

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Rostock
[Direktor: Professor Dr. *Walther Fischer*.])

Über die Beziehung der Ablagerung braunen Pigments zur Herzmuskelfunktion im Tierversuch¹.

Von
Meno v. Finek.

(Eingegangen am 25. März 1936.)

In einer vorangehenden Arbeit hat *Müller* über Messungen der Ablagerung braunen Pigments im menschlichen Herzmuskel bei kranken und gesunden Individuen, sowie an „normal“ erscheinenden und pathologisch veränderten Herzen berichtet. *Müller* konnte hierbei Größenunterschiede der Ablagerungen des gesamten Herzens wie auch von Herzabschnitten und Muskelabschnitten bei verschiedenen Altersgruppen und Erkrankungen feststellen. Das wesentliche Ergebnis dieser Untersuchungen war, daß die *Ablagerungen braunen Pigments* von der *Funktion* und Leistung des *Herzmuskels* *abhängig* und *weitgehend unabhängig* von *Erkrankungen* des Organismus sind.

Ist die Pigmentablagerung somit stärker von physiologischen als von pathologischen Bedingungen bestimmt und in Abhängigkeit von der Herzmuskelfunktion an sich, so müßte sich dieses Verhalten im Tierversuch besonders gut bestätigen lassen. Hier lassen sich die aus den Messungen an menschlichem Sektionsmaterial ergebenden Bedingungen vereinfachen und unterschiedlicher gestalten. Bestrebungen und Ziel unserer experimentellen Untersuchungen, die wir auf Veranlassung von Professor *Böhmig* ausführten, waren darum, die zu erwartenden Unterschiede in eine Art Modellversuch zu zwingen, um so die einzelnen Faktoren der zusammengesetzten Bedingungen besser kennenzulernen. Es kam ferner darauf an, eine möglichst im Rahmen physiologischen Ausmaßes gelegene Steigerung und Verminderung der Herzmuskelfunktion zu erreichen. Hierzu standen folgende Wege offen.

Der eine ist, Tiere zu hetzen, sie in einer Lauftröhre solange laufen zu lassen, bis sie Ermüdungserscheinungen zeigen. Hierbei besteht aber die Schwierigkeit, daß die Tiere sich häufig in der Trommel einfach schleifen und kaum zwingen lassen, über ein selbstgewolltes Maß an Anstrengung hinauszugehen.. Aus dem Mangel an geeigneter Lauftröhre war es uns nur möglich, durch das liebenswürdige Entgegenkommen von Herrn Professor *Wachholder*, der uns Teile von Kaninchenherzen zur Verfügung stellte, Pigmentmessungen an Herzen von Tieren vorzunehmen, die für große Laufleistungen trainiert waren.

¹ Doktor-Dissertation der Medizinischen Fakultät Rostock.

Eine zweite Möglichkeit, die Herzmuskeltätigkeit zu erhöhen, besteht in einer Erhöhung der Gesamtblutmenge. Wir benutzten dazu Injektionen von physiologischer Kochsalzlösung in größeren Dosen, die $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ der Gesamtblutmenge betragen.

Als Drittes standen pharmakologische Mittel zur Erhöhung oder Senkung des Blutdruckes zur Verfügung, deren freundliche Bereitstellung wir Herrn Professor *Ruickoldt* verdanken. Dieses waren Ephedrin, Coffein, Aconitin und Yohimbin. Wir haben mit diesen 4 Mitteln 3 Versuchsgruppen durchgeführt und in folgender Weise dosiert:

Zur Messung des braunen Pigments wurde durch die Herzen der Schnitt jeweils so gelegt, daß in einem Präparat gleichzeitig Kammerseptum, Wand des rechten und des linken Ventrikels sowie die Herzspitze vorhanden waren. Die Gefrierschnitte wurden mit Sudan III gefärbt und in einer Vergrößerung von 1 : 600 mit Ölimmersion untersucht. Das dem Zellkern hütchenförmig in Richtung der Faser aufsitzende braune Pigment wurde dann mit Hilfe eines Okulars mit Maßeinteilung gemessen.

Wir haben folgendes Verfahren beim Messen eingehalten: Es wurden jeweils in der Gegend der Herzspitze, des linken Ventrikels und des Kammerseptums 10 Zellkerne nach Länge und Breite ausgemessen. Sodann wurde links und rechts vom Kern das Pigmenthütchen in der Längsrichtung ausgemessen, so daß wir zu jedem Kern 2 Pigmentlängen erhielten. Da der Breitenwert des Pigments fast immer mit dem des Zellkerns parallel geht, d. h. um 1—2 Teilstiche breiter war, wurde die Breitenmessung des Pigmenthütchens fortgelassen. Somit erhielten wir also von jedem Herzen 30 Kernlängen und ebenso Breiten sowie 60 Pigmentlängen. Diese Werte wurden in eine Tabelle eingetragen und daraus die mittlere Pigment- und Kernlänge sowie Breite errechnet.

I. Versuch. 5 Tiere erhielten $\frac{1}{2}$ tödliche Dosis der angeführten Pharmaca subcutan; Coffein wurde 2 Tieren injiziert; ein 6. Tier erhielt 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung subcutan; ein weiteres Tier diente als Kontrolle. Die Kaninchen wurden 2 Stunden unter der Wirkung der Pharmaca belassen und daraufhin zusammen mit der Kontrolle durch Nackenschlag getötet. Die Organe wurden makroskopisch untersucht und in Formol gehärtet. Sodann wurden die mikroskopischen Schnitte angefertigt und die Ergebnisse in Tabellen eingetragen.

II. Versuch. Der II. Versuch erstreckte sich über die doppelte Zeit des I. unter Verwendung der halben tödlichen Dosis und intravenöser Injektion. Nach 2 Stunden Wiederholung der Injektion mit gleicher Menge. Der Versuch mit physiologischer Kochsalzlösung wurde mit 100 ccm durchgeführt, die zu je

Tabelle 1.

	$\frac{1}{2}$ tödliche Dosis subcutan in g/kg	$\frac{1}{2}$ tödliche Dosis intravenös in g/kg	$\frac{1}{10}$ tödliche Dosis intravenös in g/kg
Coffein	0,1	0,05	0,01
Ephedrin	0,3	0,025	0,005
Aconitin	0,0001	0,000015	0,000003
Yohimbin	0,05	0,005	0,001

50 ccm im Abstand von 2 Stunden in die Ohrvene injiziert wurden. Tötung 2 Stunden nach der letzten Injektion, also zu einem Zeitpunkt, da wir annehmen konnten, daß die Mittel noch wirkten.

III. Versuch. Im III. Versuch wollten wir lange Zeit die Tiere der Wirkung der Mittel unterwerfen, um eine chronische Änderung der Blutdruckhöhe hervorzurufen. In der gleichen Verteilung wie in den vorangegangenen Versuchen erhielt die gleiche Anzahl Tiere 14 Tage lang täglich den 10. Teil einer tödlichen Dosis intravenös. 3 Kontrolltiere. Dem Kochsalztier gaben wir täglich 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung intravenös. Da alle Tiere, bis auf ein Kontrolltier, am Leben geblieben waren, wurden sie am 15. Tage, von der ersten Injektion an gerechnet, durch Nackenschlag getötet.

Makroskopischer Befund.

Nach dem I. Versuch fand sich bei den mit Coffein, Aconitin und Kochsalzlösung behandelten Tieren eine geringe Stauung der Leber und Niere. Das bei dem Kochsalztier gesetzte Depot war noch nicht völlig resorbiert. Beim II. Versuch hingegen fanden sich geringe Stauungserscheinungen der Leber nur bei dem mit Coffein und dieses Mal auch bei dem mit Yohimbin behandelten Tier. Das mit Aconitin behandelte Kaninchen hatte nur eine geringe Stauung der Niere.

Bei der makroskopischen Betrachtung der Organe des III. Versuchs fand sich bei allen vorbehandelten Tieren eine ganz geringe Stauung der Nieren und bei den mit Ephedrin und Yohimbin behandelten außerdem eine geringe Stauung der Leber.

Eindeutige makroskopische Veränderungen am Herzen waren bei keinem der Tiere zu erkennen.

Für die 3 Versuche haben wir 5 Kontrolltiere verwendet, von denen eines während des Versuchs an interkurrenter Erkrankung einging und zur Messung nicht benutzt wurde. 2 dieser Kontrolltiere waren mit Coccidiose behaftet, zeigten hirse- bis erbsengroße weiße Knoten in Leber und großem Netz. Da diese coccidiosekranken Tiere aber keine faßbaren Unterschiede gegenüber den völlig gesunden Kontrolltieren bezüglich ihrer Kern- und Pigmentgrößen im Herzen aufwiesen, können sie wohl trotz der Coccidiose als Kontrolltiere gelten.

Mikroskopischer Befund.

Da wir an keinem Herzen morphologische Veränderungen gefunden haben, die auf eine toxische Schädigung hinwiesen, konnten wir alle in oben beschriebener Weise gewonnenen mittleren Pigmentlängen sowie Kernlängen und -breiten zum Vergleich verwenden und in die beigegebene Tabelle eintragen.

Diese Tabelle ist folgendermaßen angelegt: Angabe des Mittels, mit dem das Tier behandelt wurde, Angabe über die Versuchsdauer, Werte von Kernlänge und Kernbreite sowie Pigmenthütchenlänge. Die Reihenfolge innerhalb der einzelnen Gruppen ist angeordnet nach der Versuchsdauer: Tötung nach 2, nach 4 Stunden und nach 14 Tagen.

Tabelle 2.

Mittel	Versuchsdauer ¹	Kernlänge ²	Kernbreite ²	Pigmentlänge ²
Ephedrin	2 Stunden	8,7	3,2	15,9
"	4 "	9,3	3,5	20,8
"	14 Tage	10,2	3,8	23,5
Physiologische Kochsalzlösung.	2 Stunden	8,2	3,6	16,0
"	4 "	10,2	3,4	20,4
"	14 Tage	10,7	4,0	24,0
Yohimbin	2 Stunden	10,1	3,8	23,4
"	4 "	9,7	4,0	19,0
"	14 Tage	9,5	3,8	17,4
Aconitin	2 Stunden	10,7	4,0	19,8
"	4 "	9,9	3,5	18,3
Coffein	2 Stunden	10,7	3,7	20,3
"	2 "	10,8	4,0	23,8
"	4 "	9,8	3,5	23,0
"	4 "	9,5	3,7	23,5
"	14 Tage	10,0	3,9	23,2
"	14 "	9,3	4,0	23,3
Unbehandelt	—	8,6	3,7	16,5
"	—	8,4	3,3	16,1
"	—	8,9	3,4	17,7
Untrainierte Kontrolle	—	8,7	3,6	18,0
Trainiert (schlechter Läufer)	—	9,6	3,6	20,0
" (guter Läufer)	—	10,1	3,9	21,5

Aus den Mittelwerten läßt sich feststellen, daß die Kernlängen und Pigmentlängen bei den vorbehandelten Tieren größer sind als bei den Kontrolltieren. Die Kernbreite nimmt aber fast gar nicht zu. Eine Beziehung zwischen der Kernlänge und der Pigmentlänge scheint zu bestehen, während ein Verhältnis zwischen Kerndicke und Pigment in der Regel nicht zu finden ist.

Als normale Pigmentwerte sind solche zwischen 16 und 18 Teilstrichen anzusehen, wie wir sie bei den 4 eigenen Kontrolltieren gleicher Lebenshaltung gefunden haben.

Zunahme der Pigmentwerte.

Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß eine Gruppierung der Tiere nach aufsteigendem oder abfallendem Pigment bei steigender Behandlungszeit möglich ist. So fallen unter die Gruppe der Tiere, die bei einer längeren Behandlung auch eine Zunahme des Pigments zeigen, vor allem die mit Ephedrin behandelten Kaninchen, da durch Ephedrin (nach Versuchen von K. K. Chen) Schlagvolumen, Minutenvolumen und Blutdruck erhöht werden, was bei Verwendung dieses Mittels eine Leistungssteigerung des Herzmuskels zu erwarten. Im Pigmentbefund geht dieser

¹ Das heißt Angabe der Stunden zwischen Injektion des Mittels und Tötung bzw. der Versuchsdauer in Tagen.

² Einheiten in Okularmikrometerteilstrichen.

Mehrleistung eine Zunahme der Pigmentlänge nach 4 Stunden parallel, die im 14tägigen Versuch um 6,5 Teilstriche (23,5) größer ist als der Mittelwert der unbehandelten Kontrollen (17). Aber auch schon zwischen den 2 Stunden und 4 Stunden unter Ephedrinwirkung stehenden Tier ist ein Unterschied von 4,9 Teilstrichzunahme erkennbar.

Weiterhin zeigt eine Zunahme des Pigments die Reihe der mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Tiere. Bei subcutaner Injektion im 2-stundenversuch ist die erwünschte Mehrbeanspruchung des Herzens nicht eingetreten. Das war auch nach der schon oben erwähnten unvollkommenen Resorption des gesetzten Kochsalzdepots vorauszusehen. Im Gegensatz hierzu zeigt das 4 Stunden behandelte Tier mit intravenöser Gabe größere Pigmentwerte. Das chronisch beanspruchte dritte Herz zeigt den höchsten Pigmentwert der ganzen Tabelle.

Die mit Coffein behandelten Tiere haben einen gleichmäßig hohen Pigmentwert von 23 Teilstrichen. Nur der Wert des ersten Tieres fällt aus dieser Reihe heraus. Es war also gleichgültig, ob wir die Tiere nach 2, nach 4 Stunden oder nach 14 Tagen töteten, an den Pigmentwerten gemessen war die Coffeinwirkung dieselbe. Da Coffein die Frequenz der Herzschläge, aber nicht das Pulsvolumen erhöht, liegt die Steigerung der Herzmuskelfunktion im wesentlichen in der vermehrten Schlagfolge. Auf diese muß die Pigmentzunahme bezogen werden.

Auch unter der Gruppe der trainierten Tiere ist eine Zunahme des Pigmentes festzustellen. Im Gegensatz zu dem hier angeführten untrainierten Tier zeigt das als schlechter Läufer bezeichnete zweite eine geringe Pigmentzunahme, die bei dem guten Läufer, der nicht so rasch ermüdet und auch wesentlich größere Laufstrecken zurückgelegt hat, sich noch um ein Geringes erhöht. Doch ist dieser letzte Wert von 21,5 Teilstrichen als niedrig zu bezeichnen, wenn man ihn z. B. mit dem letzten Wert der Kochsalzreihe (24,0) vergleicht und beachtet, daß alle 3 Tiere dieser Gruppe aus einem Wurf stammen und unter gleichen Lebensbedingungen gehalten wurden. Sieht man den Pigmentwert der untrainierten Kontrolle von 18,8 als Grundlage an, so wurde durch das Training eine Zunahme des Pigments um 2,7 Teilstriche erreicht. Nimmt man als Grundlage den Mittelwert 17,0 der übrigen, anders gehaltenen Kontrollen, so beträgt die Pigmentzunahme durch Training 4,5.

Abnahme der Pigmentwerte.

Die Pigmentwerte der mit Aconitin behandelten Tiergruppe zeigen nur im 2-stundenversuch und bei subcutaner Injektion eine geringe Erhöhung (19,8). Bei den anderen Tieren liegen die Werte in der Schwankungsreihe der Kontrollen. Wir müssen annehmen, daß die Übererregbarkeit des Herzens, Unregelmäßigkeiten der Frequenz, Schwankungen des Schlagvolumens, Extrasystolen, Eigenrhythmus der Ventrikel, die von *H. Handovsky* angegebene verminderte Kontraktibilität

der Kammermuskulatur in der von uns gewählten Dosierung nur eine geringe Wirkung auf die Pigmentablagerung ausgeübt haben oder wegen Unterdosierung nicht in Erscheinung traten.

Yohimbin verändert in erster Linie die Blutverteilung. Da es durch starke Gefäßerweiterung den Blutdruck herabsetzt, so muß mit der Zeit der Herzmuskel eine Entlastung erfahren. Diese angestrebte Wirkung ist im 2-stundenversuch bei subcutaner Injektion nicht erzielt worden. Der Pigmentwert ist im Gegenteil stark erhöht. Auch bei intravenöser Injektion im 4-stundenversuch liegt der Pigmentwert noch über dem Mittelwert der unbehandelten Kontrollen. Erst bei 14tägiger intravenöser Injektion entspricht der Pigmentwert dem der Kontrollen. Betrachtet man die Spalte der Pigmentlängen in der Tabelle und bezieht die eingetragenen Werte auf die Versuchsanordnung, so sind Aconitin und Yohimbin die einzigen der verwendeten Pharmaca, die während der 3 Versuchszeiten eine Abnahme der Pigmentlängen aufweisen.

Zusammenfassung.

Gleichartig wie bei den Untersuchungen von Müller und Böhmig an menschlichen Herzen lassen sich im Herzmuskel des Kaninchens Größenunterschiede der Ablagerung braunen Pigments feststellen. Die Mittelwerte un behandelter Kontrolltiere liegen zwischen 16 und 18 Teilstreichwerten. Im Tierversuch und bei Gabe verschiedener Kreislauf- bzw. Herzmittel ist nach Maßgabe der Wirkung auf die Herzmuskelfunktion eine Änderung, im besonderen eine Zunahme des Pigmentgehaltes der Herzmuskel fasern zu erzielen, die als Ausdruck ihrer Mehrleistung angesprochen werden muß. Im Einklang hiermit steht das Ergebnis bei im Laufrad trainierten Tieren, von denen der gute Läufer höheren Pigmentwert aufweist als der schlechte Läufer. Die Pigmentzunahme beim Lauftraining war geringer als bei den experimentellen Kreislaufänderungen. Die Pigmentablagerung im Herzmuskel ist zufolge der Anordnung unseres Versuches innerhalb kurzer Zeiträume verschieblich und ein brauchbarer Maßstab für die Leistung des Herzmuskels.

Literatur.

- Bock, J.:* Purinderivate. *Heffter*, Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. 2, 1, S. 508 f. 1920. — *Boehm, R.:* Aconitingruppe. *Heffter*, Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. 2, 1, S. 283. 1920. — *Böhmig, R.:* Klin. Wschr. 1935 II, 1816. — *Chen, K. K.:* J. of Pharmacol. 27, 61, 77 (1926). — *Cushing, A. u. van Naten:* Arch. internat. Pharmacodynamie 1901, 169. — *Handovsky, H.:* Pharmakologie in moderner Problemstellung. S. 72. 1931. — *Houben, J.:* Heilstoffchemie, II. Abt., 2, S. 885. 1932. — *Poulesson, E.:* *Heffter*, Handbuch der experimentellen Pharmakologie Bd. 2, 1, S. 173 f. 1920. — *Plaut, O. H.:* J. of Pharmacol. 5, 603 (1914). — *Wiechowski, W.:* Arch. f. exper. Path. 48, 401 (1920). — *Ymauchi, M.:* Über die Wirkung des Yohimbins. (jap.) Ref. Rona-Spiras Jb. 1929, Nr 48, 139.
-