

Aus der Universitäts-Kinderklinik Heidelberg (Komm. Direktor: Prof. Dr. H. ORITZ).

Myosin und Diphtherietoxin.

Von
F. SCHMID.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. August 1950.)

Die Suche nach dem Wesen der diphtherischen Herzmuskelschädigung ist seit dem Erkennen dieses Krankheitsbildes nie ganz zum Stillstand gekommen. Neben der klinischen Bedeutung dieser gefürchteten Komplikation greift sie in eine prinzipielle Frage ein, die bis heute noch nicht hinreichend geklärt werden konnte: Ist das primäre wirksame Prinzip bei der Diphtherie degenerativer oder entzündlicher Natur? Mit dieser Fragestellung sind zugleich auch die Extreme der verfochtenen Anschauungen umrissen, zwischen denen ein breites Mittelfeld beide Grundprozesse in einen zeitlichen oder kausalen Zusammenhang zu bringen sucht; dabei wird bald die entzündliche, bald die degenerative Komponente in den Vordergrund gestellt. Die zahlreichen morphologischen Untersuchungen zeichnen sich durch eine teilweise sehr subtile Beschreibung der Befunde aus, sie lassen aber in den Schlußfolgerungen der subjektiven Deutung noch breiten Spielraum. Während in der älteren Literatur mehr Stimmen für eine Myokarditis sprechen, scheint in den letzten Jahrzehnten die Tendenz vorzuerrschen, eine Degeneration der Muskelfasern als primären Vorgang anzunehmen. Ausdruck dieser Entwicklung, welche durch ROSENBACH, BIRCH-HIRSCHFELD, ROMBERG, HALLWACHS, RIBBERT, TANAKA, HÜBSCHMANN, MÖNCKEBERG, CEELEN, ASCHOFF, DONNERSTAG, CHIARI vorangetrieben wurde, ist der Versuch einer Systematisierung des Ablaufes der diphtherischen Herzveränderungen durch OHEIM; danach wären primär „passive“ Schädigungen (interstitielles Ödem, Myolyse, wachsartige Degeneration, Verfettung) anzunehmen, denen sekundär „reaktive“ Vorgänge (Bindegewebswucherungen, Leukozyten-, Lymphocyten-, Plasmazellinfiltrate) folgen. EPPINGER schrieb dem Diphtherietoxin eine lösende Wirkung zu und bezeichnete den dadurch bedingten Degenerationsvorgang als „Myolysis cordis diphtherica toxica“. MASSHOF — der neben reaktiven interstitiellen Infiltrationen auch primäre toxische Schädigungen des Interstitiums für möglich hält — fand in allen Herzen ein interstitielles Ödem, welches die Muskelfasern auseinanderdrängt und zur Atrophie bringt. In dieses seröse Exsudat wandern allmählich Zellen aus dem Blute ein, vor allem Lymphocyten und Plasmazellen.

Die Entstehung dieser serösen Entzündung erhielt mit dem Nachweis der Permeabilitätsveränderungen der Gefäßwände durch das Diphtherietoxin von klinischer Seite (STRÖDER u. a.) eine ausreichende theoretische Grundlage.

Wer klinisch die träge Aktion des toxisch geschädigten Herzmuskels verfolgt, ist zunächst geneigt, eine degenerative Alteration der contractilen Substanz im Muskel anzunehmen. Letztere ist in Form des Myosins — des Muskelglobulins — isolierbar und strukturell weitgehend aufgeklärt (HÜRTHLE, FREY-WYSSLING, W. J. SCHMIDT, WEBER, v. MURALT). Die 10—100 μ breiten Muskelfasern, welche vom Sarkolemma umschlossen werden, bestehen aus Fibrillen von etwa 1 μ Dicke und 0,5 μ gegenseitigen Abstand. Die optisch darstellbaren Fibrillen setzen sich aus Bündeln optischer paralleler Elementarfibrillen von etwa 50—100 Å Dicke zusammen. Die Myofibrillen bestehen aus dem Muskelglobulin Myosin und werden allseitig von Sarkoplasma umgeben, welches im wesentlichen Muskelalbumin — Myogen — enthält. Während das Sarkoplasma optisch isotrop ist, sind die Myofibrillen doppelbrechend und zerfallen in die hellen Q-Abschnitte und die schwächer doppelbrechenden I-Abschnitte (Abb. 6).

Im Polarisationsmikroskop läßt sich die Querstreifung der Muskulatur auf diese Weise gut darstellen. Versuche im diphtheriegeschädigten Herzmuskel getöteter Tiere faßbare Unterschiede gegenüber einer gesunden Muskulatur zu finden, scheiterten jedoch an den komplizierten Verhältnissen, welche optisch durch den verflochtenen Faserverlauf im Herz gegeben sind. Um eine verwertbare Grundlage über eventuelle degenerative Vorgänge an der contractilen Substanz zu erhalten, mußte also versucht werden, das Myosin möglichst rein darzustellen und aus vergleichenden Untersuchungen zwischen gesunder und diphtherisch geschädigter Muskulatur zur Frage einer Degeneration des Muskelglobulins Stellung zu nehmen. Aus Untersuchungen von H. H. WEBER geht hervor, daß EDSALLSche Myosinlösung — mittels Kanüle in Wasser gespritzt — Myosinfäden ergibt, welche trotz des hohen Wassergehalts (99%) und geringen Eiweißgehaltes (1%!) eine Länge bis zu 1 m erreichen können, also eine beachtliche Festigkeit besitzen. Röntgenanalysen von WEBER und BOEHM beweisen die Identität dieser gewonnenen Myosinfäden mit den Myofibrillen.

An eigenen zusammen mit H. SPECHT durchgeführten Versuchen wurden derartige Myosinlösungen nach EDSALL aus frisch verarbeiteter Herz- und Skelettmuskulatur hergestellt. An den Vorversuchen mit Muskulatur von Schlachttieren zeigte sich schon, daß Myosinfäden nur dann regelmäßig erhalten werden, wenn zwischen dem Tod des Tieres und der Verarbeitung nicht mehr als 1 Std verstrichen ist. Diese Tatsache verdient besonders hervorgehoben zu werden, da sie zeigt,

daß nach dem Tode das Myosin relativ rasch jene Eigenschaften verliert, auf welchen die Funktion des lebenden Muskels basiert. Man erhält aus erkaltetem Muskel — gleichgültig, ob es sich um Herz oder Skelettmuskulatur handelt — beim Einspritzen der Myosinlösung in Alkohol nur ein Gewirr größerer bis feinerer Flocken (Abb. 1), mitunter vielleicht auch noch ein zartes Fädenchen. Daraus ist ersichtlich, daß alle morphologischen Befunde an Obduktionsmaterial als unberechenbaren Faktor die postmortalen Veränderungen an den Myofibrillen beinhaltet. Die vergleichenden Untersuchungen des Myosins wurden an 18 Meerschweinchen durchgeführt, bei denen Herz- und Skelettmuskulatur nach den Angaben von EDSALL verarbeitet wurden. Die Meerschweinchen wurden mit Diphtherietoxinmengen von $1\frac{1}{2}$ —10 D. l. m. subcutan in die Bauchhaut geimpft, die Tiere agonal getötet oder kurz nach dem Verenden verarbeitet. Dabei ergab sich der für uns zunächst unerwartete Befund, daß auch bei stärksten makroskopischen Veränderungen des Herzens aus der gewonnenen Myosinlösung mit der gleichen Regelmäßigkeit beim Einspritzen in Alkohol Fäden gewonnen wurden, wie aus gesunder Muskulatur (Abb. 2). Muskelstücke, die länger als 1 Std nach dem Tod des Tieres unverarbeitet gelegen hatten, ergaben eine Myosinlösung, aus der nur Flockung, dagegen keine Fadenbildung zu erhalten war. Selbst Muskulatur aus dem Bereich des sulzigen Ödems in der Umgebung der Injektionsstelle läßt die Fadenbildung der Myosinlösung nicht vermissen. In Abb. 2 sind derart gewonnene Myosinfäden zum Vergleich festgehalten. Sie soll zeigen, daß zwischen der Myosinfadenbildung aus gesunder Herzmuskulatur (a) und diphtherischer Herzmuskulatur (b) eines mit $2\frac{1}{2}$ D. l. m. geimpften und sofort nach dem Verenden verarbeiteten Tieres kein wesentlicher Unterschied besteht, wohl aber ein deutlicher Unterschied gegenüber myolytischer Muskulatur. Setzt man gesunder Muskulatur beim Zerreissen mit Seesand Diphtherietoxin in großen Mengen zu, bleibt ebenfalls die Fähigkeit zur Fadenbildung erhalten — ein Hinweis, daß das Diphtherietoxin nicht unmittelbar zu einer Auflösung des Muskelglobulins führen kann.

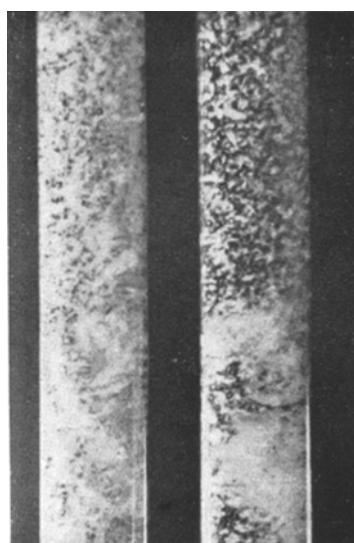


Abb. 1. Flockengewirr einer in Alkohol gespritzten Myosinlösung aus Skelettmuskel und Herzmuskel, welche 24 Std nach dem Tode zweier gesunder Meerschweinchen verarbeitet wurde.

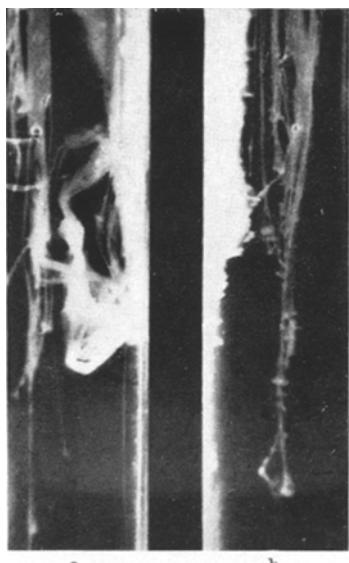
Mikroskopisch erkennt man schon im durchfallenden Licht einen deutlichen Unterschied zwischen der Struktur der Flockung und solcher von Myosinfäden. Die Flocken (Abb. 3) zeigen ein fleckig-körniges Bild, während die Myosinfäden deutliche streifige Struktur (Abb. 4) erkennen lassen. Noch deutlicher wird jedoch der Unterschied zwischen Myosinflocken und Myosinfäden im polarisierten Licht. Die Myosinflocken sind optisch isotrop. Die erhaltenen Myosinfäden dagegen zeigen ebenso wie die Myofibrillen deutliche Stäbchendoppelbrechung, d. h. sie setzen sich aus längsparallel geordneten Elementarbausteinen zusammen.

Aus dem optischen Verhalten der zur Längsachse positiven Stäbchendoppelbrechung (Abb. 5) geht hervor, daß die submikroskopische und damit auch die chemische Struktur in den Myosinfäden diphtherischer Tiere erhalten ist. Übertragen auf die quergestreifte — und Herzmuskelatur bedeutet dies, daß die Myofibrillen auch bei Tieren, welche makroskopisch Herzvergrößerungen und Perikardergüsse zeigen, in ihrer chemischen Struktur erhalten sein müssen, da sie ihre Eigenschaft lange, dehbare Fadenmoleküle zu bilden, nicht verloren haben. WEBER nimmt eine Teilchenlänge der submikroskopischen Stäbchen von 500 Å an, während WORSCHITZ bei röntgenometrischen Bestimmungen eine Länge

Abb. 2 a u. b. a Myosinfäden aus Herzmuskelatur eines gesunden Meerschweinchens bei unmittelbar nach dem Tode erfolgter Verarbeitung. b Myosinfäden aus Herzmuskelatur eines mit $2\frac{1}{2}$ D. i. m. Diphtherietoxin geimpften, nach 38 Std verendeten Meerschweinchens.

von 2050 Å errechnete. Im Vergleich zur Breite handelt es sich also um riesig lange Makromolekülverbände, die strukturell durch das Di-Toxin nicht verändert zu werden scheinen.

Dieser Befund scheint zunächst in Widerspruch zu stehen mit der Tatsache der Funktionsverminderung des diphtherischen Herzens, die in erster Linie an eine toxische Myolyse der contractilen Substanz denken läßt. Aus dem Erhaltensein der Doppelbrechung von Myosinfäden diphtherischer Muskulatur und der Möglichkeit diese Fäden fast um das Doppelte zu dehnen, bevor sie reißen, kann aber das Erhaltensein der Kontraktilität zweifelsfrei angenommen werden. ENGELMANN bringt für die gegenseitige Abhängigkeit von Doppelbrechung und Muskelaktion aus der Ontogenese insofern einen Beweis, als die Kon-



traktilität ontogenetisch mit dem Auftreten der Doppelbrechung zusammenfällt; nach OLIVO geht die Doppelbrechung sogar dem Einsetzen

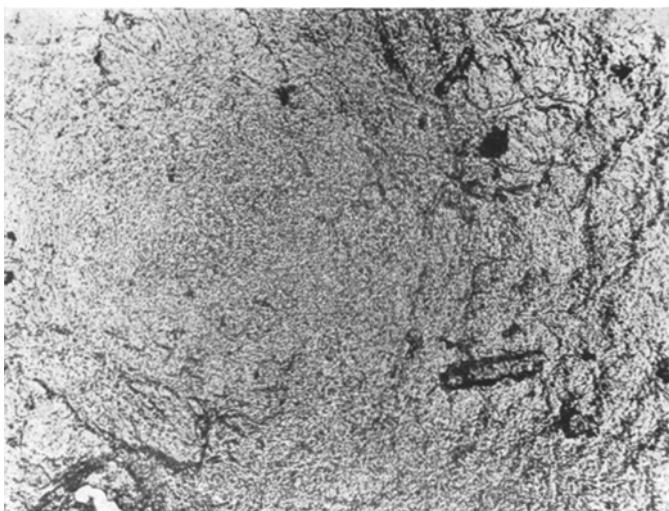


Abb. 3. Myosinflocke aus myolytischer Muskulatur (24 Std post mortem verarbeitet) läßt nur noch Spuren von Fädenbildung erkennen. Die Strukturlosigkeit kommt durch die Isotropie im polarisierten Licht noch deutlicher zum Ausdruck.



Abb. 4. Myosinfäden aus Herzmuskulatur eines mit 2½ D. I. m. geimpften, nach 37 Std verendeten Meerschweinchens. Schon im durchfallenden Licht ist mikroskopisch die parallel verlaufende Faserstruktur zu erkennen.

der Muskelkontraktionen voraus. Dies bedeutet, daß die in der sub-mikroskopischen Struktur zum Ausdruck kommende Fähigkeit lange

Fadenmoleküle zu bilden, Voraussetzungen der Kontraktionsfähigkeit der Myofibrillen ist und andererseits bei Vorhandensein der Doppelbrechung ein intaktes Fibrillensystem angenommen werden muß. Soll man demnach zur Frage Myolysis — Myokarditis Stellung nehmen, so muß man zunächst feststellen, daß an der Gerüstsubstanz der Herzmuskulatur — den Myofibrillen — der *Angriffspunkt des Diphtherietoxins primär nicht liegen kann*. Allerdings ist damit die Frage nicht alternativ im Sinne einer Myokarditis entschieden.

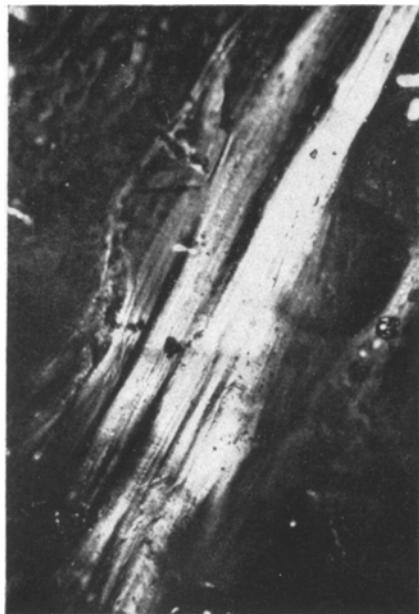


Abb. 5. Starke Doppelbrechung eines getrockneten Myosinfadens im Polarisationsmikroskop bei gekreuzten Nikols (Herzmuskel eines mit 10 D. l. m. geimpften agonal nach $24\frac{1}{2}$ Std getöteten Meerschweinchens).

MANN und BÜRGER sehen histologisch frühestens am 3.—4. Tag Myolyse. FAHR dagegen beobachtete Myokardveränderungen erst vom 7.—9. Krankheitstag, meist aber erst vom 10. Krankheitstag ab. Die Untersuchungen OHEIMS ließen am 2.—4. Tag nur in wenigen Fällen und an einzelnen Stellen Veränderungen erkennen. Die ausgedehntesten Veränderungen am Herzmuskel werden erst vom 7.—13. Krankheitstag gefunden. Rein aus dem zeitlichen Ablauf wird damit eine unmittelbare Lysis durch das Diphtherietoxin unwahrscheinlich. Die auf den Feinbau des Muskels ausgerichteten Beschreibungen EPPINGERs verlegen die Veränderung in die Muskelfaser selbst. Er beobachtete „homogen gewordene“ Fasern, in denen weder Struktur noch Querstreifung nachweisbar waren und in deren Nachbarschaft sich gequollene Muskel-

In der Diskussion wurde bisher ein Argument wenig berücksichtigt, welches in der Frage einer unmittelbaren oder mittelbaren Myolyse gewichtige Anhaltspunkte zu geben vermag. Würde man eine unmittelbare Myolyse durch das Diphtherietoxin annehmen, so müßte man zur Zeit der massiven Toxinüber schwemmung, also in den ersten Krankheitstagen die schwersten Veränderungen erwarten. Dies kommt zwar vor, ist aber nicht die Regel. BEHR fand unter 230 Diphtheriefällen elektrokardiographisch schwerste Myokardveränderungen frühestens am 3., 4. oder 5. Tag, in der Regel aber noch in der ersten Krankheitswoche. Auch DONNERSTAG, REI-

fasern gruppierten. Das Wesentliche aber liegt in einer bei allen Schnitten gefundenen Verbreiterung der Zwischenräume, wodurch die Muskelfasern auseinandergedrängt sind. Wo die Fasern unterbrochen sind, werden die Lücken teilweise von einer „wolkigen Masse“ ausgefüllt. Auf Grund eingehender Untersuchungen vertritt EPPINGER die Überzeugung, daß die Lückenbildung in den Muskelfasern an den *I*-Scheiben und *Z*-Streifen beginnt; zwischen 2 betroffenen isotropen Schichten geht die dazwischenliegende anisotrope *Q*-Schicht verloren (Abb. 6). Diese von den Isotropenscheiben ausgehenden Degenerationspartien vergrößern sich und konfluieren mit anderen. Dem Diphtherietoxin wird demzufolge die Auslösung eines parenchymatösen Ödems zugeschrieben, welches entweder die Faserschädigung vermittelt oder gleichzeitig mit letzterer auftritt. Unabhängig vom kausalen Zusammenhang ist die letzte Folge eine partielle Auflösung von Muskelfasern.

Dem objektiven Nachweis von (postmortal gefundenen) degenerativen Prozessen an den Muskelfasern, stehen also die eigenen Feststellungen gegenüber, daß bei Meerschweinchen in der akuten Phase der diphtherischen Intoxikation selbst bei makroskopisch sichtbaren Herzveränderungen die Myofibrillensubstanz strukturell nicht geschädigt ist. Diese — sich scheinbar widersprechenden Befunde — verlieren an ihrer kontrastierenden Wirkung, wenn man den obengenannten zeitlichen Faktor berücksichtigt. Die mit $1\frac{1}{2}$ —10 D. l. m. vergifteten Tiere sterben gewöhnlich zwischen 36 und 96 Stunden, das histologische Material, an welchem degenerative Veränderungen der Fasersubstanz gefunden werden, entstammt im Durchschnitt dem Ende der 1. oder der 2. Krankheitswoche. Die Tatsache, daß die Faserschädigungen sich lokal begrenzt aus dem histologischen Bild des übrigen Muskels herausheben, deutet auf deren Entstehung *in vivo* hin, wenn auch nicht entschieden werden kann, inwieweit die — sehr rasch eintretenden — postmortalen Veränderungen der Myofibrillensubstanz das Ausmaß der während der Erkrankung entstandenen Myolyse überdeckt. Es ergibt

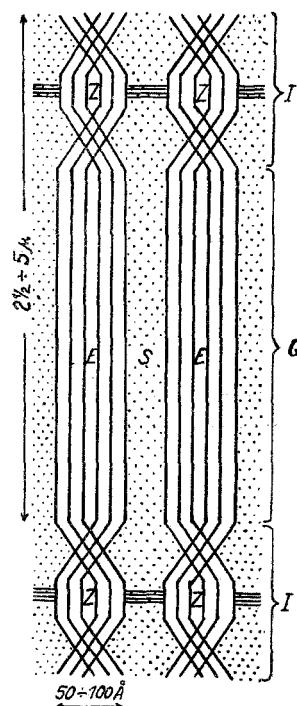


Abb. 6. Vereinfachtes Schema des submikroskopischen Aufbaus quergestreifter Muskulatur (in Anlehnung an HÜRTHE und FREY-WYSSLING). *S* Sarcoplasma; *E* Elementarfibrillen; *I* Isotrope Schicht (nicht parallel verlaufende Elementarfibrillen); *Q* Anisotrope Schicht; *Z* Anisotrope Zwischenschicht.

sich demnach die Folgerung, daß die *Myolyse wahrscheinlich nicht in der akuten Phase der diphtherischen Intoxikation, sondern später eintritt*, mit anderen Worten, sie ist nicht unmittelbar auf das Diphtherietoxin zurückzuführen, sondern mittelbar. Wenn man das Ödem der Interstitien berücksichtigt, wie es EPPINGER und MASSHOFF am diphtherischen Herzen fast regelmäßig gefunden haben, so dürfte die Auffassung MASSHOFFS der Genese der diphtherischen Herzveränderung am nächsten kommen. Letzterer nimmt eine Atrophie der Muskelfasern durch das sich ausbreitende Ödem an.

Wenn wir auf Grund der bekannten Befunde und der eigenen Untersuchungen ein Bild über den zeitlichen und kausalen Ablauf der diphtherischen Myokardschädigung gewinnen wollen, so muß man sich zunächst von der Alternativfrage: Myolysis oder Myokarditis, freimachen. Der primäre Vorgang dürfte in der durch das Diphtherietoxin bedingten Änderung der Capillarpermeabilität zu suchen sein. Als Folge dieser Lockerung der Gefäßwände treten Flüssigkeit, Eiweiß und später auch celluläre Elemente ins Gewebe, vor allem aber in die Sarkoplasma-spalten über. Die Schädigung der Muskelfasern dürfte auf dem Wege über eine Druckatrophie sich anbahnen. Angriffspunkt ist wahrscheinlich nicht der anisotrope Bestandteil der Myofibrillen, sondern jene Abschnitte, wo die Myofibrillen die isotrope Querschicht durchstoßen.

Literatur.

- BEHR, W.: Z. Kreislauftorschg **27**, 793 (1935). — CEELEN: Dtsch. med. Wschr. **1929**, 569. — CHIARI: Wien. klin. Wschr. **1933**, 1137. — DONNERSTAG: Virchows Arch. **1936 I**, 441. — EDSELL, I. TH.: J. of biol. Chem. **1938**, 289. — ENGELMANN, Th. W.: Pflügers Arch. **7**, 33, 155 (1873); **11**, 432 (1875). — EPPINGER, H.: Dtsch. med. Wschr. **1903**, 257, 285. — FAHR, Th.: Virchows Arch. **221**, 38. — FREY-WYSSLING, A.: Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. Berlin: Borntraeger 1938. — HALLWACHS, W.: Dtsch. Arch. klin. Med. **1899**, 770. — HÜBSCHMANN, P.: Münch. med. Wschr. **1917**, 73. — HÜRTHLE, K.: Pflügers Arch. **227**, 610 (1931). — MASSHOFF, W.: Arch. Kreislauftorschg **1938**, 142. — MURALT, A. v.: Kolloid-Z. **63**, 228 (1933). — OHEIM, L.: Beitr. path. Anat. **100**, 195, 222 (1938). — OLIVO, O. M.: Bull. Soc. Ital. biol. sper. **3**, 1041 (1928). — RIBBERT: Mitt. Grenzgeb. Med. u. Chir. **1900**, 1. — ROMBERG, E.: Dtsch. Arch. klin. Med. **48**, 369 (1891). — ROSENBACH, J.: Virchows Arch. **70**, 352 (1877). — SCHMIDT, W. J.: Die Doppelbrechung von Karyoplasma usw. Berlin: Borntraeger 1937. — SPECHT, H.: Inaug.-Diss. Heidelberg 1950. — STRÖDER, J.: Erg. inn. Med. **62**, 532 (1942). — TANAKA, T.: Virchows Arch. **207**, 115 (1912). — WEBER, H. H.: Pflügers Arch. **235**, 205 (1934). — WORSCHITZ, F.: Fortschr. Röntgenstr. **51**, 81 (1935).

Dr. med. F. SCHMID, Heidelberg, Univ.-Kinderklinik.