

Originalarbeiten — Original Papers

Elektronenmikroskopische Untersuchung von Herzmuskelveränderungen, die unter dem Einfluß von Niederspannungs-Schrittmacher-Strom (Pacemaker) zustande gekommen sind

E. SOMOGYI, P. SÓTONYI, GY. BUJDOSÓ und A. NEMES

Institut für gerichtliche Medizin der Semmelweis-Universität, Budapest (Ungarn)

Eingegangen am 23. Oktober 1970

Electronmicroscopic Changes in the Myocardium Following Use of Pacemaker

Summary. Low voltage electricity causes changes which may be divided into two groups:

1. Actin and myosin damage in the primary and secondary fibers, predominantly in the A-segments.

2. Changes due to hypercontractional relaxation of the fiber. These may include tearing of the fibers. In this group destruction of the mitochondria corresponds to morphologic changes in density. Electronmicroscopic histochemical methods enable characteristic localization of activity alterations.

In the first group there are no changes visible by light microscopy but they are clearly evident in the second group.

The changes suggest a relationship to the flow of current.

Zusammenfassung. Die Verfasser untersuchten unter dem Einfluß von elektrischen Niederspannungsstrom entstandene Muskelveränderungen. Die Veränderungen unterteilten sie in 2 Gruppen:

In der 1. Gruppe wurde eine Schädigung der Actin und Myosinkomponenten der primären und sekundären Filamente beobachtet, in erster Linie dem A-Segment entsprechend. Die 2. Gruppe der Veränderungen halten die Verfasser für eine Folge der Hyperkontraktion und Relaxation der Fasern, bei der auch das Zerreißen der Fasern eintritt. In dieser Gruppe entspricht die Destruktion der Mitochondrien morphologisch einer Veränderung in der Densität, mit elektronenmikroskopischen histochemischen Methoden können charakteristische Lokalisationen, Veränderungen in der Aktivität nachgewiesen werden.

Die Veränderungen der 1. Gruppe können mit dem Lichtmikroskop nicht verfolgt werden, während die der 2. Gruppe sich auch auf diese Weise gut untersuchen lassen.

Die Anfangsveränderungen legen die Vermutung nahe, daß sie Anzeichen der Verlaufsrichtung des Stromes sind.

Key-Words: Schrittmacherwirkung auf das Herz — Herzmuskelschädigung durch Schrittmacher — ATP-ase Reaktion.

Die Schwere der unter dem Einfluß von elektrischen Strom experimentell entstandenen Muskelveränderungen steht in gewissen Grenzen im Verhältnis zur gewählten Spannung und zur Einwirkungsdauer. Die Ergebnisse früherer Unter-

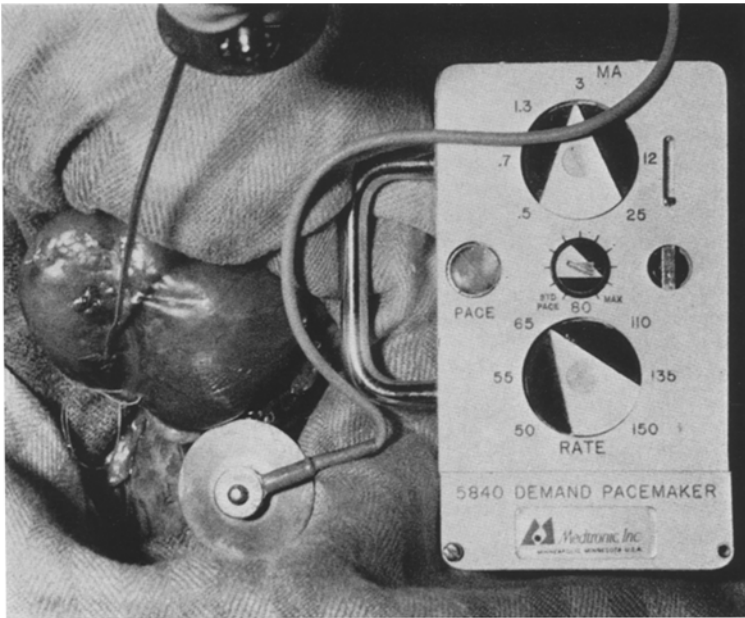


Abb. 1. Die Situation während der Operation und die Apparatur

suchungen [1—4] zeigten, daß sich eine breite Skala von Muskelveränderungen herausbilden kann, die sich von der Vacuolisation bis zur Nekrose erstrecken mag. In der ärztlichen Praxis verbreitet sich immer mehr die Schrittmacher-Therapie, deren Wirkungseffekt mit den vom Apparat abgegebenen elektrischen Impulsen zusammenhängt. Die experimentellen klinischen Beobachtungen [5—8] beweisen jedoch eindeutig, daß das sich in der Umgebung der Elektroden herausbildende, in erster Linie unter deren gewebsreizendem Einfluß entstandene Narbengewebe in seiner Ausdehnung allmählich zunimmt und zum Auftreten des sog. Schrittmacher-Blocks führt [9, 10].

In unseren vorliegenden Untersuchungen wollten wir auf die Frage eine Antwort erhalten, welche morphologischen Veränderungen sich auf die Einwirkung von Niederspannungsstrom nach direktem Schlag durch elektrischen Strom herausbilden.

Methode und Material

Unsere Untersuchungen wurden an 15 Bastardhunden beiderlei Geschlecht durchgeführt. Nach einer Vorbereitung mit Atropin-Morphin führten wir in Intratrachealnarkose eine Thorakotomie durch, dann legten wir nach dem Öffnen des Perikards die Elektrode des 5840 Demand Pacemaker-Apparats auf die Vorderwand der linken Kammer, 1 cm weit von der Herzspitze. Der Apparat ermöglicht die Durchführung von Niederspannungsstromschlägen in der Weise, daß Frequenz und Einwirkungsdauer regulierbar sind. Die Dauer des Stromschlags betrug 10 sec, der Wert der vom Apparat abgegebenen Spannung variierte zwischen 12 und 25 mV (Abb. 1).

In der anderen Gruppe unserer Experimente legten wir die Elektrode des Chardack Greatbatch Metronich-Apparats auf die Herzmuskulatur, für 10 sec und mit einem Spannungswert von 100 mV.

Nach dem Stromschlag wurden die Gewebsteile *in vivo* mit Glutaraldehyd fixiert, dann wurde die Muskelfaser nach breitem Ausschneiden an einen gebogenen Draht befestigt und 2 Std lang so fixiert. Nachher wurde sie in einer Pufferlösung von pH 7,2 [11] gewaschen, dann in OsO_4 [12] nachfixiert. Nach alkoholischer Dehydrierung wurde der Stoff in Araldit eingebettet. Die mit dem LKB-Ultratom verfertigten Schnitte wurden mit Bleicitrat, dann mit Uranylacetat [13] kontrastiert. Der Stoff wurde mit dem Elektronenmikroskop JEM-6 untersucht. Die ATP-ase-Enzymreaktion wurde mit der Bleisulfidmethode [14] nachgewiesen. Das Auswählen des elektronenmikroskopischen Materials erfolgte an mit Toluidinblau gefärbten halbdünnen Schnitten, welche zugleich das lichtmikroskopische Untersuchungsmaterial bildeten. Unter ähnlichen Umständen untersuchten wir das Diaphragma.

Besprechung

Die unter elektrischer Einwirkung entstandenen Muskelveränderungen geben eine Möglichkeit zur Erklärung der Tatsache, daß in der Umgebung der Schrittmacher-Elektrode das Narbengewebe in seiner Ausdehnung allmählich zunimmt [15, 16]. Diese morphologische Veränderung bildet oft eine Komplikation der Schrittmacher-Therapie, zwingt zur Erhöhung der Spannung und oft auch zum Auswechseln des Apparats mittels eines wiederholten operativen Eingriffs. Die infolge der Netzspannung oder einer noch höheren Spannung entstandenen Muskelveränderungen sind wegen ihrer Ausdehnung und Schwere zum Studieren der unter dem Einfluß des elektrischen Stromes entstandenen feineren Veränderungen auf elektronenmikroskopischer Stufe nicht geeignet. Der Gedanke war also naheliegend, daß ein direkter Stromschlag von niedriger Spannung das Studieren der anfänglichen, evtl. nur elektronenmikroskopisch nachweisbaren Veränderung ermöglicht.

Die 1. Gruppe der Untersuchungen bildete der Bereich von 12—25 mV. Hier fanden wir an den halbdünnen Schnitten keine Veränderungen im Verhältnis zum normalen Bilde. Die elektronenmikroskopischen Beobachtungen zeigten jedoch feine Veränderungen, in erster Linie auf myofilamentarem Niveau, die sowohl die primären als auch die sekundären Filamente betrafen.

Die Schädigung der Myofilamente war in der A-Bande am augenfälligsten, innerhalb dieser zeigten die einzelnen Segmentlinien keine besondere charakteristische Veränderung. Nach den elektronenmikroskopischen Untersuchungen dürfte sich zwischen den Fasern ein Lösungsphänomen herausgebildet haben, das die Fasern voneinander mit einer verhältnismäßig scharfen Grenze trennt, ihre Kontinuität aufhebend. In mehreren Fällen waren Substanzreste von gleichartiger Densität zu beobachten, die eventuell geschädigtes Actin-Myosin, Reste eines eiweißartigen Stoffes von veränderter Struktur sein mögen. Außerordentlich auffallend war der Umstand, daß diese Veränderungen vom myofilamentarer Stufe im Durchsichtsbild bezüglich ihres Verlaufs ausgesprochene Regelmäßigkeit aufweisen, und auf Grund dessen kann angenommen werden, daß sie der Verlaufsrichtung des Stromes entsprechen. Von der biochemischen Untersuchung des Muskels her wissen wir [17—19], daß das Eiweißmilieu und die Salzkonzentration in verschiedenen Teilen des Muskels voneinander abweichen, daß der potentielle Ladungsgehalt eine hochgradige Unterschiedlichkeit aufweist, was bezüglich des Verlaufs des Stromes eine nicht zu vernachlässigende Rolle spielen mag. Neben

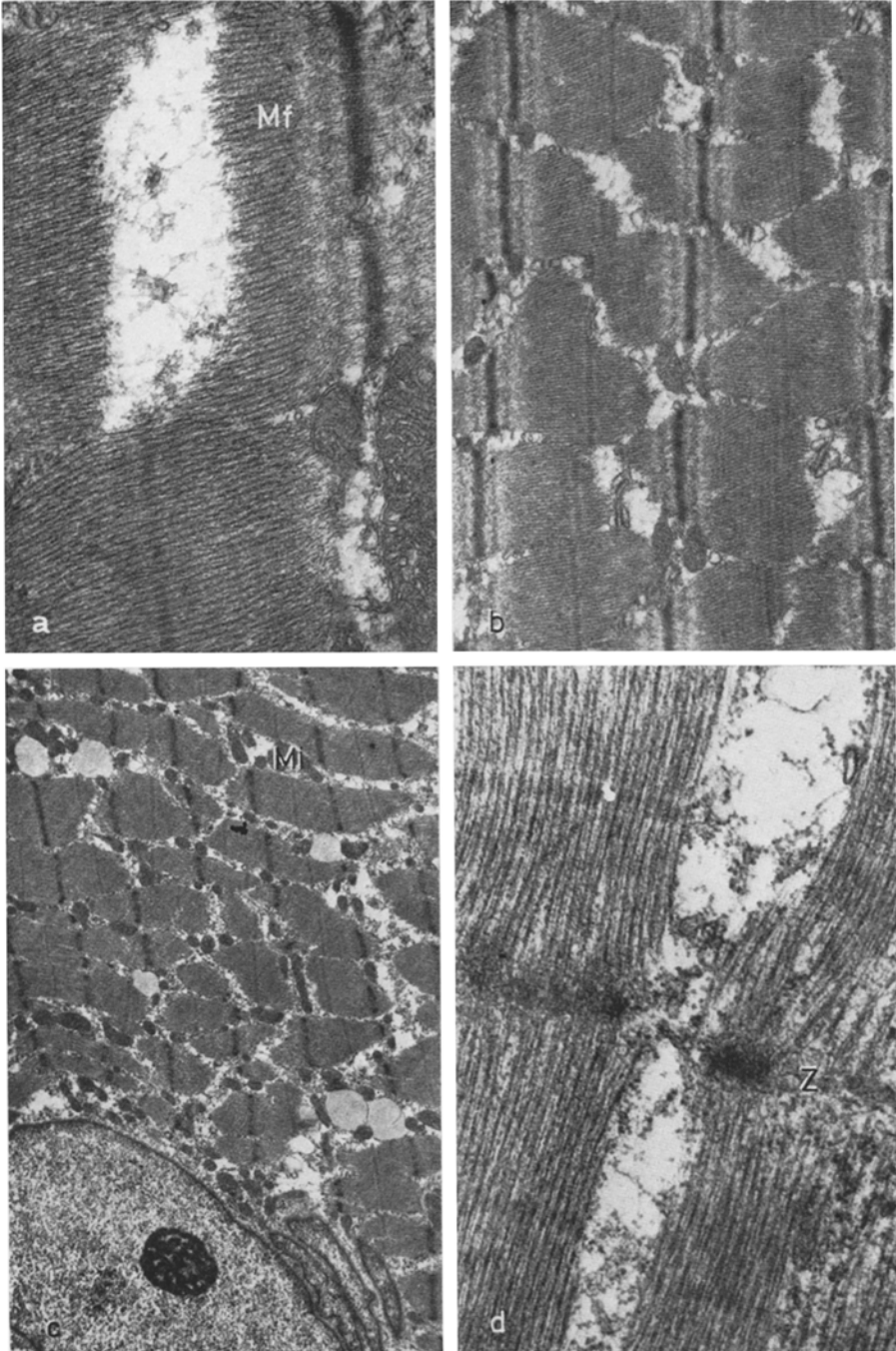


Abb. 2. a Das Bild zeigt die Faserauflösung in der Höhe des A-Segments. 80000fache Vergrößerung. b Die Veränderung betrifft meistens das A-Segment. 18000fache Vergrößerung. c Die Veränderung weist am Fasersystem eine gewisse Periodizität auf. 12000fache Vergrößerung. d Die Z-Membran veränderter Densität ist sichtbar

den oben erwähnten, in der A-Bande lokalisierten Veränderungen beobachteten wir selten die Schädigung der Z-Membran bzw. ihre Lösungssphänomene. Das sarkotubuläre System und das T-System sind erweitert. Die Mitochondrien zeigten keine Veränderung in der Densität bzw. keine strukturelle Destruktion, ähnlicherweise verminderte sich auch der Glykogengehalt nicht und die Fasern wiesen keine Kontraktion oder Hyperkontraktion auf. In der Literatur fanden wir keine Veränderung solchen Charakters, obwohl mehrere Mitteilungen bekannt sind [20—25], aus denen hervorgeht, daß die Schädigung der Myosin und Actinfäden sich primär entwickeln kann, und zwar unter dem Einfluß der Denervation, der progressiven spinalen Muskeldystrophie und der Palsmochinvergiftung. Das Obige zeigt Abb. 2a—d.

Die 2. Gruppe der Untersuchungen bildete das Material aus dem 100 mV-Bereich. In dieser Gruppe kamen schon jene myofilamentaren Veränderungen zur Geltung, die sich wegen der unter dem Einfluß des Stromes entstandenen Kontraktion, Hyperkontraktion und Relaxation herausbilden. Es sind jene Veränderungen, die auch lichtmikroskopisch gut sichtbar sind. Die hyperkontrahierten Fasern sind durch starke Färbung sichtbar, und die veränderte Färbung an ihren beiden Seiten zeigt die Lösung bzw. die Zerreißung der Faser an. Bei elektronenmikroskopischer Untersuchung setzen sich die eine starke Färbung aufweisenden Gebiete aus hyperkontrahierten Fasern zusammen. Der Abstand der einzelnen Z-Membranen verringert sich auf das 20—30fache. Neben diesen hyperkontrahierten Fasern dehnen sich die Myofilamente aus bzw. sie vermehren sich. Die Z-Membran hat innerhalb des Sarkomers eine relativ hohe Resistenz, sie kann jedoch infolge der Hyperkontraktion aufspringen und ihre Teile können sich aneinander verschieben (Abb. 3a—d).

Die Veränderung kann in vielen Fällen für ein einziges Sarkomer bzw. für eine einzige Faser charakteristisch sein, öfter zeigen jedoch Faserbündel eine ähnliche Veränderung. Die Verletzung kann so schwer sein, daß auch zwischen einzelnen hyperkontrahierten Faserteilen von hoher Densität Risse, Densitätsveränderungen entstehen. Auffallend war, daß die Mitochondrien keine Zeichen einer schweren Destruktion aufweisen, sondern eher den Frühveränderungen entsprechende Abweichungen der Matrixdensität; in erster Linie ist die Verdickung, das Erscheinen von osmophilem Stoff charakteristisch. Wegen der Hyperkontraktion und der konsekutiven partiellen oder totalen Fernhyperrelaxation verändert sich neben dem Sarkomer der Verlauf der Mitochondrien, diese ordnen sich gleichsam eingesogen in Form von Gruppen zwischen den infolge des Faserrisses geöffneten Myofilamentteilen an (Abb. 4a—d).

Die Mitochondrienveränderungen feinerer Stufe können nicht allein auf Grund des morphologischen Bildes beurteilt werden, es ist ja bekannt, daß unter dem Einfluß kleiner Destruktionen (25—27) eine in erster Linie mit biochemischen Methoden nachweisbare Veränderung der enzymatischen Funktion zustande kommt. Diese läßt sich auch mit elektronenmikroskopischen histochemischen Methoden nachweisen. Die veränderte Densität der unter intakten Umständen in die Cristae der Mitochondrien lokalisierten ATP-ase-Reaktion zeigt gut an und beweist ohne jeden Zweifel, daß eine gering zu nennende Destruktion der Mitochondrien von Veränderungen begleitet ist, die mit enzymhistochemischer Methode anzeigbar sind.

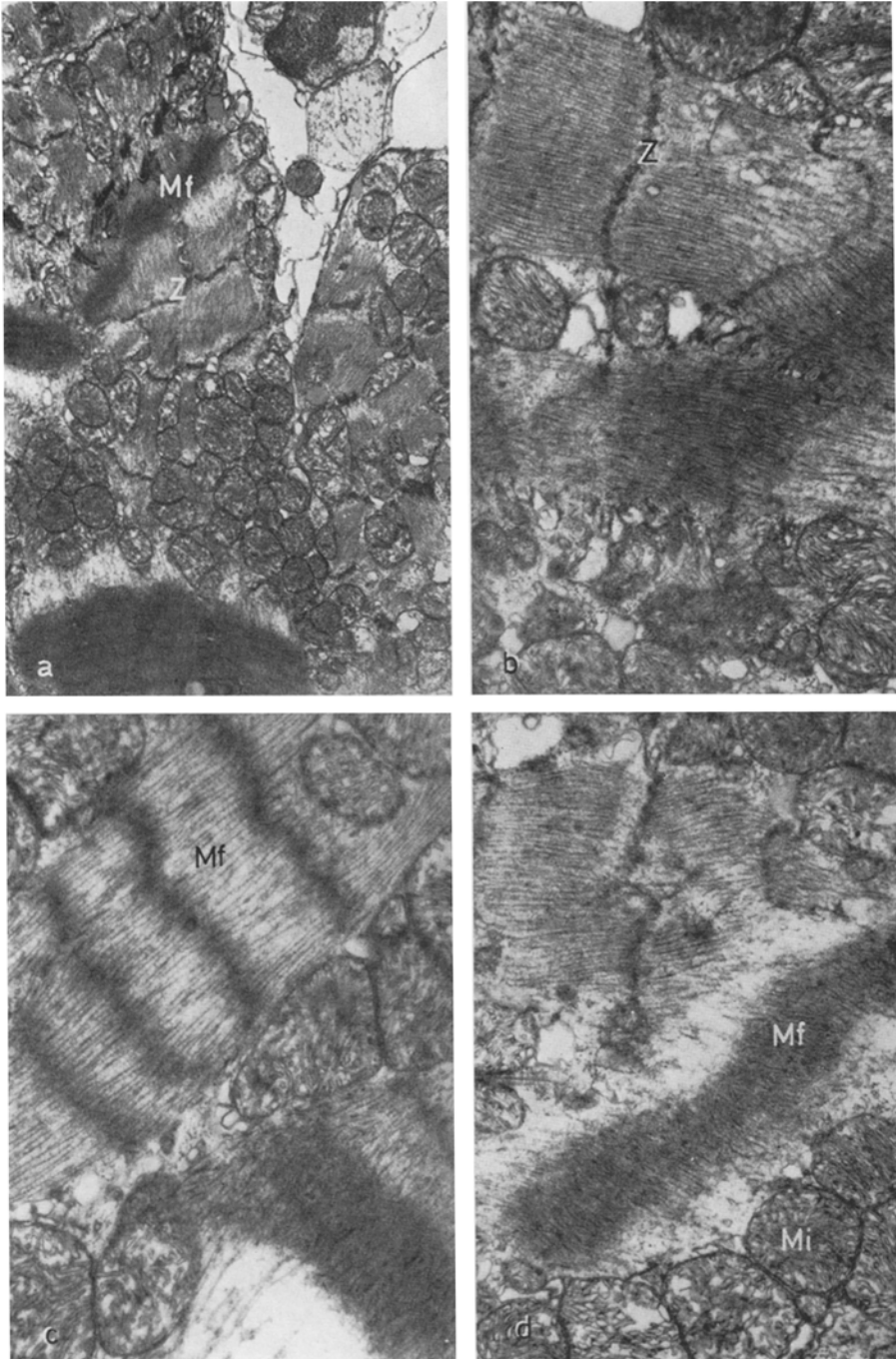


Abb. 3. a Neben einer Hyperkontraktion sind relaxierte bzw. zerrissene Fasern zu sehen. 18400fach. b Infolge der Kontraktion wurde die Z-Membran hinausgezogen, ihre Struktur löste sich auf. 21600fach. c Neben einem hyperkontrahierten Sarkomer ist eine zerrissene Faser zu sehen. 24000fach. d Die Veränderung betraf mehrere Myofilamentenbündel auf einmal. 21000fach

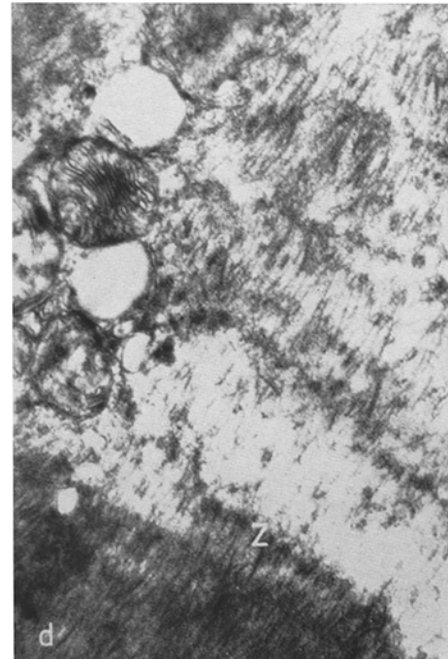
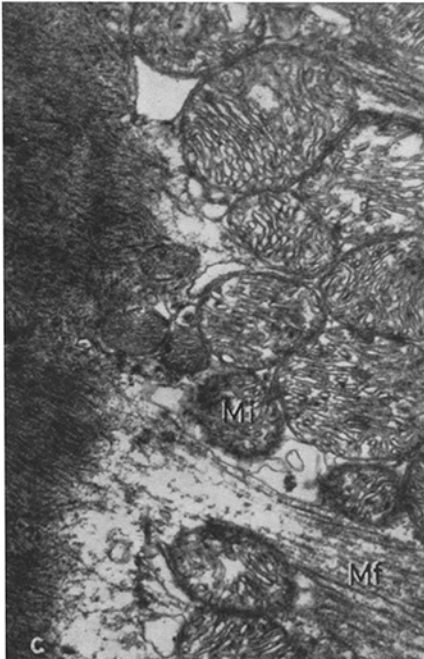
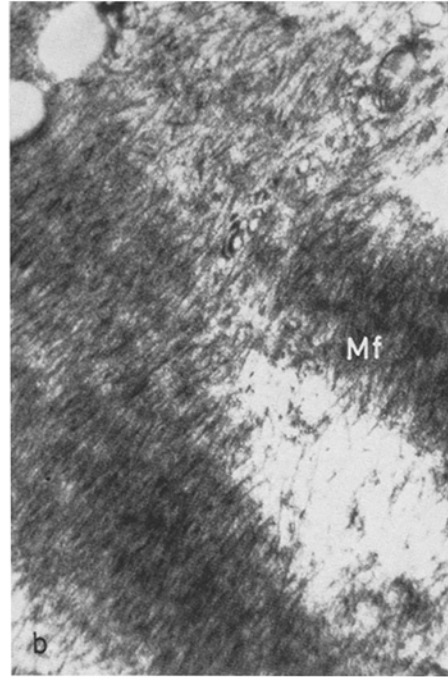
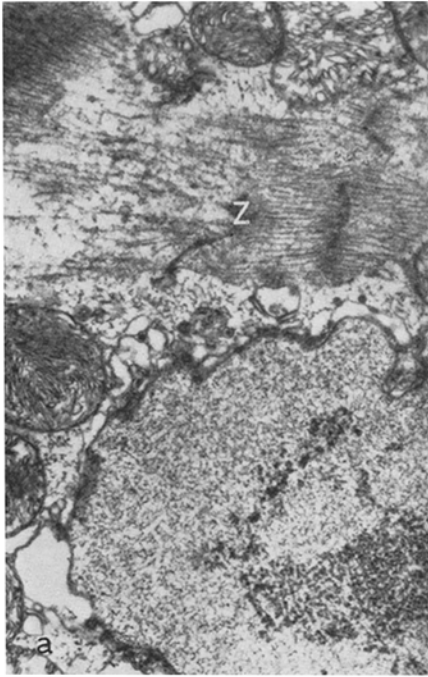


Abb. 4. a Neben den hyperkontrahierten Fasern sind hinausgezogene zerrissene Filamente zu sehen. 13400fach. b In den hyperkontrahierten Teilen von hoher Densität entstehen auch Faserrisse. 24000fach. c Zwischen die zerrissenen Fasern schwimmen Mitochondrien von erhaltener Struktur hinein 18000fach. d Zwischen den zerrissenen Fasern entstehen Z-Membranen-ähnliche Gebilde. 21600fach

Diese Veränderungen sind in hohem Grade jenen Muskelveränderungen ähnlich, die andere Verfasser durch verschiedene Einwirkungen (28—31) zustande gebracht haben. Sie bekräftigen die Annahme, daß die groben Veränderungen wegen ihrer hochgradigen Ähnlichkeit die im Anfangsstadium evtl. bestehenden Abweichungen verdecken und dadurch ihre Untersuchung unmöglich machen.

Ergebnisse

Auf Grund unserer Versuche konnte festgestellt werden, daß sich von der Spannung abhängig 2 große Gruppen der Muskelveränderungen unterscheiden lassen. Für die 1. Gruppe ist in erster Linie die Schädigung der Eiweißstruktur der Actin- und Myosinfäden charakteristisch; diese Veränderung kann keineswegs die Folge der zwangsweisen Verschiebung der Fasern sein, da sie in jedem Falle an Sarkomeren von meistens relaxierten Zustand zu beobachten waren. In Kenntnis der Lage der Schädigung und des aktuellen biochemischen Zustandes der Struktur des Muskels kann man sich die Möglichkeit dessen vorstellen, daß die Veränderung gleichsam die Verlafrichtung des Stromes anzeigt. Dadurch würde die Annahme bekräftigt, daß der elektrische Strom primär in der Struktur des Eiweißes solche Veränderungen hervorruft, welche die Schädigung sowohl der Actin- als auch der Myosinfäden zur Folge haben. In der 2. Gruppe der Veränderungen melden sich auffallend die unter dem Einfluß des Stromes als Folge der wohlbekannten Muskelkontraktion und Hyperkontraktion entstandenen Veränderungen, die mit lichtmikroskopischen Methoden studiert werden können und allgemein bekannt sind.

Unserer Meinung nach ermöglicht eine solche Untersuchung der Wirkung des elektrischen Stromes das eingehendere Studium der als Folge des Stromes entstandenen ultrastrukturellen Veränderungen.

Literatur

1. Somogyi, E., Sótonyi, P., Rózsa, Gy., Varga, T.: Changes of skeletal muscles induced by electric shock. *Acta morph. Acad. Sci. hung.* **15**, 401—407 (1967).
2. — — — Nevelős, Á., Varga, T.: Data regarding the morphology of electroshocks experimentally applied to the heart: *Zacchia* **3**, 1—6 (1967).
3. — — — — Changes in the fine tissue structure after electric shock. *Acta morph. Acad. Sci. hung.* **14**, 379—380 (1966).
4. — Elektropathologiai vizsgálatok az igazságügyi és szocialis orvostan szemlélete alapján. *MTA V.Oszt.Közl.* **16**, 253—281 (1965).
5. Ringler, W., Sykosch, I.: Reaktionsformen des menschlichen Organismus auf das durch Schrittmacherimplantation eingebrachte Fremdmaterial. *Zbl. Chir.* **12**, 414—421 (1966).
6. Nosske, K., Knothe, W.: Pathologische Herzveränderungen im Bereich von Schrittmacher-Elektrode. *Thoraxchirurgie* **13**, 273—280 (1965).
7. Schandy, A., Borst, H. G., Schmidt Hobelman, P.: Funktionsprüfungen bei Schrittmacher mit intrakardialer Stimulation. *Thoraxchirurgie* **15**, 617—622 (1967).
8. Diesel, P. B., Friese, G.: Zum Thema der langfristigen elektrischen Reizung des Herzens. Die geweblichen Veränderungen in der Umgebung der Herzmuskelektrode. *Z.Kreisl.-Forsch.* **52**, 1—16 (1963).
9. Langergren, H., Dahtegren, H., Norderdenstom, H.: Cardiovascular tissue respons to intracardiac pacemaking. *Acta chir. scand.* **132**, 696—702 (1966).
10. Harris, A., Bluestone, R., Busby, E., Davis, G., Lasthom, A., Siddans, H., Sowoton, L.: The management of heart block. *Brit. Heart J.* **87**, 469—474 (1965).

11. Miller, E., Pallade, G. E.: Lytic activities in renal protein absorption droplets. *J. Cell Biol.* **23**, 519—522 (1964).
12. Caufield, J. B.: Effects of varying the vehicle for OsO₄ in tissue fixation. *J. biophys. biochem. Cytol.* **3**, 827—830 (1957).
13. Reckhardt, L., Kokko, A.: Electronmicroscopic observation on the mitochondrial ATP-ase in the rat spinal cord. *Histochem. Meth. (München)* **10**, 278—286 (1967).
14. Watson, M. L.: Staining of tissue sections for electronmicroscopy with heavy metals. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 475—478 (1955).
15. Somogyi, E., Sótonyi, P., Nemes, A., Varga, T., Szabó, Z.: Myocardialis elektroda alkalmazásakor létrejövő elváltozások a szivizomzatban. *Morph és Ig. Orv. Szemle* **3**, 161—168 (1968).
16. Szabó, Z., Somogyi, E., Nemes, A., Sótonyi, P., Varga, T.: Intracardialis elektroda alkalmazásakor létrejövő elváltozások a szivizomzatban. *Morph. és Ig. Orv. Szemle* **3**, 169—175 (1968).
17. Guba, F.: Az izomsejt és roststruktúrájának kapcsolata a functioval. *MTA Biol. V. Oszt. Közl.* **7**, 362—390 (1965).
18. Garamvölgyi, M.: Az izomrost szerkezete és működése. *MTA Biol. V. Oszt. Közl.* **7**, 391—419 (1965).
19. Huxley, H. E.: The contractil structure of cardiac and skeletal muscle. *Circulation* **24**, 328—335 (1961).
20. Schotland, D. L., Spiro, D., Rowland, L. P., Carel, P.: Ultrastructural studies of muscle in Mc Ardle's disease. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **24**, 629—644 (1965).
21. Gonatas, N. C.: The fine structure of the rod-like bodies in nemaline myopathy and their relation to the Z-discs. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **25**, 409—421 (1964).
22. — Perez, M. C., Shy, M., Evangelista, J.: Central "core" disease of skeletal muscle. *Amer. J. Path.* **47**, 503—524 (1965).
23. Gusek, W.: Zum Strukturwandel der quergestreiften Muskelfaser bei der vorgeleiteten Myositis. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **108**, 131—136 (1965).
24. Price, H. M.: Selective actin filament and Z-band degeneration induced in vivo by plasmocid. *Anat. Rec.* **142**, 269—272 (1962).
25. — Pease, D. C., Pearson, C. M.: Selective actin filament and Z-band degeneration induced by plasmocid. *Lab. Invest.* **6**, 549—562 (1962).
26. David, H., David, S.: Submikroskopische Strukturveränderungen der Skelettmuskulatur während der postmortalen Autolyse. *Acta biol. med. germ.* **14**, 423—435 (1965).
27. — Uerlings, I.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Frage der myolitischen Wirkung von Glycerin. *Acta biol. med. germ.* **15**, 637—650 (1965).
28. — Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Skelettmuskulatur der Ratte während der Autolyse. *Med. Diss. Berlin*, 1964.
29. Wechsler, W.: Elektronenmikroskopische Befunde bei menschlichen und experimentell erzeugten Erkrankungen der quergestreiften Skelettmuskulatur. IV. *Internat. Kongr. f. Neuropathology, München*, 1961, Bd. II., S. 178—185, 1965.
30. — Elektronenmikroskopische Befunde bei experimenteller Inaktivitätsatrophie der Skelettmuskulatur. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **46**, 300—305 (1962).
31. Pasetti, M., Vitebro, B.: Ultrastructural modifications in the skeletal muscle of electrode mice. *Med. sci. Law* **5**, 29—32 (1965).

Prof. Dr. E. Somogyi
 Inst. f. gerichtl. Med. d. Semmelweis-Univ.
 Budapest IX
 Üllői út 93