen ungeachtet der fibrillären Gliederung die ganzen Muskelfasern und stehen meist mit dem Sarkolemm in Verbindung. Infolge Spontankontraktion der excidierten Muskelstückchen findet sich innerhalb der einzelnen Myomere einer Faser die als Kontraktionsbild bekannt gewordene Anordnung mit der intermediately hervortretenden M-Linie (Abb. 1a und b). Die durch Versetzung von Z-Streifen benachbarter Fibrillen gegebene, seit HEIDENHAINS Untersuchungen (1918) bekannte helicoide Anordnung der Myomere ist verschiedentlich ebenfalls gut zu erkennen. Ob der im Elektronenmikroskop in verschiedenen Einzelfasern mit normalem Streifungsbild deutlich hervortretende Wechsel des Myofibrillendurchmessers und damit der Fibrillen-Sarkoplasmarelation in Beziehung zu der lichtmikroskopisch erkennbaren Variation der Faserdurchmesser zu bringen ist, läßt sich nicht sicher entscheiden. Im Sarkoplasma erscheint das in besonderer Ausprägung vorliegende Endoplasmareticulum als ein membranbegrenztes tubuläres Binnenraumsystem, dessen innige Beziehung zu den Myofibrillen und dem Sarkolemm sowie den Muskelkernen vielfach festzustellen ist. Vor allem im interfibrillären Raum des Sarkoplasmas treten zahlreiche Mitochondrien, oft in reihenartiger Häufung auf. Innerhalb der Kerne liegen die Bestandteile des Nucleoplasmas in unregelmäßiger, in Nähe der Kernmembran relativ dichter Anordnung vor, wobei die Kernmembran sich als doppelt konturierte Umhüllung darstellt; letztere schließt den perinucleären Raum in sich ein. Sein Zusammenhang mit dem Endoplasmareticulum ist gelegentlich nachweisbar. Vereinzelt können in Kernnähe auch

¹ Herrn Prof. ROLLWAGEN, Direktor des II. Physikalischen Instituts der Universität München, der uns freundlicherweise das Arbeiten an einem Instrument seines Instituts ermöglichte, dürfen wir auch an dieser Stelle herzlich dafür danken. Ebenfalls bestens gedankt sei Herrn FELLNER für technische Mitarbeit.

osmiophile Körper von wechselnder Größe und Gestalt (sogenannte *Microbodies* oder *Cytosomen*) mit verschiedenartigen Einschlüssen beobachtet werden (Abb. 1a). Bemerkenswert ist, daß Muskelfasern mit zentral gelegenen Kernreihen vielfach

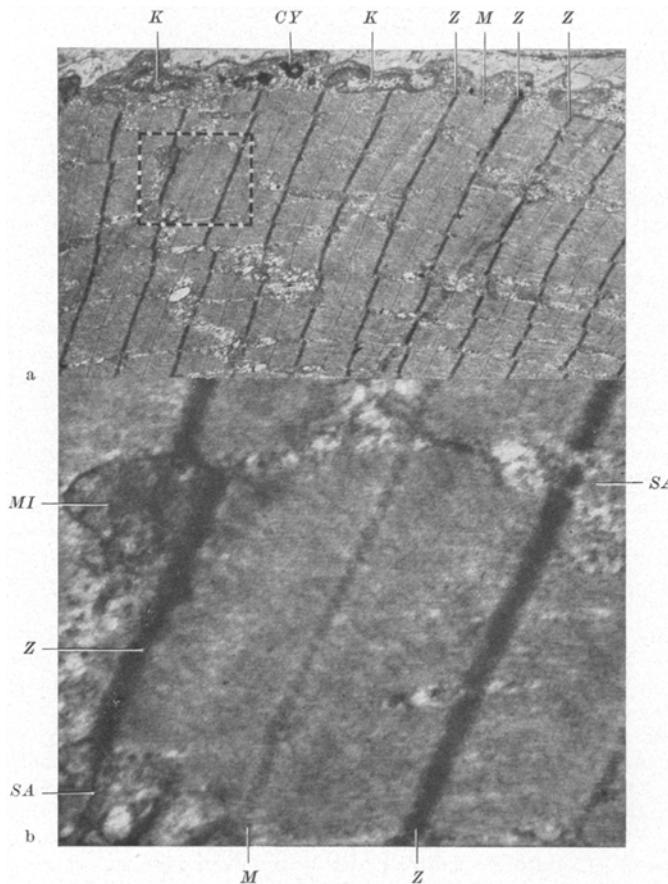


Abb. 1. *Feinstrukturell intakte Muskelfaser* im Längsschnitt. a Dichte Lagerung der längsverlaufenden Myofibrillen, welche durch querlaufende, stark osmiophile Z-Streifen (Z) in Myomere gegliedert sind. Typisches Kontraktionsbild mit intermediär hervortretender M-Linie (M). Subsarkolemmal Anschnitte von zwei Muskelkernen (K) und im Sarksplasma vereinzelte Cytosomen (CY). Vergr. 4500:1. b Ausschnitt von a (durch gestrichelte Linien markiert) bei stärkerer Vergrößerung. Aufbau der in Myomere gegliederten Myofibrillen aus feinen, dicht gebündelten und parallel zur Fibrillenachse angeordneten Filamenten. SA Sarksplasma; MI Mitochondrium. Vergr. 21 600:1

noch einen vollständig intakten Filamentenbestand bei gewahrter Myomerenordnung aufweisen.

Dagegen lassen andere Muskelfasern, die lichtmikroskopisch ebenfalls ein normal erscheinendes Streifungsbild besitzen, elektronenmikroskopisch bereits eindeutige *Veränderungen der Myofibrillen* erkennen: im Übersichtsbild ist die ursprüngliche Myomerenanordnung noch weitgehend gewahrt (Abb. 2a); bei 21 600 facher Vergrößerung zeigen die Myomere jedoch bei stark hervortretendem

Z-Streifen eine deutliche Auflockerung der dichtgefügten Filamentebündel (Abb. 2b). Diese Erscheinung ist offenbar auch durch Untergang einzelner filamentöser Elementarstrukturen verursacht. Dabei betreffen diese Veränderungen in der Regel das gesamte Filamentebündel eines Myomers. Die longitudinale Ausrichtung

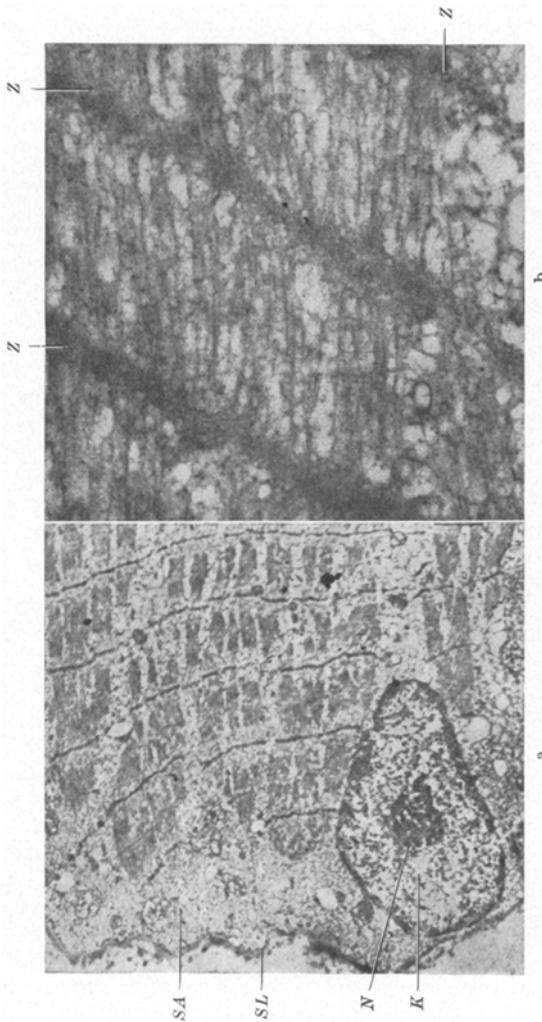


Abb. 2. *Beginnende Fibrillendestruktion im Längsschnitt*. a. Bei schwacher elektronenmikroskopischer Vergrößerung ist die ursprüngliche Myomerenordnung noch weitgehend intakt. K. Muskelkern mit Nucleolus (N); SA. Sarkoplasmatische Membran; SL. Sarcolemm. Vergr. 4500:1. b. Bei höherer Auflösung findet sich jedoch eine Entbildung und ein Untergang filamentöser Elementarstrukturen in den durch Z-Streifen (Z) begrenzten Myomeren. Vergr. 21600:1

der verbliebenen Filamente ist zwar noch weitgehend erhalten, jedoch tritt bei einem Vergleich der Abb. 1b und 2b die Veränderung eines geschädigten gegenüber einem normalen Myomer deutlich hervor. Die strukturelle Desintegration der Myofibrillen durch Schwund und Entbündelung filamentöser Elementarstrukturen scheint das *Initialstudium der Fibrillendestruktion* zu repräsentieren.

Eindrucks vollere Bilder über die der Muskelerkrankung zugrunde liegenden feinstrukturellen Veränderungen liefern durchmesserreduzierte Fasern, die schon

lichtmikroskopisch neben erheblicher Kernvermehrung einen graduell unterschiedlichen Verlust des Streifungsbildes aufweisen. Diese *fortgeschrittenen Stadien der Fasererkrankung* lassen an einem nicht unbeträchtlichen Teil des Myofibrillenbestandes tiefergreifende, Zahl und Anordnung der filamentösen Grundelemente betreffende Veränderungen erkennen (Abb. 3, 4). Die stark osmophilen Z-Streifen zerfallen in einzelne Segmente verschiedener Größe. Intakte Myofibrillen sind nicht mehr wahrnehmbar. Die ursprünglich gegebene und durchgehende Myomerenordnung ist daher nur noch andeutungsweise zu erkennen (Abb. 3). Ursache dieser Fibrillenveränderungen ist der Untergang einer großen Zahl filamentöser Grund-

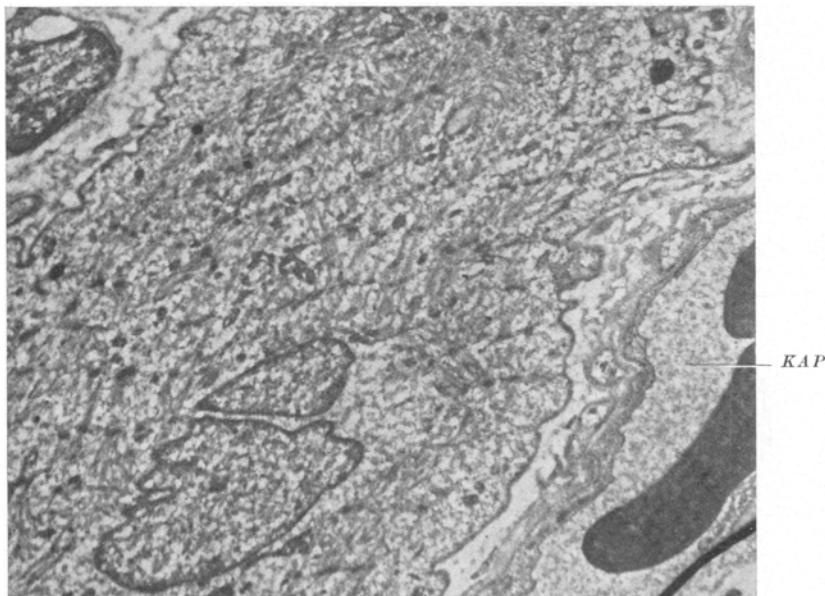


Abb. 3. Kernhaltige Muskelzelle mit *fortgeschrittener Fibrillendestruktion*. Zwischen dunkel hervortretenden Z-Streifenfragmenten, welche die ursprüngliche Myomerenordnung noch andeuten, Reste von Myofibrillen. KAP Erythrocytenhaltige Capillare. Vergr. 4500:1

elemente. Zwischen Z-Streifenfragmenten finden sich nurmehr ziemlich regellos gelagerte Filamente und Filamentreste (Abb. 4). Dabei überrascht es, daß in unmittelbarer Nachbarschaft solcher Fibrillendestruktionen noch vereinzelt Fibrillen mit einem in Struktur und Anordnung normal erscheinenden Filamentbestand vorkommen können (Abb. 4). Bei fortgeschritteneren Stadien der Fasererkrankung wird der Filamenteuntergang immer ausgeprägter. Auch die diskontinuierlichen Z-Streifenfragmente lösen sich in immer kleinere runde Segmente von großer Dichte auf (Abb. 5). Mitunter lassen sie noch eine geraume Zeit in Andeutung ihre ursprüngliche Bandanordnung erkennen (Abb. 5), um schließlich aber völlig regellos im Sarkoplasma verteilt aufzutreten (Abb. 6, 8). In solchen Stadien ziehen die noch spärlich vorhandenen filamentösen Strukturen in verschiedenen Richtungen und unterschiedlichem Abstand teils von Z-Streifenfragment zu Z-Streifenfragment, teils liegen sie aber auch völlig ungeordnet im Sarkoplasma (Abb. 5, 6). Schließlich sind in *Endstadien der Fasererkrankung* Filamente in den erheblich umgeformten und vielkernigen, also affibrillären Muskelzellen, nicht mehr nachweisbar (Abb. 7, 8).

Die von den Z-Streifen herrührenden, stark osmiophilen Gebilde überdauern den Filamenteuntergang noch eine gewisse Zeit (Abb. 8). An verschiedenen Fasern sind also recht unterschiedliche Stadien der Fibrillendestruktion zu beobachten. Auch in der Einzelfaser liegt eine Variation hinsichtlich Intensität und Ausprägung des Prozesses vor. Die Ausprägung der Destruktion des Fibrillenapparates tritt unter Bevorzugung der peripheren, zentralen und kernnahen Bereiche in durchaus regelloser Form in Erscheinung. Dagegen scheinen die Veränderungen am Filamentebestand der Fibrilleneinheiten grundsätzlich gleichartig in der bereits geschilderten Weise abzulaufen.

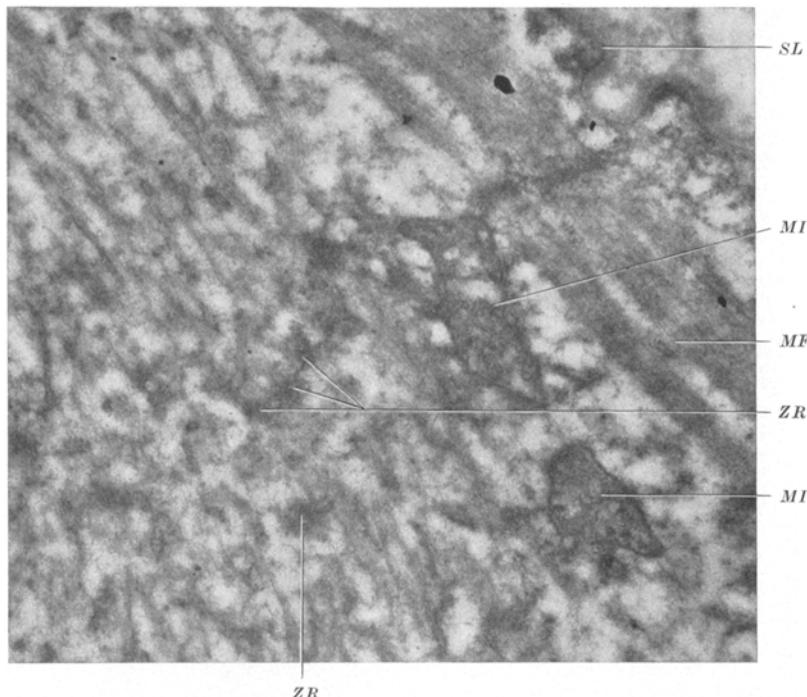


Abb. 4. *Disseminierter fortgeschrittener Fibrillenzerfall* durch Filamenteuntergang. Gegenüber dem in Struktur und Anordnung noch weitgehend regelrechten Filamentebündel der von links oben nach rechts unten ziehenden Myofibrille (MF) tritt die unregelmäßige Lage und Anordnung der noch verbliebenen Filamente und Filamentreste (linker Bildabschnitt) deutlich hervor. Im Sarkoplasma zwei Mitochondrien mit erhaltener Innenstruktur (MI) und etliche Z-Streifenfragmente (ZR). SL Strukturkomplex des Sarkolemm, bestehend aus dunkler Innenlinie (Zellmembran) und breiter Basalmembran. Vergr. 21600:1

Während die aus Filamenten aufgebauten Myofibrillen einem fortschreitenden Untergang verfallen, zeigen *Sarkoplasma und seine Organellen* weniger tiefgreifende Veränderungen: das bei Osmiumfixierung sich darstellende feine, ungeordnete Flockungsbild des Sarkoplasmas weicht, abgesehen von einer wechselnden Dichte, auch bei schwer veränderten Fasern nicht wesentlich von dem der Normalfasern ab. Das *Endoplasmareticulum* lässt in den verschiedenen Stadien des Prozesses eine gewisse Variation hinsichtlich der Weite und Form seiner Binnenräume erkennen. Bei fortgeschrittener Fibrillendestruktion ist eine vom normalen Strukturbild

abweichende, unregelmäßige Anordnung festzustellen. Möglicherweise kommt es in Endstadien auch zu einer partiellen Auflösung. Die *Mitochondrien* der erkrankten Fasern weisen in allen Stadien meist nur Größen- und Formvariationen auf. Ob eine zahlenmäßige Verminderung des Mitochondrienbestandes auftritt, läßt sich

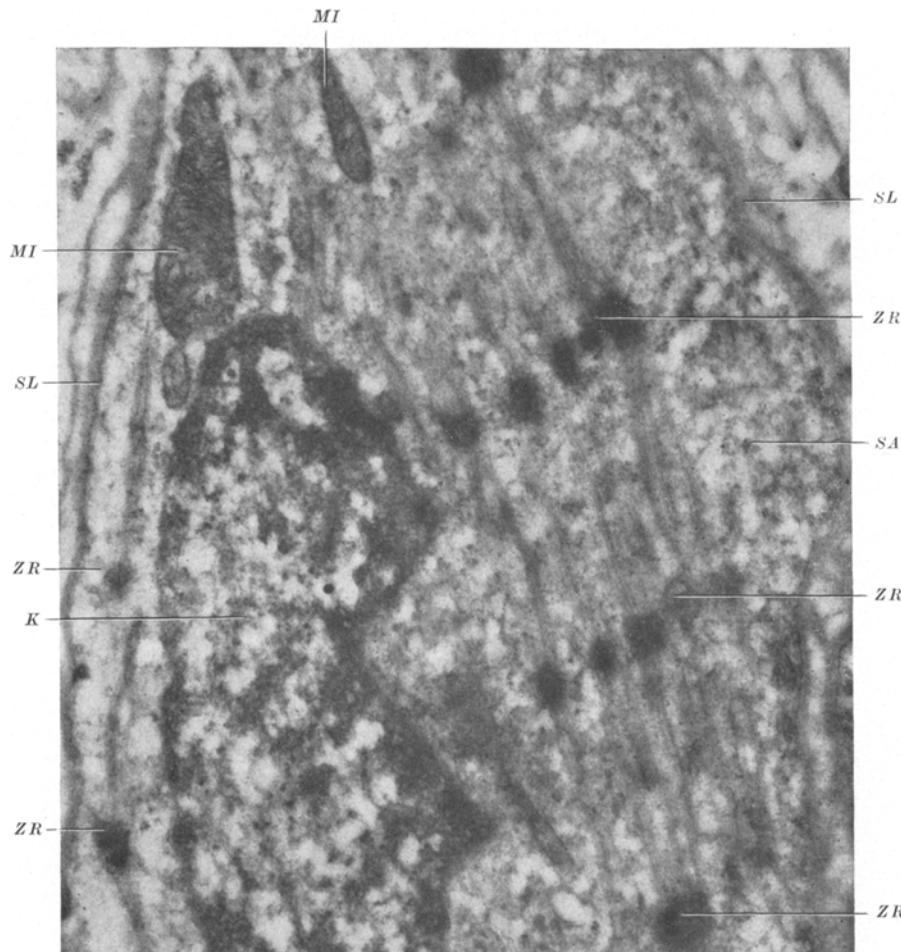


Abb. 5. *Fortgeschrittenes Stadium* der Fasererkrankung mit hochgradig reduziertem Filamentebestand zwischen kugeligen Z-Streifenresten (ZR). Daneben Muskelkern (K), intakte Mitochondrien (MI) und das ungeordnete Flockungsbild des Sarkoplasmas (SA). SL Strukturkomplex des Sarkolemms.
Vergr. 21600:1

nicht sicher entscheiden. Bemerkenswert ist jedenfalls, daß selbst afibrilläre Muskelzellen noch eine große Zahl von relativ kleinen Mitochondrien, meist mit normaler Innenstruktur, aufweisen (Abb. 7, 8). Ihre ursprüngliche Verteilung im interfibrillären Sarkoplasmaanteil geht natürlich mit fortschreitendem Fibrillenuntergang und der damit zusammenhängenden Umformung der Gesamtzelle verloren (Abb. 5, 7, 8). Vor allem in Kernnähe ist ein gehäuftes Auftreten von stark osmio-

philen Gebilden wechselnder Größe (*Cytosomen* oder *Microbodies*) zu beobachten, welche kontrastreiche Partikelchen und tropfige Einschlüsse in großer Zahl enthalten (Abb. 6, 7).

Die durch *Filamenteverlust* hervorgerufene beträchtliche Substanzeinbuße der *Muskelfasern* hat eine fortschreitende Verkleinerung und Umformung der *Muskelzellen* zur Folge. Daraus ergeben sich tiefe Einbuchtungen und Fältelungen des *Sarkolemma*s. Zuletzt formen sich die ihrer fibrillären Komponenten nahezu oder

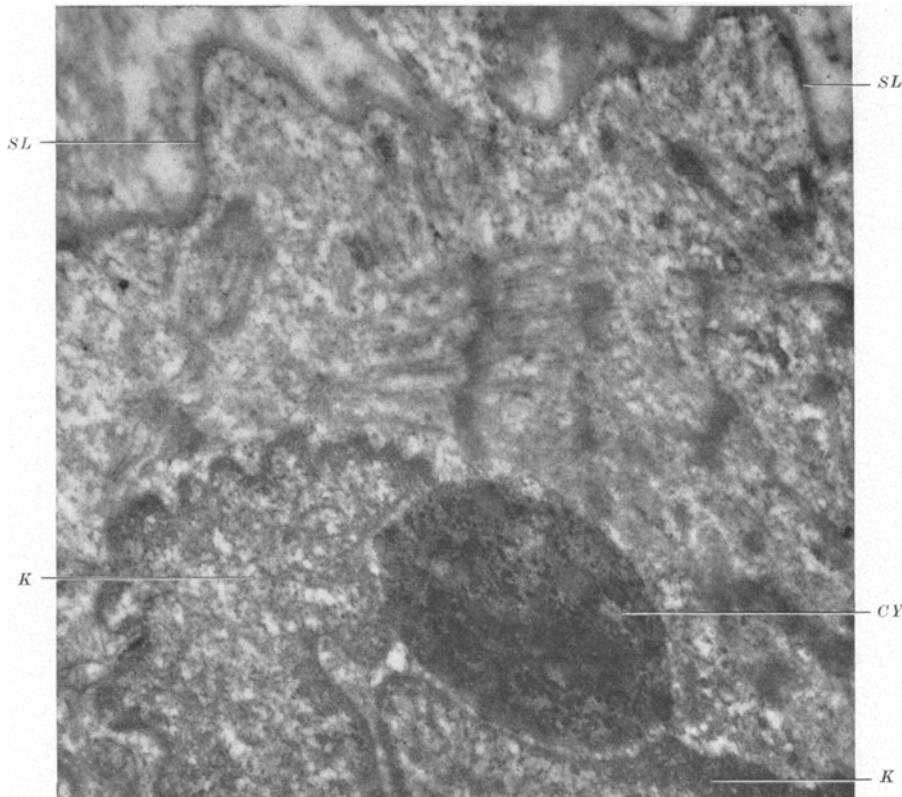


Abb. 6. Umgeformte Muskelzelle mit monströsem, verschiedenartiges Material speicherndem Cytoplasma (CY), vielgestaltigen Muskelkernen (K) und fortgeschrittener Fibrillendestruktion. SL Sarkolemm. Vergr. 21 600:1

völlig beraubten Muskelzellen in außerordentlich unregelmäßige und vielgestaltige Gebilde, sogenannte myogene Riesenzellen, um, die noch über eine große Zahl von Mitochondrien und zahlreiche, meist dicht beieinander liegende Kerne verfügen (Abb. 7a). Dabei ist die starke Formvariation dieser Muskelkerne, welche vielfach gebuchte Kernmembranen besitzen, auffällig (Abb. 6). Jedoch weicht die Struktur des Karyoplasmas und der Nucleoli nicht wesentlich von derjenigen der Normalkerne ab. Auch die Golgizonen, welche als Aggregationen von Bläschen und Tubuli erscheinen, lassen keine Veränderungen erkennen.

Nur ganz vereinzelt treten in Endstadien des Prozesses an afibrillären Muskelzellen *tiefergreifende Veränderungen des Cyto- und Karyoplasmas* auf. Das Sarko-

plasma zeigt dann dichte, stärker osmophile und nahezu strukturlose Bezirke, in denen Mitochondrien fehlen. In der Nachbarschaft derartiger Sarkoplasmaverdichtungen finden sich erheblich veränderte Mitochondrien, die bei hochgradiger Schwellung und Verlust ihrer Innenstruktur in blasig-vacuolare Gebilde umgewandelt sind. Auch das Endoplasmareticulum kann stärker aufgetrieben er-

scheinen. Die unregelmäßig geformten Kerne erscheinen dann viel strukturdichter.

Der Grenzbereich der Muskelzellen, hervorragend als *Sarkolemm* genannt, lässt sich im Elektronenmikroskop als eine aus mehreren Komponenten zusammengesetzte heterogene Struktur verdeutlichen. Diese besteht aus einer sich scharf abzeichnenden, schmalen, osmophilen Linie und einer breiten, gegen den interstitiellen Raum abgegrenzten, bandförmigen Zone von gleichmäßig homogener Dichte und schwächerer Kontrastierbarkeit durch Osmiumsäure. Letztere entspricht den elektronenmikroskopisch als Basalmembran beschriebenen Strukturankordnungen. Zu diesem Membrankomplex treten in verschiedener Richtung feine Kollagenfibrillen des Interstitiums in Beziehung. An intakten Fasern und solchen, die einen beginnenden Zerfall der Fibrillen erkennen lassen, zeigt dieser Strukturkomplex keine wesentlichen Veränderungen. Als bemerkenswerter Befund finden sich dagegen an afibrillären, umgeformten und vielkernigen Muskelzellen auffällige, die umgebenden interstitiellen Räume weithin durchziehende, bandförmig verschlungene Anordnungen (Abb. 9). Diese im Dünnschnitt als zusammenhängende Bänder erscheinenden Gebilde gehen vielfach kontinuierlich in die Basalmembransubstanz des Sarkolemm über (Abb. 9). Es ist offenbar zu einer noch näher zu erörternden Abfaltung der ihren Lamellencharakter bewahrenden Basalmembrankomponente des Sarkolemm in den interstitiellen Raum gekommen.

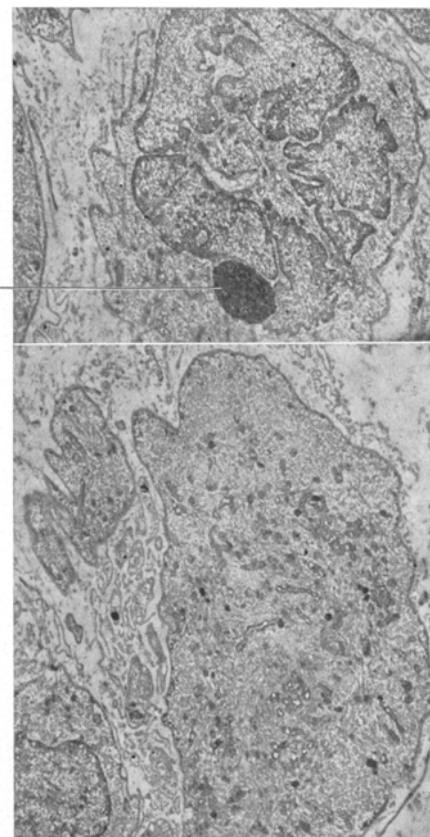


Abb. 7. Afibrilläre Endzustände der Fasererkrankung. a Vielkernige Muskelzelle mit bizarrem geformten Kernen und Cytosom (CY); b Kernloser Protoplasmafortsatz einer afibrillären Muskelzelle mit zahlreichen, als dunkle Pünktchen imponierenden Mitochondrien. Daneben Anschnitte von Muskelzellen und Muskelzellofortsätzen. Vergr. 4500:1

Wenn man an vielkernigen und afibrillären Muskelzellen auf *Endplattenstrukturen* trifft, so sind auch diese nicht unerheblich verändert (Abb. 10). Es finden sich dann in Nähe der Zelloberfläche in das Sarkoplasma eingesenkte und von ihm durch zwei Membranschichten mit heller Zwischenzone abgegrenzte, runde Bereiche verschiedener Größe, die in wechselnd dichter Lagerung zahlreiche, vor-

wiegend kugelige Vesikel enthalten, deren mittlerer Durchmesser etwa 300 Å beträgt. Daneben sind auch Mitochondrien vorhanden. Ferner treten größere rundliche Anschnittprofile hervor, die von Doppelmembranen, gelegentlich in spiralförmiger Anordnung, umgeben sind. Das an diese wohl erheblich umgeformten Endplattenstrukturen angrenzende Sarkoplasma läßt keine bläschenförmigen Gebilde, wohl aber zahlreiche Mitochondrien mit normalen Innenstrukturen erkennen. Die im *Muskelinterstitium* auftretenden Kollagenfibrillen zeigen eine vor-

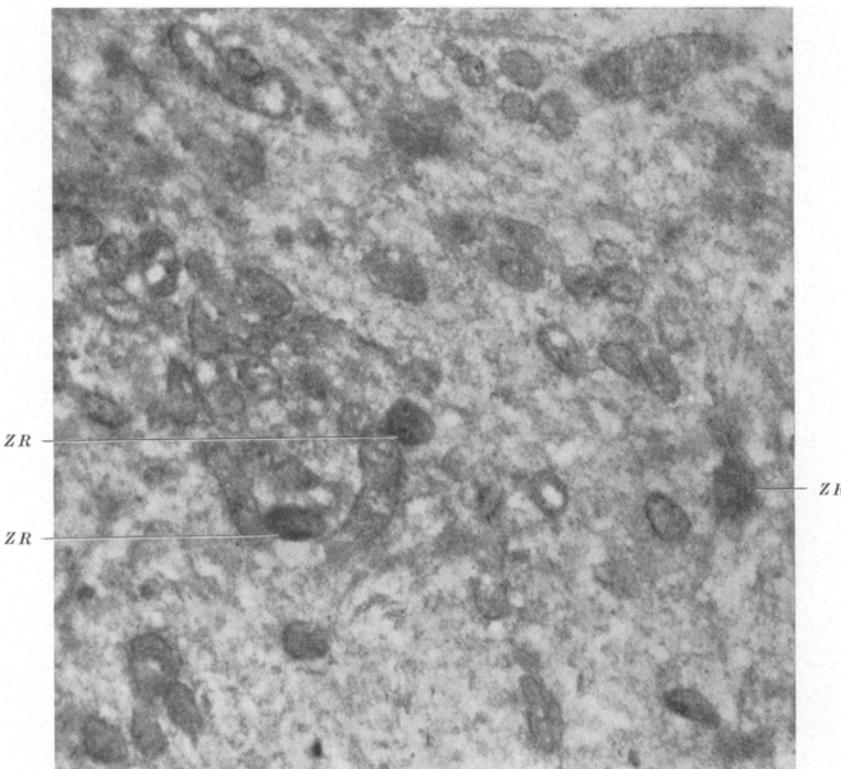


Abb. 8. Im Sarkoplasma afibrillärer Muskelzellen finden sich noch zahlreiche Mitochondrien, großen teils mit intakter Innenstruktur, sowie vereinzelte Z-Streifenreste (ZR). Vergr. 21 600:1

wiegend lockere, selten gebündelte Anordnung. Dementsprechend ist auch eine erhebliche Vermehrung der Fibrocyten sowie eine Zunahme ihrer weit verzweigten protoplasmatischen Fortsätze nicht zu beobachten. Die Fibrocyten sind auf Grund ihrer Form sowie ihrer Kern- und Plasmastrukturen von den umgeformten afibrillären Muskelzellen fortgeschrittenen Stadien der Fasererkrankung gut zu unterscheiden. Ganz vereinzelt trifft man auf histiocytaire Elemente und auf runde Zellen, die auf Grund ihrer Kern- und Cytoplasmaanordnung als Lymphocyten anzusprechen sind. Auf die feineren Struktureinzelheiten des interstitiellen Gefäßapparates ist in diesem Zusammenhang nicht näher einzugehen; hervorzuheben ist lediglich, daß Veränderungen, die in einen sicheren Zusammenhang zu dem an den Muskelfasern ablaufenden Prozeß gebracht werden könnten, nicht festzustellen waren.

Besprechung der Befunde

In den letzten Jahren wurde mit Hilfe des Elektronenmikroskops die Ultrastruktur der quergestreiften Skeletmuskelfaser von Warm- und Kaltblütern weitgehend geklärt, was die Deutung der bei myotonischer Muskeldystrophie erhobenen feinstrukturellen Befunde erleichtert. Es ist hier nicht der Platz, auf die Ergebnisse der modernen Muskelstruktur-

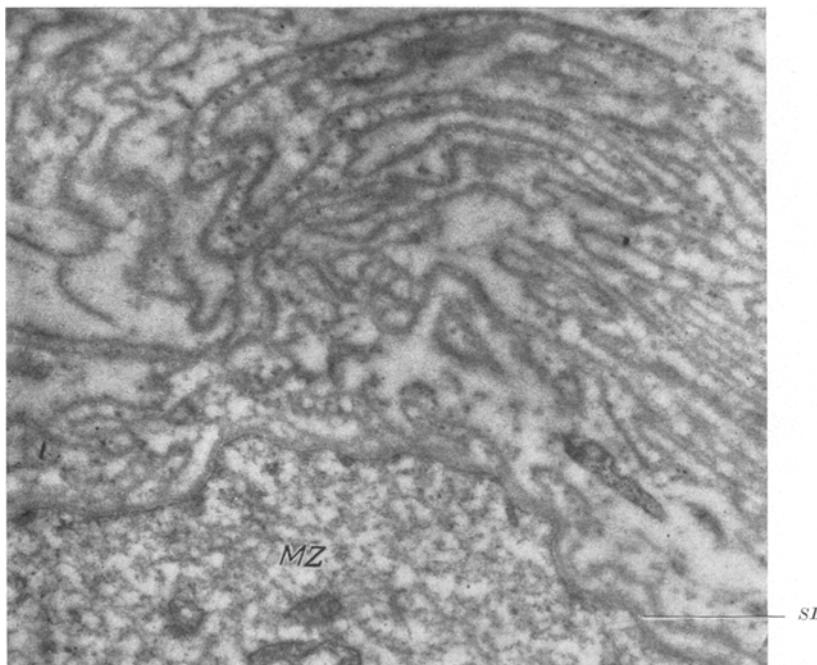


Abb. 9. Afibrilläre Muskelzelle (MZ) mit band- und schlanchartigen Abfaltungen der Basalmembrankomponente des Sarkolemms (SL). In unmittelbarer Nachbarschaft der Abfaltungen quergetroffene Kollagenfibrillen als dunkle runde Pünktchen erkennbar. Vergr. 18000:1

forschung einzugehen; wir verweisen daher auf wichtige Einzelarbeiten (RUSKA 1954; EDWARDS u. Mitarb. 1956; KISCH 1956; ROBERTSON 1956b; PORTER u. PALADE 1957; RUSKA u. Mitarb. 1956, sowie ANDERSSON-CEDERGREN 1959) und die zusammenfassenden Darstellungen von BENNETT, HUXLEY u. HANSON, HANSON u. LOWY in dem von BOURNE 1960 herausgegebenen Band I der „Muskulatur“. Nur auf die Feinstruktur der Myofibrillen soll kurz eingegangen werden, da sie bei myotonischer Muskeldystrophie tiefgreifende Veränderungen erfahren.

Nachdem schon früher aus polarisationsoptischen Befunden (Anisotropie der A-Bänder, Isotropie der I-Bänder) gewisse Rückschlüsse auf die Ultrastruktur der Myomere ermöglicht wurden (SCHMIDT 1957), konnte elektronenmikroskopisch der Nachweis erbracht werden, daß die in Myomere gegliederten Myofibrillen aus einer

Vielzahl feinster Filamente (Protofibrillen) aufgebaut sind. Dabei kamen HODGE (1956), SPIRO (1956), SJÖSTRAND u. ANDERSSON (1956) sowie SJÖSTRAND (1957) zu dem Schluß, daß die im Interferenzmikroskop hervortretende differente Massenverteilung im I- und A-Streifen (HUXLEY u. NIEDERGERKE 1954; HUXLEY u. HANSON 1957; A. F. HUXLEY 1957) hauptsächlich auf Konfigurations- und Durchmesservariationen der das ganze Myomer kontinuierlich durchziehenden Filamente zurückgeht. Dagegen konnten HUXLEY u. Mitarb. in einer Reihe von Untersuchungen (HUXLEY u. HANSON 1954, 1960; HANSON u. HUXLEY 1955; HUXLEY

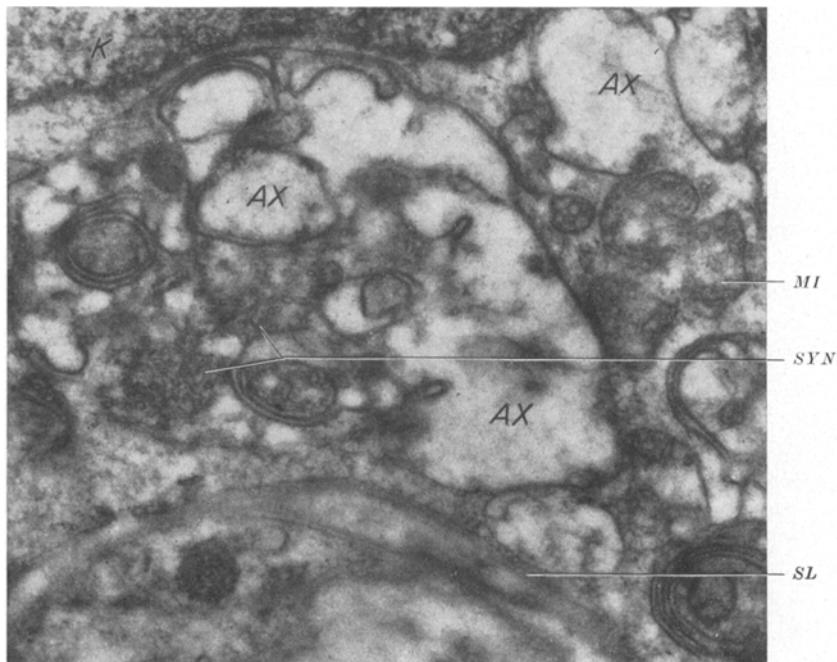


Abb. 10. Veränderte motorische Endplattenformation im Bereich einer afibrillären, vielkernigen Muskelzelle: Axonbezirke, teilweise mit spiralförmig angeordneten Doppelmembranen (AX); Mitochondrien (MI) und zahlreiche Synapsenbläschen (SYN); SL Sarkolemm; K Muskelkern. Vergr. 21 600:1

1957b) zeigen, daß das Myomer aus einem komplizierten geordneten System von zwei verschiedenen Filamentengruppen besteht.

Aus den vielgestaltigen elektronenmikroskopischen Befunden bei myotonischer Muskeldystrophie, denen verschiedene Stadien der Fasererkrankung zugrunde liegen, ist der Ablauf der den „dystrophischen“ Prozeß kennzeichnenden feinstrukturellen Veränderungen weitgehend abzuleiten. Die Frühveränderungen der Einzelfaser betreffen Muskelkerne und Fibrillenapparat. Dabei sind zwei grundsätzlich wichtige Gesichtspunkte hervorzuheben. Einmal zeigt ein Teil der Muskelfasern, welche lichtmikroskopisch durch Kernvermehrung und Variation des Faserdurchmessers bei noch erhaltenem normalem Streifungsbild aus-

gezeichnet sind, auch feinstrukturell einen vollständig intakten Fibrillenbestand, indem die aus Filamentenbündeln aufgebauten Myomere in Struktur und Anordnung regelrecht erscheinen. Die Integrität der Fibrillenultrastruktur dieser Muskelfasern beweist eindeutig, daß die Kernvermehrung den Veränderungen am Fibrillenapparat vorausgeht. Der gelegentlich in geringem Umfang von Faser zu Faser feststellbare Wechsel der Fibrillen-Sarkoplasma-Relation dürfte mit schon normalerweise vorhandenen, individuellen Faservariationen zusammenhängen. Jedenfalls besteht keine Übereinstimmung mit den elektronenmikroskopischen Befunden bei experimenteller neurogener Muskelatrophie (WECHSLER u. HAGER 1960a): Dort ist im Stadium der „einfachen Faseratrophie“ der relativ hohe Anteil des interfibrillären Sarkoplasmavolumens augenscheinlich auf einen auf Fibrillenquerschnitten „zentripetal“ fortschreitenden Filamenteuntergang mit Verschmälerung sämtlicher Myofibrillen rückführbar.

Wie in Abb. 2 demonstriert, können andererseits Fasern mit lichtmikroskopisch noch normal erscheinendem Querstreifungsbild elektronenmikroskopisch bereits charakteristische Veränderungen einzelner Fibrillen aufweisen. Auf Grund des beschränkten Auflösungsvermögens des Lichtmikroskops sind alle Aussagen über Fibrillenveränderungen, soweit sie sich nicht auf Veränderungen des Streifungsbildes stützen, als problematisch anzusehen. Die von uns in Frühstadien des Prozesses beobachteten Fibrillendestruktionen und die Veränderungen einzelner Fibrilleinheiten entziehen sich jedenfalls sicher dem lichtmikroskopischen Nachweis. Auf Grund unserer elektronenmikroskopischen Befunde am Fibrillenapparat verschiedener Fasern in verschiedenen Prozeßstadien können wir nun ein ziemlich eindeutiges Bild über den *formalen Ablauf der Fibrillenveränderungen* entwerfen: im *Frühstadium* des Prozesses kommt es bei relativ langem Fortbestand der Z-Streifenanordnung durch langsam fortschreitenden Filamenteuntergang zu einer Aufsplitterung, Entbündelung und strukturellen Desintegration des gesamten Filamentebestandes der einzelnen Myomere. Auf diese Weise gehen die einzelnen Myofibrillen allmählich zugrunde. In *fortgeschrittenen Stadien* der Fasererkrankung finden sich zwischen den in einzelne Segmente zerfallenden Z-Streifenresten nur noch spärliche, mehr oder minder regelmäßig angeordnete Reste der filamentösen Elementarstrukturen. Als *Endstadium* des Prozesses können Muskelzellen mit weitgehendem oder vollständigem Verlust der Filamente angesehen werden. Die dann noch in gewissem Umfang nachweisbaren Reste der Z-Streifen überdauern den Filamenteuntergang als letzte Spuren der zugrundegegangenen Myomere noch eine bestimmte Zeit. Es ist im einzelnen nicht sicher zu entscheiden, ob dem Untergang der filamentösen Grundelemente ein Zerfall in kleinere, aneinander gereihte Bruchstücke vorausgeht. Jedenfalls ist im Sarkoplasma dieser Muskel-

zellen keine Anhäufung von Zerfallsprodukten, die mit dem Fibrillenuntergang in Zusammenhang gebracht werden können, nachweisbar. Daß vor allem in Initialstadien nicht sämtliche Fibrillen einer Faser gleichzeitig die geschilderten Veränderungen am Filamentebestand der Myofibrillen zeigen, also eine *disseminierte Fibrillendestruktion* vorliegt, wurde bereits ausdrücklich hervorgehoben. Feinstrukturelle Korrelate für das sogenannte „Ringbinden-Phänomen“ konnten wir an unserem Material nicht beobachten. Da nur ein Fall von myotonischer Dystrophie elektronenmikroskopisch untersucht werden konnte, sind zu weitgehende Verallgemeinerungen hinsichtlich des formalen Ablaufs der Fibrillendestruktion nicht zulässig. Sicher feinstrukturell erfassbar war jedoch als wesentliche Veränderung in den erkrankten Fasern ein durchgreifender Filamenteuntergang.

Es ist hervorzuheben, daß in Frühstadien zwischen den Fibrillenveränderungen bei myotonischer Dystrophie und experimenteller neurogener Muskelatrophie keine Übereinstimmung bezüglich der Ausprägung des Filamenteuntergangs festzustellen ist (WECHSLER u. HAGER 1960a und b). In späteren Stadien verwischen sich jedoch die ursprünglich vorhandenen Unterschiede mehr und mehr, so daß sich die Endzustände des Fibrillenuntergangs bei myotonischer Dystrophie und neurogener Muskelatrophie weitgehend ähneln (WECHSLER u. HAGER 1960b). MÖLBERT (1960) sowie MÖLBERT u. DODEN (1960) haben elektronenmikroskopisch bei Erbscher progressiver Muskeldystrophie und Gräfescher Ophthalmoplegia externa einen verbreiteten Filamente- und Fibrillenuntergang beobachtet. Um mit den Vorgängen bei myotonischer Dystrophie Vergleiche anstellen zu können, wären aber weitere Untersuchungen, welche verschiedene Stadien der Fasererkrankung erfassen, von Interesse.

Während bei myotonischer Dystrophie die filamentösen Elementarstrukturen der Muskelfasern einem fortschreitenden und offensichtlich irreversiblen Untergang verfallen, lassen Sarko- und Karyoplasma keine tiefergreifenden Strukturveränderungen erkennen. WOHLFART (1951) weist in seiner lichtmikroskopischen Untersuchung besonders darauf hin, daß im Gegensatz zu den meisten Formen der Muskelatrophie, bei welchen Fibrillen und Sarkoplasma gleichermaßen reduziert würden, das Sarkoplasmavolumen bei myotonischer Dystrophie relativ wenig vermindert sei. Unsere Befunde, besonders diejenigen an kernreichen afibrillären Endstadien, verdeutlichen, daß im Sarkoplasma dieser Zellen noch eine große Zahl von weitgehend intakten Mitochondrien vorhanden ist. Die im Sarkoplasma dieser Elemente vermehrt anzutreffenden Cytosomen, welche verschiedenartiges Material speichern, wurden in der gleichen Weise auch bei der Atrophie des Skelettmuskels (WECHSLER u. HAGER 1960a und b) und des Herzmuskels (POCHE 1958) beobachtet. Es ist noch auf die durch Schwund contractiler Substanz bedingte *Volumen-*

reduktion und Umformung der Muskelfasern einzugehen. Dabei entstehen vielgestaltige Zellgebilde mit tiefen Einbuchtungen und Faltungen des Sarkolemm. Im lichtmikroskopischen Bereich wird dadurch leicht eine gelegentlich als „Myotexie“ (MARINESCO 1910) oder „cleavage“ (WOHLFART 1951) bezeichnete Segmentierung der Fasern in einzelne Bruchstücke vorgetäuscht. Im Zusammenhang mit der Volumenverminderung der Gesamtzelle entstehen in fortgeschrittenen Stadien eigenartige, von uns als Abfaltungen der Basalmembrankomponente des Sarkolemm gedeutete, lamelläre Anordnungen (Abb. 9). Dem lichtmikroskopischen Nachweis entziehen sich diese Strukturen, bzw. sie werden als Fibrosen oder Sarkolemmverdickungen mißdeutet. Eine früher diskutierte histogenetische Beziehung der „myogenen Riesenzellen“ zu Zellen des Bindegewebes kann durch den elektronenmikroskopischen Nachweis von Filamenteresten, Z-Streifenfragmenten und dem Strukturkomplex des Sarkolemm leicht entkräftet werden. Im Gegensatz zu den durch überdurchschnittliche Volumenzunahme des Cyto- und Karyoplasmas gekennzeichneten *echten Riesenzellen* (LETTERER 1960) liegt bei den so genannten myogenen Riesenzellen aber eine Umwandlung und Volumenabnahme der Zelle bei Kernvermehrung und Fibrillenschwund vor. Ob die bei myogenen Riesenzellen vereinzelt festgestellten tiefgreifenden Veränderungen des Karyoplasmas sowie des Sarkoplasmas und seiner Organellen echte nekrobiotische Veränderungen darstellen, ist nicht sicher zu entscheiden.

Für das *Verhalten der motorischen Endplatten* ergaben sich aus unseren Befunden nur spärliche Hinweise. Elektronenmikroskopische Feststellungen über die normale Feinstruktur dieser Endformationen bei Kalt- und Warmblütern wurden von BEAMS u. EVANS (1953), PALADE (1954), ROBERTSON (1954a und b, 1956a), REGER (1954, 1956, 1957, 1958), EDWARDS, RUSKA u. DE HARVEN (1958a und b), EDWARDS (1959, 1960) und ANDERSSON-CEDERGREN (1959) sowie an bioptisch gewonnenem Muskelmaterial des Menschen von DE HARVEN u. COERS (1959) getroffen. Dagegen fehlen experimentell-pathologische Untersuchungen, abgesehen von Befunden nach Nervendurchtrennung (REGER 1959), bisher vollständig. Die von uns beobachtete hochgradige Umordnung der Endplattenstrukturen ist wohl im wesentlichen als eine Folge der starken Umformung der schwer veränderten Muskelzellen aufzufassen. Beiläufig sei daran erinnert, daß bei der myotonischen Dystrophie mit Silbermethoden Veränderungen beschrieben wurden, die man als Schrumpfungen der Axonverzweigung im Endplattenbereich gedeutet hat (ADAMS, DENNY-BROWN u. PEARSON 1953). COERS (1955), WOOLF (1959) sowie COERS u. WOOLF (1959) haben durch Vitalfärbung mit Methylenblau, teilweise auch durch Bestimmung der Cholesterinaseaktivität, bei derselben Krankheit „kugelförmige Sprossungen“, „terminale Ausweitungen“ und Ver-

vielfachungen („Neurocladismen“) im Bereich der motorischen Endplatten beobachtet.

Für die *Pathogenese der Muskelveränderungen* bei myotonischer Dystrophie wurden bisher zahlreiche Hypothesen entwickelt. Während ERBSLÖH eine pathogenetische Zusammenschau sämtlicher Organ-syndrome unter einem übergeordneten Prinzip anstrebt, beschränken wir uns in den folgenden Ausführungen auf einen Teilespekt, nämlich die spezielle Pathogenese der Skeletmuskelveränderungen, ohne jedoch die Gesamtheit der Krankheitsvorgänge aus dem Auge zu verlieren.

Die früher diskutierte Möglichkeit einer zentralnervösen Verursachung (THOMSEN, WESTPHAL, RIEDER u. a.) wurde bereits von STRÜMPPELL und ERB kritisiert. Die Annahmen, daß für die Fibrillendestruktion Störungen im mit der Muskelkontraktion korrelierten Energiestoffwechsel (NEVIN 1934; SLAUCK 1936) anzuschuldigen seien, konnten sich — wie ADAMS, DENNY-BROWN u. PEARSON (1953) hervorheben — nicht auf überzeugende Befunde stützen. Dies gilt noch mehr für ältere, aber heute noch immer vertretene Vorstellungen, die die Muskelveränderungen im Rahmen einer allgemeinen pluriglandulären endokrinen Erkrankung (NAEGELI 1917), einer hypophysär-diencephalen Störung (KRAUSE 1948) oder gar einer Diencephalose (CURSCHMANN 1922, 1936) verstanden wissen wollen. ADAMS, DENNY-BROWN u. PEARSON (1953) weisen schließlich auf die Möglichkeit einer primären Störung im Chemismus der Beziehungen zwischen Kern und Myofibrillen hin.

Die eindrucksvollen feinstrukturellen Veränderungen, nämlich eine Fibrillendestruktion durch verbreiteten Filamenteuntergang, legen im Hinblick auf die Erblichkeit der Krankheit die Frage nahe, welche Störungen im Stoffwechsel der Muskelzellen für die Manifestation dieser Myopathie verantwortlich zu machen sind. Es ist dabei insbesondere zu fragen, welche intermediären Vorgänge zwischen Genstörung und elektronenmikroskopisch erfaßbarem Filamenteuntergang eingeschaltet sind. In diesem Zusammenhang ist die chemische Zusammensetzung der Filamente von Interesse. Aus den Ergebnissen einer Reihe von Untersuchungen ließ sich eine gut begründete Hypothese über die *Identität der filamentösen Elementarstrukturen mit dem Actomyosinkomplex des Myomers* ableiten (PERRY 1955; BEAR u. SELBY; HUXLEY u. HANSON 1957, 1960; HODGE 1960). Neuere Vorstellungen über den makromolekularen Aufbau dieser Moleküle sowie den Strukturumsatz derselben sind daher von Wichtigkeit.

Über den *Strukturstoffwechsel* der Muskelproteine ist, abgesehen von Bestimmungen der Inkorporations- und Umsatzraten bisher nur wenig bekannt (FELIX 1957). Von NIKLAS, QUINKE, MAURER u. NEYEN (1958) und MAURER (1960) durchgeführte Untersuchungen über die Umsatzrate und Lebensdauer des eiweißgebundenen, mit S^{35} markiertem Methionin bei der Skeletmuskulatur des Kaninchens und der Ratte ergaben mit 61 bzw. 32 Tagen im Vergleich zu allen anderen untersuchten Organen die größte mittlere Lebensdauer. Methionin ist im Myosin, Actin und Tropomyosin gegenüber anderen wichtigen Faserproteinen (Fibrinogen, Kollagen, Elastin) in relativ großer Menge vorhanden (ENGSTRÖM u. FINEAN 1958; SZENT-GYÖRGYI 1960). Daher dürfte der *Strukturumsatz der Muskelproteine* und

speziell derjenige der Actomyosinmoleküle relativ niedrig sein. Dies ist gut mit Vorstellungen über die makromolekulare Struktur der Muskelproteine in Einklang zu bringen. Die Daten, die mit Hilfe der Röntgendiffraktion und anderer Methoden über die molekulare Konfiguration des Myosins und Tropomyosins erarbeitet wurden, legen eine gewisse Verwandtschaft zum α -Keratin nahe (HUXLEY 1953; BAILEY 1954; HANSON u. HUXLEY 1955, 1957; SELBY u. BEAR 1956; ENGSTROM u. FINEAN 1958; SZENT-GYÖRGYI 1960). Es liegt offenbar eine von der Eigenart der Aminosäuresequenz bestimmte Konfiguration (α -Helix) vor, durch die die Tertiärstruktur dieser Makromoleküle und damit die feste Bindung der Bausteine untereinander gewährleistet wird. Der niedrige Strukturumsatz der Muskulatur und die durch die Eigenart ihres makromolekularen Aufbaus bei Energiemangel bedeutsame geringe Entropiezunahme (OPITZ u. LÜBBERS 1957) machen die unter verschiedenen Bedingungen hervortretende, hohe strukturelle und chemische Resistenz des Actomyosinkomplexes verständlich.

Dem elektronenmikroskopisch festgestellten, progressiven und offensichtlich irreversiblen Filamenteuntergang dürfte auf stofflicher Ebene also ein fortschreitender Verlust spezifischer fibillärer Muskelproteine, insbesondere des Actomyosinkomplexes, entsprechen. Es wird durch die oben angeführten Untersuchungsergebnisse über die strukturelle und stoffliche Organisation des Actomyosinkomplexes nahegelegt, daß dem Filamenteuntergang bei myotonischer Muskeldystrophie eine Störung des Strukturstoffwechsels der spezifischen Muskelproteine zugrunde liegt.

Auf Grund jüngerer Einsichten in die Biosynthese der Proteine und die Rolle der Nucleotide bei der Eiweißbildung neigt man heute immer mehr dazu, Zellstoffwechselstörungen auf genetischer Grundlage als isolierte Störungen einer der Bildung eines spezifischen Eiweißstoffes dienenden Matrize zu betrachten (WAGNER u. MITCHELL 1955; DENT 1957; HSIA 1958). Nach BUTENANDT (1958) führt der Verlust eines Erbfaktors jeweils zum Verlust einer spezifischen Fermentaktivität und damit zum Ausfall einer bestimmten, eben von diesem Ferment abhängigen Reaktion. In diesem Sinne können heute mit gutem Grund „chemische Mißbildungen“, wie z. B. die Alkaptonurie (ZÖLLNER 1959) und Galaktosämie (HOLZEL u. Mitarb. 1957) und morphologische Organveränderungen, wie z. B. der Gargoylismus (BRANTE 1952; UZMAN 1955), die Föllingsche Phenylketonurie (KNOX u. HSIA 1957) und die verschiedenen Typen der Glykogenspeicherkrankheiten (ZÖLLNER 1959) auf den Ausfall einer bestimmten Fermentaktivität zurückgeführt werden. WALDENSTRÖM hat nun 1959 erstmalig ganz allgemein darauf hingewiesen, daß vielleicht auch die erblichen Muskelerkrankungen pathogenetisch hier einzuordnen seien. Die von FLEISCHER (1918, 1922), ADIE u. GREENFIELD (1923), HENKE u. SEGER (1927), RAVIN u. WARING (1939), FRANCESCHETTI u. Mitarb. (1947, 1948), THOMASSEN (1948), BECHER (1952) u. a. genauer untersuchte Erblichkeit der myotonischen Dystrophie erlaubt daher einen Vergleich mit diesen ihrem Wesen nach besser erklärbaren erblichen Stoffwechselstörungen.

Nach obigen Ausführungen erscheint die *Annahme einer genetisch verursachten und fixierten Enzymstörung* als unmittelbare Ursache der Muskelveränderungen bei myotonischer Dystrophie gut begründbar. Es läßt sich denken, daß durch sie eine Störung in der metabolischen Sequenz des Strukturstoffwechsels des Actomyosinkomplexes hervorgerufen wird, woraus dann der elektronenmikroskopisch faßbare Filamenteuntergang abzuleiten wäre. Für das offensichtlich langsame Tempo des Filamenteuntergangs dürften neben der Art der postulierten Enzymstörung die oben angedeuteten strukturchemischen Vorstellungen über die spezifischen Muskelproteine sowie ihr relativ träges Turn-over und die sich hieraus ergebene hohe Strukturstabilität von Bedeutung sein. Das Wesen der initialen Kernvermehrung bleibt indessen unklar. Man könnte vielleicht daran denken, daß sie Ausdruck einer durch die Stoffwechselstörung hervorgerufenen reaktiven Aktivierung des proteinbildenden Systems der Muskelzellen darstellt, denn autoradiographische Untersuchungen von OEHLLERT u. SCHULTZE (1960) weisen auf eine unmittelbare Proportionalität von Kerngröße und Größe der Proteinsynthese im Kern hin. Es liegt nahe, in Analogie zur Föllingschen Phenylketonurie, zum Gargoylismus und zur Glykogenspeicherkrankheit die verschiedenen Organveränderungen bei myotonischer Dystrophie auf eine Ursache zurückzuführen. Jedoch sind die der Myopathie koordinierten anderen Organsyndrome, welche von ERBSSLÖH eingehend gewürdigt wurden, morphologisch und metabolisch viel zu wenig charakterisiert, als daß in kausal-genetischer Hinsicht Aussagen über Beziehungen, Übereinstimmungen und Diskrepanzen zum Prozeß an der Skelettmuskulatur gemacht werden könnten. Dagegen ist zu erwarten, daß eine weitere Vertiefung der Kenntnisse von Struktur und Stoffwechsel der Muskelproteine unter normalen und pathologischen Bedingungen zu einer Klärung der Pathogenese der myotonischen Muskeldystrophie auch in den Punkten führt, wo wir heute nur hypothetische Vorstellungen entwickeln können.

Zusammenfassung

Es wird über elektronenmikroskopische Befunde an biotisch gewonnenem Muskelmaterial bei myotonischer Dystrophie berichtet. Als wesentliche feinstrukturelle Veränderung in der erkrankten Muskelfaser läßt sich eine progressive disseminierte Fibrillendestruktion durch Entbündelung und Untergang der filamentösen Elementarstrukturen nachweisen. Das Sarkoplasma, die Mitochondrien und die übrigen Organellen sowie das Nucleoplasma der proliferierten Muskelkerne zeigen dabei keine tiefergreifenden Veränderungen. Als Endzustände der Fasererkrankung finden sich fibrillenlose, umgeformte, vielkernige und mitochondrienreiche Zellen, deren Sarkolemm eigenartige lamellenartige Abfaltungen der Basalmembran erkennen läßt. Da die spezifischen fibrillären Muskel-

proteine die stoffliche Grundlage der Filamente darstellen, wird der langsam fortschreitende Filamenteuntergang auf eine Strukturumsatzstörung des Actomyosinkomplexes bezogen. Im Hinblick auf die Erblichkeit des Leidens ist als Ursache dieser sich offenbar relativ langsam ausbildenden Stoffwechselstörung möglicherweise eine genabhängige Enzymstörung zu vermuten.

Literatur

- ADAMS, R. D., D. DENNY-BROWN and C. M. PEARSON: Diseases of muscles, p. 239—283. New York: P. Hoeber Inc. 1953.
- ADIE, W. J., and J. G. GREENFIELD: Dystrophia myotonica (Myotonia atrophica). *Brain* **46**, 73—127 (1923).
- ANDERSSON-CEDERGREN, E.: Ultrastructure of motor end-plate and sarcoplasmic components of mouse skeletal muscle fiber. *J. Ultrastruct. Res. Suppl.* 1 (1959).
- BAILEY, K.: Structure proteins. II. Muscle. In: *The Proteins* (H. NEURATH u. K. BAILEY), Vol. II/B. New York: Academic Press 1954.
- BATTEN, F. E., and H. P. GIEB: Myotonia atrophica. *Brain* **32**, 187—205 (1909).
- BEAMS, H. W., and T. C. EVANS: Electron micrographs of motor end-plates. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **82**, 344—346 (1953).
- BEAR, R. S., and C. C. SELBY: The structure of paramyosin fibrils according to x-ray diffraction. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 55—70 (1956).
- BECHER, F.: Ein Beitrag zur Symptomatologie und Pathogenese der Dystrophia myotonica. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **168**, 52 (1952).
- BENNET, H. S.: The structure of striated muscle as seen by the electron microscope. In: *Structure and function of muscle*. Vol. 1, p. 137—182. New York, London: Academic Press 1960.
- BRANTE, G.: Gargoylism—a mucopolysaccharidosis. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **4**, 43 (1952).
- BUTENANDT, A.: Das Leben als Gegenstand chemischer Forschung. Rede anlässl. der Einweihung des Erweiterungsbau des Stiftung zur Erforschung der spinalen Kinderlähmung und der multiplen Sklerose, Hamburg, 3. 11. 1958.
- COERS, C.: Les variations structurelles normales et pathologiques de la fonction neuromusculaire. *Arch. neurol. Psych. belg.* **1955**, 55.
- COERS, C., and A. L. WOOLF: The innervation of muscle, a biopsy study. Oxford: Blackwell 1959.
- CURSCHMANN, H.: Über familiäre atrophische Myotonie. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **45**, 161—202 (1912).
- CURSCHMANN, H.: Beobachtungen und Untersuchungen bei atrophischer Myotonie. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **53**, 114 (1915).
- CURSCHMANN, H.: Dystrophia myotonica sine myotonia. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **74**, 157 (1922).
- CURSCHMANN, H.: Klinik der Myopathien. III. Myotonische Dystrophie (Atrophische Myotonie). In: *Handbuch der Neurologie*, hrsg. v. Bumke u. Foerster, XVI, S. 465—484. Berlin: Springer 1936.
- DENT, C. E.: Symposium on inborn errors of metabolism. *Amer. J. Med.* **22**, 671 to 783 (1957).
- EDWARDS, A. E.: Comparative studies on the fine structure of motor units. IV. Intern. Kongr. f. Elektronenmikroskopie, Bd. II, S. 301—308. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1960.
- EDWARDS, G. A.: The fine structure of a muliterminal innervation of an insect muscle. *J. biophys. biochem. Cytol.* **5**, 241—244 (1959).

- EDWARDS, G. A., H. RUSKA and E. DE HARVEN: Electron microscopy of peripheral nerves and neuromuscular functions in the wasp leg. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 107–114 (1958a).
- EDWARDS, G. A., H. RUSKA and E. DE HARVEN: Neuromuscular junctions in flight and tymbal muscles of the cicada. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 251–256 (1958b).
- EDWARDS, G. A., H. RUSKA, P. DE SOUZA SANTOS and A. VALLEJO-FREIRE: Comparative cytophysiology of striated muscle with special reference to the role of the endoplasmic reticulum. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 143–156 (1956).
- ENGSTRÖM, A., and J. B. FINEAN: Biological ultrastructure. New York, London: Academic Press Inc. 1958.
- FELIX, K.: Stoffwechsel der Eiweiße und Aminosäuren. In: THANNHAUSERS Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten, hrsg. von N. ZÖLLNER, S. 390–404. Stuttgart: Thieme 1957.
- FLEISCHER, B.: Über myotonische Dystrophie mit Katarakt: Eine hereditäre familiäre Degeneration. *Arch. Ophthal. (Chicago)* **96**, 91–133 (1918).
- FLEISCHER, B.: Untersuchung von sechs Generationen eines Geschlechtes auf das Vorkommen von myotonischer Dystrophie und anderen degenerativen Merkmalen. *Arch. Rassen- und Gesellsch. Biol.* **14**, 13–39 (1922).
- FRANCESCHETTI, A., D. KLEIN u. K. M. WALTHARD: Klinisch-genealogische Untersuchungen über 3 Fälle von Myotonia congenita (THOMSEN) und 8 neue Fälle von Dystrophia myotonica (STEINERT-BATTEN) unter besonderer Berücksichtigung der Differentialdiagnose der beiden Krankheitsformen. *Schweiz. Arch. Neurol. Psychiat.* **60**, 48–79 (1947); **61**, 152–207 (1948).
- HANSON, J., and H. E. HUXLEY: Fibrous proteins and their biological significance. *Symp. Soc. exp. Biol.* No. 9, 228 (1955).
- HANSON, J., and H. E. HUXLEY: Quantitative studies on the structure of cross-striated myofibrills. II. Investigations by biochemical techniques. *Biochim. biophys. Acta* **23**, 250 (1957).
- HANSON, J., and J. LOWY: Structure and function of the contractile apparatus in the muscles of invertebrate animals. In: *Structure and function of muscle*. Vol. I, p. 265–336. New York, London: Academic Press 1960.
- HARVEN, E. DE: A propos de l'application de certaines colorations histologiques à des tissus fixés par l'acide osmique tamponné et inclus dans le méthacrylate de butyle. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **150**, 63 (1956).
- HARVEN, E. DE, and C. COERS: Electron microscope study of the human neuromuscular junction. *J. biophys. biochem. Cytol.* **6**, 7–10 (1959).
- HEIDENHAIN, M.: Die Entdeckung der Noniusfelder der quergestreiften Muskelfaser. *Anat. Anz.* **51**, 49 (1918).
- HENKE, K., u. S. SEEGER: Über die Vererbung der myotonischen Dystrophie. Genetischer Beitrag zum Problem der Degeneration. *Z. ges. Anat.* **13**, 371–415 (1927).
- HODGE, A. J.: The fine structure of striated muscle. A comparison of insect flight muscle with vertebrate and invertebrate skeletal muscle. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2** Suppl. 131 (1956).
- HODGE, A. J.: Principles of ordering in fibrous systems. IV. Intern. Kongr. f. Elektronenmikroskop. Bd. II, S. 119–139. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1960.
- HOLZEL, A., G. M. KOMROWER and V. SCHWARZ: Galactosemia. *Amer. J. Med.* **22**, 703–711 (1957).

- HSIA, D. Y. Y.: Inborn errors of metabolism. Chicago: The Year Book Publishers Inc. 1958.
- HUXLEY, A. F.: Das Interferenz-Mikroskop und seine Anwendung in der biologischen Forschung. 99. Verh. Ges. dtsch. Naturforsch. u. Ärzte, **102**, S. 109. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1957.
- HUXLEY, A. F., and R. NIEDERGERKE: Structural changes in muscle during contraction. Interference microscopy of living muscle fibers. *Nature (Lond.)* **173**, 971—973 (1954).
- HUXLEY, H. E.: X-ray analysis and the problem of muscle. *Proc. roy. Soc. B* **141**, 59 (1953).
- HUXLEY, H. E.: The double array of filaments in cross-striated muscle. *J. biophys. biochem. Cytol.* **3**, 631—648 (1957).
- HUXLEY, H. E., and J. HANSON: Changes in the cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation. *Nature (Lond.)* **173**, 973—976 (1954).
- HUXLEY, H. E., and J. HANSON: Quantitative studies on the structure of cross-striated myofibrils. I. Investigation by interference-microscopy. *Biochim. biophys. Acta* **23**, 229—249 (1957).
- HUXLEY, H. E., and J. HANSON: The molecular basis of contraction in cross-striated muscle. In: *Structure and function of muscle*, Vol. 1, p. 183—228. New York, London: Academic Press 1960.
- KISCH, B.: An electron microscopic comparison of different striated muscles. *Exp. Med. Surg.* **14**, 273—285 (1956).
- KNOX, W. E., and D. Y. Y. HSIA: Pathogenetic problems in phenylketonuria. *Amer. J. Med.* **22**, 687—702 (1957).
- KRAUSE, F.: Über den hypophysären Ursprung der myotonischen Dystrophie. *Klin. Wschr.* **26**, 575 (1948).
- LETTERER, E.: Allgemeine Pathologie. S. 521. Stuttgart: Thieme 1959.
- MARINESCO, G.: Maladie des muscles. In: *Nouveau traité de médecine* (BROUARD, GILBEET et THOINOT), p. 38. Paris: J. B. Baillière & Fils 1910.
- MAURER, W.: Die Größe des Umsatzes von Organplasmaceiweiß. 10. Kolloqu. Ges. Physiol. Chemie, Moosbach, S. 1—44. Springer 1960.
- MÖLBERT, E.: Das elektronenmikroskopische Bild der Skelettmuskulatur bei Dystrophia muscolorum progressive Erb. *Naturwissenschaften* **47**, 186—187 (1960).
- MÖLBERT, E., u. W. DODEN: Chronisch-progressive oculäre Muskeldystrophie im elektronenmikroskopischen Bild. Bericht 62. Zusammenk. Dtsch. Ophthalmol.-Ges., S. 392—397. Heidelberg 1959.
- NAEGELI, O.: Über Myotonia atrophica, speziell über die Symptome und die Pathogenese der Krankheit nach 22 eigenen Fällen. *Münch. med. Wschr.* **64**, 1631 (1917).
- NEVIN, S.: A study of muscle chemistry in myasthenia gravis, pseudohypertrophic muscular dystrophy and myotonia. *Brain* **57**, 239—254 (1934).
- NIKLAS, A., E. QUINCKE, W. MAURER u. A. NEYEN: Messung der Neubildungsraten und biologischen Halbwertszeiten des Eiweißes einzelner Organe und Zellgruppen bei der Ratte. *Biochem. Z.* **330**, 1—20 (1958).
- OEHLMER, W., u. B. SCHULTZE: Die Kerngröße als Ausdruck der synthetischen Aktivität des Kerns. *Beitr. path. Anat.* **123**, 101—113 (1960).
- OPITZ, E., u. D. LÜBBERS: Allgemeine Physiologie der Zell- und Gewebsatmung. Handb. d. allg. Pathol., hrsg. von E. LETTERER, IV/2, Stoffwechsel II., S. 395 bis 496. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1957.

- PALADE, G. E.: A study of fixation for electron microscopy. *J. exp. Med.* **95**, 285—297 (1952).
- PALADE, G. E.: Electron microscope observation of interneural and neuromuscular synapses. *Anat. Rec.* **118**, 335—336 (1954).
- PERRY, S. V.: Fibrous proteins and their biological significance. *Symp. Soc. exp. Biol.* No. **9**, 203 (1955).
- POCHÉ, R.: Submikroskopische Beiträge zur Pathologie der Herzmuskelzelle bei Phosphorvergiftung, Hypertrophie und Kaliummangel. *Virchows Arch. path. Anat.* **331**, 165—248 (1958).
- PORTER, K. R., and G. E. PALADE: Studies on the endoplasmic reticulum. III. The form and distribution in striated muscle cells. *J. biophys. biochem. Cytol.* **3**, 269—300 (1957).
- RAVIN, A., and J. J. WARING: Studies in dystrophia myotonica. I. Hereditary aspects. *Amer. J. med. Sci.* **197**, 593—609 (1939).
- REGER, J. F.: Electron microscopy of the motor end-plate in intercostal muscle of the rat. *Anat. Rec.* **118**, 344 (1954).
- REGER, J. F.: Electron microscopy of the motor end-plate in rat intercostal muscle. *Anat. Rec.* **122**, 1—16 (1955).
- REGER, J. F.: Electron micrographs of neuromuscular synapses from mammalian (albino mice) and amphibian (rana pipiens) gastrocnemii muscles. *Anat. Rec.* **28**, 608—609 (1957).
- REGER, J. F.: The fine structure of neuromuscular synapses of gastrocnemii from mouse and frog. *Anat. Rec.* **130**, 7—24 (1958).
- REGER, J. F.: Studies on the fine structure of normal and denervated neuromuscular junction from mouse gastrocnemius. *J. Ultrastruct.* **2**, 269—282 (1959).
- ROBERTSON, J. D.: Electron microscope observations on a reptilian myoneural junction. *Anat. Rec.* **118**, 346 (1954a).
- ROBERTSON, J. D.: The ultrastructure of a reptilian myoneural junction. *J. appl. Physiol.* **25**, 1466—1467 (1954b).
- ROBERTSON, J. D.: The ultrastructure of a reptilian myoneural junction. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 381—394 (1956a).
- ROBERTSON, J. D.: Some features of the ultrastructure of reptilian skeletal muscle. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 369—388 (1956b).
- ROSSOLIMO, G.: Atrophische Form der Thomsonschen Krankheit. *Neurol. Zbl.* **21**, 135—136 (1902).
- RUSKA, H.: Elektronenmikroskopischer Beitrag zur Histologie der Skelettmuskulatur kleiner Säuger. *Z. Naturforsch.* **9b**, 358—371 (1954).
- RUSKA, H., G. A. EDWARDS and R. CAESAR: A concept of intracellular transmission of excitation by means of the endoplasmic reticulum. *Experientia (Basel)* **14**, 117—120 (1958).
- SCHMIDT, W. J.: Polarisationsoptische Analyse tierischer Zellen und Gewebe. 99. Verh. Ges. dtsch. Naturforsch. u. Ärzte, S. 109—116. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1957.
- SELBY, C. C., and R. S. BEAR: The structure of actin-rich filaments of muscles according to x-ray diffraction. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 71—85 (1956).
- SJÖSTRAND, F. S.: Die funktionelle Bedeutung des Ultrafeinbaues von Gewebszellen. 99. Verh. Ges. dtsch. Naturforsch. u. Ärzte, S. 117—130. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1957.
- SJÖSTRAND, F. S., and E. ANDERSSON: The ultrastructure of skeletal muscle myofilaments at various conditions of shortening. *Exp. Cell Res.* **11**, 493—496 (1956).

- SLAUCK, A.: Pathologische Anatomie der Myopathien. Handbuch der Neurologie, hrsg. von BUMKE u. FOERSTER, XVI, S. 142—431. Berlin: Springer 1936.
- SPIRO, D.: The filamentous fine structure of striated muscle at different stages of shortening. *Exp. Cell Res.* **10**, 562—566 (1956).
- STEINERT, H.: Myopathologische Beiträge. I. Über das klinische und anatomiche Bild des Muskelschwunds der Myotoniker. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **87**, 58—104 (1909).
- STEINERT, H.: Ein neuer Fall von atrophischer Myotonie. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **87**, 58—104 (1909).
- SZENT-GYÖRGYI, A. G.: Proteins of myofibril. In: *Structure and function of muscle*. Vol. II, p. 1—54. New York, London: Academic Press 1960.
- THOMASEN, E.: Myotonia, THOMASEN's disease, paramyotonia and dystrophia myotonica. A clinical and heredobiologic investigation. Aarhus: Universitetsforlaget 1948.
- THOMSEN, A., A. WESTPHAL, H. RIEDER, A. STRÜMPPELL u. W. ERB: zit. nach CURSCHMANN 1936.
- UZMAN, L. L.: Chemical nature of the storage substance in gargoylism. *Arch. Path. (Chicago)* **60**, 308 (1955).
- WAGNER, R. P., and H. K. MITCHELL: Genetics and metabolism. New York: John Wiley & Son Inc. 1955.
- WALDENSTRÖM, J.: Genetische Kontrolle der Eiweißsynthese. 9. Kolloqu. Ges. Phys. Chemie, Moosbach, S. 156—173. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1959.
- WECHSLER, W., u. H. HAGER: Elektronenmikroskopische Befunde am atrophischen quergestreiften Skelettmuskel der Ratte nach Nervdurchtrennung. *Naturwissenschaften* **47**, 185—186 (1960a).
- WECHSLER, W., u. H. HAGER: Elektronenmikroskopische Befunde an der quergestreiften Skelettmuskulatur bei spinal bedingter Muskelatrophie. *Naturwissenschaften* **47**, 604—605 (1960b).
- WOHLFART, G.: Dystrophia myotonica and myotonia congenita: Histopathological studies with special reference to changes in muscles. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **10**, 109—124 (1951).
- WOOLF, A. E.: Die Pathologie des peripheren motorischen Neurons im Bild der Muskelbiopsie. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **179**, 423—430 (1959).
- ZÖLLNER, N.: Inborn disorders of metabolism. *J. chron. Dis.* **10**, 6—26 (1959).