

Histologische und histochemische Befunde an der Skelettmuskulatur der Ratte bei experimenteller Thyreotoxikose*

P. GERING und F. MITTELBACH

II. Medizinische Klinik der Universität München (Direktor: Prof. Dr. Dr. G. BODECHTEL)

Eingegangen am 27. November 1967

Histological and Histochemical Observations of Skeletal Muscle in Experimental Hyperthyreosis in Rat

Summary. Experimentally-induced hyperthyroidism in rats caused a remarkable wasting and progressive pallor of skeletal muscle. Histologically, there was considerable atrophy of the muscle fibres, histochemically, this proved to be mainly a type I fibre atrophy.

Zusammenfassung. Experimentell hervorgerufene Thyreotoxikose bei Ratten zeigte eine erhebliche Verschmächting und Abblässung der Muskulatur. Histologisch ergab sich eine deutliche Atrophie der Muskelfasern, die sich enzymhistochemisch vorwiegend als Typ I Faseratrophie wahrscheinlich machen ließ. Myopathische Veränderungen fanden sich nicht.

Von den symptomatischen Myopathien, die man im Zusammenhang mit Stoffwechselstörungen und Endokrinopathien beobachtet, sind es vor allem Störungen der Schilddrüsenfunktion, die zu einer unter Umständen beträchtlichen Mitbeteiligung der Muskulatur am Krankheitsbild führen können. Dabei spielen sowohl Über- wie Unterfunktion eine Rolle am Zustandekommen einer klinisch faßbaren Myopathie: es imponiert klinisch also eine Schwäche der Muskulatur. Diese Schwäche der Muskulatur kann sogar gegenüber den übrigen Symptomen der Schilddrüsenfunktionsstörungen völlig im Vordergrund stehen und deshalb unter der Maske einer neurologischen Affektion gelegentlich zu einer Fehldiagnose führen. Besonders ausgeprägt ist dies bei der thyreotoxischen Krise, dem Coma basedowicum, wo ein bulbärparalyse-ähnliches Bild die Situation am Krankenbett beherrschen kann.

Durch die Möglichkeit der EMG-Untersuchungen und der histologischen Untersuchungen an durch Biopsie gewonnenem Material ist man in der Lage, derartige myopathische Befunde zu objektivieren.

Da andererseits über die thyreotoxische Myopathie noch wenig gesicherte Befunde vorliegen und zum Teil widersprechend sind (s. Literaturangabe GERING, 1967) sollen an Hand der experimentellen Thyreotoxikose der Ratten die Veränderungen der Muskulatur histologisch und histochemisch untersucht werden.

* Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Fr.-Baur-Stiftung, München, und der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Methodik

Durch exogene Zufuhr von dl-Thyroxin wurde bei 20 Ratten eine Thyreotoxikose erzeugt; die dabei entstandenen Auswirkungen an den quergestreiften Muskeln wurden untersucht. Die Untersuchung wurde an insgesamt 30 weißen Ratten von etwa gleichem Alter durchgeführt, die in 4 Gruppen aufgeteilt waren. 2 Gruppen zu je 10 Tieren, welche mit Thyroxin bzw. Thyreoid behandelt wurden; 2 Gruppen zu je 5 Tieren, welche dem Vergleich dienten. Die Tiere befanden sich in 4 Käfigen nach Gruppen getrennt und erhielten Futter und Wasser aus automatischen Anlagen nach Belieben. Die Tiere jeder Gruppe entsprachen sich in ihrem Gewicht.

Die folgende Nomenklatur der 4 Gruppen (a, b, c, d) wird der Einfachheit halber beibehalten.

Gruppe a. 5 Tiere, gefüttert mit Normalfutter (Altrumin).

Gruppe b. 10 Tiere, erhielten gemahlenes Normalfutter, in das 1% Thyroidpulver (National Biochemical Corp.) eingemischt wurde.

Gruppe c. 5 Tiere, mit Normalfutter gefüttert; täglich 0,5 ml eines Phosphatpuffers (pH 7,4) s.c. am Rücken injiziert.

Gruppe d. 10 Tiere, erhielten Normalfutter und täglich 0,1 mg dl-Thyroxin, das in 0,5 ml Phosphatpuffer (pH 7,4) gelöst war s.c. am Rücken injiziert.

2 Ratten erhielten am vorletzten Versuchstag je 0,2 mg, am letzten Tage je 0,3 mg Thyroxin. Ein Tier erhielt nur am letzten Tag 0,3 mg Thyroxin.

Damit wurde versucht, die Thyreotoxikose einer thyreotoxischen Krise zu nähern.

Der Versuch lief bei Gruppe c und d etwa 21 Tage, d.h. nicht alle Tiere konnten aus zeitlichen Gründen am selben Tag getötet werden. Bei Gruppe a und b mußte der Versuch am 15. Tag abgebrochen werden, da von Gruppe b über Nacht 5 Tiere eingegangen waren und der Gesundheitszustand der anderen Tiere bedenklich erschien. Die vorzeitig eingegangenen Tiere wurden bei der Auswertung nicht berücksichtigt. Ebenso ein Tier der Gruppe a, das von Anfang an Gewichtsverlust zeigte und dessen Atemwege von Sekret eingeengt waren. Es wurde von den übrigen Ratten abgesondert, um nicht etwa als Infektionsquelle den Versuch zu stören.

Das Gewicht der Tiere wurde jeden 2. Tag bestimmt. Die Ratten wurden mit Äther getötet; unmittelbar danach wurde jedem Tier die Schilddrüse, die Musculi sternocleidomastoideus, scalenus, pectoralis major, biceps, gluteus, quadriceps und triceps surae entnommen und jeweils eine Hälfte davon durch Eintauchen in flüssige Luft eingefroren; in diesem Zustand in einem PVC-Beutel luftdicht eingeschweißt und in der Tiefkühltruhe aufbewahrt, zur Verwendung für die histochemischen Untersuchungen. Die andere Hälfte wurde zur konventionellen *histologischen* Untersuchung verwendet.

Histochemisch wurden folgende Enzyme untersucht:

1. Die Succinatdehydrogenase mit Nitro-BT, bei 37° C mit einer Inkubationszeit von 1 Std nach der Methode von NACHLAS (1958).

2. Die DPN- und TPN-Diaphorasen mit einer Inkubationszeit von 15 min.

3. Die Phosphorylase nach TAKEUCHI (1956) mit einer Inkubationszeit von 1 Std.

4. Die myofibrilläre ATP-ase nach PADYKULA und HERRMANN (1955) mit einer Inkubationszeit von 40 min bei pH 9,4.

5. Die Leucin-Amino-Peptidase nach NACHLAS (1958) mit l-Leucin- β -naphthylamid-HCl und nachfolgender Kopplung bei einer Inkubationszeit von $\frac{1}{2}$ Std bei 37° C.

Außerdem wurde versucht, ob sich durch histochemischen Jodnachweis mit der FFCA-Reaktion (Ferrichlorid-Ferri-cyanid-arsenige Säure) ein Unterschied im Jodgehalt der verschiedenen Untersuchungsgruppen nachweisen ließ.

Bei einigen Muskeln wurde außerdem mit der Diazotization-Kopplungsreaktion nach GLENNER und LILLIE (1959) versucht, Veränderungen im Thyroxingehalt nachzuweisen.

Schließlich wurden einige Präparate nach Fixation im basischen Milieu mit Blei-Acetat, wegen der Befunde, die ASBOE-HANSEN (1952) erhob, untersucht.

Die andere Hälfte der Schilddrüse bzw. der Muskeln wurde in Formalin fixiert und nach dem Verfahren von BOELLHARD und HIRSCH (1959), in der Modifikation von ERBSLÖH und DIETL (1959) in Methacrylsäuremethylester eingebettet. Von diesen Präparaten wurden 7 μ starke Schnitte angefertigt und nach der Methode VAN GIESON gefärbt. Die Histogramme

wurden durch Okularmikrometrie der einzelnen Muskelfasern gewonnen, wobei stets mehrere hundert Fasern ausgezählt wurden und dann die Verteilung auf hundert Fasern bezogen in ein Koordinatensystem eingetragen wurde.

Ergebnisse

Im Verlauf der Versuchsdauer von 15 bzw. 21 Tagen zeigten die Tiere ein aus Abb. 1 ersichtliches charakteristisches Verhalten hinsichtlich ihrer Gewichtsveränderung. Während die Kontrolltiergruppen a und c einen etwa parallel laufenden stetigen Gewichtsanstieg erkennen ließen, war bei den mit Thyreoidpulver gefütterten Tieren zunächst ein rapider Gewichtsabfall zu verzeichnen. Nach einer geringen Gewichtserholung um den 10. Tag fiel das Gewicht wieder stark ab und der Versuch mußte dann am 15. Tag wegen der starken Kachexie der Tiere abgebrochen werden. Demgegenüber kam es bei den mit Thyroxin gespritzten Tieren zwar nicht zu einem Abfall des Gewichtes, sondern nur zu einem stark verlangsamten Gewichtsanstieg im Vergleich mit der entsprechenden Kontrollgruppe.

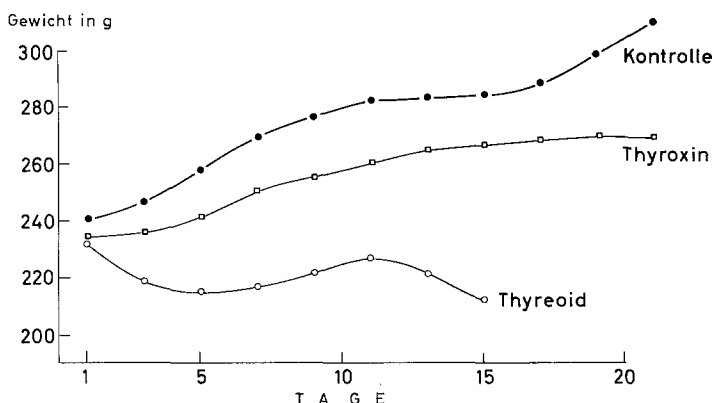


Abb. 1. Gewichtsverlaufskurven der Tiere während der experimentell induzierten Hyperthyreose

Die allgemeine Kachexie war bereits an den lebenden Tieren deutlich sichtbar, das Fell war außerdem struppig und glanzlos. Besonders deutlich war dies bei den Tieren der Gruppe b, die auch den ausgeprägtesten Gewichtsverlust zeigten.

Das unterschiedliche Verhalten im Durchschnittsgewicht der einzelnen Tiergruppen wird noch durch die Abb. 2 besonders anschaulich verdeutlicht. Daraus ergibt sich bei den Tieren der Gruppe b ein Gewichtsverlust am Ende des Versuchs von 6% gegenüber dem Anfangsgewicht.

Die Tiere der Gruppe d zeigten nur einen Gewichtszuwachs von durchschnittlich 13%, während die Kontrolltiere um 30% zunahmen.

Bei der Präparation der Muskeln fiel an den behandelten Tieren bereits makroskopisch eine beachtliche Muskelatrophie auf; auch waren die Muskeln blasser als bei gesunden Tieren.

Zunächst wurde an Hand von Histogrammen der Grad der Atrophie näher untersucht. Dazu wurde an brauchbaren, streng orthograd getroffenen Muskelquerschnitten eine prozentuale Verteilungskurve der Muskelfaserdurchmesser durch Bestimmung der Einzelfaserdurchmesser angelegt. Um die Übersichtlichkeit der Abbildungen nicht zu stören, wurden jeweils nur von einer Kontrollgruppe die Werte eingetragen, zumal sich zwischen den Kontrollgruppen keine wesentlichen Unterschiede im Spektrum des Faserdurchmessers ergaben. Deshalb erscheint im folgenden jeweils nur eine Kontrollgruppe.

Wie von anderen Untersuchern bei Tieren und auch bei Menschen früher dargestellt wurde, findet sich bei den Durchmessern der Muskelfasern eine relativ breite Gaußsche Verteilungskurve, die bei unseren Versuchsgruppen am rechten Schenkel etwas flacher verläuft als am linken. Die folgenden Abb. 3 und 4 verdeutlichen das Ausmaß der Atrophie.

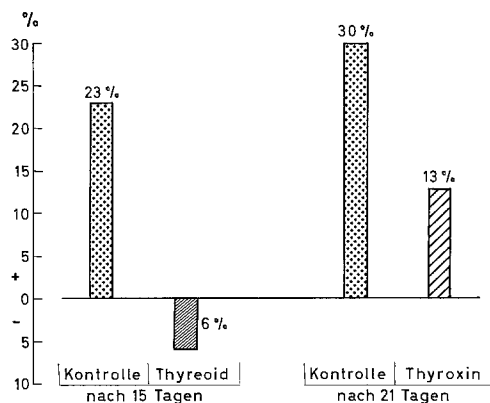


Abb. 2. Prozentualer Vergleich des mittleren Gewichts der Tiere vor und nach der Gabe von Schilddrüsenhormon

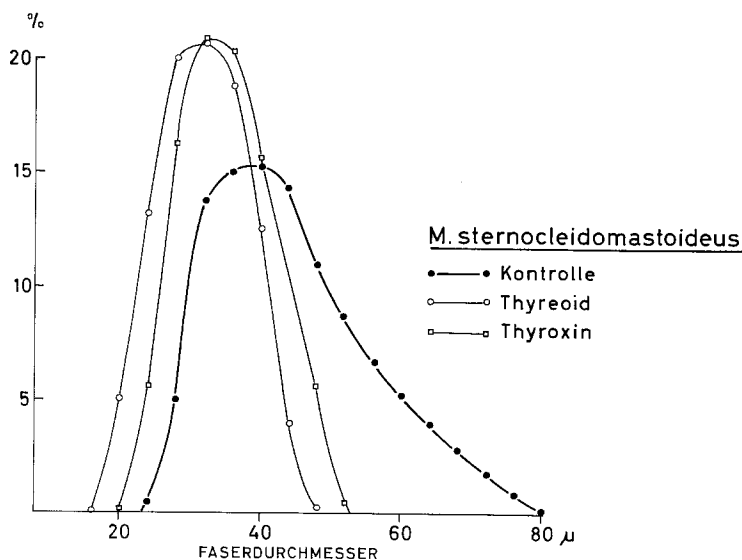


Abb. 3. Graphische Verteilung der Muskelfaserdurchmesser des M. sternocleidomastoideus bei experimenteller Hyperthyreose

Es wurden zunächst neben den Halsmuskeln die proximalen Muskelgruppen untersucht, da erfahrungsgemäß bei der Hyperthyreose die proximalen Muskelgruppen klinisch besonders betroffen sind. Dabei zeigte sich übereinstimmend bei allen drei Muskelgruppen zunächst einmal eine deutliche Verschmälerung der Kurve, was darauf hindeutet, daß es im Verlauf des Versuches zu einer Angleichung im Sinne einer Uniformität bezüglich des Faserdurchmessers gekommen ist.

Daneben findet sich aber eine Linksverlagerung der Verteilungskurve bei den Versuchsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe, das heißt, der mittlere Faserdurchmesser ist geringer als bei der Kontrollgruppe und zwar in der Regel bei den mit Thyreoid-Pulver gefütterten Tieren stärker ausgeprägt, als bei den mit Thyroxin gespritzten. Am deutlichsten waren diese Veränderungen im Bereich der Halsmuskulatur, etwas weniger deutlich im Bereich des M. quadriceps. Demgegenüber fand sich im Bereich des M. pectoralis major eigentlich nur ein Engerwerden der Faserverteilungskurve. Einen ähnlichen Befund konnte man auch an

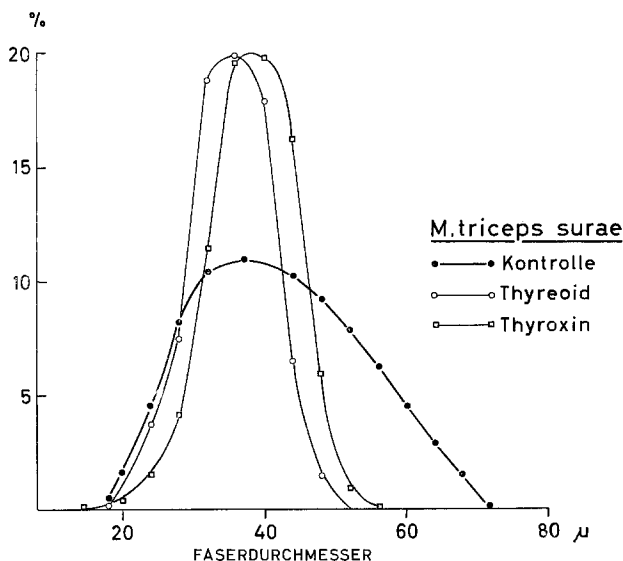


Abb. 4. Graphische Verteilung der Muskelfaserdurchmesser des M. triceps surae bei experimenteller Hyperthyreose

distalen Muskelgruppen erheben (Abb. 4), wie am Beispiel des M. triceps noch deutlich wird.

Bei der konventionellen histologischen Technik, das heißt, an den nach Formalin-Fixation in Methacrylat eingebetteten Schnitten fand sich zusätzlich lediglich eine, der Atrophie entsprechende relative Zunahme der Sarkolemmkerne.

Anhaltspunkte für myopathische Veränderungen, wie das Auftreten von zentralständigen aktivierten und bläschenförmigen Kernen konnte nicht erbracht werden. Auch fanden sich keine degenerativen Faseränderungen. Es konnten auch nach Fixierung von Kryostatenschnitten in basischer Bleiacetatlösung die von ASBOE-HANSEN (1952) beschriebenen halbmondförmigen Gebilde nicht nachgewiesen werden. Da sich außer der Atrophie der Muskelfasern bei konventioneller histologischer Technik keine degenerativen Veränderungen nachweisen ließen, wurde eine Reihe von histochemischen Untersuchungen angestellt, ob sich vielleicht daraus zusätzlich ein richtungsgebender Befund erheben ließe.

Bei den enzym-histochemischen Untersuchungen zeigten sich die ausgeprägtesten Veränderungen, ebenso wie bei den myometrischen Befunden, im Bereich der Halsmuskulatur, während an den anderen Muskelgruppen die im folgenden beschriebenen Veränderungen zwar ebenfalls nachweisbar, aber wesentlich weniger ausgeprägt waren.

Bei der sarkoplasmatischen Phosphorylase, die sich normalerweise vorwiegend in den dickeren Fasern vom Typ II findet, weisen die dünneren Fasern (Typ I) eine wesentlich geringere Aktivität auf. Bei den hyperthyreotischen Tieren dagegen zeigen alle Fasern nicht nur einen verkleinerten, annähernd uniformen Durchmesser, sondern die Enzymaktivität ist ebenfalls in allen Fasern praktisch gleich stark nachweisbar. Ein analoger Befund läßt sich auch bei der ATP-ase-Reaktion erheben, auch hier kommt es zu einer Uniformität der Aktivität und zu einer Angleichung des Faserdurchmessers (Abb. 5).

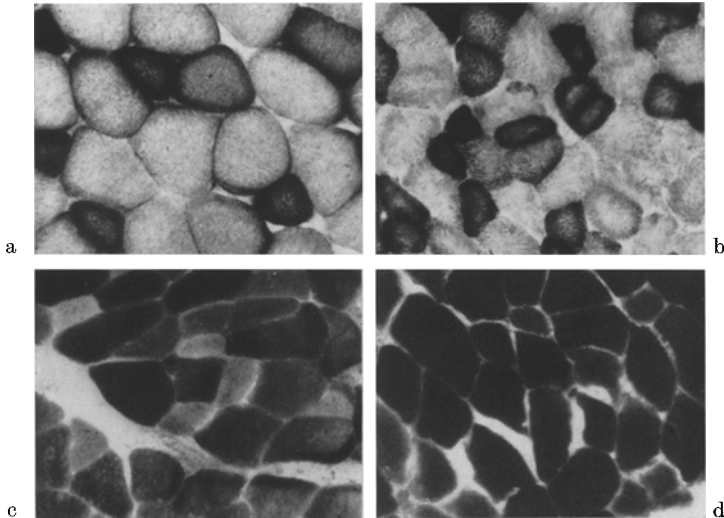


Abb. 5a—d. Enzymhistochemische Befunde am M. quadriceps femoris, Vergr. 100 \times . a Succinatdehydrogenase am gesunden Kontrolltier mit dem typischen Schachbrettmuster. b Succinatdehydrogenase bei experimenteller Hyperthyreose mit deutlicher Atrophie vornehmlich der Typ I-Fasern. c Phosphorylase am gesunden Kontrolltier mit dem typischen Schachbrettmuster. d Phosphorylase bei experimenteller Hyperthyreose. Das Schachbrettmuster annähernd verschwunden, auch hier Atrophie der Fasern, vornehmlich vom Typ I

Die intramitochondrialen oxydativen Enzyme am Beispiel der Succinatdehydrogenase sind normalerweise vorwiegend in den dünneren Typ II-Fasern anzutreffen. Hierbei findet sich bei den hyperthyreotischen Tieren zwar eine Angleichung und uniforme Verschmächtigung der Fasern, die aber vorwiegend auf einer Atrophie der Typ I-Fasern beruht. Im Gegensatz zu den vorigen Befunden ist hierbei jedoch das gewohnte Schachbrettmuster, das heißt, die hohe Aktivität in Fasern vom Typ I und die geringere Aktivität in Fasern vom Typ II erhalten. Einen ganz analogen Befund erhält man auch bei dem Nachweis der DPN-Diaphorase (Abb. 5).

Entsprechend dem geringgradigen Bindegewebsanteil der normalen Muskulatur findet sich auch am normalen Rattenmuskel keine Leucin-Amino-Peptidase-Aktivität. Bei den hyperthyreotischen Tieren findet sich nur in Gebieten mit einem Bindegewebsumbau eine geringe LAP-Aktivität als Ausdruck der Bindegewebsproliferation bei dem atrophischen Prozeß infolge der Thyreotoxikose. Innerhalb der Fasern selbst ist auch bei thyreotoxischen Tieren keine Aktivität nachweisbar.

Schließlich wurde noch versucht, durch Anwendung der FFCA-Reaktion nachzuweisen, ob sich in der Jodkonzentration Anhaltspunkte für eine Änderung ergaben. Eine solche ließ sich nicht nachweisen, was allerdings auch methodisch bedingt sein kann, da das FFCA-Reagenz sehr empfindlich schon auf kleinste Jodmengen reagiert.

Ebenso konnte mit der Diazotierungsreaktion nach GLENNER und LILLIE (1959), die auch zum Thyroxin-Nachweis verwendet werden kann, kein Unterschied zwischen den Kontroll- und den hyperthyreotischen Tieren nachgewiesen werden.

Diskussion

Die Ratten zeigten nach parentaler und enteraler Gabe von Schilddrüsenhormon schon wenige Wochen nach Beginn des Versuches eine ausgeprägte Gewichtsverminderung, sowie andere Zeichen der Thyreotoxikose. Diese Gewichtsverminderung ist, wie die Versuchsergebnisse zeigen, offenbar hauptsächlich auf eine erhebliche Muskelatrophie zurückzuführen. Die Atrophie war bereits makroskopisch bei der Sektion der Tiere ersichtlich und ließ sich auch mikroskopisch durch den Nachweis einer sehr gleichförmigen Faserverschwächung belegen. Es ergibt sich also eine Übereinstimmung des Versuchsergebnisses mit den Befunden von WEGELIN (1929), HAVARD (1963) und ASKANAZY (1898) bezüglich der gleichmäßigen Atrophie. Eine ausgesprochen herdförmige Atrophie, wie sie von MORGAN und WILLIAMS (1940) beschrieben wurde, ebenso stark unterschiedliche Grade der Atrophie, wie sie SALVIOLY (1963) fand, konnten nicht bestätigt werden.

Am ausgeprägtesten war das Ausmaß der Atrophie im Bereich der Halsmuskeln und der proximalen Muskelgruppen festzustellen, weniger in den distalen Muskelgruppen. Diese experimentellen Befunde stehen in gutem Einklang mit der klinischen Erfahrung, wobei es ebenfalls vorwiegend die proximalen Gruppen sind, die klinisch durch eine Schwäche imponieren (SANDERSON, 1949). Das bei unserer Versuchsanordnung scheinbar stärkere Ausmaß der Atrophie der gefütterten Tiere gegenüber den gespritzten Tieren ist wahrscheinlich nur methodisch bedingt. Die Tiere, die das Thyroxin mit dem Futter oral zugeführt bekamen, nahmen mit Fortschreiten der Thyreotoxikose durch die größere Freßlust auch entsprechend mehr Hormon zu sich, so daß der Unterschied offensichtlich dosisabhängig zu erklären ist.

Bemerkenswert dabei ist, daß trotz der beträchtlichen körperlichen Unruhe der thyreotoxischen Tiere eine fast gleichförmige Atrophie entsteht, wie sie einer Inaktivitätsatrophie entspricht und als solche in ihrer reinsten Form bei der Denervationsatrophie anzutreffen ist. Es imponiert also, um dies noch einmal zu betonen, eine Schwächung der Fasern im Sinne einer Inaktivitätsatrophie trotz der erheblich gesteigerten körperlichen Tätigkeit. Dabei würde man ja eigentlich eher eine Faserhypertrophie erwarten.

Demgegenüber fanden wir außer der beträchtlichen Faseratrophie keine degenerativen Veränderungen im Sinne einer Myopathie, wie sie z. B. von ASKANAZY (1898), GIMLETTE (1959), FARRANT (1959), DOBYNS (1946) und anderen (ausführliche Literatur bei GERING, 1967) beschrieben wurden.

Entsprechend der nur relativ geringen Bindegewebsvermehrung fand sich auch nur eine geringe LAP-Aktivität an den Stellen, wo das Bindegewebe im Sinne

einer Bindegewebsproliferation in den atrophischen Stadien stärker hervortrat. Während es bei myopathischen Prozessen meist sehr frühzeitig zu einer Bindegewebsentwicklung im erkrankten Muskel kommt, findet man andererseits bei atrophischen Muskelprozessen, so vor allem bei der neurogen bedingten Muskelatrophie erst im Spätstadium eine erhebliche Bindegewebszunahme, damit auch erst dann eine vermehrte Aktivität der LAP im Bindegewebe.

Eine LAP-Aktivität in den Muskelfasern selbst konnten wir nicht beobachten. Wo dies den Anschein hatte, dürfte es sich um Diffusionsartefakte aus dem Bindegewebe handeln, da nur in der Nähe stärkerer Bindegewebsaktivität eine blaue Tingierung der Fasern nachweisbar war.

Die histochemischen Befunde erbrachten zweierlei: Zunächst fand sich bei der sarkoplasmatischen Phosphorylase und auch bei der Darstellung der ATP-ase ein Verschwinden des sonst üblichen Schachbrettmusters, das heißt, die Differenzierung in den beiden Fasertypen wurde dadurch unmöglich, ein Befund, wie man ihn bei myopathischen Prozessen erheben kann, allerdings auch im Anfangsstadium einer Denervationsatrophie. Wie sich bei Darstellung der oxydativen mitochondrialen Enzyme zeigte, erfolgt die Verschmächigung hauptsächlich zu Lasten der Typ I-Fasern, die sich in einer Gleichheit des Faserdurchmessers ausdrückt. Dabei bleibt allerdings das Schachbrettmuster, das heißt, die Differenzierung in Typ I- und Typ II-Fasern erhalten. Bemerkenswert ist dieser Befund, als von ENGELS (1962) vor einiger Zeit bei der myotonischen Dystrophie ebenfalls eine Typ I-Faseratrophie herausgestellt wurde; bei dieser Krankheit kommen ja multiple endokrine Störungen vor.

Auch bei den histochemischen Enzymreaktionen fanden sich sonst keine Hinweise auf myopathische Veränderungen, wie etwa das Auftreten sarkoplasmatischer Massen, mitochondrialer Aggregate und ähnliche. Auch konnte keine „target“- oder „targetoid-Fiber“-Bildung (ENGELS, 1962) nachgewiesen werden.

Es konnte also bei kurzfristig induzierter Thyreotoxikose an Ratten kein Nachweis für myopathische Veränderungen erbracht werden, vielmehr fand sich eine ausgeprägte einfache Atrophie. Nach den histochemischen Befunden konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß das Zustandekommen der Atrophie hauptsächlich auf Grund einer Atrophie der Fasern vom Typ I zustande kommt. FFCA-Reaktion und Diazotierungsreaktion erbrachten keine Aussage hinsichtlich eines differenzierten Jodgehalts bei den behandelten und nichtbehandelten Tieren, was wahrscheinlich eine Folge der zu hohen Empfindlichkeit der Reaktion ist und deshalb nicht gewertet werden kann.

Literatur

- ASBOE-HANSON, G., K. IVERSON, and R. WICHMAN: Malignant exophthalmus; muscular changes and thyrotrophin content in serum. *Acta endocr. (Kbh.)* **11**, 376 (1952).
 ASKANAZY, M.: Pathologisch-anatomische Beiträge zur Kenntnis des Morbus Basedowii, insbesondere über die dabei auftretende Muskelerkrankung. *Dtsch. Arch. klin. Med.* **61**, 118 (1898).
 BOELLAARD, J. W., u. TH. V. HIRSCH: Methacrylsäureester als Einbettungsmittel in der Histologie. *Z. wiss. Mikr.* **64**, 1 (1959).
 BRODY, J., and K. ENGEL: Isocyme histochemistry: The display of selective lactat dehydrogenase isocymes in sections of skeletal muscle. *J. Histochem. Cytochem.* **1**, 687 (1964).
 DOBYNS, B. M.: Studies on exophthalmos produced by thyrothropic Hormone. *Surg. Gynec. Obstet.* **82**, 717 (1946).

- ENGEL, W. K.: The essentially of histo- and cytochemical studies of skeletal muscle in the investigation of neuromuscular diseases. *Neurology (Minneapolis)* **12**, 778 (1962).
- ERBSLÖH, F., u. W. DIETEL: Die Bedeutung der Muskelbiopsie bei den sog. Kollagenosen. *Verh. Dtsch. Ges. inn. Med.* **65**, 371 (1959).
- FARRANT, R.: Hyperthyroidism, its experimental production in animals. *Brit. med. J.* **1913 II**, 1363.
- GERING, P.: Histologische und histochemische Untersuchungen zur experimentellen thyreotoxischen Myopathie. Diss. Univ. München 1967.
- GIMLETTE, T. M. D.: The muscular lesions in hyperthyroidism. *Brit. med. J.* **1959 II**, 1143.
- GLENNER, G. G., and R. D. LILIE: Observations on the diazotization-coupling reaction for the histochemical demonstration of tyrosine: metal chelation and formazan variants. *J. Histochem. Cytochem.* **7**, 416 (1959).
- HARVARD, C. W. H., E. D. R. CAMPBELL, H. B. ROSS, and A. W. SPENCE: Electromyographic and histological findings in the muscles of patients with thyrotoxicosis. *Quart. J. Med.* **32**, 145 (1963).
- MORGAN, H. J., and R. H. WILLIAM: Muscular atrophy and weakness in thyrotoxicosis (thyrotoxic myopathy: exophthalmic ophthalmoplegia). *Sth. med. J. (Bgham; Ala.)* **33**, 261 (1940).
- NACHLASS, M. M., D. G. WALKER, and A. M. SELIGMAN: Histochemical method for the demonstration of DPN-diaphorase. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 29 (1958).
- PADYKULA, H. A., and E. HERMAN: The specificity of the histochemical method for adenosinetriphosphate. *J. Histochem. Cytochem.* **3**, 170 (1955).
- SALVIOLI, G.: Thyrotoxic myopathy. *Lancet* **2**, 25 (1963).
- TAKEUCHI, T.: Histochemical demonstration of phosphorylase. *J. Histochem. Cytochem.* **4**, 84 (1956).
- WEGELIN, C.: Die Schilddrüse. In: HENKE-LUBARSCH, *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie*, Bd. 8/1, 1. Berlin: Springer 1929.

Priv.-Doz. Dr. F. MITTELBACH
 II. Med. Klinik der Universität
 8 München 15, Ziemssenstr. 1