

Enzym-histochemische Darstellung (SDH, LDH, Gluc-6-P-DH) von Stoffwechselveränderungen im hypertrophischen Myokard der Ratte*

Wolfgang Rebel und Thomas Stegmann

Pathologisches Institut der Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
der Universität Heidelberg (Direktor: Prof. Dr. med. G. Schallrock)

Eingegangen am 2. März 1973

Enzyme Histochemical Effects (on SDH, LDH, Gluc-6-P-DH) of Metabolic Changes in the Hypertrophic Myocardium of Rat

Summary. Rats of various ages and weights are subjected to swimming training for 0.5 to 200 hours. The enzyme activities of SDH, LDH and Gluc-6-P-DH are histochemically established, the reaction products measured photometrically and compared with the enzyme activities in animals not subjected to stress.

The SDH shows age-dependent activity within the myocardium of the rat; the enzyme activity falls with advancing age and increasing weight of the rats. The SDH activity of young rats subjected to stress remains low compared to the controls. Increased SDH activity is detected with additional stress in adult animals. The LDH activity within the myocardial cells is independent of age and weight of the animals. The LDH activity within the myocardium of rats subjected to stress is on the whole higher than that in the controls. Neither in the myocardium of the controls nor in the myocardium of rats subjected to stress is the enzyme Gluc-6-P-DH detected histochemically.

According to these results increased oxidative metabolism in the myocardium can be assumed to occur during the development of hypertrophy of the heart. The anaerobic carbohydrate metabolism is also activated by the increased glycolysis rate. The pentose phosphate cycle within the metabolism of the normal and hypertrophied myocardium appears to be of no essential importance.

Zusammenfassung. Ratten unterschiedlichen Alters und Körpergewichts werden einem Schwimmtraining von 0,5–200 Std ausgesetzt. Die Enzymaktivitäten von SDH, LDH und Gluc-6-P-DH werden histochemisch nachgewiesen, über das Reaktionsprodukt photometrisch gemessen und mit den Enzymaktivitäten unbelasteter Tiere verglichen.

Die SDH zeigt eine altersabhängige Aktivität im Myokard der Ratte: mit zunehmendem Alter und Körpergewicht der Ratten fällt die Enzymaktivität ab. Bei belasteten jungen Ratten ist die SDH-Aktivität gegenüber den Kontrollen gleichbleibend erniedrigt. Ausgewachsene Tiere lassen eine steigende Zunahme der SDH-Aktivität mit fortschreitender Belastungsdauer erkennen. Die LDH-Aktivität in den Herzmuskelzellen ist unabhängig vom Alter und Körpergewicht der Tiere. Belastete Ratten weisen eine gegenüber den Kontrolltieren grundsätzlich erhöhte LDH-Aktivität im Myokard auf. Das Enzym Gluc-6-P-DH läßt sich histochemisch weder im Herzmuskel unbelasteter Kontroll- noch im Myokard belasteter Schwimmratten nachweisen.

Nach den vorliegenden Befunden kann angenommen werden, daß während der Entwicklung einer Herzhypertrophie eine Steigerung des oxydativen Stoffwechsels im Myokard eintritt; auch der anaerobe Kohlenhydratabbau erfährt mit einer erhöhten Glykolyserate eine Aktivierung. Dagegen scheint dem Pentosephosphat-Cyclus im Stoffwechsel des normalen und hypertrophischen Myokards keine wesentliche Bedeutung zuzukommen.

Eine der funktionellen Anpassungserscheinungen des Myokard ist die Herzhypertrophie, die in Abhängigkeit von ihrer Genese als Sportherz, Volumenhyper-

* Mit Unterstützung des Verbandes der Lebensversicherungsunternehmen e. V., Bonn.

trophie, Druckhypertrophie und idiopathische Hypertrophie beschrieben wird (Meessen und Poche, 1963). Zahlreiche Befunde über die Ultrastruktur und den Stoffwechsel des hypertrophischen und insuffizienten Myokard sind in neuerer Zeit beschrieben worden (Novi, 1968; Hochrein, 1968; Fanburg und Posner, 1968; Bozner und Meessen, 1969; Koide und Rabinowitz, 1969; Vihert und Pozdnyunina, 1969; Büchner und Onishi, 1970; Fanburg, 1971). Dabei ergaben sich typische Veränderungen des Kreatinphosphat- und Adenosintriphosphatgehaltes in verschiedenen Stadien der Herzhypertrophie; eine Aktivierung der Proteinsynthese und eine Zunahme des RNS-Gehaltes in der Initialphase der experimentellen Herzhypertrophie konnte ebenfalls nachgewiesen werden; in der Phase der ausgeglichenen Hypertrophie des Herzmuskels ohne klinische Zeichen einer Insuffizienz normalisierten sich jedoch Proteinsynthese und RNS-Gehalt (Meerson, 1969; Büchner und Onishi, 1970).

Die vorliegende Arbeit versucht, Stoffwechselveränderungen bei sich entwickelnder experimenteller Herzhypertrophie enzym-histochemisch nachzuweisen. Enzyme als Biokatalysatoren chemischer Reaktionen des Stoffwechsels sind besonders als Untersuchungsgegenstand geeignet, weil ihre Aktivitätsveränderungen Schlüsse über Verschiebungen ganzer Reaktionssketten im Stoffwechsel zulassen. Mit Hilfe der photometrischen Bestimmung und vergleichend quantitativen Auswertung der histochemischen Reaktionsprodukte (Rebel und Stegmann, 1972) von SDH, LDH und Gluc-6-P-DH soll dargestellt werden, ob und in welchem Ausmaß bei experimenteller Herzhypertrophie Veränderungen der Umsatzraten von Citratcyclus, Glykolyse und Pentosephosphat Cyclus im Stoffwechsel der Herzmuskelzelle auftreten.

Methodik

Als Material der hier beschriebenen Untersuchungen wurden insgesamt 76 männliche und weibliche Wistarratten (Körpergewicht: 20–600 g) verwendet. 10 unbelastete Tiere verschiedenen Körpergewichts und Alters dienten als Kontrollen, 16 Tiere wurden durch Schwimmtraining (0,5–200 Std) unterschiedlich stark belastet. An 50 Tieren wurde die Beziehung zwischen Körper- und Herzgewicht bei steigendem Alter der Tiere dargestellt.

Bei allen Tieren wurden Körpergewicht, Herzgewicht und Herzindex (Herzgewicht pro g Körpergewicht) bestimmt. Die Tötung der Tiere erfolgte durch Nackenschlag. Nach sofortiger Entnahme, Wägung und Präparation des Herzens wurden Gewebstücke des linken Ventrikels mit Kohensäureschnee tiefgefroren und bei konstanter Temperatur von -20°C im Lindenkryostaten geschnitten. Die Schnittdicke betrug $10\text{ }\mu$.

Der *Enzymaktivitätsnachweis* der SDH erfolgte an $10\text{ }\mu$ dicken Kryostatenschnitten nach der von Nachlas, Tsou, Souza, Cheng und Seligman (1957, 1958) angegebenen Methode, die modifiziert wurde: das Inkubationsmedium enthielt 10 ml eines 0,1 m Veronalpuffers pH 7,4, 270 mg Na-Succinat, 3 mg KCN und 5 mg NBT. Inkubationsdauer: 30 min bei 37°C .

Die hier verwendete Darstellung der LDH und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase stellte eine Modifikation des von Nachlas, Walker und Seligman (1958a, 1958b) für NAD- und NADP-abhängige Dehydrogenasen angegebenen Verfahrens dar. Inkubationsmedium (LDH): 10 ml eines 0,1 m Veronalpuffers pH 7,4, 3 mg Na-Lactat, 3 mg KCN, 3 mg NAD und 5 mg NBT. Inkubationsdauer: 60 min bei 37°C . Für den Nachweis der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase wurde das angegebene Inkubationsmedium durch den Zusatz von 30 mg Glucose-6-Phosphat (Dinatriumsalz) als Substrat und von NADP als Coenzym abgewandelt. Die Schnitte wurden mit Glyceringelatine eingedeckt.

Die *mikrophotometrische Auswertung* erfolgte im Durchlichtverfahren mit dem Mikroskop-Photometer MPV der Firma Leitz, Wetzlar, nach der bei Rebel und Stegmann (1972) angegebenen Methodik. Nach Bestimmung der Absorptionsspektren der histochemischen Reaktionsprodukte von SDH und LDH wurde in 14 Punkten des Präparates, die deutliche Enzymaktivität zeigten, die Extinktion gemessen, der Mittelwert bestimmt und in der Form von Arbeits-

einheiten ($AE = E \times F$) (Sandritter, 1958; Kiefer und Sandritter, 1966; Krug, 1967) angegeben. Die Größe der jeweils ausgemessenen Einzelmeßfläche betrug $0,79 \mu^2$. Kondensor: 20/0,33; Objektiv: 25/0,50; Zwischenokular: 25-fach. Photometrisch gemessen wurde im Absorptionsmaximum des Reaktionsproduktes, das für SDH und LDH bei 437 nm lag.

Ergebnisse

Der *Herzindex* ausgewachsener, belasteter Tiere war gegenüber den Kontrollen signifikant erhöht und ließ eine steigende Tendenz mit zunehmender Belastungserkennen (Rebel und Stegmann, 1972).

Sämtliche Herzmuskelfasern unbelasteter und belasteter Rattenherzen zeigten eine intensive, gleichmäßig verteilte Aktivität der *Succinat-Dehydrogenase* (Abb. 1a). Das Reaktionsprodukt der histochemischen Nachweisreaktion lag in Form von tief-blauen, z.T. in der Längsrichtung der Fasern angeordneten Diformazan-Granula vor. Rote Granula, die eine partielle Reduktion des Ditetrazols zum Monoformazan anzeigen würden (Nachlas, Tsou, Souza, Cheng und Seligman, 1957; Reiss, 1967), ließen sich in keinem Präparat nachweisen. Die Aktivität der SDH in den Myokardzellen war außerordentlich hoch; die Granula des Reaktionsproduktes waren so dicht gelagert, daß von einer fast homogenen enzympositiven Anfärbung des Myokards gesprochen werden kann. Die interstitiellen Gefäße ließen keine Enzymaktivität erkennen.

Die SDH zeigt einen altersabhängigen Aktivitätsgrad im Herzmuskelgewebe (Abb. 2). Während die Intensität des Diformazan-Farbstoffes — als Maß für die Reaktionsstärke — bei jungen Tieren (Alter: 20—35 Tage; Körpergewicht: 20—90 g) einen hohen Wert von 62,3 AE aufwies, fiel sie mit zunehmendem Alter der Tiere stark auf Werte um 42 AE ab und erreichte bei ausgewachsenen Ratten (Alter: 4—14 Monate; Körpergewicht: über 300 g) leicht ansteigend einen mittleren Wert von 48,4 AE.

Diese Aktivitätsunterschiede der SDH bei Ratten verschiedenen Alters machte eine Teilung des untersuchten Rattenkollektivs in zwei Gruppen erforderlich: eine Gruppe junger Tiere (Alter: 20—70 Tage; Körpergewicht: 20—100 g) mit einem mittleren Kontrollwert der SDH-Aktivität von 62,3 AE und eine Gruppe ausgewachsener Tiere (Alter: 2,5—14 Monate; Körpergewicht: über 165 g) mit der durchschnittlichen SDH-Aktivität von 46,0 AE. Damit war ein Vergleich der SDH-Aktivität von unbelasteten und belasteten Tieren möglich.

Belastete junge Ratten zeigten bis zu einer Belastungsdauer von insgesamt 20 Std eine gleichmäßig gegenüber der Kontrolle erniedrigte SDH-Aktivität im Myokard (Abb. 3). Während der Kontrollwert unbelasteter Tiere gleicher Altersgruppe um 62 AE lag, wiesen belastete junge Ratten Werte auf, die sich eng um 55 AE gruppieren. Eine Aktivitätszunahme der SDH mit steigender Schwimmbelastung der Tiere war bis zu einer Trainingsdauer von 20 Std nicht zu verzeichnen. Mit fortschreitendem Alter und Erhöhung der Belastungsdauer ließ sich eine deutliche und steile Zunahme der SDH-Aktivität im Myokard feststellen (Abb. 4). Mit 57,5 AE nach 20stündigem Training lag die SDH-Aktivität über den entsprechenden Kontrollwerten unbelasteter Tiere (46,0 AE). Sie stieg bei zunehmender Schwimmbelastung der Tiere auf Werte von 65,2 AE nach 120stündiger Belastung und 83,6 AE nach insgesamt 200stündigem Schwimmtraining an.

Die Aktivität der *Lactat-Dehydrogenase* war in den Myokardfasern lokalisiert (Abb. 1b). Die blauen, durch die Enzymkatalyse gebildeten Diformazan-Granula

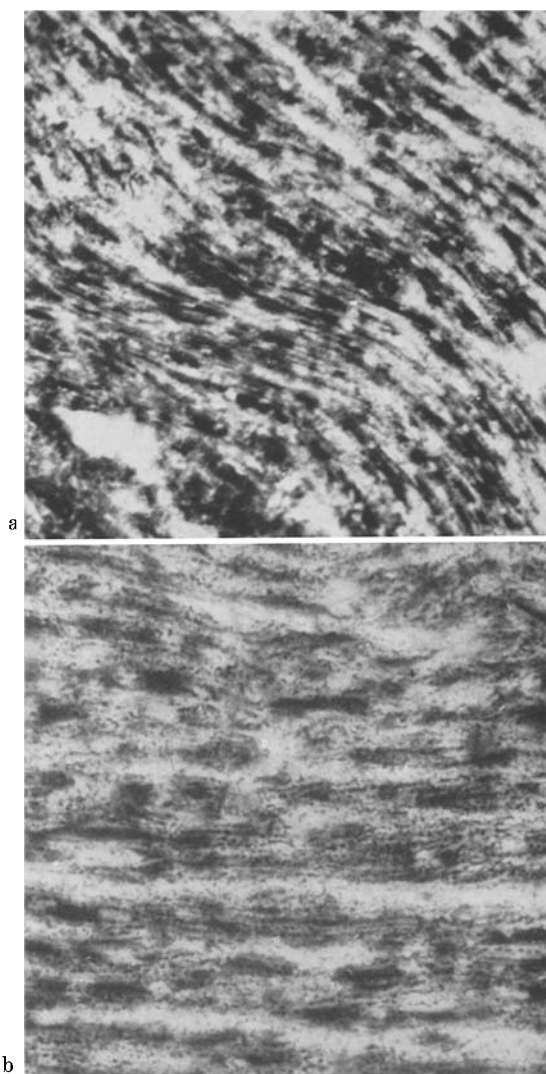


Abb. 1. a SDH im Myokard der Ratte. Vergr. 1:250; b LDH im Myokard der Ratte. Vergr. 1:400

zeigten eine gleichmäßige, teilweise „perlschnurartige“ Anordnung in den Herzmuskelfasern. Das Reaktionsprodukt des histochemischen LDH-Nachweises war gleichmäßig und dicht über das ganze Herzmuskelgewebe verteilt. Gefäße und interstitielles Gewebe ließen keine Enzymaktivität erkennen.

Die LDH wies eine von Alter und Körpergewicht unabhängige, gleichbleibende Aktivität in den Myokardzellen auf (Abb. 5). Ein leichter Abfall der Aktivität bei ausgewachsenen Tieren war, wie die Werte der Standardabweichung erkennen lassen, nicht signifikant. Die Meßwerte der Diformazan-Intensität, bzw. Enzymaktivität im Gewebe, bewegten sich in einem Bereich von 12—13 AE.

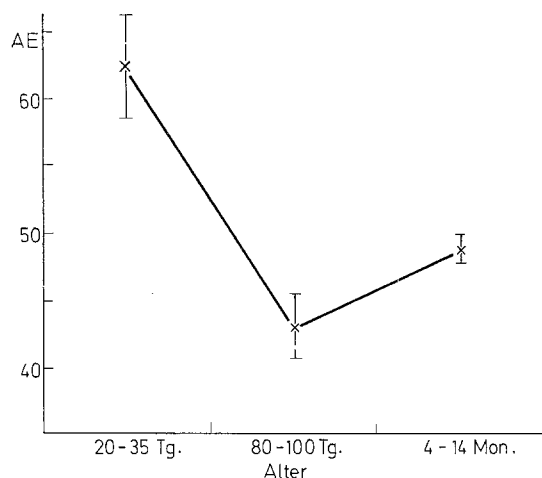


Abb. 2. Enzymaktivitätsverlauf der SDH im Myokard der Ratte bei zunehmendem Alter der Tiere. Mit Angabe der Standardabweichung

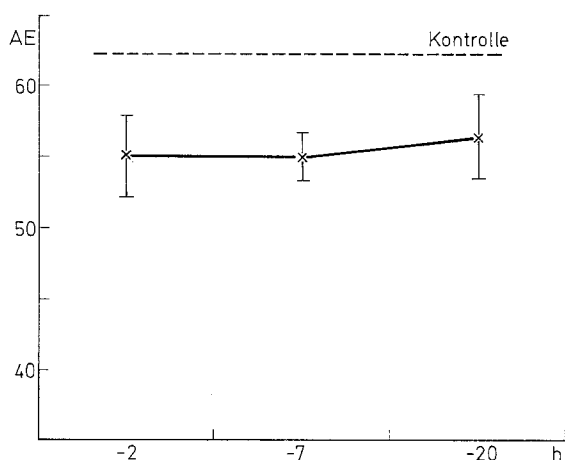


Abb. 3. Aktivität der SDH junger belasteter Tiere in Abhängigkeit von der Schwimmdauer. Kontrollwert gestrichelt

Durch Schwimmtraining belastete Tiere zeigten grundsätzlich eine gegenüber den unbelasteten Kontrollen erhöhte LDH-Aktivität im Myokard (Abb. 6). Trotz verschiedener Meßwerte bei unterschiedlich langem Training ließ sich keine signifikante Aktivitätssteigerung oder -abnahme bei Zunahme der Belastungsdauer nachweisen; alle Werte der LDH-Aktivität belasteter Ratten lagen in einem Bereich von 19—22 AE.

Eine Enzymaktivität der *Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase* ließ sich im Herzmuskel der Ratte histochemisch nicht nachweisen. Sowohl im Herzmuskel unbelasteter Kontrolltiere als auch belasteter Schwimmratten war der Reaktionsausfall negativ.

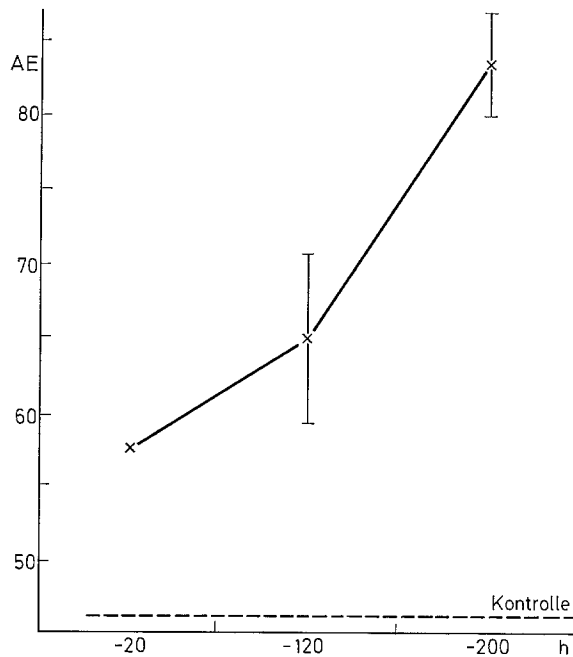


Abb. 4. Belastete ausgewachsene Tiere. Aktivität der SDH in Abhängigkeit von der Trainingsdauer. Kontrollwert gestrichelt

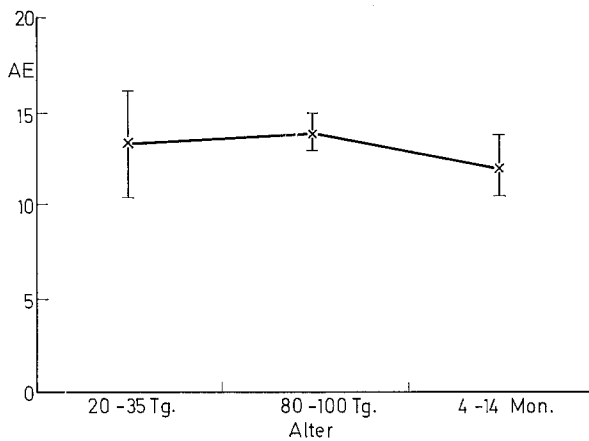


Abb. 5. Aktivitätsverlauf der LDH mit zunehmendem Alter der Tiere. Mit Angabe der Standardabweichung

Diskussion

Succinat-Dehydrogenase

Die SDH gehört zur Gruppe der anaeroben Dehydrogenasen; durch die Enzymkatalyse der SDH wird Wasserstoff vom Substrat Bernsteinsäure auf das als prosthetische Gruppe fest mit dem Enzymmolekül verbundene Flavin-adenin-di-

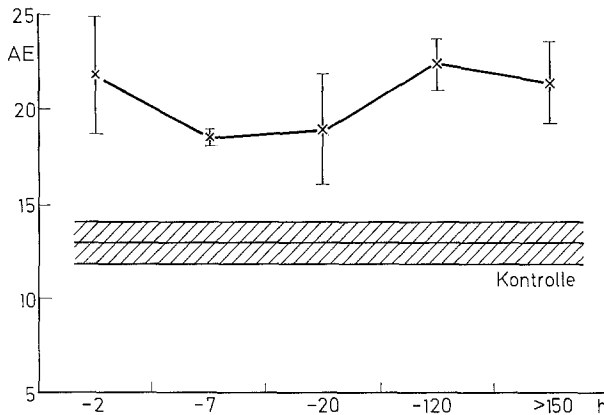


Abb. 6. Belastete Tiere. Aktivität der LDH in Abhängigkeit von der Trainingsdauer. Kontrollwert mit Standardabweichung schraffiert

nucleotid (FAD) übertragen, das zur FAD-H₂ reduziert wird; durch die Oxydation der Bernsteinsäure entsteht Fumarsäure (Schlenk, 1951; Singer und Kearney, 1963; Altman, 1972). Das Enzym kommt in den Mitochondrien aller aeroben Zellen vor (Singer und Kearney, 1963); die von der SDH katalysierte Reaktion ist Bestandteil des Citronensäurecyclus, mit dem der oxydative Endabbau aller Metabolite des Protein-, Fett- und Kohlenhydratstoffwechsels zu CO₂ und H₂O unter Energiegewinn beginnt. Gleichzeitig dienen die Zwischenprodukte des Citratcyclus zur Biosynthese von neuem zelleigenem Material (Buddecke, 1970). Der von der prosthetischen Gruppe der SDH — Flavin-adenin-dinucleotid — übernommene Wasserstoff wird zur Endoxydation in die Atmungskette eingeschleust. In der Atmungskette erfolgt dann die Wasserstoff-, bzw. Elektronenübertragung entsprechend den physiologischen Normalpotentialen der einzelnen Redoxsysteme.

Der histochemische Nachweis der SDH im Herzmuskel wurde vielfach durchgeführt (Padykula, 1952; Rutenberg, Wolman und Seligman, 1953; Neumann und Koch, 1953; Cooper, 1954; Nachlas, Tsou, Souza, Cheng und Seligman, 1957, 1958; Buno und Germino, 1958; Michel und Gutte, 1968 u. a.); ebenfalls ist die an Mitochondrien gebundene Lokalisation des Enzyms bekannt (Lindberg und Ernster, 1954; Goddard und Seligman, 1952; de Duve, Pressman, Giannetto, Wattiaux und Appelmans, 1955; Deane, Barnett und Seligman, 1960; Pearse, 1960; Singer und Kearney, 1963; Thompson, 1966; Rapoport, 1969).

Eine unterschiedliche SDH-Aktivität in Vorhof und Ventrikel kann Cooper (1954) zeigen; postnatal erhöht sich die SDH-Konzentration mit dem Alter sowohl im Vorhof als auch im Ventrikel; jedoch nimmt sie im Ventrikel stärker zu als im Vorhof. Während Michel und Gutte (1968) für das Herz des Huhnes eine postnatale Aktivitätszunahme der SDH mit steigendem Alter feststellen, können wir einen Abfall der SDH-Aktivität im Myokard der Ratte bei zunehmendem Alter und Körpergewicht nachweisen. Nach den vorliegenden Ergebnissen scheint der Umsatz im Citratcyclus der Herzmuskelzelle bei ausgewachsenen Ratten geringer zu sein als bei jungen. Es läßt sich annehmen, daß der gesamte oxydative Stoffwechsel von jungen, wachsenden Tieren erhöht ist und erst mit dem Auswachsen der Tiere auf das notwendige, „normale“ Ausmaß reduziert wird.

Während junge Tiere auch bei Schwimmbelastung keine wesentliche Aktivitätszunahme der SDH erkennen lassen, erhöht sich die Aktivität der SDH im Herzmuskel ausgewachsener Ratten steil mit der Dauer des Schwimmtrainings. Daraus ist zu schließen, daß die Umsatzrate im Citratecyclus und in der mit dem Citratecyclus gekoppelten Atmungskette bei sich entwickelnder Herzhypertrophie zunimmt. Ähnlich können Hearn und Wainio (1956) einen Anstieg der SDH-Aktivität im Skelettmuskel von trainierten Ratten — Schwimmtraining — zeigen. Vallyathan, Cherian und George (1964) finden nach 30minütiger elektrischer Reizung des M. pectoralis der Taube eine Aktivitätszunahme der SDH. Dagegen ergeben biochemische und histochemische Untersuchungen von Yampolskaya (1952) und Dorn, Lorenz und Niwelinski (1970) einen Abfall der SDH-Aktivität im Skelettmuskel der Ratte nach Schwimmtraining und Laufzwang. Elektrische Reizungen an Skelettmuskeln des Frosches führen ebenfalls zu einer Abnahme der SDH-Aktivität im Skelettmuskel (Lorenz, Dorn und Reichel, 1970).

Eine deutliche Reduktion der SDH-Aktivität und anderer Oxydo-Reduktasen im Myokard der Ratte können Vihert und Pozdyunina (1969) im Anfangsstadium der experimentellen Herzhypertrophie — akute Muskelsuffizienz — zeigen; das bedeutet eine starke Einschränkung der oxydativen Prozesse im Citratecyclus und in der Atmungskette mit entsprechender Insuffizienz der oxydativen Phosphorylierung (Szekeres und Schein, 1959; Schwartz und Lee, 1962; Hochrein, Nagano und Wollheim, 1963). Im Stadium der funktionellen Anpassung des Herzmuskels an die Mehrbelastung läßt sich jedoch eine Aktivitätserhöhung der Oxydo-Reduktasen nachweisen (Vihert und Pozdyunina, 1969), die mit der Zunahme der Zahl der Mitochondrien in den Myokardfasern korreliert (Sobel und Cochen, 1958; Tobian, Severseike und Cich, 1960; Meerson, Zaletayeva, Lagutchev und Pshennikova, 1964; Novi, 1968; Bozner und Meesen, 1969).

Für den langsamen und sich allmählich entwickelnden Prozeß einer Herzhypertrophie muß nach den vorliegenden Befunden eine Steigerung des oxydativen Stoffwechsels — Citratecyclus und Atmungskette — angenommen werden; neben erhöhten Aktivitäten des Cytochromsystems (Dallman, 1966), der Cytochromoxydase und der Malat-Dehydrogenase (Vihert und Pozdyunina, 1969) ist auch die SDH-Aktivität — als Indikator des oxydativen Stoffwechsels in Citratecyclus und Atmungskette — im hypertrophischen Herzmuskel erhöht.

Lactat-Dehydrogenase

Die ubiquitär im Tier- und Pflanzenreich verbreitete LDH katalysiert in einer reversiblen Reaktion die Reduktion des Pyruvats zu Lactat (Schwert und Winer, 1963). Coenzym dieser Reaktion ist das leicht dissoziabile NAD, das die Funktion des Wasserstoffdonators, bzw. -akzeptors übernimmt. Unter anaeroben Bedingungen stellt die Reduktion des Pyruvats zu Lactat den Endpunkt des anaeroben Glucoseabbaus (Glykolyse) dar (Rapoport, 1969; Buddecke, 1970). Obwohl die Glykolyse nur in wenigen tierischen Geweben (z. B. Knorpel, Retina, Erythrocyten) die bevorzugte oder ausschließliche Quelle der Energiegewinnung darstellt, ist der glykolytische Abbau der Glucose zu Pyruvat Voraussetzung für den aeroben Endabbau der Kohlenhydrate im Citratecyclus (Buddecke, 1970). Die Reduktion des Pyruvats zu Lactat durch die LDH kennzeichnet eine anaerobe Stoffwechselsituation, bei der die Endoxydation in Citratecyclus und Atmungskette gegenüber der

Lactatbildung wesentlich zurücktritt. Somit gibt die Bestimmung der LDH-Aktivität im Herzmuskel Aufschluß über das Ausmaß der anaeroben Glykolyse im Herzen (Hochrein und Nagano, 1962; Hochrein, 1965; Meerson, 1969).

Die histochemisch im Rattenmyokard nachgewiesene Lactat-Dehydrogenase zeigt eine vom Alter und Körpergewicht der Tiere unabhängige, gleichbleibende Aktivität. Unbeeinflusst von den Stoffwechselvorgängen der während des Wachstums verstärkt ablaufenden Proteinsynthese ist der Anteil der anaeroben Glykolyse am Gesamtstoffwechsel bei jungen Ratten gleich dem bei ausgewachsenen Tieren. Die allgemein erhöhte LDH-Aktivität im Herzmuskel bei durch Schwimmtraining belasteten Ratten steht im Einklang mit biochemischen Befunden, daß im Muskel bei starker Belastung oxydative Stoffwechselprozesse zu Gunsten der anaeroben Glykolyse zurückgedrängt werden (Karlson, 1970); dabei geht der Muskel eine Sauerstoffschuld ein. Nach Schwimmtraining von Ratten stellen auch Gollnick und Hearn (1961) eine Aktivitätszunahme der LDH im linken Ventrikel fest; im Skelettmuskel zeigen sich jedoch keine Aktivitätsveränderungen der LDH gegenüber den Kontrollen.

In Versuchen am Herz-Lungen-Präparat des Meerschweinchens ergibt sich ein deutlicher Aktivitätsanstieg der LDH des Herzmuskels bei hoher Druckbelastung (Hochrein und Nagano, 1962); die erhöhte LDH-Aktivität hält bis in den Bereich der Herzinsuffizienz an und wird von den Autoren als Zeichen einer Störung des Kohlenhydratabbaus im Myokard gedeutet: die gesteigerte anaerobe Glykolyse kennzeichne eine der mechanischen Herzinsuffizienz vorausgehende praainsuffiziente Stoffwechselsituation.

Nach starker Laufbelastung können Dorn, Lorenz und Niwelinski (1970) im M. soleus der Ratte neben einer Erniedrigung der SDH-Aktivität eine Aktivitätszunahme von LDH und Glycerin-1-Phosphat-Dehydrogenase feststellen; ähnlich steigt die LDH-Aktivität im elektrisch wiederholt gereizten Skelettmuskel des Frosches deutlich gegenüber den Kontrolltieren an (Lorenz, Dorn und Reichel, 1970). Gould und Rawlinson (1959) hingegen können — übereinstimmend mit Hearn und Wainio (1956) — im Herz- und Skelettmuskel von Schwimmratten keine Enzymaktivitäts-Veränderungen der LDH und der Malat-Dehydrogenase nachweisen. Einen Abfall der Glykogen-, LDH- und SDH-Konzentration im M. gastrocnemius von durch Schwimmtraining belasteten Ratten wird von Yampolskaya (1952) beschrieben.

Schwartz und Lee (1962) schließen aus Untersuchungen der Herzmuskelmitochondrien und des Glucose-Metabolismus bei starker Belastung des Herzens auf eine Abnahme der Glykolyse wie auch der Atmung und der oxydativen Phosphorylierung. Meerson (1969) jedoch legt ausführlich dar, daß sowohl das initiale Schädigungsstadium der Hyperfunktion des Herzens als auch das Stadium der beständigen Herzhypertrophie durch eine verstärkt ablaufende anaerobe Glykolyse gekennzeichnet sind; erst bei beginnender Herzinsuffizienz durch Überlastung des Herzmuskels kommt es zu einer Abnahme der Lactat- und Pyruvat-Konzentration. In Übereinstimmung mit Gollnick und Hearn (1961), Hochrein und Nagano (1963), Hochrein (1965) und Meerson (1969) ist auch nach den vorliegenden Befunden dieser Arbeit eine bei Belastung und Hypertrophie des Herzens erhöhte Glykolyse rate anzunehmen; ein verstärkt ablaufender anaerober Kohlenhydratabbau ist Kennzeichen des hypertrophischen Myokards.

Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase

Der hier dargestellte Befund eines negativen Reaktionsausfalles der Gluc-6-P-DH im Myokard der Ratte stimmt mit den Ergebnissen von Schiebler (1961), Rudolph und Klein (1964) und Michel und Junge (1970) überein. Eine Enzymaktivität der Gluc-6-P-DH läßt sich weder im Myokard noch im Epi- und Endokard nachweisen (Rudolph und Klein, 1964); auch im Erregungsleitungssystem ist das Enzym mit histochemischer Methodik nicht darzustellen (Schiebler, 1961; Michel und Junge, 1970).

Das Enzym Gluc-6-P-DH ist ein Schrittmacher-Enzym des Pentosephosphat-Cyclus (Pentose-Shunt; Warburg-Dickens-Horecker-Cyclus). Die physiologische Bedeutung des Pentosephosphat-Cyclus liegt einmal in der Bereitstellung von intermediären Ribosephosphaten, die für die Synthese von Nukleinsäuren und Nukleotiden verwendet werden (Rudolph und Klein, 1964; Buddecke, 1970); zum anderen ist das gebildete NADP-H₂ ein wichtiges Coenzym bei reduktiv verlaufenden Stoffwechselprozessen (Rudolph und Klein, 1964; Rapoport, 1969; Buddecke, 1970).

Die histochemisch fehlende Aktivität der Gluc-6-P-DH im Myokard der Kontroll- und Schwimmtiere läßt erkennen, daß der Stoffwechselweg des Pentosephosphat-Cyclus im Myokard keine oder nur untergeordnete Bedeutung besitzt. Auch bei der Entwicklung einer Herzhypertrophie ist keine Aktivierung dieses Cyclus festzustellen.

Wir danken Frau I. Riemann für die Mitarbeit bei der Durchführung dieser Untersuchungen.

Literatur

- Altmann, F.P.: Quantitative dehydrogenase histochemistry with special reference to the pentose shunt dehydrogenases. *Progr. Histochem. Cytochem.* **4**, 225–273 (1972).
- Bóznér, A., Meessen, H.: Die Feinstruktur des Herzmuskels der Ratte nach einmaligem und nach wiederholtem Schwimmtraining. *Virchows Arch. Abt. B* **3**, 248–269 (1969).
- Buddecke, E.: *Grundriß der Biochemie. Für Studierende der Medizin, Zahnmedizin und Naturwissenschaften.* Berlin: W. de Gruyter & Co. 1970.
- Büchner, F., Onishi, S.: *Herzhypertrophie und Herzinsuffizienz in der Sicht der Elektronenmikroskopie.* München-Berlin-Wien: Urban & Schwarzenberg 1970.
- Buno, W., Germino, N.I.: Distribution of succinic dehydrogenase in the organs of the adult albino rat. *Acta anat. (Basel)*, **33**, 161–174 (1958).
- Cooper, W.G.: Succinic dehydrogenase activity of cardiac muscle. *Anat. Rec.* **118**, 380 (1954).
- Dallmann, P.R.: Cytochrome c in normal and hypertrophied heart. *Nature (Lond.)* **212**, 608–609 (1966).
- Deane, H.W., Barnett, R.J., Seligman, A.M.: Histochemische Methoden zum Nachweis der Enzymaktivität. In: *Handbuch der Histochemie*, Bd. VII/1. Stuttgart: G. Fischer 1960.
- Dorn, A., Lorenz, D., Niwelinski, J.: Histochemisch nachweisbare Veränderungen der Enzymverteilung in Extremitätenmuskeln von Ratten nach Belastung durch Laufzwang. *Acta histochem. (Jena)* **35**, 277–289 (1970).
- Duve, C. de, Pressman, B.C., Giannetto, R., Wattiaux, R., Appelmans, F.: Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *Biochem. J.* **60**, 604–617 (1955).
- Fanburg, B.L.: Recent studies on cardiac hypertrophy. *Amer. Heart J.* **81**, 447–450 (1971).
- Fanburg, B.L., Posner, B.I.: Ribonucleic acid synthesis in experimental cardiac hypertrophy in rats. I. Characterization and kinetics of labeling. *Circulat. Res.* **23**, 123–135 (1968).
- Goddard, J.W., Seligman, A.M.: Intracellular topography of succinic dehydrogenase in the thyroid of the albino rat. *Anat. Rec.* **112**, 543–566 (1952).

- Padykula, H. A.: The localization of succinic dehydrogenase in tissue sections of the rat. *Amer. J. Anat.* **91**, 107–146 (1952).
- Pearse, A. G. E.: *Histochemistry. Theoretical and applied*, 2nd ed. London: J. & A. Churchill Ltd. 1960.
- Rapoport, S. M.: *Medizinische Biochemie. Lehrbuch für Studierende und Ärzte*. Berlin: VEB Verlag Volk und Gesundheit 1969.
- Rebel, W., Stegmann, T.: Aktivitätsveränderungen der alkalischen Phosphatase des Herzmuskels bei tierexperimentell erzeugter Herzhypertrophie. *Virchows Arch. Abt. A* **357**, 243–256 (1972).
- Reiß, J.: Grundlagen und neuere Ergebnisse des histochemischen Nachweises von Dehydrogenasen mit Tetrazoliumsalzen. *Z. wiss. Mikr.* **68**, 169–189 (1967).
- Rudolph, G., Klein, J. H.: Histochemische Darstellung und Verteilung der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase in normalen Ratenorganen. *Histochemie* **4**, 238–251 (1964).
- Rutenberg, A. M., Wolman, M., Seligman, A. M.: Comparative distribution of succinic dehydrogenase in six mammals and modifikation in the histochemical technic. *J. Histochem. Cytochem.* **1**, 66–81 (1953).
- Sandritter, W.: Ultraviolett-mikrospektrophotometrie. In: *Handbuch der Histochemie*, Bd. I/1, hrsg. von W. Graumann und K. Neumann, S. 220–338. Stuttgart: G. Fischer 1958.
- Schiebler, T. H.: Über den histochemischen Nachweis von Atmungsfermenten im Reizleitungssystem. *Verh. anat. Ges. (Jena)* **57**, 103–112 (1961).
- Schlenk, F.: Succinic dehydrogenase. In: *The enzymes*, ed. by J. B. Sumner and K. Myrbäck, vol. II/1., p. 316–328. New York: Academic Press 1951.
- Schwartz, A., Lee, K. S.: Study of heart mitochondria and glycolytic metabolism in experimentally induced cardiac failure. *Circulat Res.* **10**, 321–332 (1962).
- Schwert, G. W., Winer, A. D.: Lactate dehydrogenase. In: *The enzymes*, ed. by P. D. Boyer, H. Lardy, K. Myrbäck, vol. 7, 2nd ed. p. 127–148. New York-London: Academic Press, 1963.
- Singer, T. P., Kearney, E. B.: Succinate dehydrogenase. In: *The enzymes*, ed. by P. D. Boyer, H. Lardy, K. Myrbäck, vol. 7, 2nd ed. p. 383–445. New York-London: Academic Press 1963.
- Sobel, H., Cochen, F.: Proteins of heart in experimental cardiac hypertrophy in the rat. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **99**, 656–658 (1958).
- Szekeres, L., Schein, M.: Cell metabolism of the overloaded mammalian heart in situ. *Cardiologia (Basel)* **34**, 19–27 (1959).
- Thompson, S. W.: *Selected histochemical and histopathological methods*. Springfield Illinois: Charles C. Thomas, Publisher, 1966.
- Tobian, L., Severseike, O., Cich, I.: Do mitochondria participate in general cardiac hypertrophy? *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **103**, 774–777 (1960).
- Vallyathan, N. V., Cherian, K. M., George, J. C.: Succinic dehydrogenase in pigeon pectoralis during disease atrophy. *J. Histochem. Cytochem.* **13**, 265–269 (1964).
- Vihert, A. M., Pozdunina, N. M.: Changes in enzyme activity and electrolite content in the myocardium in experimental myocardial hypertrophy and insufficiency. *Virchows Arch. Abt. A* **347**, 44–56 (1969).
- Yampolskaya, L. I.: *Biochemische Untersuchungen von Muskeln trainierter und nichttrainierter Tiere (Ratten) unter dem Einfluß von Belastung*. *Setschenows J. Physiol.* **38**, 91–99 [russisch] (1952).

Dr. med. Wolfgang Rebel
Thomas Stegmann
Pathologisches Institut
des Klinikums Mannheim der
Universität Heidelberg
Städt. Krankenanstalten
D-6800 Mannheim 1
Theodor-Kutzer-Ufer
Bundesrepublik Deutschland