

Sonderdruck aus Band XXII, Heft 3, 1961

ACTA NEUROVEGETATIVA

Schriftleitung: E. Anderson, Bethesda, C. Coronini, Wien, A. Sturm, Wuppertal
Springer-Verlag in Wien

Alle Rechte vorbehalten

B. Csillik, I. Schneider und G. Kálmán

**Über die histochemische Struktur tetanischer
und tonischer myoneuraler Synapsen**

Anatomisches Institut der Medizinischen Universität, Szeged, Ungarn
(Direktor: Prof. Dr. A. Gellért).

Über die histochemische Struktur tetanischer und tonischer myoneuraler Synapsen

Von

B. Csillik, I. Schneider und G. Kálmán

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 26. Februar 1960)

Die Bestrebungen nach einer Erklärung für die funktionellen Verschiedenheiten der Skelettmuskeln auf morphologischer Grundlage sind nicht neu. Seit langem ist bekannt, daß die sogenannten „roten“ Muskeln zu langdauernden, intensiven Kontraktionen fähig sind im Gegensatz zu dem schnellen Bewegungstyp (Zuckungen) der sogenannten „weißen“ Muskeln. Im Jahre 1928 wies *Sommerkamp*¹⁷ nach, daß beim Frosch diese beiden Muskeltypen auf die Wirkung von Acetylcholin Kontraktionen verschiedenen Typs produzieren. Auf Grund dieser Untersuchungen hat sich seither der Begriff der „tetanischen“ und „tonischen“ Muskeln eingebürgert. *Krüger*¹³ kommt in seiner zusammenfassenden Monographie zu der Feststellung, daß im Querschnittsbild die tetanischen Muskeln eine „Fibrillenstruktur“, die tonischen aber eine „Felderstruktur“ aufweisen und auf Grund dieser Erkenntnis die beiden Muskelfasertypen verhältnismäßig leicht zu unterscheiden sind.

Im Anschluß an die Untersuchungen von *Sommerkamp* wies *Kuffler*¹⁴ 1953 nach, daß beim Frosch der elektrophysiologisch registrierte Aktionsstrom der tonischen Muskelfasern sich signifikant von dem der tetanischen Muskelfasern unterscheidet; während in den letzteren die Erregungsreflexe weiterlaufen, sind in den ersteren die sogenannten „non-propagating“ Impulse zu beobachten. Dementsprechend belegte *Kuffler* das die tonischen Muskeln innervierende System mit einem besonderen Namen: „small nerve system“ und wies auf seine allgemeine biologische Bedeutung hin. Anlaß zu dieser Benennung war der Umstand, daß die Nerven dieses Systems bedeutend geringeren Kalibers sind als die, welche die tetanischen Muskelgruppen innervieren und auch ihre mittels Silberimprägnation und Methylenblau-Vitalfärbung nachgewiesenen motorischen Endigungen (die sogenannten „traubenförmigen Endigungen“, „terminaisons en grappe“, „grapelike endings“) sich grundlegend von den in den tetanischen Muskelfasern befindlichen sogenannten Kühneschen Büscheln unterscheiden. Hier sei betont,

daß diese Regelmäßigkeiten — wenigstens in dieser Form — nur in bezug auf die Froschmuskeln Geltung haben; in den Muskeln der Säuger gestalten sich die Verhältnisse etwas komplizierter.

Die entscheidende Rolle der Cholinesterase (ChE) bei der synaptischen Reizübertragung veranlaßte uns, die mikroskopische Lokalisation dieses Enzyms sowie die Intensität der Enzymaktivität im Gebiete der einzelnen myoneuralen Synapsen in den beiden Muskelarten näher zu untersuchen. In der vorliegenden Arbeit soll über den ersten Teil unserer Untersuchungen, die sich auf die Muskeln des Frosches beziehen, berichtet werden. Diese Frage erscheint uns von grundlegender Wichtigkeit, weil die auf das „small nerve system“ bezüglichen elektrophysiologischen Untersuchungen sich ebenfalls auf an Froschmuskeln gemachte Feststellungen stützen und so unsere Untersuchungen bis zu einem gewissen Grade auch eine morphologisch-histochemische Grundlage für diese physiologische Theorie liefern. Andererseits dürfen diese Untersuchungen auch als Modell für die komplizierteren Verhältnisse im Säugermuskel dienen.

Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden am M. iliofibularis des *Rana esculenta* durchgeführt. Dieser schmale, lange Muskel liegt lateral zwischen den Streck- und Beugemuskeln des Oberschenkels. Für vergleichende Untersuchungen ist der Umstand von Bedeutung, daß die eingangs erwähnten physiologischen Untersuchungen an diesem Muskel vorgenommen wurden, da in diesem dünnen Muskel beide Muskelfasertypen vertreten sind. Im proximalen Teil des Muskels gruppieren sich nämlich die tonischen Fasern in morphologisch gut unterscheidbaren Bündeln, den sogenannten „Tonusbündeln“ (*Sommerkamp*), während der übrige Teil des Muskels ausschließlich aus tetanischen Fasern besteht. Nach *Krüger*¹³ zeigt das Tonusbündel sogenannte „Felderstruktur“ und der übrige Teil des Muskels „Fibrillenstruktur“.

Die Frösche wurden durch Dekapitation und Rückenmarkzertrümmerung getötet, der M. iliofibularis herauspräpariert und — extendiert an einer Korkscheibe fixiert — für 30 bis 60 Minuten in 8%iges kaltes (+ 4° C) Formol gegeben. Nach der Fixierung wurde das „Tonusbündel“ von dem übrigen Teil des Muskels isoliert, im Gefriermikrotom 30 bis 40 μ dicke Schnitte hergestellt und in diesen die ChE-Aktivität der subneuronalen Apparate (SNA) mit der an anderer Stelle⁵ schon beschriebenen, etwas modifizierten Variante der Koelle-Gerebtzoffschen Methode^{8, 12} dargestellt⁹. Zur Bestimmung des Durchmessers der zu den SNA ziehenden Nervenfasern haben wir einige Präparate zwecks Darstellung der Markscheiden mit Sudanschwärz nachgefärbt und sie dann ohne Entwässerung mit Gummi-arabicum-Lösung nach *Romhányi*¹⁶ eingeschlossen. Die zur Messung der Intensität benutzte Methode wird im experimentellen Teil (3) beschrieben.

Ergebnisse

1. Das morphologisch-histochemische Bild

Im tetanischen Anteil des Muskels fanden wir lediglich die von *Couteaux*² entdeckten, palisadenartig angeordneten und intensiv ChE-aktiven

⁹ Inkubation (pH 6,2) 10 Minuten bei 37° C und dann 5 Minuten bei 56° C. Nachbehandlung anstatt mit $(\text{NH}_4)_2\text{S}_x$ mit 5%iger Na_2S -Lösung.

subneuronalen Strukturen vor (Abb. 1 a). Die kammzinkenartige Lamellen („Organiten“) dieser Strukturen stehen senkrecht zu den Telodendrien der Kühneschen Bündel angeordnet (Abb. 2, 3). Unseren Messungen zufolge beträgt die Dicke der Organiten etwa $0,2 \mu$ und der zwischen ihnen befindliche



Abb. 1. ChE-Reaktion der motorischen Endigungen im M. iliobularis des Frosches. Vergrößerung 900fach. a ChE-Aktivität im tetanischen Anteil des Muskels (palisadenartige SNA mit intensiver Enzymaktivität). b ChE-Aktivität im „Tonusbündel“ (traubenförmiger SNA mit schwacher Enzymaktivität).

Spalt hat einen Durchmesser von etwa $0,4 \mu$. So entfallen auf je eine 1μ lange Strecke der SNA ungefähr 2 Lamellen. Das angewandte Verfahren brachte Artefakte fast nie zustande. Die in den tetanischen Muskeln Platz nehmenden palisadenartigen SNA sind selbst dann auf den ersten Blick zu erkennen, wenn nur ein aus 4 bis 5 Lamellen bestehender Abschnitt in der Schnittebene erfaßt wurde (Abb. 4 a).

Ein ganz abweichendes Bild zeigen die SNA der im „Tonusbündel“ des *M. iliofibularis* enthaltenen Muskelfasern. Ihre ChE-Aktivität ist eine weitaus schwächere und auch ihre Struktur ist grundlegend verschieden (Abb. 1 b). Diese Apparate bestehen aus traubenförmig angeordneten



Abb. 2. ChE-Reaktion tetanischer SNA. Palisadenartig angeordnete Lamellen (Dicke $0,2 \mu$) und Zwischenräume (Dicke $0,4 \mu$). Vergrößerung 2500fach.

Haufen von Ringen oder sphärisch runden Gebilden von etwa 2 bis 3μ Durchmesser (Abb. 5, 6, 7, 8). Ihre Struktur ist so charakteristisch, daß sie auf den ersten Blick von den SNA der tetanischen Fasern zu unterscheiden sind, und zwar auch dann, wenn nur ein kleiner Teil der Gebilde in die Schnitte gelangt (Abb. 4 b). Wir haben in keinem einzigen Falle beobachtet, daß *an ein und derselben* Muskelfaser tetanische *und* tonische SNA vorgekommen wären. Eine häufige Erscheinung war dagegen, daß sich an einer Muskelfaser *mehrere* tonische Endigungen — in 100 bis 150μ Entfernung voneinander — finden.

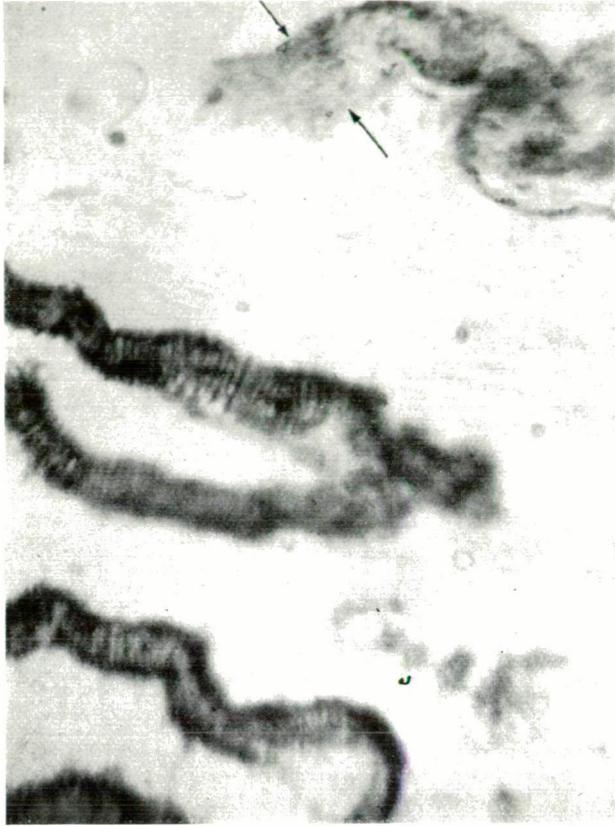


Abb. 3. ChE-Reaktion tetanischer SNA. Im oberen Anteil des Mikrophotogramms eine zuführende motorische Nervenfasern mit Sudanschwarz gefärbt (zwischen den Pfeilen). Vergrößerung 2500fach.



Abb. 4. Kleine Anteile einzelner SNA, die gelegentlich in die Schmittebene gefallen sind (ChE-Reaktion). Vergrößerung 2500fach. a Anteil eines tetanischen SNA. b und c Anteile tonischer SNA.

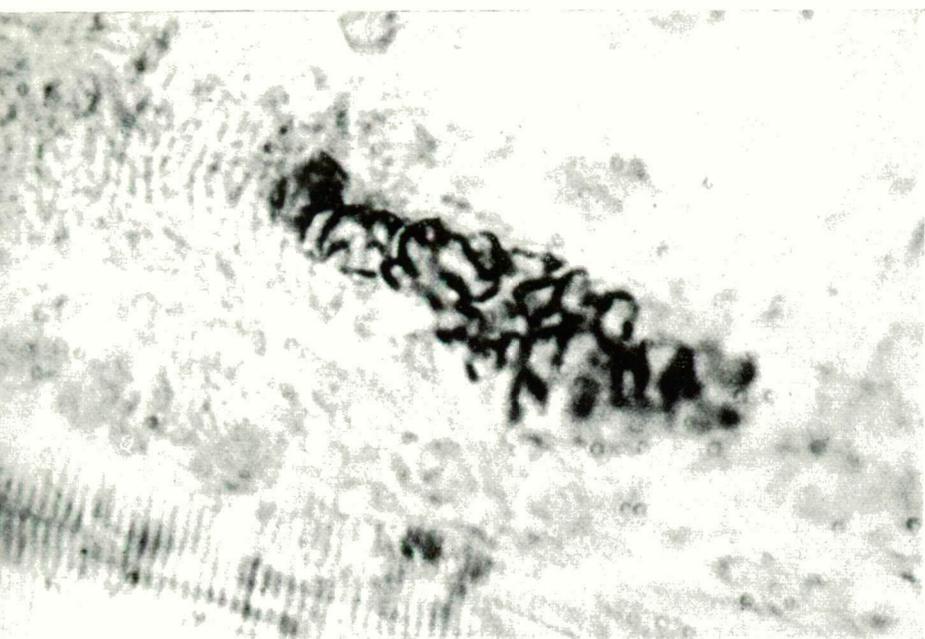


Abb. 5. ChE-Reaktion eines tonischen SNA aus dem Tonusbündel. Auffallend ist die traubenförmige Anordnung von sphärisch-runden Gebilden. Vergrößerung 2500fach.

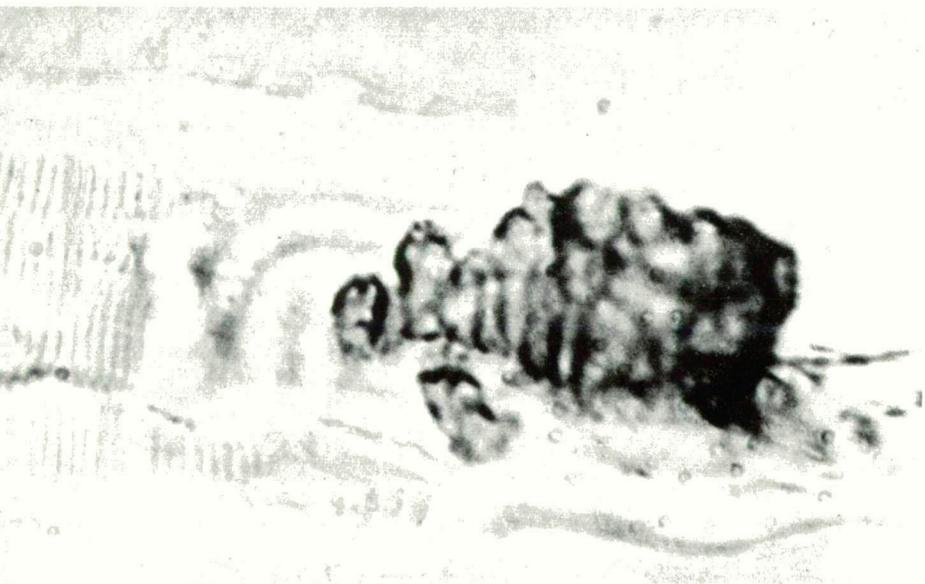


Abb. 6. ChE-Reaktion eines tonischen SNA. Vergrößerung 2500fach.

2. Kaliberverhältnisse der Nervenfasern

Obwohl das morphologische Bild nicht viel Zweifel darüber aufkommen läßt, daß diese traubenförmigen SNA den traubenförmigen Endigungen der tonischen Muskelfasern angehören, hielten wir es dennoch für nötig, uns auch unmittelbar über die Zugehörigkeit der SNA zum „small nerve system“ zu überzeugen. Besonders angezeigt schien dies in Anbetracht dessen, daß — obwohl die „Tonusbündel“ des *M. iliofibularis* möglichst präzise nach der Vorschrift von *Sommerkamp*¹⁷ isoliert wurden — in den betreffenden Muskelabschnitten gewöhnlich dennoch einige palisadenartige SNA vorkamen, die unseres Erachtens tetanischer Natur waren. Wir haben deshalb in einer Schnittserie aus dem *M. iliofibularis* an einigen mit Sudanschwarz nachgefärbten Präparaten den Durchmesser der unmittelbar an die tonischen bzw. an die tetanischen SNA herantretenden Nervenfasern gemessen (Abb. 3, 8).

Die hierbei erhaltenen Werte sind etwas kleiner als üblich, was sich daraus erklärt, daß die in der Literatur mitgeteilten Daten sich gewöhnlich auf Fasern der extramuskulären Nervenstämme beziehen, während hier die Meßwerte die Faserdurchmesser der infolge der intramuskulären Verzweigungen dünner gewordenen „präterminalen“ Fasern angeben. Andererseits ist in Betracht zu ziehen, daß unsere Werte nur der Dicke der *Markhülle* entsprechen, der eigentlich noch die Dicke der Schwannschen Scheide zugerechnet werden müßte.

Die Messungsergebnisse sind in Abb. 9 dargestellt. Aus der Abbildung geht hervor, daß zu den tetanischen, palisadenartig strukturierten SNA dicke (4,8 bis 9,6 μ) und zu den tonischen, traubenförmigen SNA dünne (1,9 bis 4,6 μ) markhaltige Fasern ziehen. Die die tetanischen SNA innervierenden Nervenfasern haben größtenteils einen Durchmesser von 7 μ und die der tonischen SNA einen solchen von 2,8 μ .

Die Kaliberunterschiede der zu den zweierlei SNA ziehenden Nervenfasern sind unbedingt signifikant, was beweist, daß die traubenförmigen (tonischen) SNA in der Tat dem „small nerve system“ angehören *.

3. Intensität der Cholinesterasereaktion

Wie erwähnt, tritt an den Schnitten, bei denen die ChE dargestellt wurde, bereits auf den ersten Blick eindrucksvoll der Unterschied in der Intensität der Enzymreaktion der zweierlei SNA — zugunsten der tetanischen Endigungen — zutage. Über diese subjektive Beurteilung hinaus wäre es jedoch wünschenswert, das Intensitätsverhältnis der Enzymaktivitäten auch objektiv zum Ausdruck zu bringen.

Hierzu dürfte sich scheinbar die biochemische ChE-Bestimmung von Volums- oder Gewichtseinheiten exzidierten Muskelstückchen am besten eignen; leider würde aber durch solche — wenn auch zahlenmäßige — Ergebnisse die Enzymaktivität der *einzelnen* Synapsen nicht wahrheitsgetreu wiedergegeben. Es könnte

* Der schon erwähnte Umstand, daß auch in den makroskopisch isolierten „Tonusbündeln“ 1 bis 2 tetanische Endigungen vorkommen, dürfte mit der Unzulänglichkeit der Sommerkampschen Präparationstechnik zu erklären sein.



Abb. 7. ChE-Reaktion eines tonischen SNA. Vergrößerung 2500fach.



Abb. 8. ChE-Reaktion eines tonischen SNA. Im rechten unteren Winkel des Bildes ist die zuführende Nervenfasern (mit Sudanschwarz gefärbt, zwischen den Pfeilen) sichtbar.

z. B. ein Muskel mit wenigen, schütter liegenden SNA mit intensiver ChE-Aktivität gleiche Ergebnisse zeitigen wie ein Muskel mit reichlichen, dicht gelagerten, schwach ChE-aktiven SNA. Wir sind daher gezwungen, anstatt der summativen biochemischen Bestimmungen zu individuellen histo-photometrischen Bestimmungen zu greifen. Im Falle einer unter entsprechenden Kautelen durchgeführten Inkubation ist die Intensität des am Reaktionsort entstandenen CuS nahezu proportional der Enzymaktivität. Die unmittelbare Photometrie würde aber auch dann

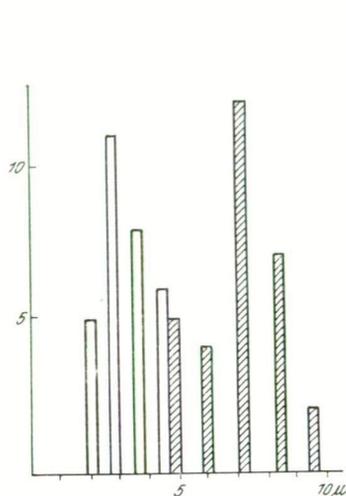


Abb. 9.

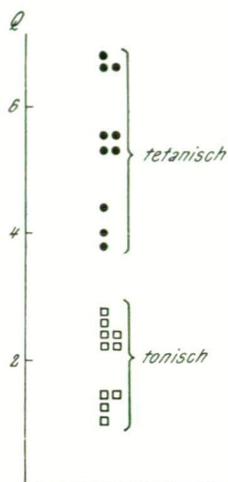


Abb. 10.

Abb. 9. Graphische Darstellung der Kaliberverhältnisse der zuführenden Nervenfasern von 30 tonischen (weiße Säulen) und ebenfalls 30 tetanischen (schwarze Säulen) SNA. Ordinate: Zahl der Nervenfasern. Abszisse: Kaliber der Nervenfasern in Mikrons.

Abb. 10. Graphische Darstellung des Ausmaßes der auf eine Oberflächeneinheit eines SNA entfallenden Aktivitätsintensität ($Q = \frac{E}{F}$). Schwarze Punkte: tetanische SNA; weiße Vierecke: tonische SNA.

noch irreführende Ergebnisse liefern, wenn mit Hilfe entsprechender optischer Einrichtungen immer nur je ein SNA im Gesichts- bzw. Meßfeld eingestellt würde. In diesem Falle würde nämlich ein über eine größere Oberfläche verfügender, aber schwächer aktiver SNA eine größere Lichtadsorption produzieren können als ein weniger ausgedehnter, dafür aber eventuell wesentlich intensiver ChE-aktiver SNA. Vom Gesichtspunkte der synaptischen Transmission ist aber gerade das Ausmaß der auf eine Oberflächeneinheit entfallenden Aktivität das Wesentliche.

Unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte haben wir dann zur Charakterisierung der ChE-Aktivität der SNA das im folgenden zu schildernde Verfahren ausgearbeitet.

Es wurden vom M. iliobularis Totallängsschnitte angefertigt, diese der ChE-Reaktion ausgesetzt und davon diejenigen verwendet, in denen SNA sowohl des tonischen als auch des tetanischen Muskelanteiles enthalten waren. Von je 10 SNA wurden mittels Immersionsoptik mit grünem Farbfilter, bei vollkommen offenem Diaphragma und 40 Sekunden Expositionszeit

unter Verwendung von Forte-Dokument-Film Aufnahmen angefertigt, wobei besonders auf die Standardisierung der photographischen Parameter geachtet wurde. Die negativen Filmaufnahmen wurden mit Hilfe des Vergrößerungsapparates auf eine Photozelle von 5 cm Durchmesser projiziert und aus dem Galvanometeraussschlag die Transmission bestimmt. Das Ergebnis von 100 subtrahiert erhielten wir die prozentuelle Absorption und berechneten daraus die Extinktion (E). Bei dem gleichen Vergrößerungsgrad wurde planimetrisch die Oberfläche der die Extinktion produzierenden SNA (F) bestimmt. Das Verhältnis dieser beiden Werte ($Q = \frac{E}{F}$) wird als Ausmaß der auf die Oberflächeneinheit eines SNA entfallenden Aktivitätsintensität betrachtet. Die Ergebnisse dieser ziemlich langwierigen Bestimmungen spiegeln — wenngleich auch in willkürlichen Einheiten — die Intensitätsverhältnisse der ChE-Aktivität in den zweierlei SNA objektiv wider (Abb. 10) und beweisen, daß die SNA der tetanischen Nervenendigungen über eine bedeutend (zwei- bis dreimal) höhere Enzymaktivität verfügen als die SNA der tonischen Endigungen.

Diskussion

Aus den obigen Untersuchungen ist ersichtlich, daß die den Nervenendigungen der tonischen Muskelfasern, d. h. den Endigungsstellen des „small nerve systems“ entsprechenden SNA gegenüber den SNA der tetanischen Muskelfasern grundlegende morphologische und histochemische Unterschiede aufweisen.

An den tetanischen Nervenfasern fanden wir lediglich die von *Couteaux*² beschriebenen, aus palisadenartigen Lamellen bestehenden, intensiv ChE-aktiven SNA vor, so daß diese — im Schrifttum für den Froschmuskel im allgemeinen als charakteristisch angesprochenen — subneuronalen Strukturen auf Grund unserer Untersuchungen als Typ der *tetanischen* SNA akzeptiert werden müssen. Diese Strukturen sind entsprechend den Endästen der Kühneschen-Büschel angeordnet.

Dagegen unterliegt es auf Grund des morphologischen Bildes keinem Zweifel, daß die von uns als „tonisch“ bezeichneten SNA den traubenförmigen Nervenendigungen entsprechende Strukturen darstellen. Diese traubenförmigen Endigungen wurden zuerst 1879 von *Tschiriew*¹⁸ aus den Muskeln der Ringelnatter beschrieben. Von ihm stammt auch die Benennung „terminaisons en grappe“. Im Froschmuskel wurde dieser Endigungstyp 1892 von *Bremer*¹ entdeckt und später (1924) beschrieb ihn auch *Kulchitzky*¹⁵ in Schlangemuskeln und *Günther*¹⁰ im M. iliobularis des Frosches. Nach den Untersuchungen von *Gray*⁹ sind diese Endigungen in den tonischen Muskelfasern des Frosches auch mit Methylenblaufärbung deutlich nachweisbar, während in den tetanischen ausschließlich nur Kühnesche Büschelendigungen auffindbar sind. *Bremer*¹ wie auch *Couteaux*³ betonen, daß an einer Muskelfaser nur die eine oder die andere Endigungsform Platz nimmt und *ein und dieselbe* Muskelfaser niemals zweierlei Endigungen aufweist. Diese Ansicht wird auch durch unsere histochemischen Untersuchungen bestätigt.

Es erhebt sich nun die Frage, welchen Gewebeelementen diese tonischen SNA von trophischem und genetischem Gesichtspunkt eigentlich angehören. Nach unseren früheren Untersuchungsergebnissen entwickeln sich bei den Säugern die über eine ChE-Aktivität verfügenden SNA aus dem enzymaktiven Protoplasma spezieller Zellen, der Teloblasten, und bleiben mit den Kernen dieser Zellen (den sogenannten Teloglia oder fundamentalen Zellkernen) auch in vollentwickeltem Zustande in innigstem topographischem und trophisch-funktionellem Zusammenhang⁶. Polarisationsoptische Untersuchungen weisen darauf hin, daß die palisadenartig angeordneten ChE-aktiven Lamellen der tetanischen Nervenendigungen des Frosches *nicht* vom Sarkolemm abstammen, sondern die Hohlräume zwischen den Sarkolemmfalten in alternierender Lokalisation ausfüllen⁷. Analogerweise wäre anzunehmen, daß auch die tonischen SNA *nicht* Anteile des Sarkolemm sind, sondern zwischengeschaltete, intermediäre Strukturen. Eine endgültige Stellungnahme hinsichtlich der Zugehörigkeit der ChE-aktiven tonischen Subneuralstrukturen ist jedoch erst dann möglich, wenn mittels ontogenetischer Untersuchungen (so wie im Falle der SNA der Ratte) die Umstände ihrer zellulären Genese geklärt werden können.

Wie aus unseren Untersuchungen hervorgeht, werden diese tonischen SNA von weitaus dünneren Fasern innerviert als die tetanischen. Hier verdient erwähnt zu werden, daß Hay¹¹ bereits 1901 darauf hinwies, daß bei Kaninchen die weißen Muskeln von dickeren Fasern innerviert sind als die roten. Nach den Angaben von Kuffler¹⁴ sind beim Frosch die tetanischen Muskeln von dicken und die tonischen von dünnen Fasern innerviert, daher auch die Bezeichnung: „small nerve system“. Nach der heutigen Auffassung innervieren diese dünnen Fasern bei den *Säugetieren* die motorischen Endigungen der intrafasalen Muskelfasern.

Schließlich erhebt sich die Frage, in welcher Beziehung die beobachteten morphologischen und histochemischen Unterschiede zu den physiologisch festgestellten Abweichungen der Kontraktionstypen stehen. Es ist wahrscheinlich, daß der intensiv ChE-aktive tetanische SNA — gerade infolge seiner hochgradigen Enzymaktivität — das Acetylcholin leicht und schnell abbaut; dementsprechend kommt es nur zu einer ganz kurzen Wirkung des Acetylcholins, die eine kurze Zuckung produziert. Demgegenüber vermögen die über eine schwache ChE-Aktivität verfügenden SNA der tonischen Muskelfasern das Acetylcholin nur langsam zu spalten, was sich in einer langdauernden Acetylcholinwirkung und dementsprechend in einer kontinuierlichen Kontraktion manifestiert.

Bemerkenswert ist aber, daß die hier geschilderten morphologischen und histochemischen Charakteristika die Beobachtung Kufflers¹⁴, wonach die Erregung an den vom „small nerve system“ innervierten Muskelfasern keine Progressionstendenz zeigt, d. h. „non-propagating“ Impulse entstehen, nicht hinreichend zu erklären vermögen. Kuffler suchte dies auf Grund theoretischer Überlegungen damit zu erklären, daß die ganze Oberfläche der tonischen Fasern mit Nervenendigungen bedeckt ist. Unsere Untersuchungsergebnisse haben diese Vermutung Kufflers nicht bestätigt, da die traubenförmigen Endigungen relativ weit voneinander entfernt liegen. Zweifellos

können aber häufig an einzelnen tonischen Muskelfasern 2 bis 3 oder auch mehrere traubenförmige Apparate — etwa 100 bis 150 μ voneinander entfernt — gesichtet werden, welche eventuell — wenigstens bis zu einem gewissen Grade — eine Erklärung für die Wahrnehmungen *Kufflers* geben können.

Zusammenfassung

Die Verfasser haben die myoneuralen Synapsen des tetanischen und des tonischen Anteiles des *M. iliofibularis* des Frosches untersucht. Die Cholinesteraseaktivität wurde mit Hilfe der Koelle-Gerebtzoffschen Methode dargestellt und die Markscheiden mit Sudanschwarz gefärbt. Zur Bestimmung der Enzymaktivität wurde ein kombiniertes mikrophotometrisch-planimetrisches Verfahren verwendet.

Es wird festgestellt, daß die subneuronalen Apparate der tetanischen Muskelfasern den von *Couteaux* schon vor längerem beschriebenen, palisadenartigen lamellären Strukturen einer intensiven Enzymaktivität entsprechen, während sich auf den tonischen Muskelfasern ausschließlich traubenförmige, bedeutend weniger ChE-aktive subneurale Apparate befinden. Die Zugehörigkeit der beiden verschiedenen Typen von Subneuronalapparaten zu dem „large“ bzw. „small nerve system“ wurde außer der topographischen Lokalisation auch mit Kaliberbestimmungen der entsprechenden motorischen Nervenfasern bewiesen. Auf Grund der Ergebnisse wird der Zusammenhang zwischen Kontraktionstyp und Intensität der Enzymaktivität sowie die morphologische Möglichkeit für die sogenannten „non-propagating impulses“ besprochen.

Summary

Authors investigated myoneural synapses of the tetanic and tonic part of the iliofibular muscle of the frog. The cholinesterase activity was demonstrated by means of the Koelle-Gerebtzoff method; the myelin sheaths were stained with Sudan black. For the estimation of the enzyme activity a combined microphotometric and planimetric procedure was used.

It could be established that the subneuronal apparatuses of the tetanic muscle fibres correspond to the palisadelike lamellar structures exerting an intensive enzyme activity already previously described by *Couteaux*, whereas on the tonic muscle fibres one can exclusively find grapelike subneuronal apparatuses showing a far less strong cholinesterase activity. Dependence of the different types of subneuronal apparatuses on the „large“ or „small“ nerve systems (*Kuffler*) respectively, was demonstrated not only through their topographic localisation, but also with calibre determinations of the corresponding motoric nerve fibres. On the basis of the results the relation between the contraction type and the intensity of the enzyme activity, as well as the morphological assumption of the so-called „non-propagating impulses“ is discussed.

Résumé

Les auteurs ont examiné les synapses de la partie tétanique et tonique du muscle iliofibulaire de la grenouille. L'activité de la cholinestérase a été démontrée par la méthode de Koelle-Gerebtzoff et les gaines myéliniques ont été teintes avec le Sudan noir. Une méthode combinée microphotométrique et planimétrique a été employée pour déterminer l'activité enzymatique.

C'était établi, que les structures lamellaires en palissade, décrivent depuis longtemps par *Couteaux*, correspondent aux appareils subneuronaux des fibres tétaniques du muscle en exerçant une intense activité enzymatique tandis que sur les fibres toniques des muscles on ne trouve que des appareils subneuronaux en forme de raisin (synapse en grappe) qui manifestent une activité de cholinestérase beaucoup

moins intense. L'appartenance des différents types des appareils subneuraux aux «large» ou «small nerve system» (Kuffler) a été démontrée non seulement par leur localisation topographique mais aussi par la détermination du calibre des fibres motrices des nerfs correspondants. La relation entre le type de contraction et l'intensité de l'activité enzymatique ainsi que la possibilité morphologique des sois-dants «non-propagating impulses» sont discutées à l'aide des résultats.

Literatur

1. Bremer, L., Über die Endigungen des markhaltigen und marklosen Nerven im quergestreiften Muskel. Arch. mikrosk. Anat. 21 (1892), 165—201. — 2. Cou-teaux, R., und J. Taxi, Recherches histochimiques sur la distribution des activités cholinestérasiques au niveau de la synapse myoneurale. Arch. d'anat. microsc., Paris, 41 (1952), 352—382. — 3. Cou-teaux, R., Le système moteur a «petites» fibres nerveuses et a contraction «lente»: contribution a son identification histologique sur le muscle de la grenouille. Compt. rend. Ass. Anat., 39. Réun., 1953, 264 bis 269. — 4. Cou-teaux, R., Localization of cholinesterases at neuromuscular junctions. Intern. Rev. Cytology 4 (1955), 335—375. — 5. Csillik, B., und Gy. Sá-vay, Die Regeneration der subneuronalen Apparate der motorischen Endplatten. Acta neuroveget., Wien, 19 (1958), 41—52. — 6. Csillik, B., Contribution to the development of the myoneural synapse. Zschr. Zellforsch. (im Druck). — 7. Csillik, B., Submicroscopic Organization of Postsynaptic Membranes. Acta physiol. Hung. (im Druck). — 8. Gerebtzoff, M. A., Recherches histochimiques sur les acetylcholine et cholinesterases. Acta anat., Basel, 19 (1953), 366—374. — 9. Gray, E. G., The spindle and extrafusal innervation of a frog muscle. Proc. Roy. Soc., London, Biol. Sc. 146 (1957), 416—430. — 10. Günther, P. G., Die Innervation des M. sartorius und des M. iliofibularis des Frosches. Anat. Anz., Jena, 97 (1949), 175—191. — 11. Hay, J., Red and pale muscle. Liverpool Med.-chir. J. 41 (1901), 341—452 (zit. nach P. Krüger, 1952). — 12. Koelle, G. B., und J. S. Friedenwald, A histochemical method for localizing cholinesterase activity. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., N. Y., 70 (1949), 617—619. — 13. Krüger, P., Tetanus und Tonus der quergestreiften Skelettmuskeln der Wirbeltiere und des Menschen. Akad. Verlagsgesellschaft Geest und Portig K.-G., Leipzig, 1952. — 14. Kuffler, S. W., The two skeletal nerve-muscle systems in frog. Arch. exp. Path. Pharmak., Leipzig, 220 (1953), 116—135. — 15. Kulchitzky, N., Nerve endings in muscles. J. Anat., London, 58 (1924), 152 bis 169. — 16. Romhányi, G., persönliche Mitteilung. — 17. Sommerkamp, H., Das Substrat der Dauerverkürzung am Froschmuskel. Arch. exper. Path. Pharmak., Leipzig, 128, 99—115. — 18. Tschiriew, S., Sur les terminaisons nerveuses dans les muscles striés. Arch. physiol., Paris, 2 (1879), 89—116.

Anschrift der Verfasser: Dr. B. Csillik, Anatomisch-histologisches und embryologisches Institut der Universität Szeged, Kossuth Lajos s. u. 40 (Ungarn).