

## Über das Verhalten der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase beim experimentellen Herzinfarkt der Ratte

Vergleichende histochemische und plasmachemische Untersuchungen

ULRICH DESSELBERGER und HEINRICH H. SCHNEIDER

Pathologisches Institut der Freien Universität Berlin im Klinikum Westend  
(Direktor: Prof. Dr. V. Becker)

Eingegangen am 18. Juli 1970

### The Activity of Glutamic Oxalacetic Transaminase following Experimental Myocardial Infarction of the Rat

Comparative Histochemical and Plasmachemical Investigations

*Summary.* Myocardial infarction was produced in the rat by ligation of the left coronary artery. The activity of GOT in myocardium was demonstrated by a histochemical method. Simultaneously the level of GOT in the plasma was measured. Two hours after ligation first diminution of GOT activity was demonstrable in the ischemic heart muscle. At the same time the level of GOT activity in plasma began to increase. There was a direct relationship between the rise of enzyme activity in blood and the size of myocardial infarction. It is suspected by electron microscopic findings, that the histochemical reaction of GOT demonstrates the mitochondrial part of the enzyme. The loss of GOT activity in isoproterenolsulfate-produced heart muscle necroses was demonstrated histochemically. Autolysis did not interfere with the activity of GOT in tissue within 42 hours after death. Furthermore we succeeded in diagnosing early myocardial infarction (4 hours) by the histochemical demonstration of GOT 22 hours post mortem. The enzyme also was stable in plasma. There was a loss of only 2% activity in plasma, which was stored at 4° C for 54 days after withdrawal.

*Zusammenfassung.* Das Verhalten der GOT-Aktivität beim experimentellen Herzinfarkt der Ratte wurde mit histo- und plasmachemischen Methoden untersucht. Es wurde nachgewiesen, daß 2 Std nach der Coronarligatur eine Ausschwemmung des Fermentes aus dem ischämischen Gebiet in das Blutplasma beginnt. Es fand sich eine direkte Beziehung zwischen der Rate der GOT-Aktivitätsverhöhung im Blut und der Größe des Myokardinfarktes. Die elektronenoptischen Befunde lassen vermuten, daß mit der histochemischen GOT-Reaktion vorwiegend mitochondriales Ferment dargestellt wird. Mit gleicher Methodik wurde gezeigt, daß auch die durch Isoproterenolsulfat geschädigten Herzmuskelfasern ihre GOT-Aktivität verlieren. Ergänzend werden Untersuchungsergebnisse über die Stabilität der GOT im Herzmuskel und im Plasma mitgeteilt. Mit dem histochemischen Nachweis der GOT gelang es auch nach 42 Std dauernder postmortaler Autolyse, das Infarktgebiet eindeutig zu bestimmen. Das Verfahren ist daher für die postmortale Diagnose 2-4stündiger Herzinfarkte geeignet. Im Plasma, das nach der Blutentnahme im Kühlschrank (4° C) aufbewahrt worden war, sank die GOT-Aktivität nach 54 Tagen um durchschnittlich 2% ab.

La Due u. Mitarb. beobachteten 1955, daß beim Herzinfarkt des Menschen die Aktivität der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT, E. C., 2. 6. 1. 1.) im peripheren Blut erhöht ist. Dieser Befund ist seither vielfach, auch tierexperimentell bestätigt worden (Adamska-Marcinowska, 1965; Cain u. Mitarb., 1959, 1960; Schröder, 1965; Coodley, 1966; Krosch u. Mitarb., 1967; Forster, 1967; Shirai u.

Mitarb., 1968). Die Aussagekraft dieser erhöhten Fermentaktivität ist allerdings umstritten. Einige Untersucher stellten eine lineare Beziehung zwischen dem Maximalanstieg der GOT und der Infarktgröße sowie der Prognose fest (Agress u. Mitarb., 1955; La Due u. Mitarb., 1955; Nydick u. Mitarb., 1955; Adamska-Marcinowska, 1965; Forster, 1967), andere bezweifelten einen solchen direkten Zusammenhang (Cain u. Mitarb., 1959, 1960). Während ein Schwund der GOT-Aktivität im infarzierten Herzmuskel schon von Nydick u. Mitarb. (1955) und von Jennings u. Mitarb. (1957) in Gewebshomogenaten nachgewiesen worden war, fehlten bisher histochemische Angaben über das Verhalten der GOT beim Herzinfarkt (Hort, 1969). In der vorliegenden Arbeit wurde am experimentellen Herzinfarkt der Ratte mit kombinierten histo- und plasmachemischen Untersuchungen die Aktivität der GOT in Abhängigkeit vom Infarktalter studiert.

### Methodik

Bei Sprague-Dawley-Ratten von 250—400 g Gewicht wurden durch Unterbindung der linken Herzkranzarterie Myokardinfarke erzeugt (Johns u. Mitarb., 1954; Hort u. Mitarb., 1965a; Seiferth, 1967). Bei Kontrolltieren wurden nur der Thorax und der Herzbeutel eröffnet, ohne daß die Coronarie ligiert wurde. Solange die Pleurahöhle offen war, wurde mit Überdruck beatmet. Töten der Tiere mit Äther 0,5 bzw. 1, 2, 4, 8, 16, 32 und 48 Std nach der Coronarligatur. Zerlegung des Herzens in 2—3 mm dicke Querscheiben. Einfrieren der Gewebsstücke in mit flüssigem Stickstoff gekühltem Isopentan (Arnold, 1969). Die Präparate wurden bis zur Weiterverarbeitung bei —80° C aufbewahrt. Färbungen: Hämalaun-Eosin und Aceridiorange (Hecht u. Mitarb., 1961).

*Histochemische Reaktionen (Kryostattechnik):* Nachweis von Succinodehydrogenase (Pearse, 1961; nach Nachlas u. Mitarb., 1957) und Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (nach Lee, 1968a—c). Bei der GOT-Reaktion fixierten wir jedoch 1 min in 1%iger gekühlter (4° C) Glutaraldehydlösung, die mit 0,05 m Imidazol und  $\text{HNO}_3$  auf pH 7,3 gepuffert war. Die Inkubationszeit im „Standardmedium“ und in der  $\alpha$ -ketoglutaratfreien Kontrolllösung betrug 45 min. Zur Entwicklung des ausgefällten oxalacetatsauren Bleis wurden die Schnitte 20 sec in eine 0,2%ige Ammoniumsulfidlösung getaucht. Die Präparate wurden mit Karion F eingedeckt.

In einer anderen Versuchsanordnung wurde den Tieren zweimal im Abstand von 24 Std Alupent (Isoproterenolsulfat in 0,1%iger Lösung) subcutan injiziert (100 mg/100 g Körpergewicht). 24 Std nach der zweiten Injektion wurden die Tiere mit Äther getötet und die Herzen wie oben beschrieben weiterverarbeitet.

*Blutentnahme* 0,5 bzw. 1, 2, 4, 8, 16, 24, 32 und 48 Std nach der Coronarligatur bzw. der Thorakotomie und der Alupentinjektion durch Punktions des retrobulären Venenplexus (Jung, 1962) mit heparinisierten Glasröhren. Abnahme von jeweils 0,5—0,7 ml Blut.

Die Aktivität der GOT im Plasma wurde nach der Vorschrift von Karmen u. Mitarb. (1955) mit einer Mikromethode in Anlehnung an Mattenheimer (1966) bestimmt: benötigte Plasmamenge 0,05 ml, der Reaktionsansatz enthält in 0,37 ml Endvolumen 0,08 m Phosphatpuffer, 0,03 m L-Aspartat, 0,00016 m NADH, 0,0125 mg MDH und 0,006 m  $\alpha$ -Ketoglutarat (Zeiss Spektrophotometer PMQ II, 366 nm,  $d=10$  mm,  $t=25^\circ\text{C}$ , Testbesteck der Firma Boehringer Mannheim).

Die Stabilität der GOT wurde mit folgenden Versuchen geprüft:

1. Plasmaproben wurden bis zum 54. Tag nach der Blutentnahme im Kühlschrank (4° C) aufbewahrt und zu verschiedenen Zeiten nachgemessen;

2. native Kryostatschnitte wurden 10 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt, bevor die GOT-Reaktion durchgeführt wurde;

3. Herzmuskel mit Infarkten verschiedenen Alters wurde vor dem Einfrieren bis zu 42 Std der postmortalen Autolyse ausgesetzt.

Mit elektronenoptischen Untersuchungen wurde geprüft, in welchen Zellorganellen die mit der von Lee (1968a—c) angegebenen Methode darstellbare GOT-Aktivität lokalisiert ist. Die Kryostatschnitte wurden nach der GOT-Reaktion in 5%iger phosphatgepufferter Glutardehydlösung fixiert und in Mikropal eingebettet. Zur Orientierung wurden semidünne Schnitte mit boraxversetzter Giemsalösung gefärbt. Die Ultradünnenschnitte (LKB Ultratome I) wurden unkontrastiert und nach Kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat betrachtet (Elmiskop I Siemens).

### Ergebnisse

Wir verloren 37 der insgesamt 134 operierten Tiere während der ersten 15 min nach der Coronarligatur (Tabelle 1). 6—8 min nach der Unterbindung wiesen alle Tiere die Zeichen einer hochgradigen oberen Einflußstauung auf,

Tabelle 1. *Ergebnis der Tieroperationen*

Herzinfarkt	67
Coronarligatur, kein Infarkt	7
Kontrollthorakotomie	11
Ausgewertete Tiere insgesamt	85
Intraoperative Todesfälle	4
Tod innerhalb 15 min nach Coronarligatur	37
a) Herzinsuffizienz	21
b) Ateminsuffizienz	16
Tod später	8
Operierte Tiere insgesamt	134

21 starben in der ersten Viertelstunde an Herzinsuffizienz. 16 Tiere verendeten im gleichen Zeitraum infolge Ateminsuffizienz. Bei diesen Tieren fanden wir meist komplett Lungenatelektasen, die nur zum Teil durch fehlerhaften Verschluß des Thorax zu erklären waren. Im weiteren Verlauf starben nur noch 8 Tiere. Die erste Viertelstunde nach der Coronarligatur ist somit die kritische Phase, wie auch Hort u. Mitarb. (1965) betonen. Tabelle 2 schlüsselt die Tiere mit Coronarligatur nach dem Infarktalter auf.

Die statistische Auswertung der im Plasma gemessenen Fermentaktivitäten ergab, daß 1. die Mehrfachmessungen von Einzelwerten eines Tieres und 2. die nach Infarktalter gebildeten Gruppen von Einzelwerten verschiedener Tiere um das arithmetische Mittel normalverteilt waren. Tabelle 3 zeigt die mittlere GOT-Aktivität im Plasma in Abhängigkeit vom Infarktalter. Hohe Schwankungen der präoperativen Meßwerte konnten durch eine große Zahl von Bestimmungen auf einen arithmetischen Mittelwert mit relativ geringer mittlerer quadratischer Abweichung zurückgeführt werden.

Die Plasma-GOT-Aktivität ist 30 min nach der Coronarligatur gegenüber dem Ausgangswert etwas erniedrigt. Diese Verminderung ist nicht signifikant und nicht durch GOT-Proteininasen oder -Inhibitoren verursacht: wenn einer Plasmaprobe mit bekannter GOT-Aktivität Plasma eines Tieres mit 30minütigem

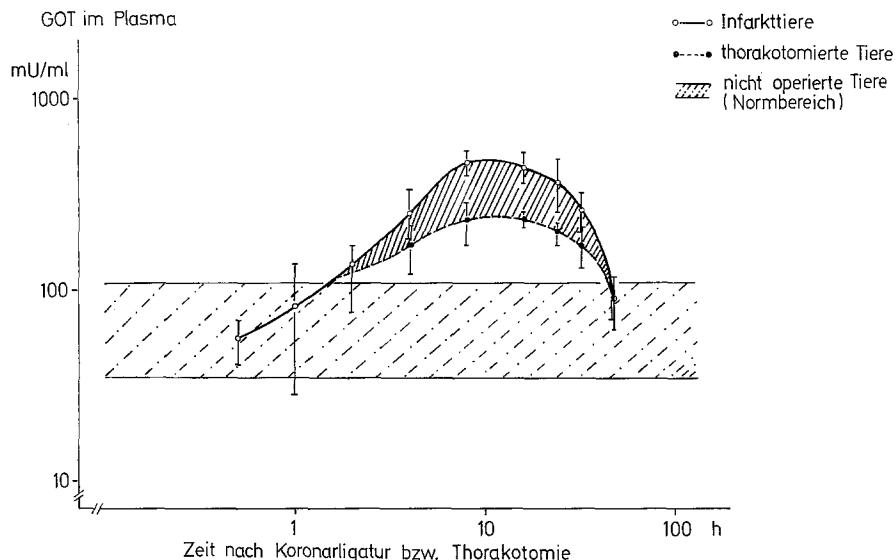


Abb. 1. Infarktbedingte GOT-Ausschwemmung (eng schraffiertes Feld) im Blutplasma der Ratte (doppelt logarithmischer Maßstab)

Tabelle 2. Tiere mit Herzinfarkt

Infarktalter (Std)	Zahl
0,5	10
1	9
2	8
4	10
8	7
16	8
32	8
48	7
<hr/> Gesamtzahl	
	67

Abb. 2a—h. Ratte, Herzmuskel zu verschiedenen Zeiten nach Unterbindung der linken Herzkrankarzterie, Querschnitte durch beide Kammern: Muskelfasern mit erhaltener GOT-Aktivität sind schwarz angefärbt. Glutaraldehydfixierung, GOT-Reaktion, Vergr. 6,5fach, zeichnerische Darstellung. a 30 min: positive GOT-Reaktion des gesamten Herzmuskels, b 1 Std: interstitielles Ödem der linken Seitenwand, noch keine Abschwächung der GOT-Reaktion, c 2 Std: das ischämische Gebiet ist an der Abblässung der linken inneren Seitenwand zu erkennen, d 4 Std: ausgedehnter Infarkt der linken Kammer, e 8 Std: gut abgegrenzter Infarkt des linken Ventrikels, dünne subendo- und subepikardiale Muskelschichten sind noch erhalten, f 16 Std: scharfe Begrenzung der Infarktränder, beginnende Abblässung auch der subendo- und subepikardialen Muskelschichten, g 32 Std: ausgedehnter Infarkt fast der gesamten linken Kammer und der Vorderseitenwand des rechten Ventrikels, h 48 Std: Infarktgebiet völlig abgeblaßt und gestochen scharf demarkiert

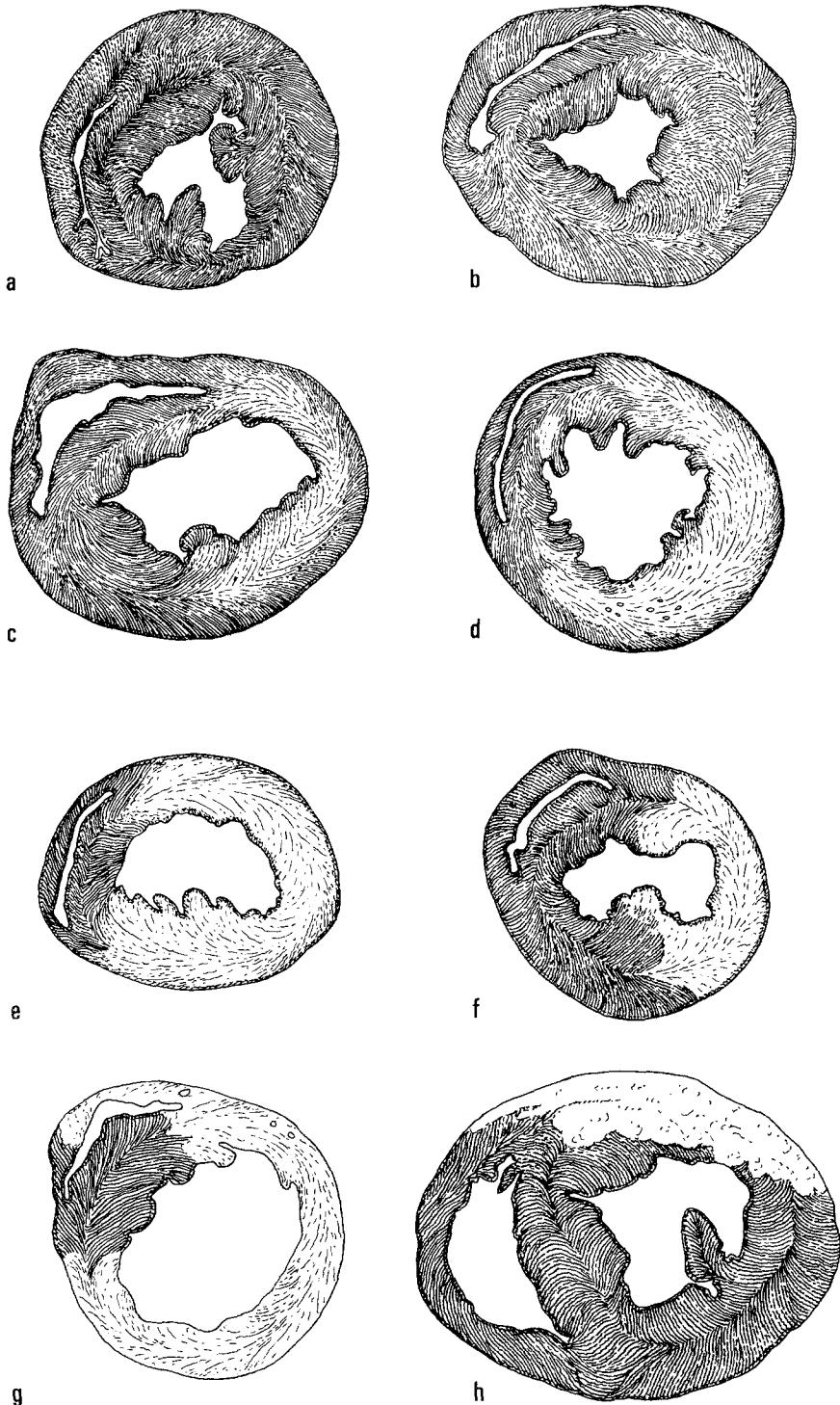


Abb. 2a-h

Infarkt hinzugefügt wurde, trat keine Hemmung der Fermentaktivität ein. Der GOT-Spiegel steigt im Plasma erstmals 2 Std nach Unterbindung der Herzkranzarterie signifikant an. Die Fermentaktivität erreicht bei 8—16 Std alten Infarkten ihren Gipfel mit dem 6—6,4-fachen des Ausgangswertes. 48 Std nach Coronarligatur ist die GOT-Aktivität im Plasma fast wieder auf den Ausgangswert abgesunken. Bei den Kontrolltieren liegen die entsprechenden Werte hochsignifikant niedriger (*t*-Test nach Student,  $p = 0,0027$ ). Abb. 1 zeigt auf doppelt logarithmischem Maßstab das Feld der infarktabhängigen GOT-Ausschwemmung. Bei

Tabelle 3. Postoperative Aktivität der GOT im Plasma

Zeit Std	Infarkt			Kontroll- Thorakotomie			Kein Infarkt nach Coronarligatur		
	N <sup>a</sup>	mU/ml <sup>b</sup>	m. qu. A. <sup>c</sup>	N	mU/ml	m. qu. A.	N	mU/ml	m. qu. A.
0	91	72	36	—	72	36	—	72	36
0,5	9	56	15	—	—	—	—	—	—
1	11	83	55	—	—	—	—	—	—
2	10	122	47	—	—	—	—	—	—
4	16	251	85	5	170	54	1	79	—
8	8	461	70	4	232	64	4	217	71
16	10	432	85	3	233	22	2	281	57
24	9	365	115	7	201	30	5	255	48
32	7	258	60	3	170	47	3	138	41
48	5	90	28	8	90	20	2	54	7

<sup>a</sup> N = Anzahl der untersuchten Plasmaproben (Fehlerbreite bei Doppelbestimmungen  $2,8 \pm 2,6\%$ ).

<sup>b</sup> Arithmetisches Mittel.

<sup>c</sup> Mittlere quadratische Abweichung vom arithmetischen Mittel (mU/ml).

7 Tieren war kein Infarkt entstanden, weil die Ligatur anscheinend nicht fest genug angezogen war (auch Hort u. Mitarb. [1965a] haben in ihrem größeren Material solche Fälle beobachtet). Die Verlaufskurve der GOT-Aktivität im Plasma dieser Tiere lag nahe an der der Kontrolltiere (Tabelle 3).

Die Ergebnisse der histochemischen GOT-Darstellung standen in enger Beziehung zu den Plasmabefunden. Abb. 2a—h zeigt eine Reihe von quergeschnittenen Rattenherzen mit 0,5—48 Std alten Infarkten. Regelmäßig wurde nach 2 Std eine erste noch unscharf begrenzte Abblässung im Infarktgebiet sichtbar (Abb. 2c und 3a). 4 Std alte Infarkte sind bereits deutlich abgegrenzt; dünne subendokardiale und subepikardiale Muskelschichten, die durch Diffusion von innen bzw. durch Kollateralen von außen ernährt werden, sind noch erhalten (Abb. 2d und 3b). Beim 8- und 16stündigen Infarkt (Abb. 2e, f und 3c) ist die Abblässung weiter fortgeschritten. Nach 16 Std beginnt eine deutliche Demarkierung des nekrotisch gewordenen Gebietes, auch blassen jetzt die subendo- und subepikardialen Muskelschichten aus. Nach 32 Std (Abb. 2g) ist dieser Prozeß noch weiter fortgeschritten und schließlich nach 48 Std (Abb. 2h und 3d) zu einem kontrastreichen Endpunkt gelangt.

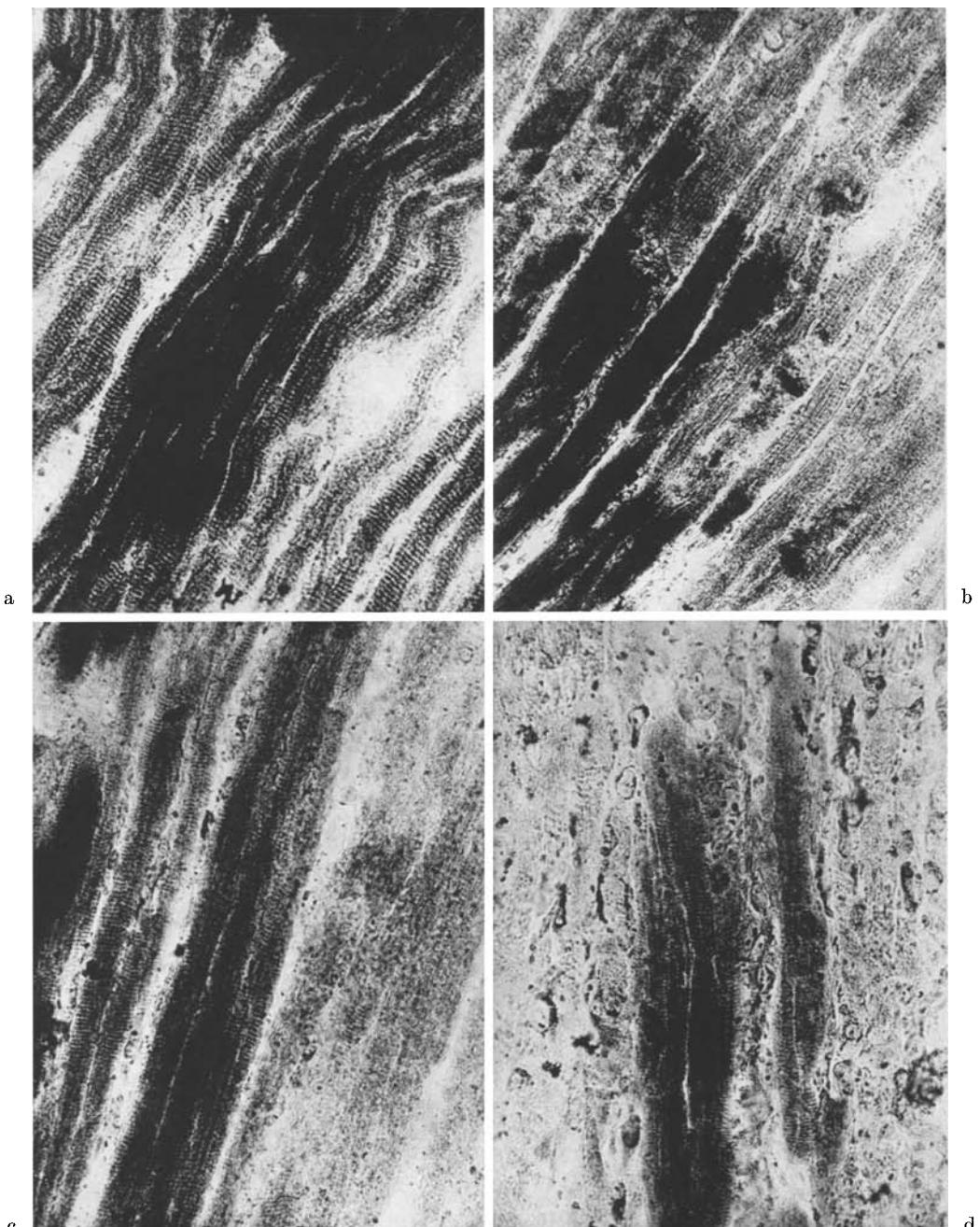


Abb. 3a—d. Ratte, Herzmuskel. Ausschnitte aus den Randgebieten verschiedener alter Myokardinfarkte, Muskelfasern mit erhaltener GOT-Aktivität sind schwarz angefärbt. Glutaraldehydfixierung, GOT-Reaktion, Mikrophotogramm. Vergr. 400fach. a 2 Std: in Bildmitte noch erhaltenes Muskelfaserbündel, daneben beginnende Abschwächung der GOT-Reaktion, b 4 Std: an den subendokardialen Muskelfasern (links im Bild) ist die GOT-Reaktion noch positiv, c 8 Std: scharfe Demarkierung der ischämischen Herzmuskelfasern, geringe celluläre Reaktion, d 48 Std: drei erhaltene Muskelfasern in einer Nekrosezone

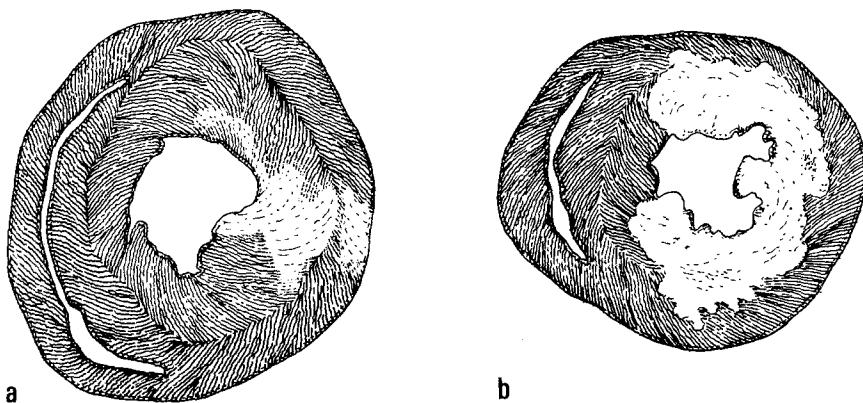


Abb. 4a u. b. Ratte, Herzmuskel. a 16 Std nach Coronarligatur: kleiner Infarkt der linken Seitenwand, b 48 Std nach Coronarligatur: Innenschichtinfarkt der linken Kammer; bei beiden Tieren Aktivität der GOT im Plasma entsprechend niedrig! Glutaraldehydfixierung, GOT-Reaktion. Vergr. 6,5fach, zeichnerische Darstellung

4 Tiere zeigten ein vom Kollektiv abweichendes Verhalten:

1. Ein Tier, das 8 Std nach der Coronarligatur getötet worden war, wies zwar makroskopisch Zeichen eines großen linksventriculären Myokardinfarktes auf, der Herzmuskel war aber nicht in dem Maße abgebläfft, wie wir es sonst bei 8-stündigen Infarkten sahen. Die Aktivität der GOT war im Plasma nicht so hoch angestiegen — 212 mU/ml nach 5 und 254 mU/ml nach 8 Std — wie bei den anderen Infarkttieren (s. Tabelle 3).

2. Bei 2 Tieren waren 16 Std nach der Unterbindung sehr kleine ( $6 \times 8$  bzw.  $10 \times 10$  mm messende) anterolaterale Infarkte entstanden (Abb. 4a). Die Fermentaktivität lag im Plasma 16 Std nach der Coronarligatur unter dem Durchschnitt der übrigen Infarkttiere (245 bzw. 174 mU/ml).

3. Ein weiteres Tier, das nach 48 Std getötet worden war, zeigte *in situ* nur eine geringe Abblässung der linken Herzkammer, die dem Alter des Infarktes nicht entsprach. Beim Querschneiden war aber schon makroskopisch und nach der histochemischen Reaktion eine deutliche Blässe der Innenschicht ersichtlich (Abb. 4b). Auch hier erreichte die GOT-Aktivität im Plasma nicht die Werte der anderen Versuchstiere (286 mU/ml nach 16 Std, 78 mU/ml nach 48 Std).

Bei all diesen Tieren waren also kleinere Infarkte als beim Kollektiv entstanden, und der Plasmatiter der GOT erreichte nicht die sonstige Höhe. Diese Beobachtungen zeigen, daß es mit Hilfe der plasma- und der histochemischen GOT-Untersuchung möglich ist, Tiere mit einem „unvollständigen“, einem kleinen

Abb. 5a u. b. Ratte, Herzmuskel im Längsschnitt, GOT-Reaktion, Nachfixierung mit 5%igem gepuffertem Glutaraldehyd, keine Blockkontrastierung mit  $\text{OsO}_4$ , Mikropaleinbettung. a Keine Nachkontrastierung der Blenden. Die Bleiverteilung ist an einigen Zellorganellen gehäuft. b Nachkontrastierung der Blenden mit Uranylacetat und Bleicitrat. Die Bleipartikel liegen an den Außenmembranen der Mitochondrien sowie im Bereich der A-Streifen.

Vergr. s. Maßstabsangabe

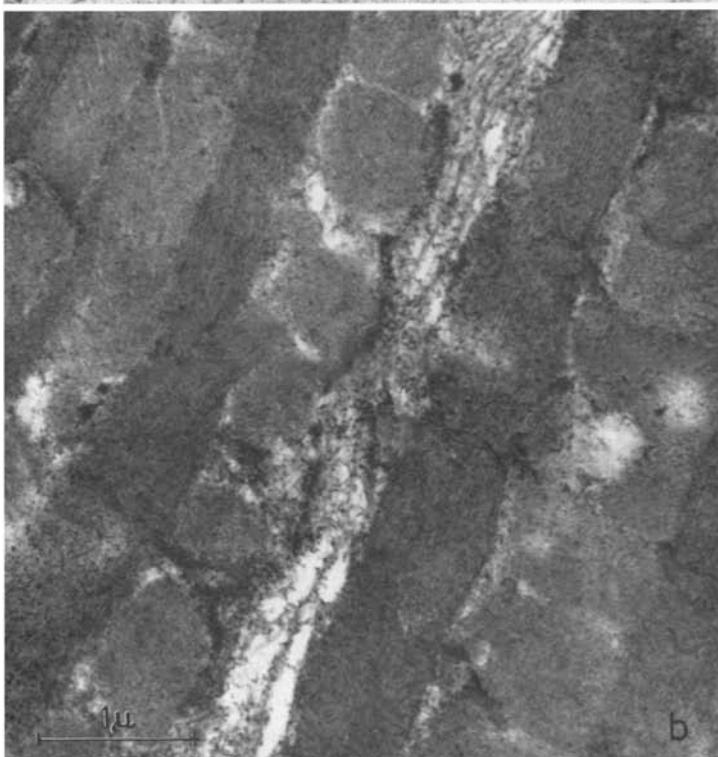
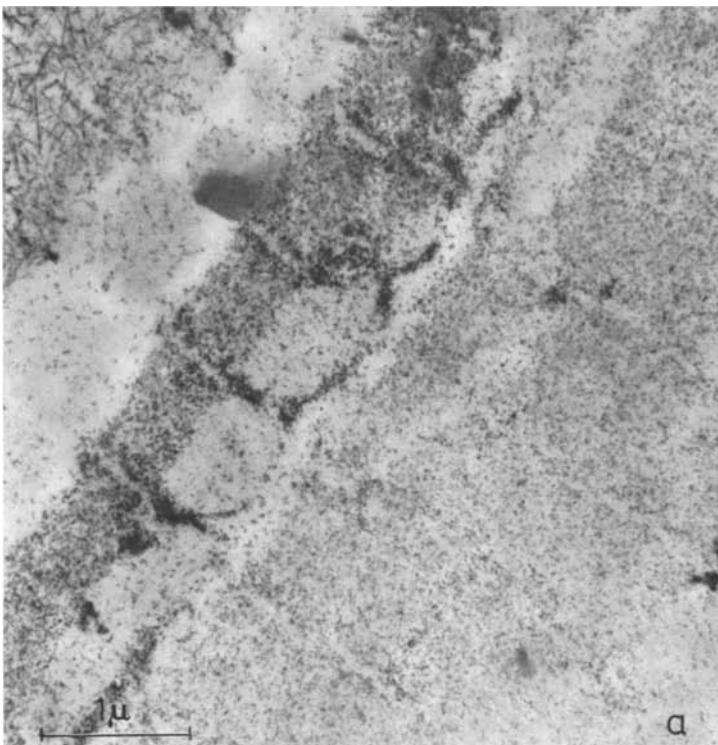


Abb. 5a und b

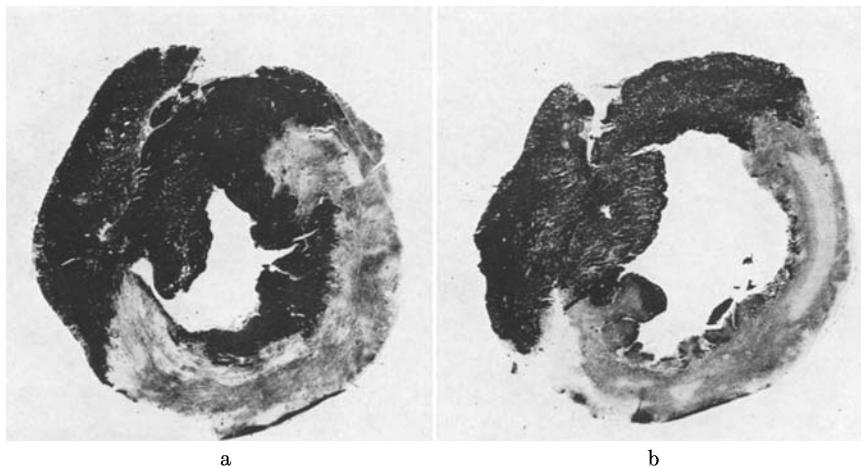


Abb. 6a u. b. Ratte, Herzmuskel 48 Std nach Coronarligatur, GOT-Reaktion nach Einwirkung der postmortalen Autolyse. a Nach 16 Std in der feuchten Kammer bei 4° C und weiteren 6 Std in der feuchten Kammer bei 25° C. b Nach nochmals 20 Std in der feuchten Kammer bei 25° C. Keine Abschwächung der Reaktion am gesunden Muskelgewebe, das Infarktgebiet bleibt deutlich erkennbar. Glutaraldehydfixierung, GOT-Reaktion. Vergr. 6,5fach, Mikrophotogramm

transmuralen oder einem Innenschichtinfarkt von solchen mit ausgedehntem Infarkt zu unterscheiden.

In den mit Hämalaun-Eosin gefärbten Schnitten fielen 4—6 Std nach Coronarligatur eine zunehmende Eosinophilie und Homogenisierung der ischämischen Herzmuskelfasern auf. Nach 8 Std wurden Kernuntergänge deutlich, gleichzeitig begannen Leukozyten vom Randgebiet des Infarktes her einzuwandern. 16stündige Infarkte wiesen bereits einen scholligen Zerfall der Herzmuskelfasern auf. Histiocyten und Makrophagen erschienen nach 16—24 Std und beherrschten nach 48 Std das Bild.

4—8 Std nach der Coronarligatur sahen wir in den mit Aceridinorange gefärbten Schnitten den Umschlag der Sekundärfluorescenz nach Grün im Infarktgebiet.

Die Succinodehydrogenase-Reaktion war im ischämischen Gebiet vereinzelt 2, in der Regel 4 Std nach der Unterbindung abgeschwächt. Die von Seiferth (1967) beschriebene Dreizonenbildung im Randgebiet des Infarktes trat erst nach 8 Std auf. Eine Restaktivität der SDH fanden wir noch 48 Std nach Coronarligatur in Teilen der Nekrosezone.

Lichtoptisch sieht man bei der GOT-Reaktion eine auffallende Querstreifung der Herzmuskelfasern (Abb. 3a—d). Unter starker Vergrößerung löst sich diese in parallel zueinander angeordnete Stränge auf, denen kleine schwarze (PbS-positive) Partikel perlenartig aufsitzen. Elektronenoptisch<sup>1</sup> war das Bleisulfid im un-

<sup>1</sup> Für die Anfertigung und Überlassung der elektronenoptischen Aufnahmen danken wir herzlich Frau A. M. Multier und Herrn Dr. R. Herbst.

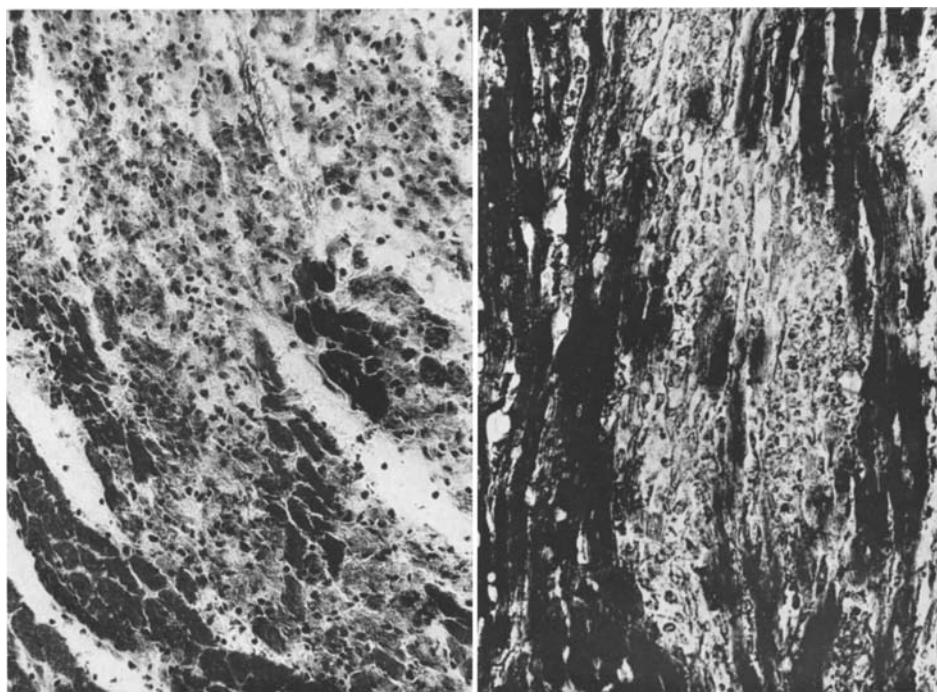


Abb. 7 a u. b. Ratte, Herzmuskel nach subcutaner Injektion von Isoproterenolsulfat (Einzelheiten s. Text). a Ausgedehnte Herzmuskelfasernekrosen mit zellreichem Granulationsgewebe. Hämalaun-Eosin. b In der Nekrosezone ist keine GOT-Aktivität nachweisbar. Glutaraldehydfixierung, Mikrophotogramm. Vergr. 150fach

kontrastierten Schnitt in den Zellbezirken nachzuweisen (Abb. 5a), die in demselben nachkontrastierten Schnitt als Außenmembran der Mitochondrien und (weniger mit PbS besetzt) als A-Streifen zu identifizieren waren (Abb. 5b).

Die Autolyseversuche ergaben, daß Myokardnekrosen verschiedenen Alters mit der GOT-Reaktion noch nachgewiesen werden können, wenn das Herz 16 Std in der gekühlten Tierleiche belassen wurde und ein Teil weitere 6 Std in der feuchten Kammer bei 25°C aufbewahrt wurde. Untersuchungen an einem 48stündigen Infarkt zeigten, daß das ischämische Gebiet noch nach 42 Std dauernder Autolyse deutlich abzugrenzen war (Abb. 6a, b).

Auch frische Kryostatschnitte, die wir 10 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrten, ließen gegenüber sofort gefärbten Kontrollschnitten keinen merklichen Verlust der GOT-Aktivität erkennen. Die Aktivität der GOT im Plasma sank 54 Tage nach der Blutentnahme um durchschnittlich 2% ab. Unsere Ergebnisse bestätigen damit die bekannte Unempfindlichkeit der Transaminasen gegen Wärme (s. auch Sizer u. Mitarb., 1962).

Nach subcutaner Injektion von Isoproterenolsulfat sieht man 24 Std nach der Zweitinjektion am mit Hämalaun-Eosin gefärbten Schnitt vorwiegend in den subendokardialen Muskelschichten Nekrosen unterschiedlichen Alters in verschie-

denen Stadien der Organisation (Abb. 7a). Nach der GOT-Reaktion werden mottenfraßähnliche Herzmuskeldefekte deutlich (Abb. 7b). Die GOT-Aktivität im Plasma dieses Tieres war 24 Std nach der Erstinjektion auf das Doppelte angestiegen und hatte nach weiteren 24 Std den Ausgangswert wieder erreicht.

### Besprechung

Seit La Due u. Mitarb. (1955) die Steigerung der GOT-Aktivität im Plasma beim Herzinfarkt des Menschen beschrieben haben, ist immer wieder diskutiert worden, ob 1. die im Blut nachweisbare GOT-Erhöhung bei einer Herzerkrankung infarktspezifisch ist und ob 2. ein direkter Zusammenhang zwischen der Höhe der Fermentaktivität und der Infarktgröße besteht. Richterich (1958) bejahte beide Fragen in einer Literaturstudie. Mit biochemischen Methoden war nachgewiesen worden, daß sich die GOT-Aktivität im infarzierten Herzmuskel reziprok zum Anstieg des Fermentes im Plasma verringert (Nydick u. Mitarb., 1955; Jennings u. Mitarb., 1957). Beim Hund ist bereits 20 min nach Unterbindung der Herzkranzarterie die GOT-Aktivität im Blut des Sinus coronarius erhöht (Savranoglu u. Mitarb., 1959). Nach Izumi (1967) tritt dabei zunächst die cytoplasmatische Fraktion der GOT aus den untergehenden Herzmuskelzellen in das Blut über. Cain u. Mitarb. (1959, 1960) bezweifelten eine direkte Abhängigkeit des GOT-Anstieges von der Größe des Infarktes. Sie fanden außerdem bei einem nur thorakotomierten Tier eine höhere Fermentaktivität als bei den Infarkttieren. Unsere Experimente bestätigen mit anderer Methodik die Theorie von Nydick u. Mitarb. (1955) und Jennings u. Mitarb. (1957), daß eine quantitative Beziehung zwischen der Infarktgröße und dem Grad der GOT-Aktivitätserhöhung im Serum besteht.

Wir stützen uns dabei auf folgende Beobachtungen:

1. Die GOT-Aktivität im Plasma ist 4—8 Std nach der Coronarligatur signifikant höher als bei den thorakotomierten Kontrolltieren.
2. Mit zunehmendem Infarktalter kommt es zu einer Verminderung und schließlich zum Verlust der histochemisch nachweisbaren GOT-Aktivität im infarzierten Herzmuskel.
3. Bei kleinen Infarkten entspricht der Verlauf der GOT-Aktivität im Plasma weitgehend dem der thorakotomierten Kontrolltiere.
4. Die signifikante Erhöhung der GOT-Aktivität im Plasma ist gleichzeitig mit der Verminderung der histochemisch nachweisbaren Fermentaktivität im Herzmuskel 2 Std nach der Coronarligatur zu beobachten.

Unsere Ergebnisse über das Verhalten der GOT-Aktivität im Plasma — Anstieg 2 Std nach Coronarligatur, Maximum zwischen der 8. und der 20. Std und Normalisierung nach 48 Std — entsprechen den Erfahrungen der humanen Pathophysiologie und der experimentellen Pathologie (Richterich, 1958; Cain u. Mitarb., 1959, 1960; Schröder, 1965; Coodley, 1966; Garbin, 1966; Krosch u. Mitarb., 1967; Shirai, 1968). Beim Menschen kehren die Transaminasenwerte etwas langsamer zur Norm zurück als bei der Ratte und beim Hund.

Nach Coodley (1966) wird der GOT-Spiegel im Serum von verschiedenen Faktoren beeinflußt. Operationen, Medikamente, Status asthmaticus, Herzinsuffizienz, Schock, Stress, Muskelerkrankungen, Gefäßverschlüsse und Lebererkrankungen sollen eine Rolle spielen. Bei unseren Versuchen zeigte sich, daß

die postoperative Erhöhung der GOT-Aktivität im Plasma zum Teil durch die operativen Muskelverletzungen verursacht war. Der Myokardinfarkt bewirkte aber eine Fermentausschwemmung, die hochsignifikant höher lag als nach Kontrollthorakotomie.

Oft wurde die erhöhte Aktivität der GOT im Blut mit einer kreislaufbedingten Schädigung des Leberparenchyms erklärt. Bang u. Mitarb. (1959) fanden keine oder nur kleine Infarkte bei Patienten, die an schwerer Angina pectoris gelitten und stark erhöhte Transaminasenwerte geboten hatten; sie sahen dagegen multiple zentrilobuläre Nekrosen der Leber. Hort u. Mitarb. (1964) stellten bei der Ratte nach experimentellem Herzinfarkt keine Leberzellnekrosen fest.

Die GOT der Ratte und des Menschen stellt kein einheitliches Enzym dar. Mit biochemischen Methoden können mehrere Isoenzyme isoliert werden, die zum Teil an Mitochondrien und Kerne gebunden oder im Cytoplasma gelöst sind (Boyd, 1962; Decker u. Mitarb., 1962; Schmidt u. Mitarb., 1967; Izumi, 1967; s. auch Siebert, 1968). Die histotopochimische Lokalisation ihrer Aktivität stand unseres Wissens noch aus. Bisher sind nur einzelne Enzyme des Herzmuskels elektronenmikroskopisch identifiziert worden; Barnett u. Palade (1957) und Seligman u. Mitarb. (1966) wiesen das Dehydrogenasesystem vorwiegend an den inneren Mitochondrienmembranen nach, ein Glucose-1-Phosphat-spaltendes Ferment beobachteten von Deimling u. Mitarb. (1960) an den Cristae mitochondriales. Unsere elektronenoptischen Befunde lassen vermuten, daß die histochemisch nachgewiesene GOT vor allem auf den mitochondrialen Grenzmembranen und zum Teil auf den A-Streifen lokalisiert ist. Der ab der 3. Std nach Coronarligatur beobachtete Schwund der GOT muß demnach hauptsächlich mitochondriales Ferment betreffen. Dem widerspricht nur scheinbar die Mitteilung Izumis (1967), daß zunächst vorwiegend cytoplasmatisches Ferment das Infarktgebiet verläßt; denn die mitochondriale Fraktion der GOT wird schneller aus dem Blut eliminiert als die cytoplasmatische (Fleisher u. Mitarb., 1963). Somit muß angenommen werden, daß im Herzmuskel vor allem mitochondriales und im Plasma cytoplasmatisches Ferment nachgewiesen worden ist. Eine Klärung dieser Frage ist von immunochemischen und immunhistochemischen Untersuchungen zu erwarten.

Das morphologische Substrat der GOT-Ausflutung aus dem ischämischen Herzmuskelgewebe ist eine akute hypoxische Schädigung der Mitochondrien. Bei Sauerstoffmangelatmung sind schon nach wenigen Minuten ein Ödem der Mitochondrien, eine Aufhellung der Matrix und Cristolyse sichtbar. Die Cristae mitochondriales werden bandförmig verbreitert und homogenisiert, und endlich kann sich aus der bandförmigen Homogenisierung der Cristae die totale Homogenisierung des Mitochondrium entwickeln. Diese ultrastrukturellen Veränderungen des hypoxisch geschädigten Herzmuskels wurden von Mölbert (1957) beschrieben und sind seither vielfach bestätigt worden (Bryant u. Mitarb., 1958; Caulfield u. Mitarb., 1959; Büchner u. Mitarb., 1959, 1967; Meessen u. Mitarb., 1963; Hasper, 1964; Hausamen u. Mitarb., 1965; Poche u. Mitarb., 1965, 1967, 1969; Korb u. Mitarb., 1967). Eine ausführliche Darstellung der Probleme und deren Weiterentwicklung haben Meessen (1967), Mölbert (1968), Büchner u. Mitarb. (1968) und Doerr (1970) gegeben.

Wenn 2 Std nach Coronarligatur eine Verminderung der GOT-Aktivität im infarzierten Herzmuskel zu beobachten ist, haben einige Fermente ihre Aktivität schon völlig eingebüßt, andere sind noch unbeeinflußt. Die Phosphorylase ist 2—5 min nach Unterbindung der Herzkrankarterie kaum noch im ischämischen Gebiet nachzuweisen (Seiferth, 1967). Mit der Abnahme dieses Fermentes geht ein Verlust des mit der PAS-Reaktion darstellbaren Glykogen parallel. Die Fructose-1,6-diphosphat-Aldolase ist 30 min nach Coronarligatur vermindert (Kunze u. Mitarb., 1969). Die Angaben über das Verhalten der Succinodehydrogenase weichen voneinander ab: Seiferth (1967) sah eine Verminderung ihrer Aktivität 1 Std nach Coronarligatur, Hecht (1964) sowie Kaufman u. Mitarb. (1959) erst nach 3—4 Std. Hecht (1964) hat darauf hingewiesen, daß diese unterschiedlichen Ergebnisse wahrscheinlich auf der Verwendung verschiedener Farbstoffe beruhen (Tetrazolpurpur, Nitro-BT). Die Aktivität der Adenosin-monophosphatase ist im einstündigen Infarkt erheblich vermindert (Hecht, 1964). Die Adenosintriphosphatase bleibt lange Zeit erhalten; der mitochondriale Teil Anteil dieses Fermentes schwindet eher als der myofibrilläre. Unterschiedliche Untersuchungsergebnisse liegen über das Verhalten der Cytochromoxydase vor: nach Hecht (1964) zeigt dieses Ferment 8 Std nach Coronarligatur eine Aktivitätsverminderung, nach Seiferth (1967) schon nach 1—2 Std. Die unspezifischen Esterasen beginnen im 2—4stündigen Infarkt zu schwinden (Seiferth, 1967).

Die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase nimmt im Vergleich zu diesen Fermenten eine Mittelstellung ein. Eine sogenannte Dreizonenbildung, wie sie Seiferth (1967) für die Succinodehydrogenase im Infarktgebiet beschrieben hat, haben wir bei der GOT nicht nachweisen können.

Die GOT ist ein stabiles Enzymsystem. Ihre Aktivität bleibt nach Tiefkühlen und Lyophilisieren erhalten und sinkt innerhalb von 30 Tagen bei 4°C nur langsam ab (Richterich, 1958; Amelung u. Mitarb., 1966). Mitchie u. Mitarb. (1969) behaupteten allerdings, ein Aktivitätsverlust könne nur dann vermieden werden, wenn das Serum schnell auf -20°C eingefroren werde. Wir bewahrten das Plasma im Kühlschrank bei 4°C auf und fanden bis zu 54 Tagen nach der Blutentnahme den geringen durchschnittlichen Aktivitätsverlust von 2%. Auch im Kryostatschnitt war die GOT haltbar, nach 10tägiger Lagerung der Schnitte bei Zimmertemperatur war ihre histochemisch nachweisbare Aktivität nicht vermindert. Da die GOT-Reaktion auch nach länger einwirkender Autolyse gelingt, ist diese Methode neben anderen histochemischen Verfahren für die postmortale Diagnose 2—4stündiger Frühinfarkte geeignet.

Unsere Befunde nach Färbungen mit Hämalaun-Eosin und mit Acridinorange entsprechen früheren Beschreibungen des experimentellen Herzinfarktes (Kaufman u. Mitarb., 1959; Hecht u. Mitarb., 1961; Hort u. Mitarb., 1965; Seiferth, 1967). Die grundsätzlich gleichen Phänomene können nach hypoxischer Schädigung des Herzmuskels mit Blausäure und Malonsäure gefunden werden, wie Becker u. Frey (1953) lichtoptisch nachgewiesen haben.

Herzmuskelnekrosen nach subcutaner Injektion von Isoproterenolsulfat und anderen kardiotoxischen Pharmaka sind von verschiedenen Untersuchern eingehend beschrieben worden (Wexler u. Mitarb., 1963, 1967; Wendler u. Mitarb., 1969; Wenzel u. Mitarb., 1969). Wir fanden 48 Std nach der Erst- bzw. 24 Std

nach der Zweitinjektion vorwiegend in den subendokardialen Muskelschichten Einzel- und Gruppenfasernekrosen, die sich in verschiedenen Phasen der Nekrobiose, der Nekrose und der granulo-histiozytären Resorption befanden. Diese Gebiete hatten ihre histochemisch nachweisbare GOT-Aktivität zum großen Teil verloren. Es entstanden Bilder, die wir in Anlehnung an einen Begriff aus der Pathologie der Leber als „Mottenfraßnekrosen“ bezeichnen. Die Aktivität der GOT im Plasma hatte ihren Gipfel 24 Std nach der ersten Injektion erreicht, das entspricht den Ergebnissen von Wexler u. Mitarb. (1967).

### Literatur

- Adamska-Marcinowska, H.: Transaminase (GOT, GPT) and keto acids; pyruvic acid and  $\alpha$ -ketoglutaric acid in blood in patients with myocardial infarction. *Folia med. (Lodz)* **1**, 85—102 (1965). Zit. nach Chem. Abstr. 67.
- Agress, C. M., Jacobs, H. K. I., Glassner, H. S., Lederer, M. A., Clark, W. G., Wróblewski, F., Karmen, A., La Due, J. S.: Serum transaminase levels in experimental myocardial infarction. *Circulation* **11**, 711—713 (1955).
- Amelung, D., Hofmann, L., Otto, L.: Untersuchungen zur Haltbarkeit der Fermentaktivität im Serum. *Dtsch. med. Wschr.* **91**, 851—853 (1966).
- Arnold, M.: *Histochemie*. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1969.
- Bang, N. U., Iversen, K., Jagt, I., Tobiasen, G.: SGOT activity as an index of centrilobular liver cell necrosis in cardiac and circulatory failure. *Acta med. scand.* **164**, 385—393 (1959).
- Barnett, R. J., Palade, G. E.: Histochemical demonstration of the sites of activity of dehydrogenase systems with electron microscope. *J. biophys. biochem. Cytol.* **3**, 577—588 (1957).
- Becker, V., Frey, R.: Über Herzmuskelveränderungen beim Hunde nach intracoronarer Vergiftung der fermentativen Zellatmung. *Arch. Kreisl.-Forsch.* **19**, 252—281 (1953).
- Boyd, J. W.: GOT isoenzymes in rat serum. *Clin. chim. Acta* **7**, 424—431 (1962).
- Bryant, R. E., Thomas, W. A., O'Neal, R. M.: An electron microscope study of myocardial ischemia in the rat. *Circulat. Res.* **6**, 699—709 (1958).
- Büchner, F., Mölbert, E., Thale, L.: Das submikroskopische Bild der Herzmuskelzelle nach toxischer Hemmung der Aerobiose. *Beitr. path. Anat.* **121**, 145—169 (1959).
- Onishi, S.: Frühstadien der akuten hypoxischen Veränderungen des Herzmuskels im elektronenmikroskopischen Bild und ihre Bedeutung für die akute hypoxische Herzinsuffizienz. *Beitr. path. Anat.* **135**, 153—182 (1967).
- — Der Herzmuskel bei akuter Koronarinsuffizienz im elektronenmikroskopischen Bild. München-Berlin-Wien: Urban & Schwarzenberg 1968.
- Cain, H., Assmann, W.: Fermentgeschehen bei koronaren Durchblutungsstörungen. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **43**, 196—198 (1959).
- — Bedeutung und Problematik enzymatischer Gewebs- und Serumbefunde beim frischen Myocardinfarkt. *Klin. Wschr.* **38**, 433—439 (1960).
- Caulfield, J., Klionsky, K.: Myocardial ischemia and early infarction: an electron microscopic study. *Amer. J. Path.* **35**, 489—523 (1959).
- Coodley, E. L.: Current status of enzyme diagnosis in cardiovascular disease. *Amer. J. med. Sci.* **252**, 633—640 (1966).
- Decker, L. E., Rau, E. M.: Multiple forms of GOT in tissues. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **112**, 144—149 (1963).
- Deimling, O. von, Mölbert, E., Duspiva, F.: Elektronenmikroskopischer Nachweis eines Glucose-1-Phosphat spaltenden Enzyms im Herzmuskel der Albinoratte. *Beitr. path. Anat.* **123**, 127—143 (1960).
- Doerr, W.: Allgemeine Pathologie der Organe des Kreislaufes. In: *Handbuch der allgemeinen Pathologie*, Bd. III/4, S. 205—755. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1970.

- Forster, G.: Zur Enzymdiagnostik von Herzinfarkt und Myopathien. Schweiz. med. Wschr. **97**, 329—340 (1967).
- Garbin, S.: The enzymology of myocardial infarction. Fracastoro **59**, 722—730 (1966). Zit. nach Chem. Abstr. 67, 41795 q.
- Hasper, B.: Ultramikroskopische Herzmuskelveränderungen nach wiederholter Hypoxie. Beitr. path. Anat. **130**, 321—351 (1964).
- Hausamen, T. U., Poche, R.: Die Ultrastruktur des Herzmuskels der Ratte nach einmaligen und wiederholten Unterdruckversuchen. Virchows Arch. path. Anat. **339**, 212—224 (1965).
- Hecht, A.: Fermenthistochemische Frühveränderungen beim experimentellen Herzinfarkt. Virchows Arch. path. Anat. **337**, 414—424 (1964).
- Korb, G., David, H.: Vergleichende histochemische, fluoreszenzmikroskopische und elektronenoptische Untersuchungen zur Frühdiagnose des Herzinfarktes der Ratte. Virchows Arch. path. Anat. **334**, 267—284 (1961).
- Hort, W.: Ventrikeldilatation und Muskelfaserdehnung als frühester morphologischer Befund beim Herzinfarkt. Virchows Arch. path. Anat. **339**, 72—82 (1965).
- Funktionelle Morphologie der Myocardveränderungen beim Herzinfarkt. In: Herzinfarkt, Grundlagen und Probleme. Hrsg. W. Hort. Heidelberger Taschenbücher, Bd. 61. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1969.
- Neuere Untersuchungen zum Herzinfarkt. Vortr. Berl. Ges. Path., März 1969.
- Da Canalis, Sp.: Untersuchungen am Rattenherzen mit Dauerligatur der linken Kranzarterie unter besonderer Berücksichtigung der Infarktgröße. Virchows Arch. path. Anat. **339**, 53—60 (1965a).
- — Untersuchungen am Rattenherzen nach temporärer Unterbindung der linken Kranzarterie. Virchows Arch. path. Anat. **339**, 61—71 (1965b).
- — Just, H. J.: Untersuchungen bei chronischem experimentellem Herzinfarkt. Arch. Kreisl.-Forsch. **44**, 288—299 (1964).
- Izumi, K.: Changes of glutamate transaminase isoenzymes in experimental myocardial infarction. Jap. Circulat. J. **31**, 501 (1967). Zit. nach Chem. Abstr. 67, 89011 h.
- Jennings, R. B., Kaltenbach, J. P., Smetters, G. W.: Enzymatic changes in acute myocardial ischemic injury. Arch. Path. **64**, 10—17 (1957).
- Johns, T. N. P., Olson, B. J.: Experimental myocardial infarction I. A method of coronary occlusion in small animals. Ann. Surg. **140**, 675—682 (1954).
- Jung, S.: Grundlagen für die Zucht und Haltung der wichtigsten Versuchstiere. Stuttgart: Gustav Fischer 1962.
- Karmen, A., Wróblewski, F., La Due, J. S.: Transaminase activity in human blood. J. clin. Invest. **34**, 126—133 (1955).
- Kaufman, N., Gavan, T. L., Hill, R. W.: Experimental myocardial infarction in the rat. Arch. Path. **67**, 482—488 (1959).
- Korb, G., Totović, V.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Frühveränderungen im Zentrum und in der Peripherie experimenteller Herzinfarkte. Virchows Arch. path. Anat. **342**, 85—96 (1967).
- Krosch, H., Nilius, R.: Herzmuskelinfarzierung und Serumenzyme. Z. ges. inn. Med. **22**, 225—231 (1967).
- Kunze, K. D., Schuh, D.: Veränderungen der histochemisch nachweisbaren Fructose-1,6-diphosphat-Aldolase-Aktivität am Rattenherzmuskel nach Coronargefäßunterbindung. Exp. Path. **3**, 348—353 (1969).
- La Due, J. S., Wróblewski, F.: The significance of the serum glutamic oxalacetic transaminase activity following acute myocardial infarction. Circulation **11**, 871—877 (1955).
- Lee, S. H.: Histochemical demonstration of glutamic oxalacetic transaminase. Amer. J. clin. Path. **49**, 568—572 (1968a).
- Torack, R. M.: Aldehyde as fixative for histochemical study of glutamic oxalacetic transaminase. Histochemistry **12**, 341—344 (1968b).
- — The effects of lead and fixatives on activity of glutamic oxalacetic transaminase. J. Histochem. Cytochem. **16**, 181—184 (1968c).

- Mattenheimer, H.: Mikromethoden für das klinisch-chemische und biochemische Laboratorium, 2. Aufl. Berlin: W. de Gruyter & Co. 1966.
- Meessen, H.: Morphologische Grundlagen der akuten und chronischen Herzinsuffizienz. Verh. dtsch. Ges. Path. **51**, 31—66 (1967).
- Poche, R.: Pathomorphologie des Myocard. In: Das Herz des Menschen, Bd. II, S. 644—734. Stuttgart: Georg Thieme 1963.
- Mitchie, D. D., Booth, R. W., Couley, M., McGuire, H.: The effect of quick freezing on the preservation of selected serum enzyme activities. Amer. J. clin. Path. **52**, 329—334 (1969).
- Mochizuki, T., Mölbert, E., Deimling, O. von: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über das Verhalten des Glucose-1-Phosphat-spaltenden Enzyms der Herzmuskelzelle unter der Wirkung von Tetrachlorkohlenstoff. Beitr. path. Anat. **126**, 201—217 (1962).
- Mölbert, E.: Die Herzmuskelzelle nach akuter Oxydationshemmung im elektronenmikroskopischen Bild. Beitr. path. Anat. **118**, 421—435 (1957).
- Die Orthologie und Pathologie der Zelle im elektronenmikroskopischen Bild. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. II/5, S. 238—465. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968.
- Nydiak, J., Wróblewski, J., La Due, J. S.: Evidence for increased serum glutamic oxaloacetic transaminase activity following graded myocardial infarcts in dogs. Circulation **12**, 161—168 (1955).
- Pearse, A. G. E.: Histochemistry. Theoretical and applied, 2nd ed. London: J. & A. Churchill Ltd. 1961.
- Poche, R.: Über die Bedeutung der Blutkapillaren für die herdförmige Anordnung von sogenannten hypoxischen Herzmuskelveränderungen. Verh. dtsch. Ges. Path. **49**, 219—223 (1965).
- Arnold, G., Rembarz, H. W., Nier, H.: Über den Einfluß des Sauerstoffmangels auf die Feinstruktur des Herzmuskels im stillgelegten und leerschlagenden isolierten Herzen der Ratte. Beitr. path. Anat. **136**, 58—95 (1967).
- — Nier, H.: Die Ultrastruktur der Muskelzellen und der Blutcapillaren des isolierten Rattenherzens nach diffuser Ischämie und Hyperkapnie. Virchows Arch. path. Anat. Abt. A **346**, 239—268 (1969).
- Richterich, R.: Enzymopathologie. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.
- Savranoglu, N., Boucek, R. J., Casten, G. G.: The extent of reversibility of myocardial ischemia in dogs. Amer. Heart J. **58**, 726—731 (1959).
- Schmidt, E., Schmidt, F. W., Herfarth, Ch.: Isoenzyme der Leber und ihre intracelluläre Lokalisation. Klin. Wschr. **40**, 1133—1136 (1962).
- Schröder, T. M.: Die Sicherung der Diagnose des akuten Herzinfarktes in der Praxis durch Elektrokardiogramm, Blutkörperchenkungsgeschwindigkeit, Bestimmung der Fermentaktivitäten und Leukozytenzählung. Med. Welt **1965**, 237—245.
- Seiferth, J.: Fermenthistochemische Frühveränderungen des experimentellen Myocardinfarktes bei der Ratte. Frankfurt. Z. Path. **76**, 329—339 (1967).
- Seligman, A. M., Ueno, H., Morizano, K., Wasserking, H. L., Katzoff, L., Hanker, J. S.: Electron microscopic demonstration of dehydrogenase activity with a new osmiophilic ditetrazolium salt (TC-NBT). 17. Ann. Meet. Histochem. Soc. Atlantic City, N. J., 1966.
- Shirai, A., Ichihara, A., Takemoto, T., Taburaya, T.: Elevation of serum transaminase activity for branched chain amino acids in dogs with experimental myocardial infarction. J. Biochem. (Tokyo) **63**, 400—402 (1968). Zit. nach Chem. Abstr. 68, 103307 S.
- Siebert, G.: Biochemie der Zellstrukturen. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. II/5, S. 1—179. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968.
- Sizer, I. W., Jenkins, W. T.: Glutamic aspartic transaminase from pig ventricles. In: Colowick-Kaplan, Methods in enzymology, vol. V, p. 677. New York-London: Academic Press 1962.
- Wendler, D., Bertolini, R.: Morphologische Befunde am Myokard der Ratte bei relativer Koronarinsuffizienz durch Novodrin. Exp. Path. **3**, 230—246 (1969).
- Wenzel, J., Hecht, A.: Enzymhistochemische und morphologische Befunde am Meerschweinchenherzmuskel nach Anwendung verschiedener cardiotoxischer Substanzen. Exp. Path. **3**, 305—320 (1969).

- Wenzel, J., Hecht, A.: Zur Wirkung kardiotoxischer Substanzen auf das enzymhistochemische Bild des Meerschweinchenherzmuskels. Beitr. path. Anat. **138**, 321—336 (1969).
- Uehrlings, I., Hecht, A., David, H.: Enzymhistochemische und feinstrukturelle Veränderungen des Rattenherzmuskels nach Adrenalingabe. Exp. Path. **3**, 327—347 (1969).
- Wexler, B. C., Kittinger, G. W.: Myocardial necrosis in rats: serum enzymes, adrenal steroid and histological alteration. Circulat. Res. **13**, 159—171 (1963).
- — Judd, J. T.: Responses to drug-induced myocardial necrosis in rats with various degrees of arteriosclerosis. Circulat. Res. **20**, 78—87 (1967).

Dr. med. Ulrich Desselberger  
Medizinische Hochschule  
Institut für Virologie  
und Seuchenhygiene  
D-3000 Hannover-Kleefeld  
Roderbruchstr. 101

Dr. med. Heinrich H. Schneider  
Pathologisches Institut  
der Freien Universität  
im Klinikum Westend  
D-1000 Berlin 19  
Spandauer Damm 130