

## Zur Ultrastruktur der „Target-Fasern“\*<sup>\*\*</sup>

MASANORI TOMONAGA<sup>\*\*</sup> und ELFRIEDE SLUGA

Neurologisches Institut der Universität Wien (Österreich)  
(Vorstand: Prof. Dr. F. SEITELBERGER)

Eingegangen am 17. Juni 1969

### *The Ultrastructure of „Target Fibers“*

**Summary.** The ultrastructure of the target fibers (W. K. ENGEL, 1961) in muscle fibers of neurogenic atrophy was investigated. The target formation with three concentric zones showed in its central zone disorganized myofilaments with electron dense amorphous material that revealed a continuity with fragmented Z-disks in the intermediate zone. A periodicity, as in the rods of nemaline myopathy, was not observed. In the intermediate zone the Z-disks were disintegrated and associated with disorganized sarcomeres. Sarcoplasmic components were usually increased. The outer zone showed only minimal pathologic changes. These ultrastructural changes are of the *myopathic* type and suggest pathogenetically some intramuscular degenerative process presumably after a long-standing incomplete denervation. The targetoid fibers were also investigated. Some of them occurred in early or late stages of target formation. The ultrastructural similarity of the target fibers with the fiber changes in central core disease is suspected.

**Zusammenfassung.** Die Ultrastruktur der Target-Fasern (W. K. ENGEL, 1961) in Muskelfasern bei neurogener Atrophie wurden untersucht. Die dreizonige Struktur der Target-formation zeigt in der zentralen Zone elektronendichte Zopfbildungen, für die eine Kontinuität mit fragmentierten Z-Streifen in der Zwischenzone nachgewiesen werden konnte. Es besteht keine Periodizität wie in den Stäbchen der Nemaline-Myopathie. In der Zwischenzone finden sich Z-Streifen-Störungen, gefolgt von Ordnungsstörungen der Sarkomeren. Vermehrte sarkoplasmatische Strukturen sind vorhanden. Die Außenzone zeigt wenig pathologische Veränderungen. Diese ultrastrukturellen Befunde weisen eher auf eine Veränderung von myopathischem Typ hin. Pathogenetisch wird ein intramuskulärer Degenerationsprozeß bei inkommpter Denervation vermutet. Targetoid-Fasern wurden untersucht und als Früh- oder Spätstadien der Target-Fasern gedeutet. Die Beziehung der Target-Fasern zu den Faserveränderungen des Central Core Disease werden diskutiert.

Die Target-Faser wurde erstmalig 1961 von ENGEL (W. K.) beschrieben. Sie ist eine in der Folge von Denervation auftretende zentrale cytologische Veränderung an der quergestreiften Muskelfaser. Am Querschnitt erscheint sie in Zonen angeordnet und von schießscheibenartigem Aussehen. Von letzterem wurde der Name abgeleitet. Die typische Target-Faser ist immer ein diagnostischer Hinweis auf einen Denervationsprozeß. ENGEL (W. K.) konnte typische Target-Fasern bei 60% biotisch untersuchter Neuropathien finden, nie bei normalen oder nur myopathisch veränderten Muskeln. Auch bei einem Fall von hypokaliämischer familiärer paroxymaler Lähmung, begleitet von Paramyotonia congenita, konnte ENGEL Target-Fasern finden; er nahm eine funktionelle Denervation als Ursache

\* Nach einem Vortrag, gehalten auf der wissenschaftlichen Tagung der Österreichischen Arbeitsgemeinschaft für Neuropathologie, Juni 1968 in Igls (Tirol).

\*\* Gastwissenschaftler aus der 3. Medizinischen Klinik der Universität Tokio, Tokio, Japan (Vorstand: Prof. Dr. K. NAKAO).

an. Diese Befunde weisen darauf hin, daß die Target-Fasern eine der Folgeerscheinungen von Denervation zu sein scheinen.

Die histo-cytochemischen Untersuchungen von ENGEL (W. K.) (1961, 1962) ergaben, daß die Target-Faser im Querschnitt aus 3 Zonen aufgebaut ist. Vom Zentrum gegen die Faserperipherie unterscheidet man Zone 1, 2 und 3. Zone 1 besteht aus einer gleichmäßig anisotropischen Struktur, in der keine Aktivitäten von myofibrillärer ATPase, mitochondrial-oxydativen und sarkoplasmatischen Enzyme nachgewiesen werden können. Glykogen läßt sich nicht darstellen. In Zone 2 werden Myofibrillen in verminderter Dichte und mit ungeordneter Querstreifung beobachtet; die Aktivitäten von myofibrillärer ATPase, oxydativen und glykolytischen Enzymen und die Glykogenreaktion sind meist vermehrt. Die Zone 3 verhält sich histochemisch normal. ENGEL konnte weiters nachweisen, daß Target-Fasern meist in Typ I-Fasern auftreten. Interessanterweise betreffen die Target-Fasern immer Muskelfasern, deren Kaliber noch normal sind. Es wird daher angenommen, daß sie eine frühe Reaktion der Muskelfasern gegenüber der Denervation darstellen.

Experimentell waren Target-Fasern nur in *M. soleus* (vorzüglich aus Typ I-Fasern bestehend) der tenotomierten Katze darzustellen. Nie konnten sie in akut denervierten Muskeln nachgewiesen werden (W. K. ENGEL et al., 1966).

Außerdem Target-Fasern wurden auch noch andere zentrale Muskelfaserveränderungen mit Zonenbildung beschrieben. Den Target-Fasern ähnlich sind die von W. K. ENGEL (1962) beschriebenen Targetoid-Fasern, die nur aus 2 Zonen aufgebaut sind. Es fehlt ihnen die Zone 2 der Target-Fasern. Die Targetoid-Fasern kommen nicht nur bei neurogenen Atrophien, sondern auch bei verschiedenen Myopathien vor. Sie sind von den echten Target-Fasern abzugrenzen und enthalten keinen diagnostischen Hinweis. In Zonen angeordnete ähnliche Veränderungen zeigen auch die Muskelfasern des Central Core Disease, einer kongenitalen nicht-progressiven Myopathie. Sie können aus 2 oder 3 Zonen aufgebaut sein. Sie verhalten sich histochemisch ähnlich den Target-Fasern; ihre Entstehung in der Folge von Denervation wird von ENGEL (W. K.) angenommen.

Elektronenoptische Untersuchung von Target-Fasern wurde bisher von SHAFIQ et al. (1967) sowie von RESNICK und W. K. ENGEL (1967) in Studien über neurogene Muskelatrophie durchgeführt.

Die eigenen Untersuchungen an Target-Fasern wurden zur weiteren Aufklärung ihrer Feinstruktur und ihrer Beziehung zum Denervationsprozeß durchgeführt.

### Material und Methodik

Muskelgewebe wurde bioptisch aus dem *M. peroneus* von 3 Fällen mit chronischen distalen Neuropathien (NI: B 104/67, B 1/68, B 42/68) entnommen. Die Gewebsstücke wurden in phosphatgepufferten 6%-Glutaraldehyd bei 4° C fixiert, in Palade-Lösung nachfixiert und nach stufenweiser Alkohol-Dehydrierung in Epon (7: 3) über Propylenoxyd eingebettet. Für die vergleichende Lichtmikroskopie wurden semidüne Schnitte hergestellt und mit Toluidinblau gefärbt. Ultradüne Schnitte von ausgewählten Teilen wurden mit einem Reichert-Ultratrom angefertigt und mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden mit einem Zeiss-Gerät Typ EM 9 durchgeführt.

Histologische und histochemische Untersuchungen erfolgten an Paraffinschnitten. Hämatoxylin-Eosin (H. E.), van Gieson, Sudanschwarz B (SSB), Amidoschwarz 10 B (AS 10B) (SEITELBERGER et al., 1957), Kresylviolett (Kv), Periodic acid-Schiff (PAS), Best-Carmin, Alcianblau und Bodian-Silberimprägnation wurden angefertigt.

## Ergebnisse

### Lichtmikroskopische Befunde

Die histologische Untersuchung der Muskelbiopsien zeigte die für neurogene Atrophien charakteristische felderförmige Gruppierung atrophischer Fasern. Die Veränderung dieser Fasern entsprach dem Typ der einfachen Faseratrophie. Die verschmälerten Fasern ließen bis zu einem starken Grad der Atrophie eine intakt erhaltene Querstreifung erkennen. Die Sarkolemmkerne waren vermehrt; einzelne zentrale Kerne traten in Erscheinung. Daneben waren aber auch Veränderungen degenerativ-myopathischer Art vorhanden. Ringbinden, Faserspaltung, Zentralkerne, Faserhypertrophie und „cytoplasmic bodies“ (W. K. ENGEL, 1962)

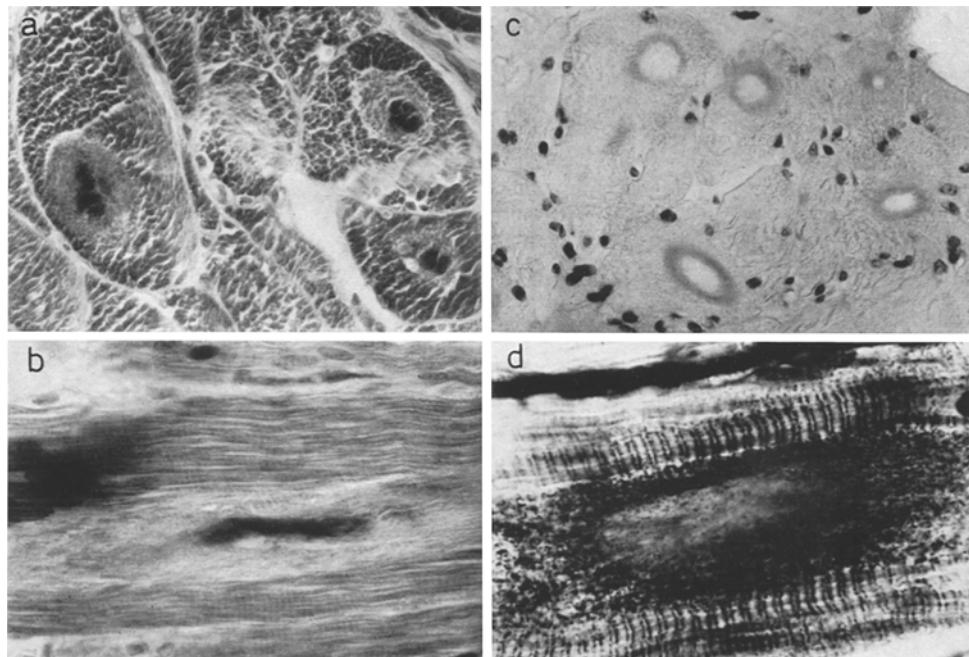


Abb. 1a—d. Histologische und histochemische Darstellung der Target-Fasern. a Amidoschwarz 10 B, Querschnitt, 320×. b Amidoschwarz 10 B, Längsschnitt, 320×. c Kresylviolett, Querschnitt, 320×. d Bodian, Längsschnitt, 800×

kommen vereinzelt zur Beobachtung. Das Endomysium war im Bereich der atrophen Muskelfasergruppen mäßig dicht; die Gefäße erschienen dem Alter entsprechend.

Neben diesen Veränderungen waren in den drei untersuchten Muskeln zahlreiche Target-Fasern in disseminierter Verteilung vorhanden. Die pathologisch veränderte zentrale Region dieser Fasern erstreckt sich über ein oder mehrere Fasersegmente und stellt sich im Querschnitt in typischer Weise als dreischichtige Struktur dar. Die Schichten entsprechen den Zonen 1, 2 und 3 nach ENGEL (W. K.). Zone 1, die zentralste Zone, lässt keine Querstreifung mehr erkennen und färbt sich mit Eosin oder AS 10 B stark an (Abb. 1). PAS-Reaktion, Best-Carmine, SSB-, Alcianblau- und Bodianfärbungen sind in dieser Zone negativ. Es ist keine Basophilie nachweisbar. Diese histologischen und histochemischen Befunde weisen darauf hin, daß die Zone 1 nur verdichtetes homogenes eiweißhaltiges Material enthält und daß in ihr keine sarkoplasmatischen Anteile vorhanden sind. Das eiweißhaltige dichte Material könnte myofibrillären Ursprungs sein. Zone 2 zeigt eine Querstreifung, die aber unregelmäßig, oft zick-zack-förmig oder fragmentiert erscheint. Sie stellt sich mit Eosin, van Gieson und AS 10 B-Färbung nur

schwach dar (Abb. 1). Die normalerweise in den Querstreifen lokalisierte regelmäßige Argyrophilie (Bodian-Imprägnation) ist in dieser Zone unregelmäßig verteilt (Abb. 1), wofür die nichtregelrechte Anordnung membranhaltiger Strukturen (Mitochondrien und sarkoplasmatisches Reticulum) als Grundlage angenommen werden kann. In dieser Schicht zeigen einige Target-Fasern eine starke Basophilie (mit Kv- und HE-Färbung), wie sie in der Regenerationsphase von Muskelfasern bekannt ist (Abb. 1). PAS- und Best-Carmin-Färbung zeigen normale oder verstärkte Reaktion. SSB- und Alcianblau-Färbungen sind negativ. Diese Untersuchungsergebnisse legen nahe, daß die 2. Zone aus wenig dicht gelagerten Myofibrillen mit mangelnder Sarkomerenordnung besteht und vermehrt Sarkoplasmabestandteile enthält. Zone 3, die äußerste Schicht, verhält sich im wesentlichen histologisch und histochemisch wie der normale quergestreifte Muskel.

#### *Elektronenmikroskopische Befunde*

Schon Übersichtsvergrößerungen bestätigen die im Querschnitt dreizonige Struktur der typischen Target-Fasern. Die Zentralzone ist von einer Masse elektronendichten Materials eingenommen. Sie wird umgeben von einer hellen Zone, der Zwischenzone. Mit ziemlich scharfer Begrenzung folgt eine normal geordnete Zone, die Außenzone (Abb. 2). Im Längsschnitt stellen sich in der Zentralzone elektronendichte zopfartige Formationen dar, die keine Z-Streifen erkennen lassen, dann folgt die Zwischenzone mit parallelgeordneten Myofibrillen und fragmentierten Z-Streifen. Die Außenzone zeigt eine normale Myofibrillen- und Sarkomerenanordnung; Invaginationen des Sarkolemm werden beobachtet. Die Kerne liegen meist randständig, einige treten auch in der Zwischenzone auf (Abb. 2). Diese elektronenmikroskopisch abgrenzbaren Zonen entsprechen den Zonen 1, 2 und 3, wie sie sich bei histologischen und histochemischen Anfärbungen darstellen.

Die weitere Strukturanalyse der 3 Zonen ergab folgende Befunde: Mit höherer Vergrößerung lassen sich die zopfartigen Formationen der *Zentralzone* als elektronendichte Massen und ungeordnete Filamente identifizieren. Die elektronendichten Massen sind dem Z-Streifen-Material ähnlich. Im Längsschnitt läßt sich erkennen, daß sie amorph sind, keine geordnete Struktur haben und vor allem keine Periodizität, wie etwa die Stäbchen der Nemaline-Myopathie, aufweisen. Stellenweise sind in diesem Material dünne Filamente zu erkennen (Abb. 3). Auch am Querschnitt besitzen diese Formationen keine geordnete Struktur, insbesondere lassen sich die regelmäßigen gitterförmigen Strukturen der Z-Streifen oder der Nemaline-Stäbchen nicht nachweisen. Es stellt sich ein amorphes elektronendichtes Material dar, in dem unregelmäßig angeordnete Filamente lokalisiert sind. Die zwischen den elektronendichten Massen liegenden ungeordneten Filamente bestehen aus dünnen und dicken Filamenten, die keine regelrechte Anordnung zu Sarkomeren oder Z-Streifen erkennen lassen. Die ungeordneten Filamente sintern mit dem amorphen elektronendichten Material zu Zopfformationen zusammen. Mitochondrien, Glykogengranula und sarkoplasmatisches Reticulum fehlen in dieser Zone. In der Peripherie der Zentralzone sind dagegen verschiedene sarkoplasmatische Bestandteile der Muskelfasern vorhanden. Zwischen unregelmäßig angeordneten Myofilamenten und elektronendichten Massen finden sich Glykogengranula und vesiculäre Struktur, die von degeneriertem sarkoplasmatischen Reticulum oder von degenerierten Mitochondrien stammen dürften (Abb. 3b). In diesem Teil lassen die elektronendichten Massen eine Kontinuität mit fragmentierten Z-Streifen der ungeordneten Myofibrillen in der angrenzenden Zwischenzone erkennen (Abb. 4). Es läßt sich weiters beobachten, daß sich das Z-Streifen-

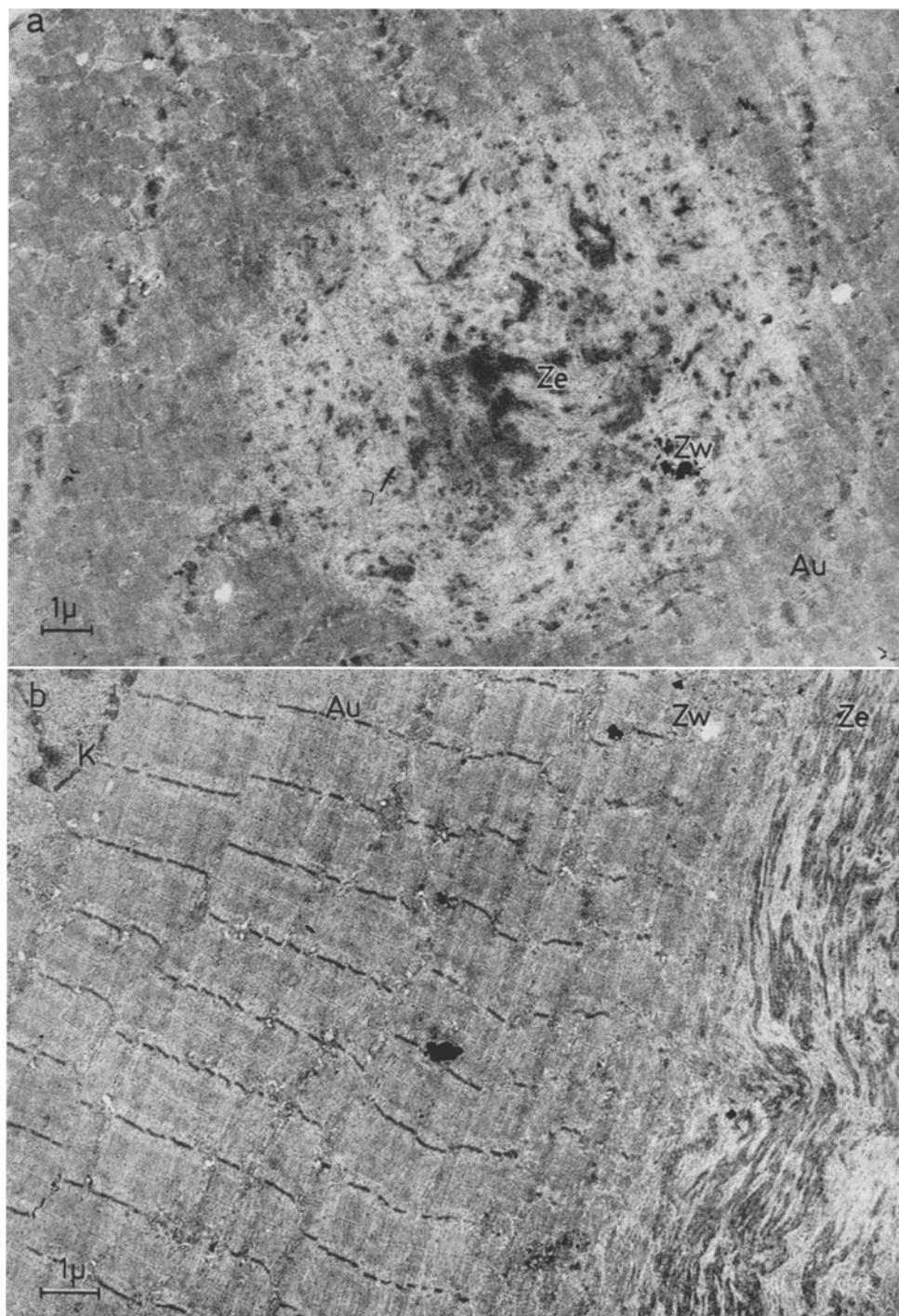


Abb. 2a u. b. Übersichtsbilder der Target-Fasern. a Querschnitt, 1850×. b Längsschnitt, 1850×. Uranylacetat  
Z Z-Streifen, Ze Zentralzone, Zw Zwischenzone, Au Außenzone, Zp Zopfformation, K Kern

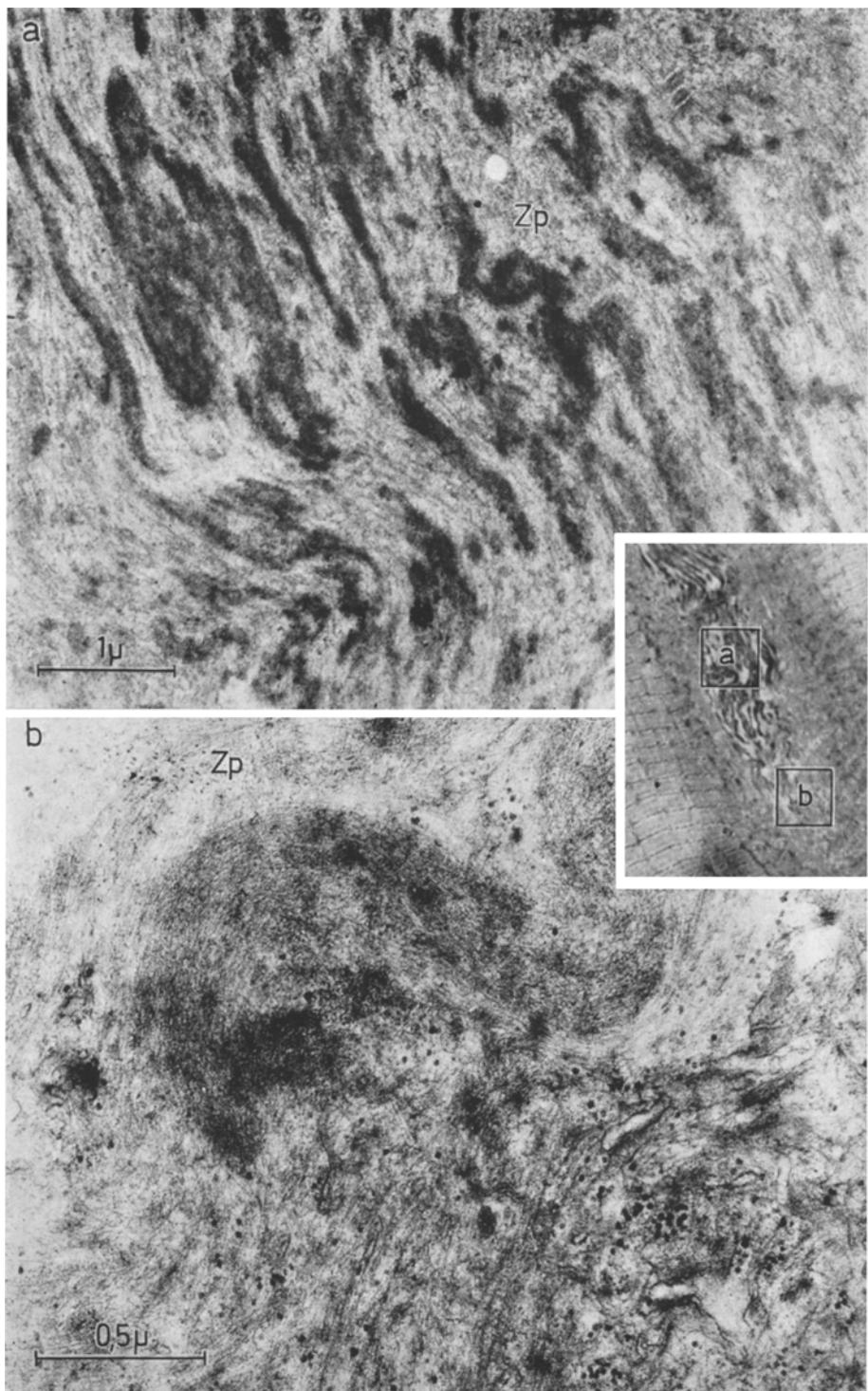


Abb. 3a u. b. Zentralzone der Target-Faser. a Längsschnitt. Zopfformation,  $6000\times$ . b Längsschnitt. Peripherie der Zentralzone,  $18000\times$ . Uranylacetat und Bleicitrat. Inset:  $800\times$

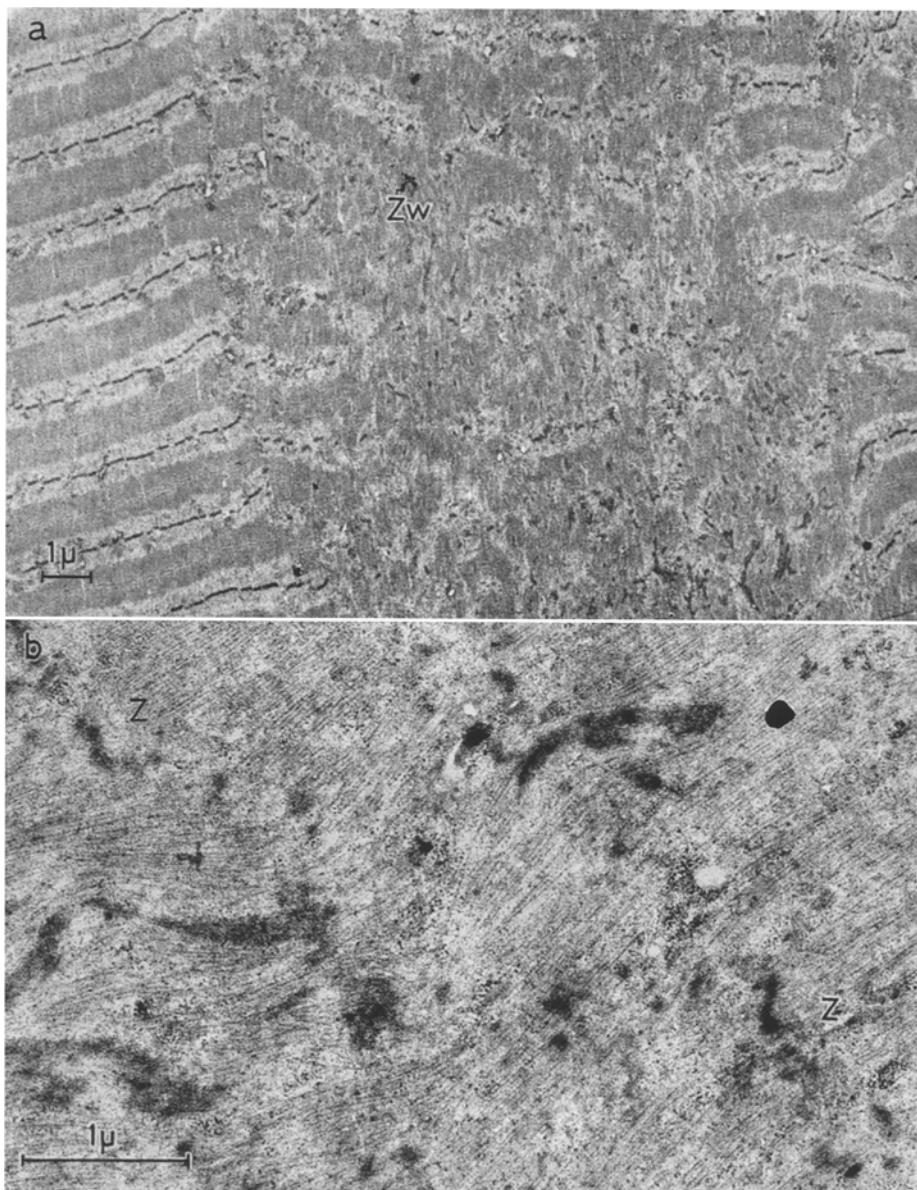


Abb. 4 a u. b. Zwischenzone in der Peripherie der Target-Bildung. a Längsschnitt, 1850×.  
b Längsschnitt, 6000×. Uranylacetat und Bleicitrat

Material entlang der Myofibrillen gegen die Sarkomeren-Mitte zunehmend ausdehnt. Diese Verbreiterung der Z-Streifen führt zu Konfluenz des Z-Streifen-Materials innerhalb eines Sarkomeres, wodurch elektronendichte amorphe Massen entstehen, in denen ungeordnete Filamente eingelagert sind. Damit scheint der Nachweis erbracht, daß das elektronendichte Material der zopfförmigen Formationen der Zentralzone, aus dem Z-Streifen-Material stammt.

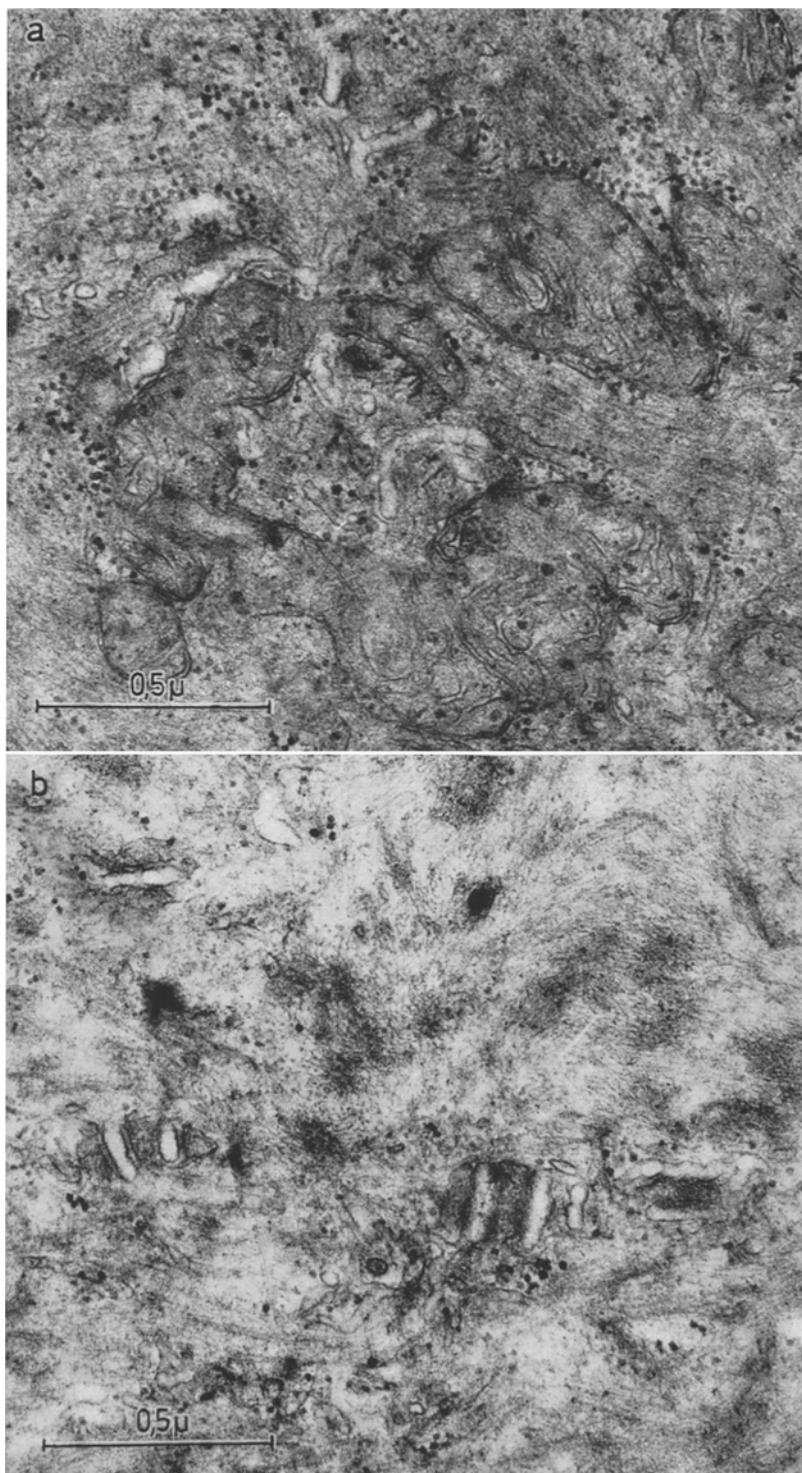


Abb. 5a u. b. Zwischenzone. a Längsschnitt. Aggregat der Mitochondrien, 18000  $\times$ . b Längsschnitt. Anteile tubulärer Strukturen, 18000  $\times$ . Bleicitrat

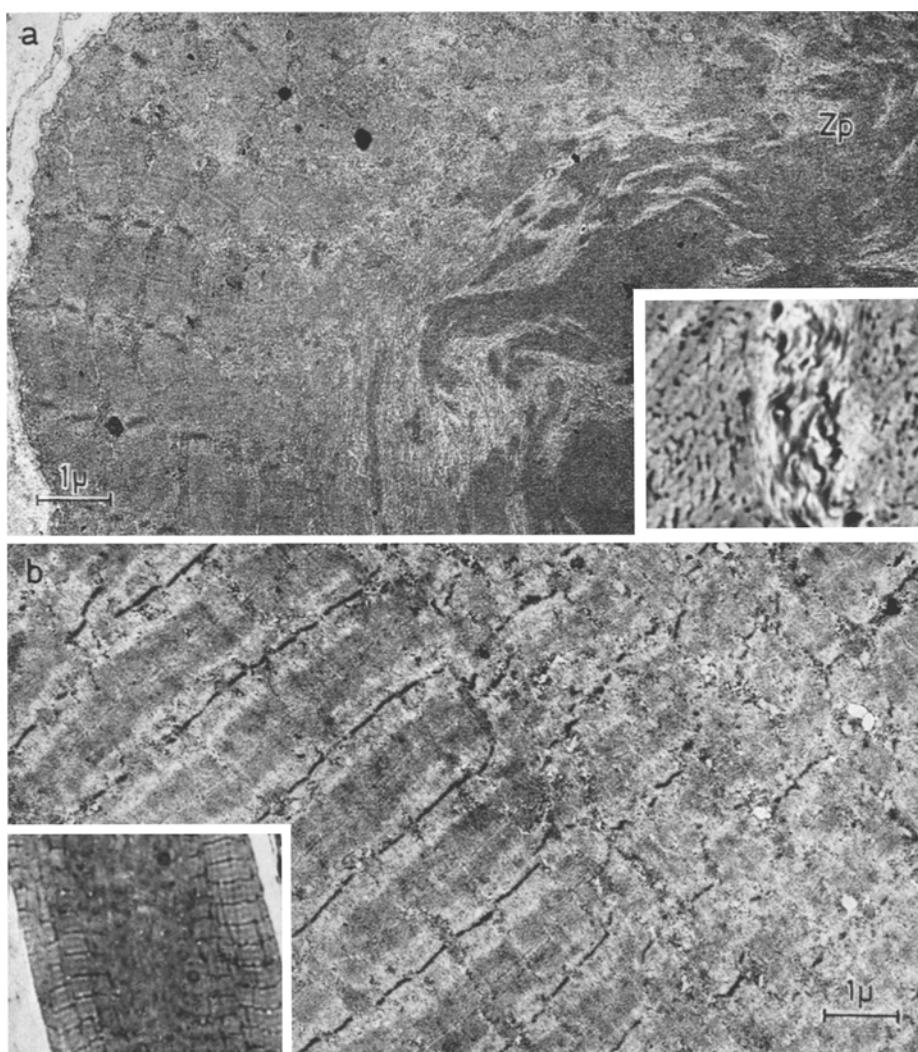


Abb. 6 a u. b. Zweizonige Faserveränderung (Targetoid-Faser). Längsschnitt, 1850  $\times$ . Bleicitrat

Die *Zwischenzone* zeigt den Übergang zwischen dem normalen Muskelfaserteil und dem pathologisch veränderten „Target“. Im äußeren Teil dieser Zone ordnen sich die Sarkomeren regelrecht an, aber es lassen sich schon Veränderungen der Z-Streifen nachweisen. Diese bestehen in Fragmentierung, Zickzack-Veränderung und teilweisem Schwund (Abb. 4). Gegen das Faserzentrum zu werden die Z-Streifen zunehmend fragmentiert und die Sarkomerenordnung geht verloren (Abb. 4). Die Myofilamente treten ungeordnet auf und gegen die Zentralzone zu verbucken diese ungeordneten Filamente mit dem verbreiterten Z-Streifen-Material zu den beschriebenen Zopfformationen. Die Mitochondrien sind in der Zwischenzone an Zahl vermehrt; oft liegen mehrere nebeneinander (Abb. 5). Ihre Struktur ist normal. In den ungeordneten Sarkomeren lassen sich zahlreiche Vesikel des

Tabelle 1. *Histochemie und Ultrastruktur der Target-Faser*

	Zone		
	I	II	III
<i>Histochemie</i>			
Oxydative Enzyme	—	+/ $\pm$	normal
Sarkoplasmatische Enzyme	—	+/ $\pm$	normal
Myofibrillenenzyme	—	+	normal
Glykogen	—	+	normal
Saure Mucopolysaccharide	—	—	normal (—)
RNA-Reaktion	—	+/ $\pm$	normal (—)
Eiweiß	+	$\pm$	normal
Lipid	$\pm$	—	normal
<i>Ultrastruktur</i>			
Myofilamente	Zopf-formation	ungeordnet	fast normal
Z-Streifen	—	fragmentiert	normal
Mitochondrien	—	teilweise vermehrt	normal
Sarkoplasmatisches Reticulum	—	disorganisiert	teilweise erweitert
Glykogengranula	—	vermehrt	normal
Ribosomen	—	vermehrt	teilweise vermehrt

+ = vermehrt,  $\pm$  = vermindert, — = negativ.

sarkoplasmatischen Reticulums erkennen; einige davon zeigen triaden- oder pentadenähnliche Strukturen (Abb. 5b). Glykogengranula sind vermehrt. Im Sarkoplasma, besonders zwischen noch geordneten Myofibrillen in den Zwischenzonen finden sich viele Granula, die kleiner als Glykogengranula sind und sich mit Uranylacetat gut kontrastieren lassen. Sie können als freie Ribosomen angesehen werden.

Die *Außenzone* zeigt außer einigen umschriebenen Veränderungen normale Muskelfaserstruktur. Gelegentlich sind eine Sarkomere mit Z-Streifen-Schwund, gestörte Myofilamenten-Anordnung oder Verlust von Filamenten anzutreffen. Myelinfiguren-artige Degeneration der Mitochondrien, vacuolige Erweiterung des sarkoplasmatischen Reticulums und Invagination des Sarkolemm kann mehrfach beobachtet werden.

Außer den beschriebenen typischen Target-Fasern finden sich in dem untersuchten Muskelgewebe auch Muskelfasern mit zweizoniger Veränderung. Diese kann verschieden angeordnet sein: 1. Fasern mit Zopfformationen im Zentrum der Faser; ungeordnete Myofibrillen mit sarkoplasmatischen Massen an der Peripherie der Faser und Invagination des Sarkolemm in der äußeren Zone (Abb. 6a). Diese treten in sehr atrophen Muskelfasern auf. 2. Fasern mit einer aus ungeordneten Sarkomeren und fragmentierten Z-Streifen bestehenden inneren Zone, die der

Zwischenzone der Target-Faser ähnlich ist. Dort waren auch unregelmäßig geordnete Vesikeln des sarkoplasmatischen Reticulums, vermehrte Mitochondrien und Glykogengranula vorhanden (Abb. 6b). Eine normal angeordnete äußere Zone schloß sich an.

In einer Übersichtstabelle sind die elektronenmikroskopischen und histochemischen Befunde der Target-Fasern zusammen mit den bisherigen enzym-histochemischen Beobachtungen von ENGEL (W. K.) vergleichend dargestellt (Tabelle 1).

### Diskussion

#### *1. Feinstruktur der Target-Faser und ihr Zusammenhang mit Denervation*

Die eigenen histochemischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Target-Fasern lassen erkennen, daß die Zentralzone aus verdichtetem eiweiß-positiven Myofibrillenmaterial und amorphem elektronendichten Material besteht, die sich zu zopfförmigen Formationen zusammenlagern. Sarkoplasmatische Strukturen fehlen. Diese Befunde wurden schon von SHAFIQ et al. beschrieben. Wegen der Ähnlichkeit in der Elektronendichte wurde angenommen, daß das amorphe Material aus dem Z-Material stammt. Die eigenen Untersuchungen konten aber den direkten Übergang von Z-Streifen-Material der Zwischenzone in die amorphe Substanz der Zopfformation der Zentralzone sowie deren Bildungsweg nachweisen. Es erscheint daher die Annahme bestätigt, daß das amorphe Material in den Zopfbildungen aus Z-Streifen-Material stammt. Diese enge Beziehung der zentralen Formation zu den Z-Streifen läßt an die Stäbchenbildung im Muskel bei Nemaline-Myopathie denken, für die eine Überproduktion des Tropomyosins in den Z-Streifen angenommen wird (GONATAS, 1966; PRICE et al., 1965). Im Gegensatz zu den Stäbchen der Nemaline-Myopathie aber fehlt dem elektronendichten Material der Target-Faser eine scharfe Grenze und die axiale Periodizität, die ein sehr charakteristischer Befund der Nemaline-Stäbchen ist (SHY et al., 1963; COHEN et al., 1963; W. K. ENGEL et al., 1964; PRICE et al., 1965; GONATAS et al., 1966; GONATAS, 1966; A. G. ENGEL, 1966; A. G. ENGEL et al., 1967; HUDGSON et al., 1967; SHAFIQ et al., 1967; NAKAO et al., 1968). Auch die im Querschnitt charakteristische gitterförmige Ordnung der Nemaline-Stäbchen fehlt den zentralen Formationen der Target-Fasern (GONATAS, 1966; GONATAS et al., 1966; PRICE et al., 1965; A. G. ENGEL, 1966). Interessant ist eine Beobachtung von A. G. ENGEL (1966), der bei Fällen von spätbeginnender Nemaline-Myopathie Zopfformationen (streaks of amorphous material of Z-disk density) zusammen mit den Stäbchenbildungen beobachten konnte. Er nahm an, daß sowohl die Stäbchenbildung und als auch die Zopfformation von ordnungsgestörten Z-Streifen-Material ausgehen können und daß diese Veränderungen zwei verschiedene pathologische Reaktionen der Z-Streifen darstellen. Zopfformationen sind nicht nur bei Neuropathien, sondern auch bei verschiedenen Myopathien und sogar in normalen Muskeln beschrieben (TICE et al., REWCASTLE et al., SEITELBERGER et al., AFIFI et al., MILHORAT et al., PELLEGRINO et al., SCHMALBRUCK, HAUSMANOWA-PETRUCEWICZ et al., SLUGA). Diese Beobachtungen weisen darauf hin, daß Zopfformationen in Muskelfasern keine für die neurogene Atrophie spezifischen Erscheinungen sind.

Die Befunde der Zwischenzone der Target-Faser lassen erkennen, daß die Veränderung der Myofibrillen erst in der Folge der Z-Streifen-Veränderung beginnen und vorerst nur in einer strukturellen Ordnungsstörung bestehen. Diese

Art der Myofilamententstörung entspricht eher dem Typ myopathisch-degenerativer Veränderung. Bei neurogener Atrophie ist bisher von mehreren Autoren (WECHSLER et al., ROTH et al., SLUGA, 1965) als charakteristische Veränderung die einfache Atrophie beschrieben, die einem Abbau der Myofilamente entspricht. Die Z-Streifen und Filamentenordnung bleiben dabei lange erhalten. Die Art des pathologischen Prozesses in der Target-Faser ist daher nicht charakteristisch für die typische neurogene Muskelfaseratrophie.

Es ist jedoch bekannt, daß bei neurogener Atrophie oft begleitende myopathische Veränderungen auftreten können (Begleitmyopathien, MITTELBACH), besonders bei chronisch verlaufenden Prozessen wie der Charcot-Marie-Toothschen Krankheit (HAASE et al., BRODAL et al., LUCAS et al.), der spinalen Muskelatrophie vom Kugelberg-Welander-Typ (TSUKAGOSHI et al.) und unter anderen beim Status post Poliomyelitis (DRACHMANN et al.).

Begleitende myopathische Veränderungen wie Ringbinden, Faserspaltung, Hypertrophie und Zentralkerne waren auch in unseren Biopsien vorhanden. Es stellt sich daher die Frage, ob die Target-Fasern Veränderungen im Rahmen der *Begleitmyopathien* bei Denervation sind. Dazu ist zu erwähnen, daß sich typische Target-Fasern nie bei echten Myopathien finden lassen. Dreizonige Target-Veränderungen treten nur bei Denervation auf. Es scheint daher doch wahrscheinlicher, daß ein Zusammenhang mit dem Denervationsprozeß besteht. Da Target-Fasern nur bei chronischer, nie bei akuter experimenteller Denervation manifest werden (W. K. ENGEL et al., 1966), weiters, da sie immer in Fasern zu finden sind, deren Kaliber noch kaum verändert ist, und da ferner die Veränderungen immer zentral lokalisiert sind, erscheint uns die Überlegung erlaubt, ob sie nicht im Zusammenhang mit inkompletter Denervation auftreten. Da aus elektrophysiologischen Untersuchungen bekannt ist, daß die Verzweigungen des T-Systems des sarkoplasmatischen Reticulums an der Oberfläche dichter angeordnet sind als in der Tiefe der Muskelfaser (SUGI et al.), könnte man weiters annehmen, daß bei einer inkompletten Denervation vor allem im Faserzentrum eine intramuskuläre Reizleitungsstörung auftritt. In deren Folge dürfte sich nun nicht die typische einfache neurogene Faseratrophie der kompletten Denervation ausbilden, sondern — vielleicht unter Mitwirkung einer metabolischen Störung — eine degenerativ-myopathische Veränderung etablieren, die zur Bildung der typischen dreischichtigen Target-Faser führt. Interessant hinsichtlich dieser vermuteten Pathogenese der Target-Faser sind die Befunde von ENGEL (W. K.) (1965), FENICHEL et al. und MARTIN et al., die beobachteten, daß Target-Veränderungen vorwiegend in Muskelfasern des Typ I auftreten. Die Typ I-Fasern entsprechen elektronenoptisch jenen Fasern, die reich an Mitochondrien und arm an sarkoplasmatischem Reticulum sind (PELLEGRINO et al., TICE et al.). Die Möglichkeit der partiellen intramuskulären Reizleitungsstörung besteht um so leichter. Veränderungen des sarkoplasmatischen Reticulums sind bei Target-Fasern oft zu finden. Bemerkenswert ist auch eine hochgradige Proliferation des sarkoplasmatischen Reticulums im Subsarkolemm bei neurogener Atrophie (SHAFTIQ et al., 1967). Target-Fasern treten auch in der Folge eines Anfalls von paroxysmaler Lähmung auf (W. K. ENGEL, 1962, W. K. ENGEL et al., 1966), die als eine funktionelle Denervation interpretiert wird. Auch bei dieser Erkrankung bestehen Veränderungen des sarkoplasmatischen Reticulums. Vacuolige Dilatation im Anfall, besonders subsarkolemmal (ODOR et al., SEITELBERGER et al., 1965; A. G. ENGEL, 1966; HOWES et al.,

1966) wird beschrieben. Eine intramuskuläre Reizleitungsstörung des T-Systems des sarkoplasmatischen Reticulums im Zusammenhang mit den metabolischen Störungen könnte auch für diese Erkrankung zur Diskussion gestellt werden.

Andere histochemisch-elektronenoptische Untersuchungen der Zwischenzone stellen ein weiteres Problem zur Diskussion. Wie ausgeführt finden sich in der Zwischenzone vermehrte Glykogengranula, Mitochondrien und Vesikeln des sarkoplasmatischen Reticulums. Auch die Ribosomen sind vermehrt. Es ergibt sich nun die Frage, ob diese Befunde einer Reaktion auf den Degenerationsprozeß oder nur einer vermehrten Sarkoplasmaphase in der Folge des Myofibrillenverlustes entsprechen. Histochemisch zeigt diese Zone meist eine vermehrte Aktivität der myofibrillären ATPase trotz verminderten Myofilamenten, was eher einem Reaktionsprozeß entspricht. Als reaktiv ist auch die Vermehrung von Ribonucleinsäuren dieser Zone zu deuten, die elektronenoptisch und durch die Basophilie bei Kv- und HE-Färbung erfaßbar war. Auch bei Fluoreszenzuntersuchungen von PERL mit Akridinorange-Färbungen konnte eine RNA-Vermehrung beobachtet werden.

### *2. Beziehung zur Targetoid-Faser*

Von den beobachteten atypischen zweizonigen Fasern, die Targetoid-Fasern entsprechen, weist ein Typ in der zentralen Zone die Zopfformationen auf, und die Zwischenzone fehlt. Dieser Typ ist häufig in atrophischen Fasern anzutreffen und zeigt die Veränderungen der einfachen Faseratrophie in der äußeren Zone. Diese Art der Targetoid-Fasern könnte Target-Faser-Bildungen in einem weiter fortgeschrittenen Stadium entsprechen. Andere zweizonige Fasern zeigen in der Zentralzone nur ungeordnete Sarkomeren und vacuolige Veränderungen des sarkoplasmatischen Reticulums; Zopfbildungen sind nicht aufgetreten. Dieser Typ ist immer in normal kalibrierten Fasern manifest und kam ein Vorstadium der dreizonigen Target-Fasern sein. SHAFIQ et al. (1967) berichteten über Targetoid-Fasern, deren Aufbau von den beiden beobachteten Typen verschieden ist. Ihre zentrale Zone ist mit dichtgepackten Myofilamenten, dazwischen unregelmäßig gemischten elektronendichten Massen und verbreiterten Vesikeln des sarkoplasmatischen Reticulums besetzt, wie es im Frühstadium der Target-Faser zu beobachten ist. Es scheint uns daher, daß Targetoid-Fasern und Target-Fasern im wesentlichen gleichartige Faserveränderungen sind. Die Targetoid-Fasern entsprechen den Früh- oder Spätstadien der Target-Fasern.

### *3. Zusammenhang mit Central Core-Fasern*

Die Pathogenese des Central Core Disease und ihre Beziehung zu den Target-Fasern werden seit Jahren diskutiert. Auch die Central Core-Faser besteht aus 2 oder 3 Zonen (W. K. ENGEL et al., 1961, 1965, 1966) und findet sich oft in Typ I-Fasern (W. K. ENGEL, 1965; BETHLEM et al.; DUBOWITZ et al.). ENGEL (W. K.) behauptet, daß histologisch, histochemisch und elektronenmikroskopisch nur wenige Unterschiede zwischen den beiden Fasertypen bestehen und daß das Central Core Disease eine hereditäre kongenitale nichtprogressive Neuropathie sein könnte. Bei genauer Analyse der bisher bekannten und unserer histochemisch-elektronenmikroskopischen Befunde lassen sich folgende Unterschiede bzw. Gemeinsamkeiten zwischen den beiden Fasertypen finden (Tabelle 2):

Tabelle 2. *Vergleich mit Central Core-Fasern*

	Core <sup>c</sup>	Target-Zone 1	Target-Zone 2
<i>Histochemie</i>			
Amidoschwarz 10B	+	+	±
PAS	+/- <sup>a</sup>	-	+/N
Carmin	-	-	+
Alcianblau	+	-	-
Sudanschwarz B	-	-/±	-
Kresylviolett	± <sup>a</sup>	-	+
Enzyme: Oxydative	- <sup>a</sup>	-	+/±
Glykolytische	- <sup>a</sup>	-	+/±
Myofibrillen	- <sup>a</sup>	-	+
<i>Elektronenmikroskopie</i>			
Zopfbildung	(+)	(+)	(-)
Z-Band-Störung	(+)	(+) Peripherie	(+)
Sarkoplasmateile	(-)/(+) <sup>b</sup>	(-)	(+)
Myofibrillenstörung	(-)	(+)	(-)/(+)

± vermehrt, ± vermindert, N normal, - negativ, (+) positiv, (-) negativ.

<sup>a</sup> W. K. ENGEL et al. (1961).

<sup>b</sup> GONATAS et al. (1965).

<sup>c</sup> SEITELBERGER et al. (1961).

*Histochemisch* (SEITELBERGER et al., 1961) zeigt sich die PAS-Reaktion und Alcianblau-Färbung in den Cores positiv und in der Target-Zone 1 negativ. Die Target-Zone 2 ist PAS-positiv und alcianblaunegativ. Sowohl in Cores als auch Target-Zone 1 sind Eiweißfärbungen positiv und Karmin-, Sudanschwarz B-Färbungen negativ. Die Target-Zone 2 ist karminpositiv, eweiß- und Sudanschwarz B-schwachgefärbt. Die Kresylviolettfärbung ist positiv in Cores (W. K. ENGEL, 1961) und in der Target-Zone 2.

*Elektronenoptisch* (SEITELBERGER et al., 1961) zeigt die Central Core-Faser zopfartige Myofibrillenveränderung im zentralsten Anteil, gefolgt von deutlichen Zickzack-Veränderungen der Z-Streifen. In diesem Bereich fehlen sarkoplasmatische Bestandteile. Der pathologische Prozeß der Myofibrillen in Cores entspricht jenem der Zentral- und Zwischenzone der Target-Fasern. In der Zwischenzone der Target-Fasern sind aber vermehrte sarkoplasmatische Anteile vorhanden. Einige histochemische Unterschiede der beiden Fasertypen scheinen von den unterschiedlichen Anteilen sarkoplasmatischer Strukturen her zu kommen. GONATAS et al. (1965) konnte in den Cores andersartige elektronenoptische Veränderungen finden. Bei seinen Fällen war keine Zopfbildung aufgetreten, sondern es bestand ein Schwund der Z-Streifen bei geordneten Sarkomeren. Mitochondrien und sarkoplasmatisches Reticulum waren vorhanden. Diese Veränderungen entsprechen der Zwischenzone der Target-Fasern. Die Ähnlichkeit dieser Befunde mit Störungen der Sarkomeren, die von PELLEGRINO et al. als degenerative Veränderung bei der neurogenen Atrophie berichtet wurden, legt nahe, daß das Central Core Disease eine sehr langsam progrediente Denervation sein könnte. Histochemische und elektronenoptische Befunde lassen eine gewisse Ähnlichkeit zwischen Central Core-Fasern und Target-Fasern erkennen; jedoch sind noch weitere Nachweise erforderlich, um Gemeinsamkeiten der Pathogenese ableiten zu können.

## Literatur

- AFIFI, A. K., F. P. ALEU, J. GOODGOLD, and B. MACKAY: Ultrastructure of atrophic muscle in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology (Minneap.)* **16**, 475—481 (1966).
- BETHLEM, J., J. van GOOL, W. C. HÜLSMAN, and A. E. F. H. MEIJER: Familial non progressive myopathy with muscle cramps after exercise. *Brain* **90**, 569—588 (1967).
- BRODAL, A., V. BOYESEN, and A. G. FROVIG: Progressive neuropathic (peroneal) muscular atrophy (Charcot-Marie-Tooth disease). *Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.)* **70**, 1—29 (1953).
- DRACHMAN, D. B., S. R. MURPHY, M. P. NIGAM, and J. R. HILLE: Myopathic changes in chronically denervated muscle. *Arch. Neurol. (Chic.)* **16**, 14—24 (1967).
- DUBOWITZ, V., and M. PLATTS: Central core disease of muscle with focal wasting. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* **28**, 432—437 (1965).
- ENGEL, A. G.: Late onset rod myopathy. *Proc. Mayo Clin.* **41**, 713—741 (1966).
- Primary hypokalemic and thyrotoxic periodic paralysis. *Proc. Mayo Clin.* **41**, 797—808 (1966).
- , and M. R. GOMEZ: Nemalin (Z-disk) myopathy: Observations of the origin, structure and solubility properties of the nemaline structures. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **26**, 606—619 (1967).
- ENGEL, W. K.: Muscle target fibers, a newly recognized sign of denervation. *Nature (Lond.)* **4786**, 389—390 (1961).
- The essentiality of histo- and cytochemical studies of skeletal muscle in the investigation of neuromuscular diseases. *Neurology (Minneap.)* **12**, 778—794 (1962).
- Histochemistry of neuromuscular disease. — Significance of muscle fiber types. *Proc. 8. ICN Vienna, Neuromuscular diseases*, p. 67—101 (1965).
- The multiplicity of pathologic reactions of human skeletal muscles. *Proc. 5. ICNeuropath. Zürich* (1965).
- , and M. H. BROOKE: Histochemistry of the myotonic disorders. In: *Progressive Muskel-dystrophie, Myotonie, Myasthenie*, edit. by E. KUHN S. 203—222. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966.
- , and P. G. NELSON: Histochemical studies of denervated or tenotomized cat muscle, illustrating difficulties in relating experimental animal conditions to human neuromuscular diseases. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **138**, 160—185 (1966).
- , J. B. FOSTER, B. P. HUGHES, H. B. HUXLEY, and R. MAHLER: Central core disease — an investigation of a rare muscle cell abnormality. *Brain* **84**, 167—185 (1961).
- T. WANKO, and G. M. FENICKEL: Nemaline myopathy, a second case. *Arch. Neurol. (Chic.)* **11**, 22—39 (1964).
- FENICHEL, G. M., and W. K. ENGEL: Histochemistry of muscle in infantile muscular atrophy. *Neurology (Minneap.)* **2**, 1059—1066 (1963).
- GONATAS, N. K., M. C. PEREZ, G. M. SHY, and I. EVANGELISTA: Central “core” disease of skeletal muscle. Ultrastructural and cytochemical observations in two cases. *Amer. J. Path.* **47**, 503—524 (1965).
- 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 (1966).
- G. M. SHY, and E. H. GODFREY: Nemaline myopathy, the origin of nemaline structure. *New Engl. J. Med.* **274**, 535—539 (1966).
- HAASE, G. R., and G. M. SHY: Pathological changes in muscle biopsies from patients with peroneal muscular atrophy. *Brain* **83**, 631—637 (1960).
- HAUSMANOVA-PETRUSEWICZ, I., W. ASCANAS, B. BADURSKA, B. EMERYK, A. FIDZIANSKA, W. GARBALINSKA, L. HETNARSKA, H. JEDRZEJOWSKA, Z. KAMINECKA, I. NIBROJ-DOBOSZ, J. PROT, and E. SAWICKA: Infantile and juvenile spinal muscular atrophy. *J. neurol. Sci.* **6**, 269—287 (1968).
- HOWES, E. L., JR., H. M. PRICE, C. M. PEARSON, and J. M. BLUMBERG: Hypokalemic periodic paralysis, electron microscopic changes in the sarcoplasm. *Neurology (Minneap.)* **16**, 242—256 (1966).
- LUCAS, G. J., und F. M. FORESTER: Charcot-Marie-Tooth disease with an associated myopathy, a report of a family. *Neurology (Minneap.)* **12**, 629—636 (1962).
- MARTIN, L., et J. RENIERS: Etude histo-enzymatiques du muscle, 1. Dans l’amiotrophie neurogène proximale (KUGELBORG-WELANDER). *Acta neuropath. (Berl.)* **9**, 328—334 (1967).

- MILHORAT, A. T., S. A. SHAFIQ, and L. GOLDSTONE: Changes in muscle structure in dystrophic patients, carrier and normal siblings seen by electron microscopy; correlation with levels of serum creatine-phosphokinase (CPK). *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **138**, 246—292 (1966).
- MITTELBACH, F.: Die Begleitmyopathie bei neurogenen Atrophien. Springer-Verlag 1958.
- NAKAO, K., M. TOMONAGA, T. MURO, S. KIRO, and T. MOZAI: A case of congenital myopathy with special findings in its biopsied muscle — “nemaline myopathy”. *Clin. Neurology (Japan)* **8**, 404—413 (1968).
- ODOR, D. L., A. N. PATEL, and L. A. PEARCE: Familial hypokalemic periodic paralysis with permanent myopathy. A clinical and ultrastructural study. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **26**, 98—114 (1967).
- PELLEGRINO, L., and C. FRANZINI: An electron microscopic study of denervation atrophy in red and white skeletal muscle fibers. *J. Cell Biol.* **17**, 327—349 (1963).
- PERL, D. P., J. H. SHER, and S. M. ARONSON: Acridine orange fluorochrome staining of RNA in atrophic and regenerating skeletal muscle. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **27**, 110—111 (1968).
- PRICE, H. M., G. B. GORDON, C. M. PEARSON, T. L. MUNSAT, and J. M. BLUMBERG: New evidence for excessive accumulation of Z-Band material in nemaline myopathy. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **54**, 1398—1406 (1965).
- RESNIK, J. S., and W. K. ENGEL: Target fibers — structural and cytochemical characteristics and their relationship to neurogenic muscle disease and fiber types. *Proc. Int. Conf. converted by MDAA, Excerpta Medica Int. Congr. Series No 147*, S. 255—267 (1966). New York.
- REWCASLE, N. B., and J. G. HUMPHREY: Vacuolar myopathy: Clinical, histochemical and microscopic study. *Arch. Neurol. (Chic.)* **12**, 570—582 (1965).
- ROTH, R. G., L. H. GRAZIANI, R. D. TERRY, and L. C. SCHEINBERG: Muscle fiber structure in the Kugelberg-Welander syndrome (chronic muscular atrophy). *J. Neuropath. exp. Neurol.* **24**, 444—454 (1965).
- SCHMALBRUCH, H.: Lyse und Regeneration von Fibrillen in der normalen menschlichen Skelettmuskulatur. *Virehows Arch. Abt. A Path. Anat.* **344**, 159—171 (1968).
- SEITELBERGER, F., und L. STOCKINGER: Bioptischer Befunde bei paroxysmaler Lähmung. *Proc. 8. ICN Vienna, Neuromuscular diseases*, p. 193—194 (1965).
- G. VOGEL, u. H. STEFAN: Spätautonale amaurotische Idiotie. *Arch. Psychiat. Nervenkr.* **196**, 154—190 (1957).
- T. WANKO, and M. A. GAVIN: Central core disease. *Acta neuropath. (Berl.)* **1**, 223—237 (1961).
- SHAFIQ, S. A., and A. T. MILHORAT: Some comments on the specificity of alterations in the fine structure in muscle disease. *Proc. Int. Conf. converted by MDAA*, p. 268—273 (1966), *Excerpta Medica Int. Congr. Ser. No 147*, New York.
- —, and M. A. GORYCKI: Fine structure of human muscle in neurogenic atrophy. *Neurology (Minneapolis)* **17**, 934—948 (1967).
- SHY, G. M., W. K. ENGEL, J. E. SOMERS, and T. WANKO: Nemaline myopathy: A new congenital myopathy. *Brain* **86**, 793—810 (1963).
- SLUGA, E.: Zur Ultrastruktur der neurogenen Muskelatrophie. *Proc. 8. ICN Vienna, Neuromuscular diseases*, p. 193—194 (1965).
- unpublished data.
- SUGI, H., and R. OCHI: The mode of transverse spread of contraction initiated by local activation in single crayfish muscle fibers. *J. gen. Physiol.* **50**, 2145—2166 (1967).
- — The mode of transverse spread of contraction initiated by local activation in single frog muscle fibers. *J. gen. Physiol.* **50**, 2167—2176 (1967).
- TICE, L. W., and A. G. ENGEL: The effects of glucocorticoids on red and white muscles in the rat. *Amer. J. Path.* **50**, 311—333 (1967).
- TSUKAGOSHI, H., T. NAKANISHI, K. KONDO, and T. TSUBAKI: Hereditary primary neurogenic muscular atrophy in adult. *Arch. Neurol. (Chic.)* **12**, 597—603 (1965).
- WECHSLER, W., u. H. HAGER: Elektronenmikroskopische Befunde an der quergestreiften Skelettmuskulatur bei spinal bedingter Muskelatrophie. *Naturwissenschaften* **47**, 604—605 (1960).

M. TOMONAGA und E. SLUGA  
Neurologisches Institut  
A-1090 Wien, Schwarzenbergstr. 17 (Österreich)