

Anomalien des T-Systems und des sarkoplasmatischen Reticulums bei der Myotonie, Paramyotonie und Adynamie*

J. M. Schröder und P. E. Becker

Max-Planck-Institut für Hirnforschung, Neuropathologische Abteilung, Neurologisches Institut (Edinger-Institut) der Universität Frankfurt a.M. (Direktor: Prof. Dr. W. Krücke) und Institut für Humangenetik der Universität Göttingen (Direktor: Prof. Dr. P. E. Becker)

Eingegangen am 16. Juni 1972

Alterations of the T-System and the Sarcoplasmic Reticulum in Myotonia, Paramyotonia and Adynamia

Summary. By comparing biopsies of autosomal dominant, autosomal recessive myotonia congenita, paramyotonia congenita, adynamia episodica hereditaria with myotonia, and myotonic dystrophy by light and electron microscopy, various alterations were observed, most of which however were non-specific.

Six types of intrasarcoplasmic tubular aggregates or cisternae were identified: three types of proliferated derivatives of the sarcoplasmic reticulum (s.r.): proliferated terminal cisternae; tubular aggregates (presumably proliferated longitudinal components of the s.r.) with (Ib), or without internal tubules (Ic). Also, there were two types of tubules of much larger diameter surrounded by 100 Å filaments (IIa and IIb), and closely packed cisternae with "dentate" junctions connecting adjacent membranes (III).

Proliferated components of the s.r. were only seen in autosomal dominant myotonic dystrophy, myotonia congenita, and paramyotonia congenita, whereas in autosomal recessive myotonia no such changes were observed. Tubules forming complexes with filaments were seen in autosomal dominant myotonia congenita (type IIa), and in adynamia episodica hereditaria (type IIb, "giant tubules").

Tubular aggregates were not seen in autosomal recessive generalized myotonia. There were more hypertrophic fibers in autosomal recessive than in autosomal dominant myotonia.

In some cases, numerous muscle fibers showed minute electron dense precipitates ("incrustations") which were selectively located on the outer surface of the sarcolemma, on the sarcoplasmic side of the T-system and on micro-pinocytotic vesicles, but not on other membranous constituents of the muscle fiber, or fibroblasts or endothelial cells. Although the incrustations were considered artificial precipitates, that appeared to be rather non-specific, their distinctive location apparently reflected some kind of a cytochemical reaction of considerable selectivity but of unknown origin.

Zusammenfassung. Die vergleichende licht- und elektronenmikroskopische Untersuchung von Muskelbiopsien bei dominant und recessiv erblicher Myotonie, Paramyotonia congenita, Adynamia episodica hereditaria mit Myotonie und myotonischer Dystrophie ergab bestimmte Unterschiede, aber auch einzelne, nicht bei allen untersuchten Fällen nachweisbare Gemeinsamkeiten.

Nach ihrer Feinstruktur ließen sich 6 verschiedene Formen intrasarkoplasmatischer Tubulus- und Zisternensysteme differenzieren: Proliferierte Komponenten des sarkoplasmatischen Reticulums (s.R.) mit drei Sonderformen: (Ia) proliferierte Terminalzisternen; (Ib) tubuläre Aggregate mit oder (Ic) ohne innere Tubuli; (IIa und b) sehr seltene, aber wesentlich größere Tubuli von unbekannter Herkunft, die mit ca. 100 Å dicken Filamenten Komplexe

* Auszugsweise vorgetragen bei der II. Konferenz über Myopathien in Janské Lázně, CSSR, 18.—19. 3. 1971.

bilden; und (III) flache Zisternensysteme, deren Einzelkomponenten nach Art septierter Verbindungen miteinander in engem Kontakt stehen.

Die Proliferationserscheinungen am s.R. (Typ I) ließen sich nur bei der dominant erblichen myotonischen Dystrophie, Myotonia congenita und Paramyotonia congenita nachweisen, während bei der recessiv erblichen Myotonie in Übereinstimmung mit den bisherigen elektronenmikroskopischen Untersuchungen keine derartigen strukturellen Veränderungen nachweisbar waren. Mit Filamenten kombinierte Tubuli vom kleineren Typ (IIa) fanden sich lediglich bei einem Fall mit dominant erblicher Myotonia congenita; Riesentubuli (Typ IIb) nur bei einem Fall von Adynamia episodica hereditaria.

Außer dem Fehlen von tubulären Aggregaten fiel bei der recessiv erblichen Myotonie das häufigere Vorkommen von ausgeprägten Faserhypertrophien auf, während die Häufigkeitsgipfel der Kaliberspektren bei den dominant erblichen Myotonia congenita-Fällen im Bereich kleinerer Faserkaliber lagen.

Bei einigen Fällen fanden sich an zahlreichen Muskelfasern winzige elektronendichte Präcipitate („Inkrustationen“), die selektiv an der Oberfläche des Sarkolemm, auf der Sarkoplasmaseite des T-Systems und an Pinocytosevesikeln, nicht aber an den übrigen membranösen Bestandteilen der Muskelfasern oder an Fibroblasten oder Endothelzellen zu beobachten waren. Offensichtlich handelt es sich um ein unspezifisches, vermutlich artifizielles Präcipitationsphänomen, das wegen seiner geradezu cytochemischen Selektivität hinsichtlich der Lokalisation Beachtung verdient.

Die durch eine Myotonie, Paramyotonie oder Adynamie gekennzeichneten Myopathien sind zwar klinisch und genetisch selbständige Krankheitsbilder; doch lassen ihre pathophysiologischen Symptome auf eine Verwandtschaft der funktionellen Störungen schließen, die eine vergleichende morphologische Betrachtung nahelegen.

Die meisten klinischen, physiologischen, biochemischen und morphologischen Untersuchungen haben zu der Vermutung geführt, daß der primäre Defekt, der den Funktionsstörungen vor allem bei der Myotonie zugrunde liegt, im Bereich der erregungsausbreitenden und kontraktionsauslösenden Membransysteme in der Muskelfaser selbst zu suchen ist, d.h. am Sarkolemm bzw. an dem vom Sarkolemm ausgehenden und sich in der Tiefe der Muskelfaser verzweigenden T-System (transversales tubuläres System) oder im Bereich der spezifischen Kontakte des T-Systems mit den Terminalzisternen des sarkoplasmatischen Reticulums, in den sog. Triaden.

Tatsächlich fanden sich bei der myotonischen Dystrophie sowohl Veränderungen des T-Systems (Vakuolisierungen und netzartige vesiculäre Proliferationen) als auch Erweiterungen und irreguläre Proliferationen des sarkoplasmatischen Reticulums, namentlich der Terminalzisternen (Schröder u. Adams, 1968; Samaha, Schröder, Rebeiz u. Adams, 1967; Schotland, 1970). Derartige Veränderungen ließen sich bei den offenbar einzigen beiden elektronenmikroskopisch untersuchten Fällen mit Myotonia congenita nicht nachweisen (Samaha *et al.*, 1967; Garcin *et al.*, 1967). Allerdings sind die bisher in der Literatur unter der Bezeichnung Myotonia congenita oder Thomsensche Krankheit mitgeteilten Beobachtungen, wie Becker (1957, 1963, 1964, 1965, 1966, 1971) aus genetischer Sicht nachgewiesen hat, heterogen, d.h., die meisten Fälle gehören zum recessiven Typ der generalisierten Myotonie und nur ein kleiner Teil von ihnen stellt echte Fälle von Thomsenscher Krankheit dar. Die genannten beiden elektronenmikroskopisch untersuchten Fälle mit „Myotonia congenita“ sind sporadisch; vermutlich gehören sie zum recessiven Typ der generalisierten Myotonie. Somit erhob sich die

Frage, ob bei Fällen mit gesicherter dominant erblicher Myotonia congenita und bei solchen mit recessiv erblicher generalisierter Myotonie möglicherweise ein differentes feinstrukturelles Substrat der myotonischen Funktionsstörung nachgewiesen werden kann, und ob sich derartige etwaige Veränderungen von denen bei der myotonischen Dystrophie (vgl. Wechsler u. Hager, 1961; Aleu u. Affi, 1964; Milhaud *et al.*, 1964; Fardeau, 1965, 1969; Schotland *et al.*, 1966; Klinkerfuss, 1967; Samaha *et al.*, 1967; Schröder u. Adams, 1968; Schröder, 1969a und b; Johnson u. Woolf, 1969; Allen *et al.*, 1969; Schotland, 1970; Mussini *et al.*, 1970), bei der Paramyotonia congenita (Garcin *et al.*, 1966; Isch *et al.*, 1968), bei der Adynamia episodica hereditaria (= hyperkaliämische periodische Paralyse) (Jaffurs *et al.*, 1963; van Bogaert *et al.*, 1967; MacDonald *et al.*, 1968; Bradley, 1969; Engel *et al.*, 1970) und bei der experimentellen Myotonie mit 20, 25-Diazacholesterin (Schröder u. Kuhn, 1968) unterscheiden.

Wir haben zu diesem Zweck die bereits vorher mitgeteilten Fälle mit myotonischer Dystrophie und den einen Fall mit sporadischer Myotonia congenita nachuntersucht und außerdem 6 Fälle mit dominant erblicher Myotonia congenita, 4 Fälle mit recessiver generalisierter Myotonie, 2 Fälle mit Paramyotonia congenita und einen Fall mit einer besonderen Form der Adynamia episodica hereditaria licht- und elektronenmikroskopische untersucht.

Im folgenden berichten wir vor allem über die Veränderungen des T-Systems und des sarkoplasmatischen Reticulums, da Veränderungen an diesen Strukturen mit myotonischen Funktionsstörungen in Zusammenhang stehen könnten und sich hier neue Befunde ergeben haben.

Material und Methoden

Über die Vorgeschichte und die klinischen Befunde bei den Fällen 11 und 12 haben Becker (1970: Sippe F IV/14) und bei den Fällen 14 und 15 Samaha *et al.* (1967: Fall 3 und 2) berichtet; Einzelheiten über die Fälle mit dominant und recessiv erblicher Myotonie, die insbesondere auch die klinische Heterogenität dieser beiden genetisch voneinander abgrenzbaren Krankheitsgruppen belegen, werden an anderem Orte mitgeteilt (Becker *et al.*: in Vorbereitung). Die klinischen Besonderheiten des Falles 13, der eine Adynamia episodica hereditaria mit von A. Struppler elektromyographisch nachgewiesener Myotonie hat, werden von E. Kuhn *et al.* mitgeteilt (in Vorbereitung). Diagnose, Alter und Geschlecht sämtlicher feinstrukturell untersuchter Fälle sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt.

*Excision und Präparation der Muskelbiopsien*¹. Die Muskelbiopsien wurden aus dem M. vastus lateralis entnommen, nur bei Fall 15 wurde die Excision am M. tibialis anterior durchgeführt. In jedem Fall wurde ein etwa 2 cm langes, 3—5 mm breites Muskelbündel in situ an ein steriles Holzstäbchen gebunden und in 6%igem Glutaraldehyd (z.T. stabilisiert mit Amberlyst, Schuchardt, München) mit 0,1molarem Phosphatpuffer (Sørensen) für 1—24 Std vorfixiert, mit 2%iger OsO₄-Lösung in 0,1molarem Phosphatpuffer (Sørensen) nachfixiert und in Epon 812 eingebettet. 2 μ dünne Schnitte wurden mit einem MT-1 „Porter Blum“ Ultra-Microtome hergestellt, zu einem Drittel ungefärbt belassen, zu einem Drittel mit Toluidinblau und zu einem weiteren Drittel mit Paraphenyldiamin gefärbt. Dünnschnitte wurden mit Diamantmessern geschnitten, mit Bleicitrat (Venable u. Coggeshall, 1965) kontrastiert und mit einem Elmiskop I photographiert.

Einzelne Ultradünnschnitte von Fall 1 und 13 wurden mit einer 1%igen H₂O₂-Lösung behandelt, indem sie für 20 min auf einem Tropfen dieser Lösung belassen und anschließend mit Bleicitrat kontrastiert wurden.

1 Herrn Prof. Dr. E. Kuhn danken wir für die Übersendung der Muskelbiopsien bei den Fällen 1—4 und 7—13 (vgl. Kuhn u. Seiler, 1970).

*Histochemische Untersuchungen*². Bei Fall 5 und 6 konnte an frischen Kryostatschnitten die Phosphorylase, die myofibrilläre ATPase, die DPN-gebundene Lactatdehydrogenase (mit MTT als Tetrazoliumsalz) und die DPNH-Dehydrogenase (ebenfalls mit MTT) nachgewiesen sowie eine Fettrot-Reaktion durchgeführt werden.

Bestimmung der Muskelfaserkaliber. Die Durchmesser der Muskelfasern wurden teilweise bei 40facher Vergrößerung mit einem Ocularmikrometer unter dem Mikroskop an querorientierten, in Epon eingebetteten Semidünnschnitten gemessen, indem jeweils der mittlere Wert zwischen dem schmalsten und dem breitesten Durchmesser bestimmt wurde; zum anderen Teil wurden die Muskelfasern auf lichtmikroskopischen Aufnahmen bei 200facher Vergrößerung mit einem Teilchengrößenzähler (TGZ) der Fa. Zeiss gemessen.

Ergebnisse

Die wichtigsten licht- und elektronenmikroskopischen Befunde sind in den Tabellen 1 und 2 zusammengefaßt.

Dominante Myotonie

Die auffälligsten Veränderungen an den Muskelfasern bestehen in Hypertrophien und Sarkolemmkernvermehrungen bzw. -zentralverlagerungen, die bei den verschiedenen Fällen unterschiedlich stark ausgeprägt sind. Atrophien und verschiedenartige „dystrophische“ Veränderungen sind meist nur an einzelnen wenigen Muskelfasern nachweisbar.

Bei den Fällen 1—8 und 10 wurden die Kaliberspektren bestimmt. Sie sind in Abhängigkeit von den mehr oder weniger ausgeprägten Kaliberschwankungen unterschiedlich breitbasig und in jedem Fall unimodal (weshalb auf eine graphische Wiedergabe verzichtet worden ist). Die Häufigkeitsgipfel der Kaliberspektren liegen bei den dominant erblichen Fällen im Bereich dünnerer Fasern als bei den recessiv erblichen Fällen, sofern man die Kaliberspektren bei Männern und Frauen getrennt vergleicht (Tabelle 1).

Mit der myofibrillären ATPase-Reaktion finden sich bei Fall 5 mehr dunkle (Typ II-) als helle (Typ I-) Fasern (im Verhältnis 316:94 pro Areal), wobei die hellen Fasern (80—90 μ) im Durchschnitt um etwa 10 μ dicker sind als die dunklen (70—80 μ); bei Fall 6 sind vermutlich zu wenig Muskelfasern zur Darstellung gelangt, um die quantitativen Relationen beider Fasertypen zueinander zu bestimmen (95 dunkle zu 139 hellen Fasern). Atrophische Muskelfasern können dem einen oder dem anderen Fasertyp angehören.

Kernvermehrungen und -zentralverlagerungen kommen bei Fall 1 (Abb. 1a—d) wesentlich häufiger vor als bei den anderen dominant und recessiv erblichen Fällen. Daneben finden sich gelegentlich Unregelmäßigkeiten der Muskelfaserkontur, Vacuolen und Aufsplitterungen (Abb. 1 b, c). Manche der in den Muskelfasern gefundenen Vacuolen stehen in bestimmten Schnittebenen mit dem extracellulären (endomysialen) Raum in breiter Verbindung (vgl. Abb. 8a, b).

Ringbinden fanden sich nur in einzelnen Muskelfasern bei Fall 3 und 5. Sarkoplasmatische Massen mit zerfallenen Myofibrillen haben wir nicht beobachtet. Gelegentlich kommen Unregelmäßigkeiten des sonst regulären Myofibrillenmusters in Verbindung mit zentralen Kernverlagerungen und -vermehrungen vor (Abb. 1d) (restituierte Muskelfasern?). Einzelne, z.T. dünne Muskelfasern ent-

² Wir danken Herrn Prof. E. Thomas für die freundliche Überlassung der histochemischen Präparate.

Tabelle 1

Fall Nr.	Diagnose	Alter in Jahren	Geschlecht	Muskelfaserkaliber (in μ)		Zentrale Kerne	Vacuolen	Aufsplittungen	Akute Degenerationen	Tubuli	Fila-ment-körper	In-krustationen
				Häufigkeits-gipfel	Extrem-werte							
1	Dominante	63	♂	60—70	(30—80)	++	++	++	+	Typ Ic	+	++
2	Myotonie	49	♀	40—50	(10—70)	+++		++				++
3		59	♂	50—60	(10—80)	++	+			Typ Ic	+	++
4		18	♂	80—90	(50—110)					Typ Ic	+	++
5		49	♂	70—80	(30—100)	+					+	—
6		21	♂	60—70	(10—90)	+		+	+	Typ Ib und IIIa		—
7	Recessive	56	♀	60—70	(20—100)	(+)		+	+			—
8	generali-	11	♀	70—80	(30—110)	+						—
9	sierete	42	♂	70—100	(30—110)	(+)			+		+	(+)
10	Myotonie	72	♂	90—120	(20—150)	(+)	+		+			(+)
11	Para-	41	♂	50—70	(30—100)	+	++	++	+			+
12	myotonia congenita	55	♂	80—100	(5—120)	++			+	Typ Ib und c		++
13	Adynamia episodica hereditaria	41	♂	50—70	(40—80)	+++	++	+		Typ IIb	+	+++
14	Myotonische	42	♂	5—80	(2—110)	+++	+	++	+	Typ Ia	+	—
15	Dystrophie	48	♀	50—70	(5—90)	+++	+	++	+	Typ Ia	+	—

Tabelle 2. Verschiedene Formen sarkoplasmatischer Tubulus- und Zisternensysteme (Größenangaben in Å, wenn nicht anders vermerkt)

Typ	Bezeichnung	Breite und Besonderheiten	Dicke der Wandung	Abstand zwischen Membranen	Inhalt	Herkunft	Vorkommen
Ia	Prolifizierte Terminalzisternen (Abb. 4c, 5)	800—900 (—6 μ) Verzweigungen, Kontakte mit Sarkolemm und T-System	ca. 80	ca. 200	homogen granulär	Terminalzisternen des s. R.	Myotonische Dystrophie
Ib	Tubuläre Aggregate (Abb. 6c)	500—800	ca. 50	ca. 20	innere Tubuli	longitudinale Komponente des s. R. ?	Dominante Myotonie, Paramyotonia congenita
Ic	Tubuläre Aggregate (Formvariante ?) (Abb. 6a, b, d)	400—500	ca. 70	ca. 20	„leer“	desgl. ?	Dominante Myotonie, Paramyotonia congenita
IIa	Tubuli mit Filamenten (Abb. 7a).	900—1400	ca. 100Å dicke Filamente	ca. 200	granulär	?	Dominante Myotonie
IIb	Riesentubuli mit Filamenten (Abb. 7b—d)	2000—2500	ca. 100Å dicke Filamente	ca. 300	„leer“	?	Adynamia episodica hereditaria mit Myotonie
III	Laminäre Zisternensysteme (Abb. 4e, f)	200—250 periodische Verdichtungen zwischen benachbarten Membranen	ca. 100	ca. 250	„leer“	?	Myotonische Dystrophie

halten auffällig viele Lipidtropfen, die mehr oder weniger gleichmäßig zwischen den Myofibrillen verteilt liegen; in anderen Schnittebenen zeigen einige dieser Fasern zwar keine Anreicherung von Lipiden, aber einen totalen Umbau des Fibrillenmusters. Akute „hyaline“ Degenerationen ließen sich nur ganz vereinzelt nachweisen (Tabelle 1).

Abb. 1a—f. Fall 1, dominante Myotonie. a Einzelne dystrophische oder atrophische Fasern liegen neben normalen; zentralständige Kerne sind durch Pfeile markiert, 390 \times . b Unregelmäßig konturierte, leicht vakuolisierte Muskelfasern, 390 \times . c Aufsplitterung einer Muskelfaser, 390 \times . d Myofibrillenumbau in einer Muskelfaser mit zentralständigem Kern, 460 \times . e Fall 12 Paramyotonia congenita. Herdförmig angeordnete atrophische Muskelfasern (Pfeile), 270 \times . f Fall 13, Adynamia episodica hereditaria mit Myotonie. Die zahlreichen zentralständigen Kerne sind durch Pfeile markiert. 270 \times

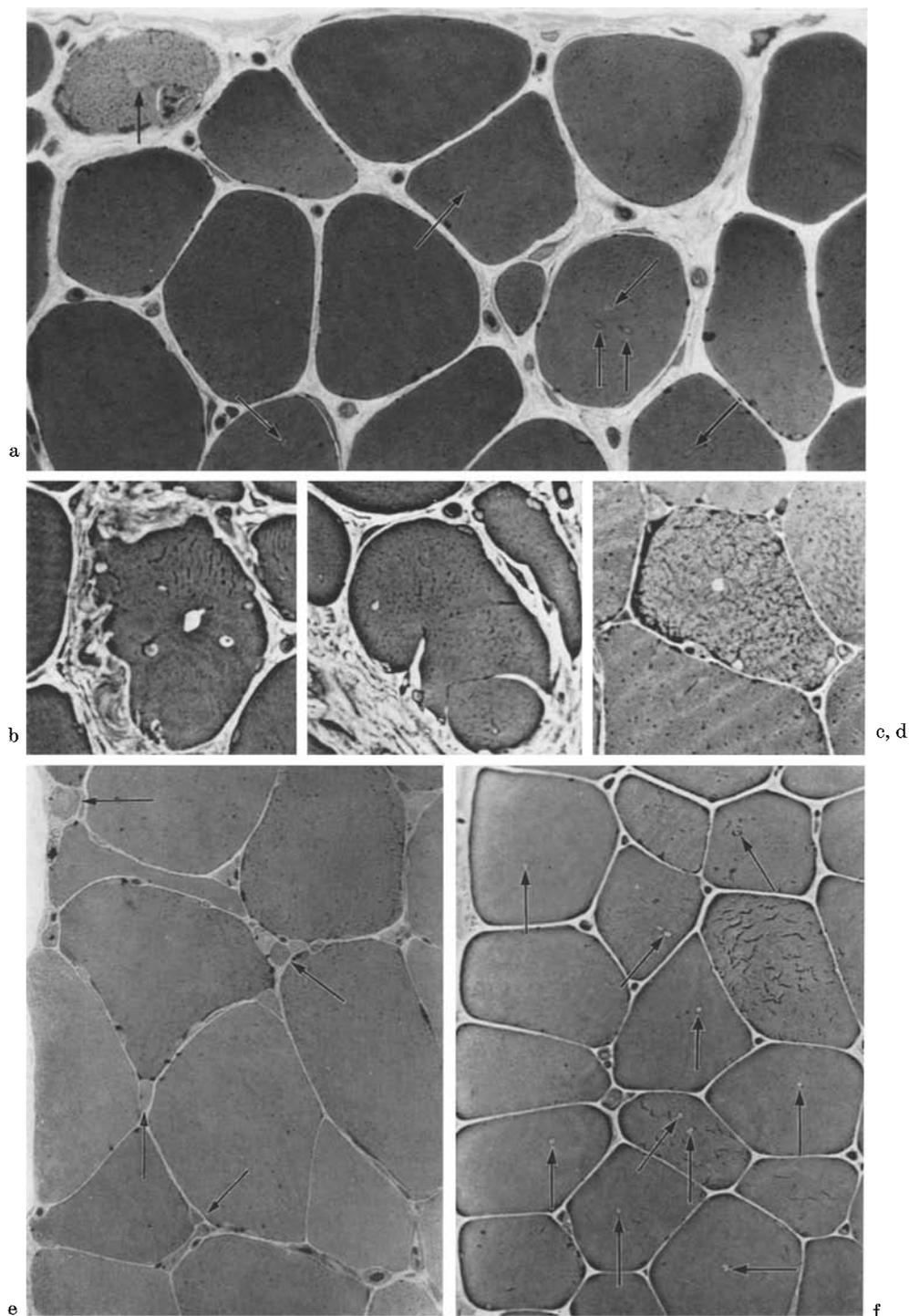


Abb. 1 a—f

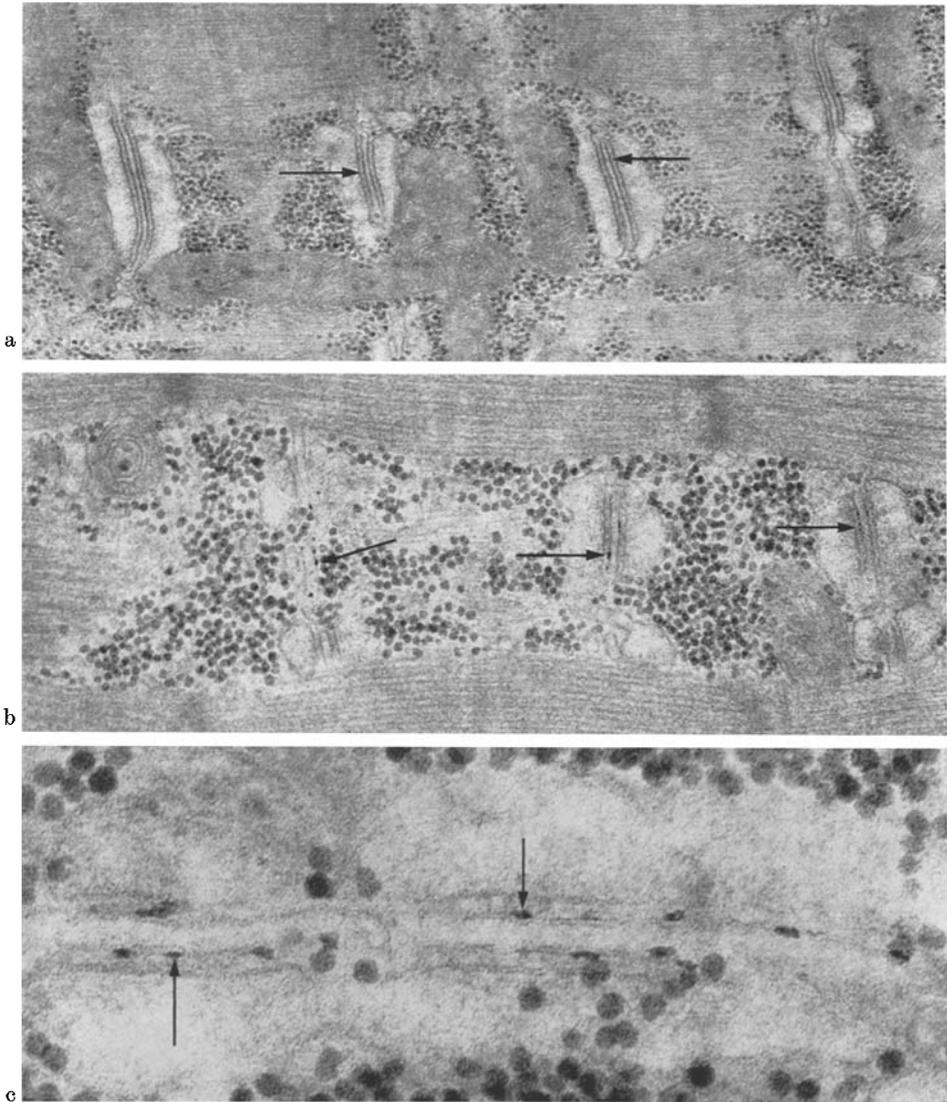


Abb. 2. a Fall 9, recessiv erbliche Myotonie. Vier Triaden sind längs getroffen und zeigen kaum erkennbare Inkrustationen (Pfeile), 28000 \times . b Fall 1, dominant erbliche Myotonia congenita. Die selektiven Inkrustationen des T-Systems sind durch Pfeile markiert, 38000 \times . c Fall 11, Adynamia episodica hereditaria mit Myotonie. Die Inkrustationen liegen wie in Abb. 2b auf der sarkoplasmatischen Seite des T-Systems (Pfeile). 120000 \times

Bei der *elektronenmikroskopischen Untersuchung* erscheinen viele Muskelfasern unauffällig. Andere zeigen eigentümliche Stippchen, im folgenden „Inkrustationen“ genannt (analog den lichtmikroskopisch nachweisbaren sog. Inkrustationen der Nervenzellen bei der ischämischen Zellveränderung). Die Inkrustationen sind nach Art eines cytochemischen Reaktionsproduktes selektiv an der Oberfläche

der Muskelfasern, d.h. an der Außenseite des Sarkolemm, sowie an der Sarkoplasmaseite von Pinocytosevesikeln des Sarkolemm und von verschiedenen Abschnitten des T-Systems (das ebenfalls ein Abkömmling des Sarkolemm darstellt) lokalisiert. Das T-System zeigt derartige Inkrustationen sowohl im Bereich der Triaden als auch in Abschnitten, wo es frei, ohne von Terminalzisternen des sarkoplasmatischen Reticulums flankiert zu sein, durch das Sarkoplasma zieht (Abb. 2 b und c). Die Stippchen sind in der Regel 200—300 Å lang und 60—100 Å breit, gelegentlich auch breiter oder schmaler. Die Inkrustationen sind kontrastreicher als die benachbarten Glykogengranula; ohne Bleicitratkontrastierung sind sie wie die Glykogengranula nur schlecht dargestellt. Nach H_2O_2 -Behandlung der Dünnschnitte verlieren zwar die Glykogengranula weitgehend ihre Kontrastierbarkeit durch Bleicitrat, nicht aber die Inkrustationen. Die Uranylacetatkontrastierung bleibt ohne wesentlichen Einfluß auf den Kontrast der Inkrustationen.

Nicht alle Muskelfasern zeigen derartige Inkrustationen. Am häufigsten fanden wir sie an der Oberfläche einer aufgesplitterten Muskelfaser von Fall 1 (Abb. 3 a und 8 b). Bei einigen Fällen mit dominant erblichen Myotonia congenita sind Inkrustationen wesentlich häufiger und deutlicher nachweisbar als bei den recessiv erblichen Fällen (Abb. 2 a).

In keinem Fall ließen sich am sarkoplasmatischen Reticulum, an Membranen des Golgi-Komplexes, an Kern- oder Mitochondrienmembranen, in Fibroblasten, Satelliten- oder Endothelzellen Inkrustationen nachweisen. Nur an der Oberfläche einzelner Erythrocyten finden sich vergleichbare präcipitatähnliche „Inkrustationen“ (Abb. 3 b).

In manchen Lipidtropfen, die zwischen den Myofibrillen oder nahe dem Sarkolemm im Sarkoplasma gelegen sind, kommen ganz ähnliche Stippchen mit gleichem Kontrast und ähnlicher Dimension vor (Abb. 3 c).

Im übrigen zeigen das T-System und das sarkoplasmatische Reticulum in den meisten Fasern eine regelrechte Anordnung und Struktur. Bei Fall 2 und 4 ließen sich tubuläre Aggregate vom Typ Ic (Tabelle 2; Abb. 6 a, b, d) und bei Fall 6 tubuläre Aggregate vom Typ Ib (Abb. 6 c) und IIa (Abb. 7 a) nachweisen. Tubuli vom Typ Ib und c unterscheiden sich vor allem durch das Vorkommen von „inneren Tubuli“ in den Ib-Tubuli. Nach unseren Messungen sind auch die Dimensionen verschieden (Tabelle 2). Die IIa-Tubuli sind wiederum größer und durch ihre enge Verbindung mit zahlreichen ca. 100 Å dicken Filamenten gekennzeichnet. Die Tubuli liegen entweder unter dem Sarkolemm zwischen Glykogengranula oder zwischen den oberflächlichen Myofibrillen.

Die Myofibrillen sind, von wenigen Fasern abgesehen, normal strukturiert und angeordnet. In offensichtlich regenerierten Fasern können die Myofibrillen sehr unregelmäßig orientiert sein; in diesen Fasern sind auch die Kerne beträchtlich vermehrt. Veränderungen im Sinne des Zerfließens („streaming“) des Z-Streifens sind ganz vereinzelt nachweisbar.

In einzelnen Fasern finden sich unter dem Sarkolemm umschriebene Ansammlungen von Glykogengranula. Bei Fall 5 sind in einzelnen Muskelfasern subsarkolemmal und perinucleär glykogenähnliche, kristalloid angeordnete Partikel zur Darstellung gekommen, wie sie auch von Schmalbruch (1967) in offenbar normalen menschlichen Muskelfasern (Desmoglykogen?) beschrieben worden sind. Auch rundlich-ovale Filamentkörper (wie in Abb. 7 b) kommen meist in der

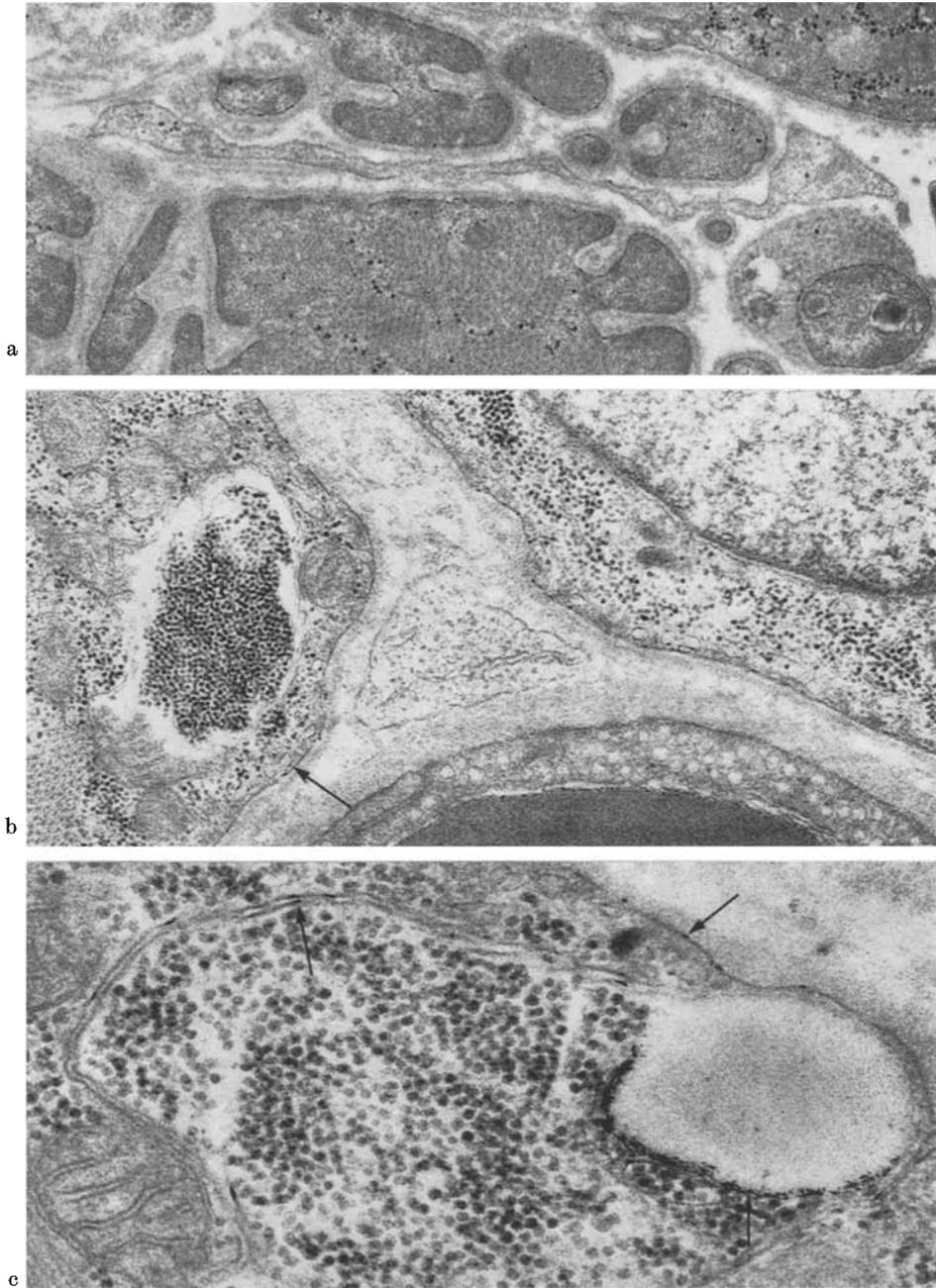


Abb. 3a—c. Fall 1, dominant erbliche Myotonia congenita. a Inkrustationen an der Oberfläche einer aufgesplitterten Muskelfaser, 23000 \times . b Inkrustationen des Sarkolems zweier Muskelfasern und eines Erythrocyten; die Endothelzelle, der Fibroblastenfortsatz, die Kernmembranen und die Mitochondrien sind frei von Inkrustationen. Pinocytosevesikel mit Inkrustationen an der Oberfläche der Muskelfasern sind durch Pfeile markiert, 26500 \times . c Inkrustationen am Sarkolemm und an einer Verzweigung des T-Systems (Pfeile). Am Rand eines Lipidtröpfchens finden sich Stippchen von gleicher Größe und mit gleichem Kontrast wie die an der Oberfläche der Muskelfaser und am T-System. 54000 \times

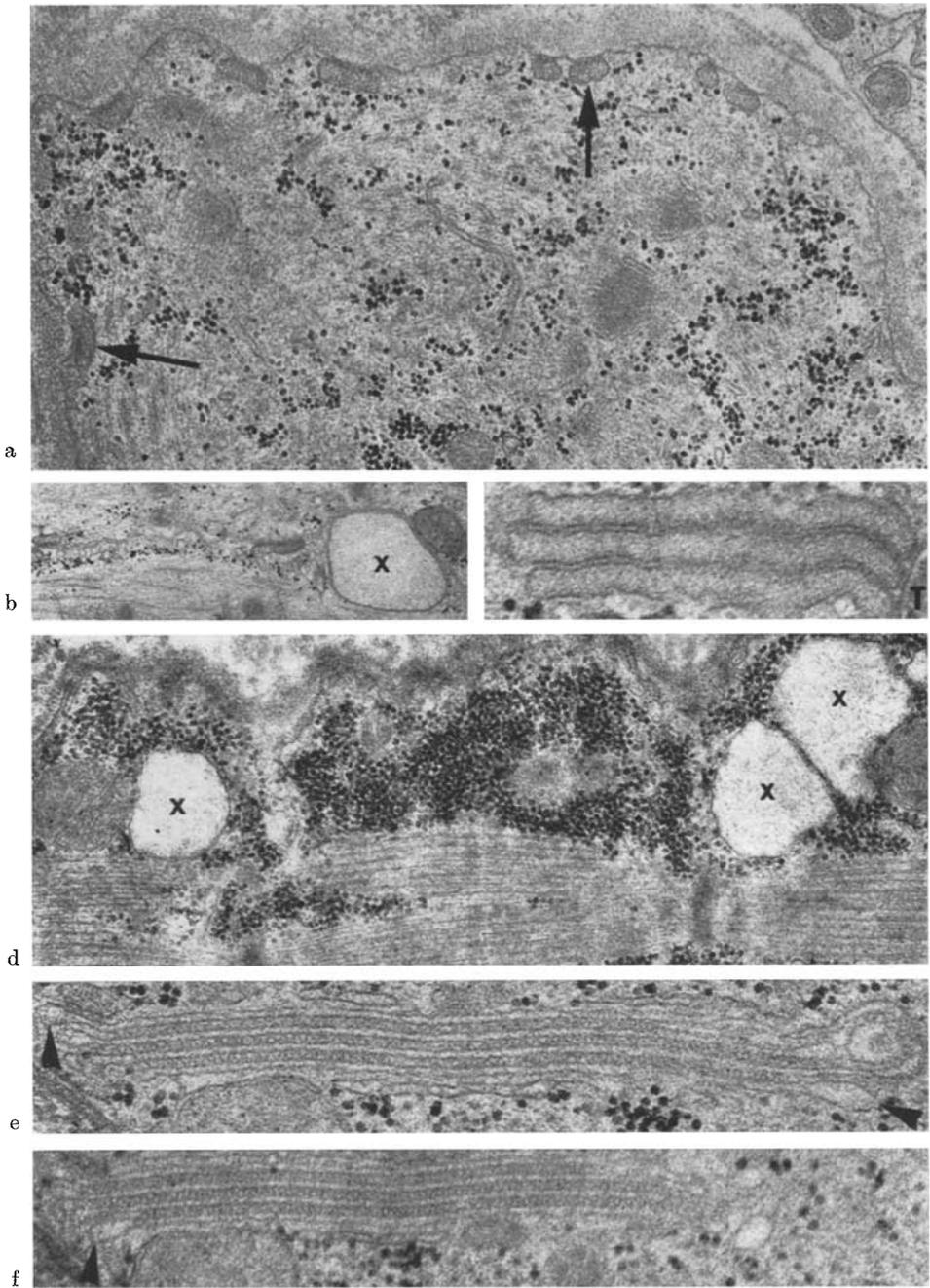
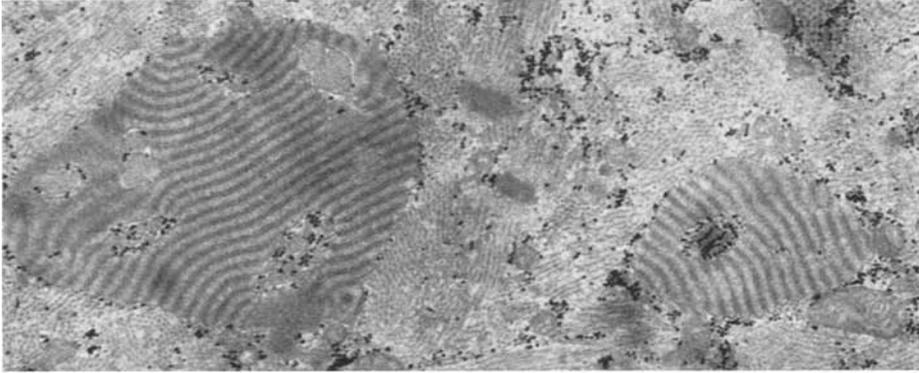
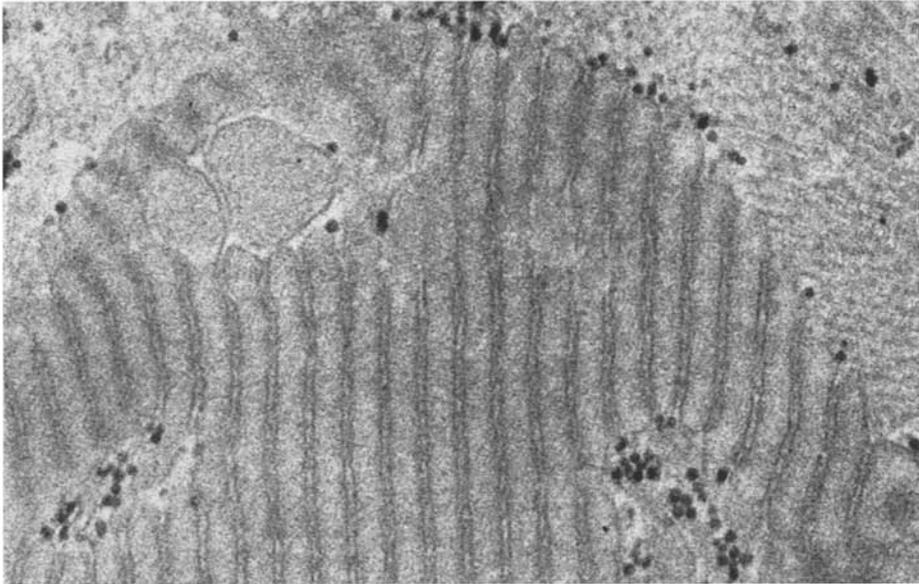


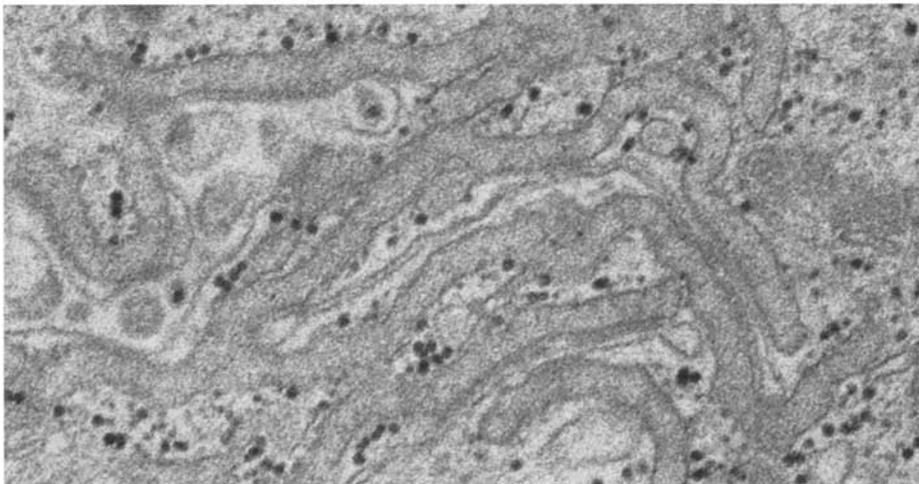
Abb. 4a—f. Fall 14, myotonische Dystrophie. a Fragmente von Terminalzisternen des s.R. stehen mit dem Sarkolemm in engem Kontakt (Pfeile), 25000 \times . b Erweiterte Terminalzisterne mit homogen granulärem Inhalt in der Nachbarschaft pinocytotisch abgespaltener vesiculärer Elemente des T-Systems, 14000 \times . c Proliferierte Terminalzisternen des s.R. stehen mit einem Ausläufer des T-Systems in Kontakt (T), 46000 \times . d Fall 11, Paramyotonia congenita. Erweiterte Terminalzisternen, von subsarkolemmalen Glykogenansammlungen umgeben, 29000 \times . e und f Verschiedene Schnittebenen durch dasselbe System eng geschichteter Zisternen, zwischen denen ein periodisches Muster von dichten Punkten oder Linien im Abstand von ca. 200 Å zu erkennen ist. Die einen hellen Spalt begrenzenden Membranen stehen an den Enden miteinander in Verbindung. 45000 \times



a



b



c

Abb. 5 a und b. Fall 14, myotonische Dystrophie. Verschiedene Vergrößerungen von regulär proliferierten Terminalzisternen mit umschriebenen Erweiterungen. a 17000 \times , b 50000 \times . c Fall 15, myotonische Dystrophie. Irregulär proliferierte Terminalzisternen, zwischen denen Komponenten des T-Systems und Glykogengranula liegen. 50000 \times

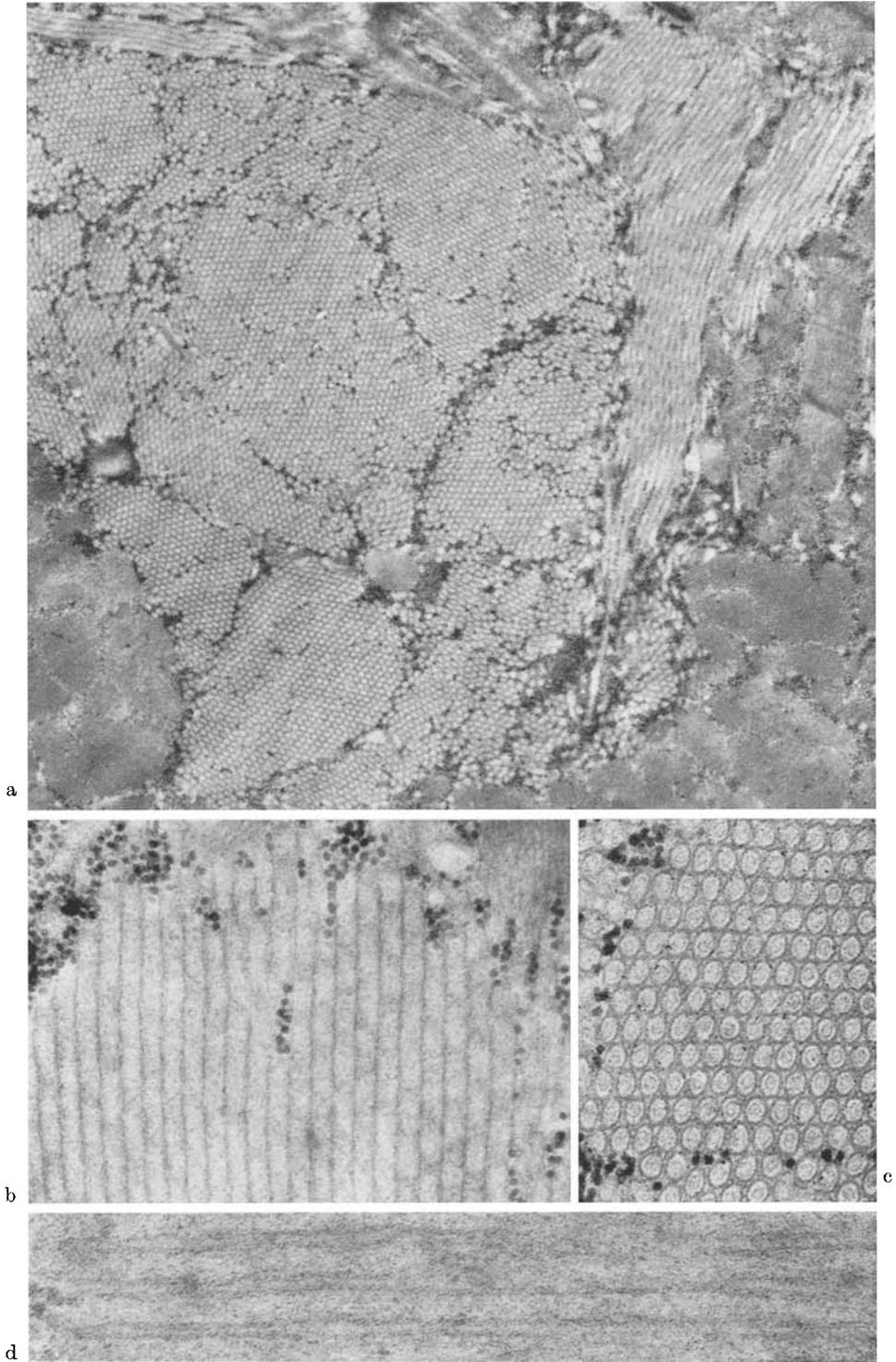


Abb. 6 a und b. Fall 12, Paramyotonia congenita. Tubuläre Aggregate aus verschiedenen Regionen in subsarkolemmaler Position. c Fall 6, dominante Myotonie. Tubuläre Aggregate mit inneren Tubuli (Typ Ib in Tabelle 2). a 12000 \times , b und c 50000 \times . d Fall 4, dominante Myotonie. Zwischen den Tubuli ist ein schmaler Spalt nachweisbar. 100000 \times

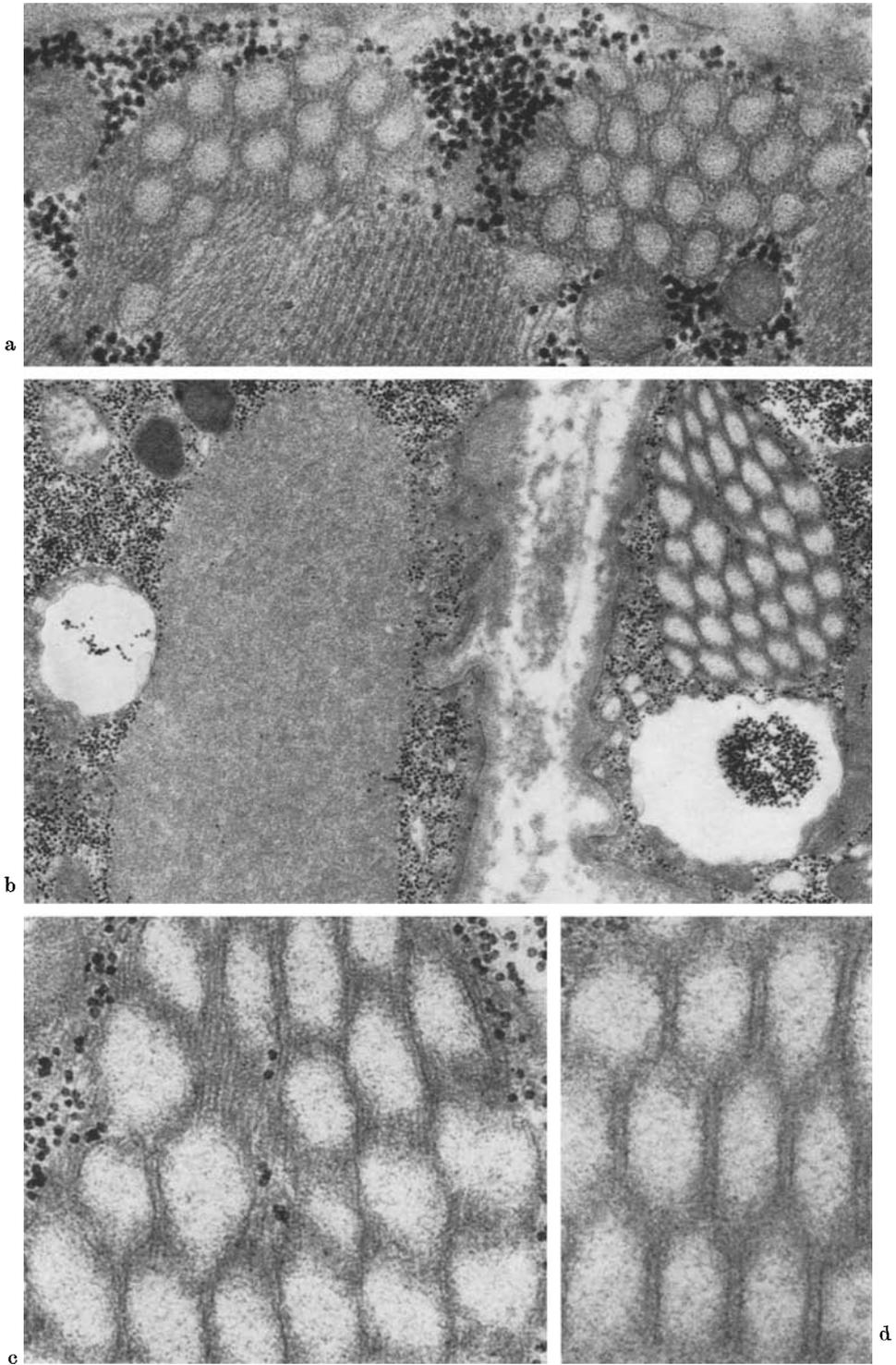


Abb. 7. a Fall 6, dominante Myotonie. Von Filamenten umgebene Tubulii, 50000 \times . b—d Fall 13, Adynamia episodica hereditaria mit Myotonie. b Riesentubuli in der rechten Muskelfaser und ein Filamentkörper in der linken werden von reichlich Glykogengranula umgeben; beide liegen in subsarkolemmaler Position, 17500 \times . c und d Stärkere Vergrößerungen der Riesentubuli in verschiedenen Schnittebenen. 50000 \times



a



b

Abb. 8a u. b. Fall 1, dominant erbliche Myotonia congenita. a Vacuole innerhalb einer Muskelfaser mit stark verbreiteter Basalmembran, die an einer Stelle einen Hohlraum aufweist. Im Zentrum liegt der Zellfortsatz vermutlich eines Fibroblasten, 10000 \times . b Teile einer aufgesplitterten Muskelfaser. 8400 \times

Nachbarschaft von Sarkolemmkernen bei recessiv und dominant erblichen Fällen vor (Tabelle 1). Sie bestehen aus feinfilamentösem Material, dessen Einzelfilamente etwa die gleiche Dicke wie die Actinfilamente aufweisen. Diese Filamentkörper enthalten außer den Filamenten einzelne oder in kleinen Haufen angeordnete Glykogengranula. Sie werden von keiner erkennbaren Membran umhüllt, obwohl sie scharf begrenzt sind. Die Kerne lassen, von Unregelmäßigkeiten der Kontur abgesehen, keine Besonderheiten erkennen. Die meisten Kerne sind reich an Euchromatin.

Satellitenzellen sind häufig an der Oberfläche der Muskelfasern anzutreffen.

Wiederholt ließen sich Invaginationen der Muskelfasern nachweisen, die teilweise zu einer schon lichtmikroskopisch erkennbaren Vacuolenbildung geführt haben (Abb. 8a). Derartige Vacuolen sind von einer z.T. erheblich verdickten Basalmembran ausgekleidet; sie können Fibroblasten enthalten. Einzelne Anteile derartiger Muskelfasern können an der Oberfläche, aber auch im Innern abgesplittert sein, so daß nebeneinander Aufsplitterungen und Sarkolemmvaginationen an derselben Muskelfaser vorkommen (Abb. 8b).

Lipofuscinkörper liegen in verschiedenartigen Konfigurationen meist unmittelbar unter dem Sarkolemm und in der Nachbarschaft von Sarkolemmkernen. Die Muskelfasern enthalten relativ wenig Lipidtropfen, die meistens zusammen mit den Mitochondrien in der Nachbarschaft der Triaden angeordnet sind.

Degenerierende Muskelfasern enthalten in bestimmten Stadien der Degeneration reichlich vergrößerte Mitochondrien, die neben zerstörten Myofibrillenresten und Lipidtropfen liegen und zusammen mit dem Glykogen einen großen Teil der geschädigten Muskelfaser einnehmen können.

Recessive generalisierte Myotonie

Viele bei der dominanten Myotonie gefundene Veränderungen lassen sich in gleicher oder ähnlicher Weise auch bei der recessiven Myotonie nachweisen (Einzelheiten s. Tabelle 1). Auf das häufigere Vorkommen von Muskelfaserhypertrophien bei der recessiven Form der Myotonie wurde bereits hingewiesen. Auffälligerweise sind keine tubulären Aggregate zur Darstellung gekommen, während zentrale Kernverlagerungen, Vacuolenbildungen, akute Degenerationen und Filamentkörper jeweils bei mindestens einem Fall nachweisbar waren. Im übrigen ließen sich keine Strukturen darstellen, die überall und in jedem Fall eine klare morphologische Unterscheidung zwischen der dominanten und recessiven Myotonie erlauben würden, nachdem sich die „Inkrustationen“ nach der Untersuchung der letzten beiden Fälle mit dominanter Myotonie als unzuverlässiges Unterscheidungsmerkmal herausgestellt hatten (Tabelle 1).

Paramyotonia congenita

Die Muskelfaserkaliber variieren beträchtlich, bei Fall 12 stärker als bei Fall 1 (Tabelle 1). Dunkle Fasern sind meistens dünner als helle. Neben hypertrophischen Fasern kommen bei Fall 10 auch reichlich völlig atrophische Fasern vor, die einheitlich dem hellen Typ angehören (Abb. 1e). Sie liegen oft einzeln, z.T. aber auch in kleinen Grüppchen zwischen den normal großen Fasern. Manche sind nicht abgerundet, sondern (auf dem Querschnitt) abgeflacht. Einige atrophische Fasern enthalten irregulär angeordnete Myofibrillen und mehrere Kerne.

Zentralverlagerte Kerne sind bei Fall 1 nur ausnahmsweise, bei Fall 12 häufiger nachweisbar. Vereinzelt kommen myofibrillenfreie sarkoplasmatische Massen in der Peripherie einzelner Muskelfasern vor. Ringbinden wurden nicht beobachtet. Akute hyaline Degenerationen großer Muskelfasern sind extrem selten. Vakuolierte Muskelfasern sind bei Fall 11 recht häufig, bei Fall 12 sehr selten anzutreffen. Die Vacuolen enthalten strukturierte Bestandteile, die lichtmikroskopisch nicht näher zu charakterisieren sind (s. u.). Aufsplitterungen einzelner Muskelfasern sind wiederholt nachweisbar; die kleineren, offenbar abgespaltenen Fasern zeigen neben Konturunregelmäßigkeiten vielfach gestörte Myofibrillenmuster und mehrere Kerne.

Elektronenmikroskopisch finden sich vielfach die bei der Myotonia congenita beschriebenen Stippchen oder Inkrustationen an der Außenseite des Sarkolemmis und an der Sarkoplasmaseite des T-Systems und einzelner unter dem Sarkolemm gelegener Pinocytosevesikel³.

In beiden Fällen bestehen an verschiedenen Stellen umschriebene Erweiterungen der Terminalzisternen, die beiderseits der intermediären Komponente des T-Systems liegen (Abb. 4d). Manchmal ist nur eine Terminalzisterne erweitert, in anderen Fällen sind es beide, gelegentlich liegen aber auch mehrere derartige Terminalzisternen nebeneinander, ohne daß in der jeweiligen Schnittebene ein Zusammenhang mit dem T-System nachgewiesen werden könnte.

Bei Fall 12 ließen sich ungewöhnlich häufig tubuläre Aggregate nachweisen (Typ Ib und c in Tabelle 2). Sie bestehen aus meist parallel verlaufenden gestreckten oder leicht gekrümmten Aggregaten von Tubuli mit einem Durchmesser von etwa 400—800 Å. Sie sind durch einen z.T. sehr schmalen ca. 20 bis 120 Å messenden Spalt voneinander getrennt. Einige enthalten gelegentlich angegedutete innere Tubuli, deren Wand dünner ist als die der äußeren. Tubuläre Aggregate fanden sich nur in Muskelfasern mit ausgebildeter M-Linie und relativ schmalen Z-Streifen.

Die lichtmikroskopisch beschriebenen Vacuolen in den Muskelfasern sind regelmäßig von einer z.T. stark verdickten Basalmembran ausgekleidet (wie bei den Myotonia congenita-Fällen). Die beobachteten Filamentkörper liegen ebenfalls wie bei der Myotonia congenita unter dem Sarkolemm und werden von reichlich Glykogengranula umgeben; ihre Feinstruktur unterscheidet sich nicht wesentlich von den Filamentkörpern bei der Myotonia congenita.

Adynamia episodica hereditaria mit Myotonie

Den auffälligsten Befund bilden die häufig zentralständigen, beträchtlich vermehrten Sarkolemmkerne. Im paraffineingebetteten, ca. 15 μ dicken Schnitt zeigen fast alle Muskelfasern mindestens einen Kern pro Querschnitt, der meistens in der Mitte, häufig aber auch etwas exzentrisch liegt; in Semidünnschnitten sind entsprechend der geringeren Schnittdicke etwas weniger Kerne anzutreffen (Abb. 1f).

Die Faserkaliber schwanken in relativ engen Grenzen, ohne daß sich atrophische oder stark hypertrophische Fasern nachweisen ließen.

³ Auch bei dem nach Abschluß des Manuskriptes untersuchten Fall H-S der Familie U. von De Jong (1955) fanden sich an einzelnen Muskelfasern Inkrustationen.

Relativ häufig kommen Vacuolen vor, die an verschiedenen Stellen sichtbar mit dem extracellulären Raum kommunizieren. Aufsplitterungen von Muskelfasern sind wiederholt zu finden. Myofibrillenveränderungen im Sinne zerfließender Z-Streifen („streaming“) sind auf Quer- und Längsschnitten häufiger im Zentrum als am Rand der Muskelfasern, aber nur an umschriebenen Stellen zu beobachten.

Elektronenmikroskopisch zeigen manche Muskelfasern die bei der Myotonia congenita beschriebenen Inkrustationen, die sich wiederum am Sarkolemm, an Pinocytosevesikeln und am T-System nachweisen lassen. Andere Fasern sind völlig frei von derartigen Veränderungen. Durch Vorbehandlung der Ultradünnschnitte mit H_2O_2 und nachträgliche Kontrastierung mit Bleicitrat verlieren die Inkrustationen im Gegensatz zu den Glykogengranula nicht ihren Kontrast (wie bei der Myotonia congenita).

An umschriebener Stelle fanden sich unter dem Sarkolemm eigenartige Riesentubuli (Abb. 7b—d), deren Durchmesser etwa 2000—2500 Å beträgt und in deren Umgebung Filamente mit einem Durchmesser von ca. 100 Å liegen. Zwischen den Tubuli besteht an manchen Stellen ein ca. 300 Å breiter Spalt, der in bestimmten Schnittebenen durch derartige Filamente unterteilt wird (Abb. 7d). Durch den Nachweis desselben Tubuluskomplexes in verschiedenen Schnittebenen kann der tubuläre Charakter der Untereinheiten als gesichert angesehen werden (Abb. 7c und d). Die Riesentubuli werden ringsherum von Glykogengranula umgeben; sie haben sich bisher nur in einer einzigen Faser nachweisen lassen.

Rundlich-ovale Filamentkörper ließen sich wie bei der Myotonia und Paramyotonia congenita wiederholt darstellen (Abb. 7a). Sie sind bis $6,5 \mu$ lang und ca. $2,5 \mu$ breit.

Die Kerne sind reich an Euchromatin. Myofibrillenveränderungen und Z-Streifenanomalie sind entsprechend dem lichtmikroskopischen Befund nur gelegentlich zu finden.

Myotonische Dystrophie

An dieser Stelle sollen nur die elektronenmikroskopisch nachweisbaren Veränderungen des T-Systems und des sarkoplasmatischen Reticulums bei der myotonischen Dystrophie zusammengefaßt werden, da die übrigen Veränderungen mit Ausnahme der flachen Lamellensysteme (Typ III in Tabelle 2) bereits an anderem Orte dargestellt worden sind (Schröder u. Adams, 1968; Samaha, Schröder, Rebeiz u. Adams, 1967).

Inkrustationen des T-Systems haben wir in unserem Material nicht gefunden; auch das Sarkolemm und die Pinocytosevesikel zeigen bei den Fällen mit myotonischer Dystrophie keine vergleichbaren Veränderungen, wie wir sie bei der Myotonia und Paramyotonia congenita sowie bei der Adynamia episodica hereditaria gesehen haben.

Wiederholt lassen sich vakuolisierte Muskelfasern nachweisen, die durch hochgradige Erweiterungen des T-Systems bedingt sind. Derartige Vacuolen sind im Inneren nicht von einer Basalmembran, sondern lediglich von einer auffällig dicken und kontrastreichen Membran ausgekleidet. Die Vacuolen erscheinen licht- und elektronenoptisch leer.

In Zusammenhang mit dem T-System oder in unmittelbarer Nachbarschaft einzelner Komponenten des T-Systems sind vielfach netzartig miteinander in Verbindung stehende Vesikel zu finden, die durch einen Pinoctose-ähnlichen Mechanismus aus dem T-System hervorgegangen sind (vgl. Abb. 4b).

Unter den Veränderungen des *sarkoplasmatischen Reticulums* stehen die regulären (Abb. 4c, 5a, b) oder irregulären (Abb. 5c) Proliferationen der Terminalzisternen im Vordergrund. Sie liegen in mehr oder weniger umfangreichen Haufen innerhalb der sarkoplasmatischen Massen zwischen den zerstörten oder fehlorientierten Myofibrillen oder auch in atrophischen Muskelfasern, deren Myofibrillenstruktur hochgradig gestört ist (Typ Ia in Tabelle 2). Sie sind in der Regel 800—900 Å breit; der Abstand zwischen den Membranen, die offensichtlich die gleiche Dichte und Struktur wie im Bereich der Triaden aufweisen, beträgt ca. 200 Å. Daneben gibt es mehr oder weniger große Erweiterungen der Terminalzisternen (Abb. 4b), die mit dem T-System oder dem Sarkolemm in Verbindung stehen können. Einzelne Fragmente der Terminalzisternen können auch bei normaler Konfiguration mit dem Sarkolemm in Kontakt stehen (Abb. 4a). An den Stellen des Kontaktes ist das Sarkolemm regelmäßig in geringem Grade eingezogen bzw. eingedellt.

Die pathologisch veränderten Terminalzisternen, seien sie hochgradig erweitert oder stark proliferiert, zeigen genau den gleichen homogenen Inhalt wie normale Terminalzisternen beiderseits des T-Systems. Auffällig sind die wiederholt nachweisbaren Verzweigungen (Abb. 5c).

In einer atrophischen Faser haben wir zwischen einem Kernhaufen eigentümliche flache Lamellensysteme gefunden (Typ III in Tabelle 2). Die benachbarten, durch eine Membran an den Enden geschlossenen Zisternen sind durch ein regelmäßiges Muster von dichten Punkten oder Linien miteinander verbunden (Abb. 4e und f). Aus dem Nachweis desselben Strukturkomplexes in zwei verschiedenen Schnittebenen läßt sich schließen, daß es sich nicht um tubuläre Strukturen handelt, sondern um ein geschichtetes Zisternensystem.

Diskussion

Feinstrukturelle Veränderungen am transversalen tubulären System (T-System) und am sarkoplasmatischen Reticulum (s.R.) sind in Muskelfasern von Patienten mit myotonischen, paramyotonischen und adynamischen Muskelfunktionsstörungen von besonderem Interesse, da vermutlich gerade diese intramuskulären Membransysteme einen Defekt aufweisen dürften. Tatsächlich fanden wir bei diesen Krankheiten verschiedenartige Veränderungen am T-System und am s.R., deren Bedeutung im folgenden diskutiert werden soll.

Inkrustationen des T-Systems

Die bisher weder im normalen Muskel noch unter pathologischen Bedingungen beschriebenen „Inkrustationen“ des T-Systems, des Sarkolemms und der Pinoctosevesikel erschienen anfangs als ein mögliches Substrat einer myotonischen oder adynamischen Funktionsstörung. Denn 1. paßte der nahezu selektive Befall der bei der Erregungsbildung und -ausbreitung beteiligten Membransysteme und

andererseits auch wieder das Fehlen derartiger Veränderungen an den übrigen intramuskulären Membranen wie dem s.R., den Kernmembranen, den Membranen der Mitochondrien und der Golgi-Komplexe sowie ihr Fehlen an der Oberfläche oder im Inneren von Endothel- und Satellitenzellen genau zu der erwarteten Lokalisation eines morphologischen Substrates der Myotonie, Paramyotonie oder Adynamie; 2. erschienen die Inkrustationen diskret genug, um eine mehr oder weniger transitorische Funktionsstörung erklären zu können; 3. zeigten nicht alle Muskelfasern innerhalb einer Muskelbiopsie Inkrustationen; dieser Befund paßte wiederum zu den *in vitro*-Untersuchungen von Hofmann und Rowe (1966), wonach nur einzelne Muskelfasern von Myotonia congenita-Patienten die charakteristischen hochfrequenten Entladungsmuster aufwiesen.

Doch leider ergab die Untersuchung weiterer Patienten mit Myotonia congenita (Fall 5 und 6), daß die Inkrustationen nicht regelmäßig nachgewiesen werden können. Andererseits fanden wir Inkrustationen auch bei 2 von 20 anderen Patienten mit nicht-myotonischen Myopathien: bei einem 7jährigen Jungen mit einer Kardiomyopathie unklarer Genese und bei einem 1 $\frac{1}{2}$ jährigen Jungen mit facio-scapulo-humeraler Myopathie. Auch das Fehlen der Inkrustationen bei der myotonischen Dystrophie und bei der experimentellen Myotonie mit 20,25-Diazacholesterin (Schröder u. Kuhn, 1968) spricht gegen einen Zusammenhang mit der Myotonie. Andererseits fanden sich ganz ähnliche Stippehen in manchen Lipidtropfen (Abb. 3e); und ein Versuch, derartige Präcipitate im Experiment zu reproduzieren, führte nach 3–4wöchigem Belassen von Rattenmuskeln in 6%iger Glutaraldehydlösung mit Phosphatpuffer zu recht beträchtlichen Ausfällungserscheinungen. Doch waren diese ungleichmäßig groß und über den gesamten Muskel verteilt, nicht so selektiv am Sarkolemm und T-System lokalisiert wie die Inkrustationen.

Demnach handelt es sich um ein unspezifisches, vermutlich artifizielles Präcipitationsphänomen, das aber wegen seiner geradezu cytochemischen Selektivität hinsichtlich der Lokalisation Beachtung verdient, auch wenn die Natur der zugrunde liegenden Reaktion bisher nicht aufgeklärt werden konnte. Andere Veränderungen am Sarkolemm, die mit der bei der Myotonie angenommenen verringerten Chloridionenpermeabilität (Byrant, 1969; Senges *et al.*, 1972) oder der veränderten quantitativen Zusammensetzung der Muskelphosphatide (Kuhn u. Seiler, 1970; Fiehn *et al.*, 1972) in Zusammenhang stehen könnten, haben wir feinstrukturell nicht nachweisen können.

Intrasarkoplasmatische Tubulus- und Zisternensysteme

Die proliferierten Terminalzisternen des s.R. bei der myotonischen Dystrophie (Typ 1a in Tabelle 2) lassen sich von den tubulären Aggregaten (Typ 2b und c) bei der dominant erblichen Myotonia congenita und bei der Paramyotonia congenita sowie insbesondere auch von den mit Filamenten kombinierten Tubuli (Typ IIa) bei der dominanten Myotonie und den Riesentubuli bei der Adynamia episodica hereditaria (Typ IIb) sowie den flachen Zisternensystemen bei der myotonischen Dystrophie (Typ III) unterscheiden (vgl. Tabelle 2).

Die Terminalzisternen des s.R. (Typ Ia) sind nicht so scharf geknickt, wie es Engel *et al.* (1970) bei den tubulären Aggregaten (Typ Ib und c) gezeigt haben. Sie können verzweigt sein und völlig irregulär verlaufen. Sie enthalten — und das ist das wichtigste Unterscheidungsmerkmal — eine homogen granuläre Substanz von mittlerer Elektronendichte, während der Inhalt der tubulären Aggregate weniger elektronendicht („leer“) erscheint (Typ Ic) oder innere Tubuli erkennen

läßt (Typ Ib). Der Spalt zwischen den aneinandergrenzenden Terminalzisternen ist in der Regel weiter als bei den tubulären Aggregaten. Außerdem sind die Terminalzisternen breiter als die Einzelkomponenten der sog. tubulären Aggregate.

Aufgrund der morphologischen Beziehungen bzw. Kontakte zum T-System und zum Sarkolemm sowie aufgrund der Dimensionen und des Inhaltes ist die Zuordnung der proliferierten Terminalzisternen zur lateralen oder *terminalen Komponente des s.R.* nicht schwierig (Schröder u. Adams, 1968). Demgegenüber haben Engel *et al.* (1970) die tubulären Aggregate auf Proliferationen der terminalen und/oder der *longitudinalen* Komponente des s.R. zurückgeführt. Offenbar kann sowohl die eine als die andere Komponente des s.R. für sich proliferieren, wobei über die unterschiedliche Proliferationstendenz nichts Näheres bekannt ist. Die Vermutung liegt nahe, daß das sarkoplasmatische Reticulum proliferiert, um eine Stoffwechsel- oder Funktionsstörung auszugleichen, möglicherweise die durch die myotonische Übererregbarkeit ausgelöste Hyperaktivität der Muskelfaser. Doch ist vorläufig nicht auszuschließen, daß entweder ein primärer metabolischer Defekt unter anderem auch zur abnormen Entwicklung des s.R. führt oder daß exogene Einflüsse, z. B. Medikamente, derartige Veränderungen auslösen können, wie es Engel *et al.* bei einem Teil ihrer Fälle mit tubulären Aggregaten annehmen.

Sowohl bei der myotonischen Dystrophie als auch bei der Myotonia congenita haben Seiler und Kuhn (1970) eine erhöhte Calciumaktivität der s.R.-Fraktionen *in vitro* beobachtet, ein Befund, der möglicherweise den morphologisch nachweisbaren Erweiterungen und Proliferationserscheinungen des s.R. entspricht. Andererseits ist eine sichere Differenzierung der Funktionen der terminalen und longitudinalen Komponenten des s.R. in biochemischen Präparationen bisher noch nicht völlig eindeutig gelungen (Fairhurst u. Hasselbach, 1970), so daß die unterschiedliche Proliferationstendenz der verschiedenen Strukturen bei unterschiedlichen Krankheiten bisher keine biochemische Entsprechung findet.

Es ist zweifelhaft, ob die in der Tabelle 2 getrennt aufgeführten tubulären Aggregate vom Typ Ib und c grundsätzlich verschieden sind, oder ob nur verschiedene Manifestationsformen der gleichen Strukturen vorliegen. So fällt vor allem das Vorkommen innerer Tubuli in den Einzelkomponenten mancher tubulärer Aggregate als Unterscheidungsmerkmal auf. Gruner hat 1966 erstmalig tubuläre Aggregate mit inneren Tubuli bei einem Fall mit familiärer periodischer Paralyse gefunden; der Durchmesser der äußeren Tubuli betrug 450–500 Å, derjenige der inneren 150 Å. Nach Pearce und Johnson (1970) beträgt der Durchmesser der äußeren Tubuli bei ihrem Fall („Myopathie mit tubulären Aggregaten“) durchschnittlich nur 525 Å, derjenige der inneren 300 Å. Engel *et al.* (1970) fanden meistens einen Durchmesser von 500–650 Å, während die inneren Tubuli 200–300 Å maßen. Morgan-Hughes *et al.* (1970) beobachteten bei ihrem Fall mit Muskelschmerzen und -steifheit, die durch Muskelarbeit ausgelöst wurden und in der Ruhe wieder verschwanden, Tubuli, die meistens einen Durchmesser von 400–500 Å aufwiesen und gelegentlich bis zu 800 Å breit sein konnten. Die Tubuli bestanden aus einer äußeren, etwa 80 Å dicken Wand, die durch eine helle, ca. 70–120 Å breite Zone von einer zentralen 250–300 Å breiten elektronendichten Substanz getrennt war. — Demgegenüber haben Odor *et al.* (1967) bei einem Fall mit familiärer hypokaliämischer periodischer Paralyse durchschnittlich etwa 730 Å dicke Tubuli ohne innere Tubuli oder andersartige dichte Substanzen beobachtet. Und Bradley fand bei dem ursprünglich von Poskanzer und Kerr (1961) beschriebenen Fall mit normokaliämischer periodischer Paralyse

ebenfalls einfache Tubuli (ohne innere Tubuli) mit einem Durchmesser von 500—700 Å.

Demnach gibt es größere und kleinere Tubuli mit oder ohne innere Tubuli. Ob diese unterschiedlich strukturierten tubulären Aggregate aus verschiedenen Komponenten des s.R. hervorgehen, ist unklar. Immerhin ist es möglich, daß die beiden verschiedenen lokalisierten longitudinalen Komponenten des s.R., das in Höhe des A-Bandes einerseits, das in Höhe des I-Bandes und Z-Streifens andererseits, zu differenten pathologischen Proliferationserscheinungen führen. Denn offensichtlich handelt es sich um Systeme mit verschiedener Funktion: Bei der Ratte variiert die Ausbildung der longitudinalen Komponenten des s.R. in Höhe des A-Bandes mit der Kontraktionsgeschwindigkeit der Muskelfaser bzw. der motorischen Einheit, während das in Höhe des I-Bandes und Z-Streifens gelegene System konstant ausgebildet ist (Schiaffino *et al.*, 1970). Doch ist es vorläufig nicht sicher möglich, tubuläre Aggregate mit unterschiedlicher Feinstruktur auf dieses oder jenes System zurückzuführen.

Auffällig große Tubuli, die mit Filamenten zusammenliegen (Typ IIa in Tabelle 2) haben auch Mair und Tomé (1972) bei einem Patienten mit Steroid-behandelter rheumatoider Arthritis beobachtet; doch sind die von uns gefundenen Tubuli etwa doppelt so groß und enthalten kein dichtes Zentrum.

Über die Herkunft der von uns bei der Adynamia episodica hereditaria beobachteten Riesentubuli (Typ IIb) und ihre Funktion sowie über die bei der myotonischen Dystrophie gefundenen flachen Lamellensysteme (Typ III) ist nichts Näheres bekannt; sie sind offenbar bisher nicht beschrieben worden.

*Zur Frage der Spezifität von Muskelfaserveränderungen bei der Myotonie,
Paramyotonie und Adynamie*

Nahezu sämtliche in der Literatur mitgeteilte, anfangs als spezifisch angesehene feinstrukturelle Muskelfaserveränderungen haben sich in der Folge als unspezifische Veränderungen erwiesen, die auch bei anderen Myopathien, wenn auch oft nicht in der gleichen Häufigkeit auftraten. So ist es zweifelhaft, ob einzelne Veränderungen, die wir nur bei einer einzigen Myopathie oder gar nur bei einem einzigen Fall gefunden haben, als „spezifisch“ angesehen werden können. Das gilt insbesondere für die Riesentubuli bei der Adynamie episodica hereditaria und für die flachen Lamellensysteme bei der myotonischen Dystrophie. Auffällig ist aber, daß proliferierte Terminalzisternen nur bei der myotonischen Dystrophie und tubuläre Aggregate nur bei dominant erblichen Fällen mit Myotonia congenita und bei der Paramyotonia congenita, nicht aber bei der recessiven generalisierten Myotonie zu finden waren. Leider geht aus den histochemischen Untersuchungen von Engel und Brooke (1966) nicht hervor, ob die von ihnen erwähnten „mitochondrialen Aggregate“, die inzwischen als histochemisches Äquivalent der elektronenmikroskopisch nachweisbaren tubulären Aggregate erkannt worden sind (Engel *et al.*, 1970), bei Fällen mit dominant oder recessiv erblicher Myotonia congenita auftraten. So muß es künftigen histochemischen Untersuchungen vorbehalten bleiben aufzuklären, ob die tubulären Aggregate tatsächlich als Unterscheidungsmerkmal zwischen der dominant und recessiv erblichen Form der nicht-dystrophischen Myotonie dienen können; denn bei den kleinen Ausschnitten, die elektronenmikroskopisch untersucht werden konnten, besteht durchaus die Möglichkeit, daß wir tubuläre Aggregate bei recessiv erblichen Fällen mit Myotonie übersehen haben.

Ein vermutlich wesentlicher Unterschied zwischen den dominant und recessiv erblichen Fällen mit Myotonia congenita besteht in dem Vorkommen von Muskel-

faserhypotrophien, die bei den recessiv erblichen Fällen deutlicher ausgeprägt sind als bei den dominant erblichen Fällen, wenn man Männer und Frauen unter sich vergleicht (Tabelle 1). Nur bei einem dominant erblichen Fall, einem 18jährigen, körperlich stark beanspruchten jungen Mann, fanden sich ausgeprägte Hypertrophien, während sein ebenfalls erkrankter Vater im Alter von 59 Jahren keine wesentlichen Faserhypertrophien zeigte (Fall 3 und 4). In einer anderen Sippe zeigte der 21jährige Sohn (Fall 6), ein körperlich weniger beanspruchter Student, keine stärkeren Muskelfaserhypertrophien gegenüber dem 49jährigen Vater (Fall 5).

Eine beträchtliche Hypertrophie der Muskelfasern, reichlich Kernvermehrungen und Vacuolenbildungen hat bereits Erb (1886) bei den drei von ihm untersuchten Fällen mit Myotonia congenita als charakteristisch bezeichnet. Wohlfahrt (1951) fand bei 6 Fällen mit Myotonia congenita 5mal hypertrophische Muskelfasern, 2mal atrophische Fasern, 4mal zentralverlagerte Muskelfaserkerne und bei einem Fall überhaupt keine sicheren Veränderungen. Leider geht aus seinen Untersuchungen nicht hervor, ob es sich um dominant oder recessiv erbliche Fälle gehandelt hat. Das gilt auch für die Untersuchungen von Adams und Rebeiz (1966) sowie von Engel und Brooke (1966) bzw. Brooke und Engel (1969b).

Muskelfaseratrophien ließen sich bei der dominanten Myotonie und auch bei der Paramyotonia congenita häufiger nachweisen als bei der recessiven generalisierten Myotonie. Sie können dem dunklen oder hellen Fasertyp angehören und legen wegen der Gleichförmigkeit des atrophischen Muskelfasertyps in bestimmten Regionen den Verdacht auf eine teilweise Degeneration motorischer Einheiten nahe (Abb. 1e).

Beträchtliche Kernvermehrungen fanden sich bei unserem Fall mit Adynamia episodica hereditaria (vgl. Bradley, 1969a). Noch wesentlich ausgeprägter sind sie bei der myotonischen Dystrophie (Wohlfahrt, 1951; Adams u. Rebeiz, 1966). Demgegenüber sind Kernvermehrungen und Zentralverlagerungen bei der nicht-dystrophischen Myotonie und Paramyotonie keineswegs bei allen Fällen besonders ausgeprägt.

Filamentkörper scheinen bei der untersuchten Gruppe von Myopathien besonders häufig vorzukommen. Sie wurden von Isch *et al.* (1968) bei der Paramyotonia congenita und von Odor *et al.* (1967) auch bei der hypokaliämischen periodischen Paralyse und von Macdonald *et al.* (1968) bei einem Fall von hypokaliämischer periodischer Paralyse mit Myotonie beobachtet. Im Gegensatz zu den von Howes *et al.* (1966) und Schröder und Adams (1968) beschriebenen annähernd kreisrunden, kokardenförmigen Sarkoplasmaeinschlüssen mit radiärer Anordnung der Filamente in der Peripherie und zentraler Verdichtungszone sind diese Filamentkörper völlig homogen aus großenteils konzentrisch orientierten aufgebaut.

Vacuolen in den Muskelfasern, die durch Invaginationen des Sarkolemmes entstanden und von einer Basalmembran ausgekleidet sind, haben wir am häufigsten bei der Paramyotonia congenita und Adynamia episodica hereditaria gefunden, während sie bei der Myotonia congenita seltener vorkommen. Vermutlich handelt es sich dabei um die bereits von Erb (1886) beschriebenen Vacuolen; denn in seinen Abbildungen sind bestimmte Strukturen wiedergegeben, die den von A. G. Engel (1970) und von uns gefundenen Fibroblasten oder Gefäßen in den Vacuolen entsprechen könnten. Ein Zusammenhang mit Aufsplitterungen von Muskelfasern ist wiederholt nachweisbar.

Unter den Veränderungen des T-Systems stehen einerseits die beschriebenen Inkrustationen im Vordergrund, deren Unspezifität wir bereits betont haben. Andererseits gibt es Vacuolen, die durch Erweiterungen des T-Systems entstehen und die wir bei der myotonischen Dystrophie (Schröder u. Adams, 1968), bei der experimentellen Myotonie mit 20,25-Diazacholesterin (Schröder u. Kuhn, 1968) und andere Untersucher bei verschiedenen nicht-myotonischen Myopathien beobachtet haben. A. G. Engel (1970) konnte durch den Nachweis eines extracellulären „Tracer“ den Zusammenhang derartiger Vacuolen mit dem endomyzialen Raum zwischen den Muskelfasern am Biopsiematerial nachweisen. Außerdem kommen „honigwabenhähnliche“ Proliferationserscheinungen des T-Systems vor, die durch Mikropinocytose entstehen und deren Vesikel in einem dreidimensionalen Netzwerk (Ishikawa, 1968) miteinander in Verbindung stehen. Wir haben sie nur bei der myotonischen Dystrophie (Schröder u. Adams, 1968; Mussini *et al.*, 1970; Schotland, 1970) gefunden. Sie kommen aber bei zahlreichen verschiedenartigen pathologischen Prozessen im Muskel vor und sind völlig unspezifisch.

Literatur

- Aleu, F. P., Afifi, A. D.: Ultrastructure of muscle in myotonic dystrophy. Preliminary observations. *Amer. J. Path.* **45**, 221—232 (1964).
- Allen, D. E., Johnson, A. G., Woolf, A. L.: The intramuscular nerve endings in dystrophia myotonica—a biopsy study by vital staining and electron microscopy. *J. Anat. (Lond.)* **105**, 1—26 (1969).
- Becker, P. E.: Zur Frage der Heterogenie der erblichen Myotonien. *Nervenarzt* **28**, 455—460 (1957).
- Becker, P. E.: Zur Genetik der Myotonien. (Eine vorläufige Übersicht.) *Internist (Berl.)* **4**, 384—392 (1963).
- Becker, P. E.: Myopathien. In: *Humangenetik. Ein kurzes Handbuch in fünf Bänden*, Hrsg. P. E. Becker, Bd. III/1, S. 411—550. Stuttgart: G. Thieme 1964.
- Becker, P. E.: Zur Genetik der Myotonien. In: *Progressive Muskeldystrophie, Myotonie, Myasthenie*, Hrsg. E. Kuhn, S. 247—255. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966.
- Becker, P. E.: Paramyotonia congenita (Eulenburg). *Fortschritte der allgemeinen und klinischen Humangenetik. Band III*, 134 S. Hrsg. P. E. Becker, W. Lenz, F. Vogel und G. G. Wendt. Stuttgart: G. Thieme 1970.
- Becker, P. E.: Genetic approaches to the nosology of muscle disease: myotonias and similar diseases. *Birth Defects: Original Article Series* **7**, 52—62 (1971).
- Bogaert, L. van: Syndrome myopathique au cours d'une maladie de Gamstorp: Etude anatomique. *Acta neurol. belg.* **67**, 133—142 (1967).
- Bradley, W. G.: Ultrastructural changes in adynamia episodica hereditaria and normokalaemic familial periodic paralysis. *Brain* **92**, 379—390 (1969).
- Brooke, M. H., Engel, W. K.: The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fiber types. 1. Adult male and female. *Neurology (Minneap.)* **19**, 221—233 (1969a).
- Brooke, M. H., Engel, W. K.: The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fiber types. 3. Myotonias, myasthenia gravis, and hypokalaemic periodic paralysis. *Neurology (Minneap.)* **19**, 469—477 (1969b).
- Bryant, S. H.: Cable properties of external intercostal muscle fibers from myotonic and nonmyotonic goats. *J. Physiol. (Lond.)* **204**, 539—550 (1969).
- Engel, A. G.: Evolution and content of vacuoles in primary hypokaliemic periodic paralysis. *Mayo Clin. Proc.* **45**, 774—814 (1970).
- Engel, W. K., Bishop, D. W., Cunningham, G. G.: Tubular aggregates in type II muscle fibers: ultrastructural and histochemical correlation. *J. Ultrastruct. Res.* **31**, 507—525 (1970).

- Engel, W. K., Brooke, M. H.: Histochemistry of the myotonic disorders. In: Progressive Muskeldystrophie, Myotonie, Myasthenie, S. 203—222, Hrsg. E. Kuhn. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966.
- Erb, W.: Die Thomsensche Krankheit, S. 1—128. Leipzig: Vogel 1886.
- Fairhurst, A. S., Hasselbach, W.: Calcium efflux from a heavy sarcotubular fraction. Effects of ryanodine, caffeine and magnesium. *Europ. J. Biochem.* **13**, 504—509 (1970).
- Fardeau, M.: Ultrastructural lesions observed in progressive muscular dystrophies. Critical study of their specificity. Abstract; International Congress on Muscle Diseases. *Excerpta Medica International Congress Series No. 186*. Ed: N. Canal, and G. Scarlato. Amsterdam-New York-London-Paris-Milan-Tokyo-Buenos Aires: Excerpta Medica Foundation 1969.
- Fardeau, M., Lapresle, J., Milhaud, M.: Contribution à l'étude des lésions élémentaires du muscle squelettique: ultrastructure des masses sarcoplasmique latérales (observées dans un cas de dystrophie myotonique). *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **159**, 15—17 (1965).
- Fiehn, W., Peter, J. B., Seiler, D., Kuhn, E.: Abnormalities of the sarcolemma in myopathies. Abstract, Symposium on Structure and Function of Normal and Diseased Muscle and Peripheral Nerve. May 18—20, 1972, Kasimierz upon Vistula, Poland.
- Garcin, R., Dubois-Poulsen, A., Fardeau, M.: Maladie de Thomsen de revelation neonatale avec atteinte particuliere des muscles respiratoires: documents ultrastructuraux concernant la biopsie musculaire. *Wien. Z. Nervenheilk.* **25**, 172—181 (1967).
- Garcin, R., Legran, M., Roudot, P., Fardeau, M.: Etude clinique et metabolique d'une observation de paramyotonie congenitale d'Eulenburg. Documents ultrastructuraux concernant la biopsie musculaire. *Revue neurol.* **115**, 295—311 (1966).
- Gruner, J.-E.: Anomalies du réticulum sarcoplasmique et prolifération des tubules dans le muscle d'une paralysie périodique familiale. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **160**, 193—195 (1966).
- Hofmann, W. W., Alston, W., Rowe, G.: A study of individual neuromuscular junctions in myotonia. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* **21**, 521—537 (1966).
- Howes, E. L., Price, H. M., Pearson, C. M., Blumberg, J. M.: Hypokalemic periodic paralysis. Electron microscopic changes in the sarcoplasm. *Neurology (Minneap.)* **16**, 242—256 (1966).
- Isch, F., Stoebner, P., Warter, J. M.: Paramyotonia congenitale de von Eulenburg: Etude des observations d'une enfant et de sa mère. *Rev. neurol.* **118**, 214—221 (1968).
- Ishikawa, H.: Formation of elaborate networks of T-system tubules in cultured skeletal muscle with special reference to the T-system formation. *J. Cell Biol.* **38**, 51—66 (1968).
- Oaffurs, W. J., Herman, R. H., McDowell, M. K., Blumberg, J. M.: Hyperkalemic paralysis (adynamia episodica hereditaria): ultrastructural studies of muscles in two cases. *Metabolism* **12**, 740—750 (1963).
- Johnson, A. G., Woolf, A. L.: Abnormal sarcolemmal nuclei encountered in several cases of dystrophia myotonica. *Acta neuropath. (Berl.)* **12**, 183—188 (1969).
- Jong, J. G. Y. de: Dystrophia myotonica, paramyotonia and myotonia congenita. Assen: Van Gorcum & Comp. 1955.
- Klinkerfuss, G. H.: An electron microscopic study of myotonic dystrophy. *Arch. Neurol. (Chic.)* **16**, 181—193 (1967).
- Kuhn, E., Seiler, D.: Biochemische Besonderheiten und Unterschiede der autosomal dominant und autosomal recessiv vererbten Myotonia congenita. *Klin. Wschr.* **48**, 1134—1136 (1970).
- MacDonald, R. D., Rewcastle, N. B., Humphrey, J. G.: The myopathy of hyperkalemic periodic paralysis. *Arch. Neurol. (Chicago)* **19**, 274—283 (1968).
- Mair, W. G. P., Tomé, F. M. S.: Atlas of the ultrastructure of diseased human muscle. Edinburgh-London: Churchill Livingstone 1972.
- Milhaud, M., Fardeau, M., Lapresle, J.: Contribution à l'étude des lésions élémentaires du muscle squelettique: ultrastructure des fibres annulaires (observées dans la dystrophie myotonique). *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **158**, 2274—2275 (1964).
- Morgan-Hughes, J. A., Mair, W. G. P., Lascelles, P. T.: A disorder of skeletal muscle associated with tubular aggregates. *Brain* **93**, 873—880 (1970).
- Mussini, I., DiMauro, S., Angelini, C.: Early ultrastructural and biochemical changes in muscle in dystrophia myotonica. *J. neurol. Sci.* **10** b, 585—604 (1970).

- Odor, D. C., Patel, A. N., Pearse, L. A.: Familial hypokalemic periodic paralysis with permanent myopathy. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **26**, 98—114 (1967).
- Pearse, A. G. E., Johnson, M.: Histochemistry in the study of normal and diseased muscle, with special reference to myopathy with tubular aggregates. In: *Proceedings Intern. Congr. on Muscle Diseases*. Ed. Walton, J. N., Canal, N., and Scarlato, G. *Int. Congr. Ser. No 199*, p. 25—32. Amsterdam: Excerpta medica.
- Samaha, F. J., Schröder, J. M., Rebeiz, J., Adams, R. D.: Studies on myotonia. Biochemical and electron microscopic studies on myotonia congenita and myotonia dystrophica. *Arch. Neurol.* (Chicago) **17**, 22—33 (1967).
- Schiaffino, S., Hanzlikova, V., Pierobon, S.: Relations between structure and function in rat muscle fibers. *J. Cell Biol.* **47**, 107—119 (1970).
- Schmalbruch, H.: Kristalloide in menschlichen Muskelfasern. *Naturwissenschaften* **54**, 519 (1967).
- Schotland, D. L.: An electron microscopic investigation of myotonic dystrophy. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **29**, 241—253 (1970).
- Schröder, J. M.: Zur Ultrastruktur der Kernveränderungen bei der myotonischen Dystrophie. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* 53. Tagg, S. 278—283. Hrsg. G. Seifert. Stuttgart: G. Fischer 1969.
- Schröder, J. M., Adams, R. D.: The ultrastructural morphology of the muscle fiber in myotonic dystrophy. *Acta neuropath. (Berl.)* **10**, 218—241 (1968).
- Schröder, J. M., Kuhn, E.: Zur Ultrastruktur der Muskelfaser bei der experimentellen „Myotonie“ mit 20,25-Diazacholesterin. *Virchows Arch. Abt. A* **344**, 181—195 (1968).
- Seiler, D., Kuhn, E.: Kalziumtransport der isolierten Vesikel des sarkoplasmatischen Retikulum von Patienten mit Myotonia congenita und Myotonia dystrophica. *Schweiz. med. Wschr.* **100**, 1374—1376 (1970).
- Senges, J., Rüdél, R., Kuhn, E.: Experimental myotonia: electro-physiological and mechanical studies. Abstract, Symposium on Structure and Function of Normal and Diseased Muscle and Peripheral Nerve. May 18—20, 1972, Kazimierz upon Vistula, Poland.
- Venable, J. H., Coggeshall, R.: A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **25**, 407—408 (1965).
- Wechsler, W., Hager, H.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen bei myotonischer Muskeldystrophie. *Arch. Psychiat. Nervenkr.* **201**, 668—690 (1961).
- Wohlfahrt, G.: Dystrophia myotonica and Myotonia congenita: Histopathological studies with special references to changes in muscles. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **10**, 109—124 (1969).

Priv.-Doz. Dr. J. M. Schröder
Max-Planck-Institut für Hirnforschung
Neuropathologische Abteilung
D-6000 Frankfurt a. M.-Niederrad
Deutschordenstr. 46
Bundesrepublik Deutschland