

Aus dem Pathologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf  
(Direktor: Prof. Dr. med. H. MEESSEN)

**ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN  
ZUR MORPHOLOGIE DES HERZMUSKELS VOM SIEBENSCHLÄFER  
WÄHREND DES AKTIVEN UND DES LETHARGISCHEN ZUSTANDES**

Von

**REINHARD POCHE**

Mit 12 Textabbildungen

(Eingegangen am 7. April 1959)

Die jahreszeitlichen Temperaturschwankungen in den gemäßigten Klimazonen der Erde zwingen die dort frei lebenden Tiere, besondere Vorkehrungen für die kalte Jahreszeit zu treffen. Eine kleine Gruppe von Säugetieren, in der Hauptsache Vertreter der Insektenfresser und der kleinen Nagetiere, haben als besondere Form der Überwinterung den Winterschlaf entwickelt. Diese Tiere können im Gegensatz zu den übrigen Homiothermen eine Herabsetzung ihrer Körpertemperatur auf wenig über 0° C ohne Schaden vertragen (HORVATH 1881). Sie fallen dabei in einen Zustand der Lethargie (Winterschlaf), in dem alle Stoffwechsellvorgänge bis auf das zur Erhaltung der „*vita minima*“ notwendige Maß gedrosselt sind (zusammenfassende Darstellungen bei HENSEL 1955, EISENTRAUT 1956). So hat z. B. ein Siebenschläfer von 130 g Körpergewicht im Sommer einen Tagesumsatz von 120 kcal/kg, während des Winterschlafes dagegen nur einen solchen von 1,7 kcal/kg (KAYSER 1950). Dabei dient als Energiequelle im wesentlichen das während der Sommermonate im Körper des Tieres angesammelte Depotfett (DONTCHEFF und KAYSER 1935). Das bei der Fettverbrennung anfallende Oxydationswasser deckt im allgemeinen den Wasserbedarf des lethargischen Tieres (BENEDICT und LEE 1938). Atmung und Kreislauf sind während des Winterschlafes beträchtlich verlangsamt. Die Herzfrequenz beträgt nach eigenen Untersuchungen beim lethargischen Siebenschläfer etwa 35/min gegenüber 450/min beim wachen Tier. Die Winterschläfer sind also in der Lage, während der kalten Jahreszeit ihren gesamten Energiestoffwechsel mit allen seinen Regulationsmechanismen auf ein zweites, sehr niedriges Niveau einzustellen. Sie sind deshalb für vergleichende Untersuchungen der Ultrastruktur von Organen bei verschiedener Stoffwechselintensität besonders geeignet. Über derartige Untersuchungen am Herzmuskel, die auf Anregung von Herrn Professor MEESSEN durchgeführt wurden, soll in der vorliegenden Arbeit berichtet werden.

**Material und Methode**

Als Versuchstier wählten wir den Siebenschläfer<sup>1</sup> oder Bileh (*Myoxus glis*, *Glis glis glis* L.) (vgl. v. VIETINGHOFF-RIESCH 1952, 1955), der sich durch einen etwa 7 Monate dauernden

<sup>1</sup> Für Hilfe bei der Beschaffung der Siebenschläfer danken wir Herrn Dr. WOLF und Frau Dr. HAGEN, Zoologisches Forschungsinstitut und Museum Alexander König, Bonn, Frau Dr. ZIPPELIUS, Bonn, und Herrn Dr. DIESING, Hilden. Frau Dr. HAGEN, Bonn, sind wir auch für wertvolle Ratschläge bezüglich der Haltung und Pflege der Tiere zu großem Dank verpflichtet.

Winterschlaf mit sehr langen durchgehenden Schlafperioden auszeichnet (LYMAN und CHATFIELD 1955). Für unsere Versuche war es nun wünschenswert, die Siebenschläfer während des Winterschlafes laufend beobachten zu können und jederzeit lethargische Tiere zur Untersuchung verfügbar zu haben. Die Siebenschläfer, die sich normalerweise zum Winterschlaf in den Erdboden eingraben, können auch an kühlen Sommertagen in einen Zustand vorübergehender Starre verfallen (v. VIETINGHOFF-RIESCH 1952); es ist aber schwierig, einen Siebenschläfer in der Gefangenschaft und womöglich unabhängig von der Jahreszeit nur durch Erniedrigung der Umgebungstemperatur in einen natürlichen Winterschlaf zu versetzen (EISENTRAUT 1933, ARON und KAYSER 1939, KAYSER und HIEBEL 1952, v. VIETINGHOFF-RIESCH 1955). Wir sind deshalb so vorgegangen, daß wir wohlgenährte wache Tiere in einen großen Heräus-Brutschrank brachten, dessen Glastür durch ein Drahtgitter ersetzt war und dessen Außentür stets leicht angelehnt blieb. Der Brutschrank stand in einem Kühlraum mit einer konstanten Temperatur von  $+4^{\circ}\text{C}$ . Die Temperatur im Brutschrank wurde im Laufe von etwa 4 Wochen kontinuierlich von  $+12^{\circ}\text{C}$  auf  $+6^{\circ}\text{C}$  gesenkt. Den Tieren wurde im Brutschrank weiter Trockenfutter (Erdnüsse, Sonnenblumenkerne usw.) und Wasser in genügender Menge angeboten. Sie fraßen zunächst noch reichlich; mit sinkender Temperatur nahmen dann aber die täglichen Freßmengen ab. Nachdem die Temperatur von  $+6^{\circ}\text{C}$ , bei der sich die Siebenschläfer nach unseren Erfahrungen am besten im lethargischen Zustand halten lassen, erreicht war, blieben Futter- und Wassernapf unberührt, und die Tiere lagen in tiefem Winterschlaf völlig zusammengerollt in ihrem Nest. Ein Tier kam während des Winters in einem ungeheizten Keller spontan in Winterschlaf. Von einigen der schlafenden Tiere wurde im Kühlraum ein EKG abgenommen und der respiratorische Quotient bestimmt. Letzterer betrug in Übereinstimmung mit den Angaben in der Literatur 0,7.

Für unsere Untersuchungen standen uns insgesamt 9 Siebenschläfer zur Verfügung. Versuchsdaten der einzelnen Tiere:

Siebenschläfer I: ♀, 6 Wochen Winterschlaf im Kühlraum, 110 g, getötet am 23. 7. 56.

Siebenschläfer II: ♂, wach, 168 g, getötet am 13. 11. 56.

Siebenschläfer III: ♂, wach, 180 g, getötet am 24. 1. 57.

Siebenschläfer IV: ♀, wach, 182 g, getötet am 1. 3. 57.

Siebenschläfer V: ♂,  $3\frac{1}{2}$  Monate Winterschlaf im Kühlraum, 63 g, getötet am 22. 3. 57.

Siebenschläfer VI: ♀, 5 Wochen spontaner Winterschlaf in einem ungeheizten Keller; das Tier wurde dann erweckt und 4 Tage lang ohne Futter und ohne Wasser in einem geheizten Raum gehalten; Gewicht 116 g, getötet am 8. 4. 57.

Siebenschläfer VII: ♀, 8 Monate Winterschlaf im Kühlraum, 110 g, getötet am 30. 7. 57.

Siebenschläfer VIII ♀ und IX ♂: Die Tiere wurden nach 13monatigem Aufenthalt im Kühlraum tot und völlig eingetrocknet aufgefunden. Vermutliche Schlafdauer bis zum spontanen Tod  $12\frac{1}{2}$  Monate.

Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung wurden bei den wachen Tieren die Herzen in Äthernarkose entnommen und kleine Herzmuskelstückchen von etwa 1 mm Kantenlänge möglichst schnell in eine 1%ige gepufferte Osmiumtetroxydlösung ( $\text{pH } 7,4$ ) gebracht und zwei Stunden im Kühlschränk fixiert. Bei einem schlafenden Tier (Siebenschläfer I) wurde das Herz im Kühlraum in Äthernarkose entnommen; die übrigen schlafenden Tiere wurden durch Dekapitation im Kühlraum getötet. Von einigen Tieren wurden außerdem kleine Stückchen von Lunge und Leber ebenfalls in Osmiumtetroxydlösung fixiert; die Lungen wurden elektronenmikroskopisch von SCHULZ (1957, 1958), die Lebern von LINDNER (1958) untersucht. Der Herzmuskel wurde hauptsächlich in der isotonischen Osmiumtetroxydlösung nach SRÖSTRAND fixiert, bei zwei Tieren wurden außerdem auch Herzmuskelstückchen in Osmiumtetroxydlösung nach PALADE gebracht. Die Lungenstückchen wurden ausschließlich nach PALADE fixiert. Alle Gewebstückchen wurden in der üblichen Weise entwässert, in Methacrylat eingebettet und mit dem Ultramikrotom nach PORTER und BLUM geschnitten. Für die elektronenmikroskopische Untersuchung benutzten wir das Siemens-Elektronenmikroskop UM 100 und das RCA-Elektronenmikroskop EMU 3C. Zur lichtmikroskopischen Untersuchung wurden von allen Tieren Herz, Leber, Nieren, Nebennieren, Milz und Lunge in kaltem 10%igem Formalin fixiert. An Gefrierschnitten und Paraffinschnitten dieser Organe wurden folgende Färbungen durchgeführt: Hämalaun-Eosin, Hämalaun-Sudan, Elastica-Hämatoxylin-van Gieson, Karmin nach BEST, Turnbullblau, am Herzmuskel außerdem die Feulgen-Reaktion und die PAS-Reaktion.

## Befunde

### *Lichtmikroskopische Untersuchungen*

**Herzmuskel.** Die lethargischen Tiere ließen — auch nach einem 8 Monate währenden Winterschlaf — gegenüber den wachen Tieren *keine* nennenswerte Atrophie der Herzmuskelzellen erkennen. Die wachen Tiere zeigten eine fleckförmig angeordnete, geringe, staubförmige bis feinkörnige Verfettung (Siebenschläfer II, III und IV) bzw. eine deutliche, diffuse, staubförmige bis feintropfige Verfettung (Siebenschläfer VI) des Herzmuskels, während bei den lethargischen Tieren (Siebenschläfer I, V und VII) die Sudanreaktion stets negativ verlief. Die Feulgen-Reaktion war im Sarkoplasma der Herzmuskelzellen sowohl bei den wachen als auch bei den lethargischen Tieren negativ. Bei einem lethargischen Tier (Siebenschläfer I) und bei einem wachen Tier (Siebenschläfer III) fanden sich in einzelnen Herzmuskelzellen einige kleine Körnchen, die bei der Bestschen Karminfärbung auf Glykogen positiv reagierten. Das Sarkolemm und die Capillargrundhäutchen waren bei allen Tieren PAS-positiv. Im Sarkoplasma ergab die PAS-Reaktion jedoch Unterschiede zwischen wachen und lethargischen Tieren. Bei den lethargischen Tieren enthielt das Sarkoplasma staubförmige bis feinkörnige PAS-positive Substanzen, die nach 20 min Bebrütung mit Mundspeichel bei 40° C zum größten Teil verschwunden waren. Im Sarkoplasma der wachen Tiere dagegen waren derartige PAS-positive Substanzen nur in sehr geringer Menge vorhanden. Im Interstitium des Herzmuskels fanden sich bei allen Tieren in wechselnder Häufigkeit adventitielle Zellen mit einer schwach positiven Turnbullblau-Reaktion.

**Leber.** Auch die Leberzellen ließen bei den lethargischen Tieren keine wesentliche Atrophie erkennen. Alle Tiere zeigten eine Fettinfiltration der Leberzellen mit Betonung der Läppchenzentren; die Verfettung war aber im allgemeinen nur gering und bei den wachen Tieren deutlicher ausgeprägt als bei den lethargischen Tieren; die stärkste Verfettung fand sich bei Siebenschläfer VI. Die Glykogenreaktion nach BEST war nur bei einem wachen Tier angedeutet (Siebenschläfer III) und bei einem lethargischen Tier schwach positiv (Siebenschläfer I). Dagegen zeigten alle Tiere bei der Turnbullblau-Reaktion eine deutliche, diffuse, in der Läppchenperipherie etwas stärker betonte, feinkörnige Eisenspeicherung in den Leberzellen und außerdem auch in einigen Sternzellen. Diese Siderose war bei den wachen Tieren stärker ausgeprägt als bei den lethargischen Tieren.

**Milz.** Bei den schlafenden Tieren waren die Follikel einschließlich der Keimzentren deutlich größer und die Pulpa blutreicher als bei den wachen Tieren. In der Pulpa fanden sich zahlreiche eisenpositive Zellen, jedoch bei den schlafenden Tieren etwas weniger als bei den wachen.

**Nieren.** Die Epithelzellen der Harnkanälchen zeigten im allgemeinen keine nennenswerte Verfettung. In der Rinde sowie in den rindennahen Markanteilen zeigten die Epithelzellen der Harnkanälchen ein feinkörniges braunes Pigment. Bei Anwendung der Turnbullblau-Reaktion und der Sudanreaktion erwiesen sich die braunen Körnchen in den Tubuli contorti I als Eisenpigment, die Körnchen in einigen Tubuli contorti II sowie in den rindennahen Tubuli recti des Markes als fettarmes Lipofuscin. Diese Pigmentablagerungen waren bei den schlafenden Tieren etwas geringer als bei den wachen.

**Lungen.** Im Interstitium fanden sich einzelne eisenpositive Zellen, die bei den wachen Tieren etwas häufiger waren als bei den schlafenden. Im übrigen ergaben sich zwischen wachen und schlafenden Tieren keine wesentlichen Unterschiede.

**Nebennieren.** Nach sechswöchigem Winterschlaf (Siebenschläfer I) war die Zona glomerulosa leicht verbreitert, und nach 3½monatigem Winterschlaf (Siebenschläfer V) war eine hochgradige Verbreiterung der gesamten Nebennierenrinde zu verzeichnen. Nach einem Winterschlaf von 8 Monaten Dauer war die Breite der Nebennierenrinde dagegen wieder merklich zurückgegangen.

### *Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Herzmuskel*

Wie bei allen bisher untersuchten Vertebraten zeigt der Herzmuskel auch beim Siebenschläfer einen zellulären Aufbau. Im übrigen stimmt die allgemeine submikroskopische Struktur des Herzmuskels mit der von uns früher ausführlich beschriebenen Ultrastruktur des Rattenherzens (POCHÉ 1958 b) prinzipiell über-

ein. Der Herzmuskel des Siebenschläfers bietet jedoch gewisse Besonderheiten, die nachstehend beschrieben werden sollen.

A. Bei *wachen Tieren am Ende der Aktivitätsperiode* bzw. nach einer verlängerten Aktivitätsperiode (Siebenschläfer II, III und IV) ist die Protomembran der Herzmuskelzellen etwa 50—60 Å breit. Die Perimembran der Herzmuskelzellen ist beim Siebenschläfer im allgemeinen kräftiger ausgebildet als bei der Ratte. Sie stellt sich als ein grauer Streifen dar, der aus ganz feinkörnigem Material besteht und durchschnittlich 150—200 Å breit ist, an manchen Stellen aber auch mehr als 300 Å messen kann. Die Herzmuskelzellen enthalten sehr viele Mitochondrien, die in einfachen oder doppelten Reihen zwischen den Myofibrillen liegen und stellenweise auch größere Anhäufungen bilden. Das Verhältnis der Mitochondrien zu den Myofibrillen ist beim Siebenschläfer mindestens genau so groß wie bei der Ratte, wenn nicht sogar etwas größer. Die Anschnitte der Mitochondrien sind in den ultradünnen Schnittpräparaten unterschiedlich groß; sie messen im Mittel etwa 0,95:0,45  $\mu$  (nach 1000 Messungen). Ein Teil der Mitochondrien zeigt kleinfleckige Aufhellungen der Matrix, ist also „leicht geschwollen“ (Abb. 1). Mitochondriengranula sind im allgemeinen nur selten zu beobachten.

Die Herzmuskelzellen des Siebenschläfers besitzen ein sehr gut ausgebildetes Sarkoplasmaretikulum. Die bläschenförmigen und länglichen Profile, die Anschnitte eines verzweigten und die einzelnen Myofibrillen strumpffartig umgebenden Kanälchensystems darstellen (BENNETT 1956 b, PORTER und PALADE 1957) und die LINDNER (1957) als „longitudinales System“ bezeichnet hat, sind beim Siebenschläfer etwa in gleicher Weise zu finden wie im Herzmuskel der Ratte (Abb. 5). Diese bläschenförmigen Profile können stellenweise stark erweitert sein (Abb. 2). Dagegen sind die Tubuli des „transversalen Systems“ (LINDNER 1957) beim Siebenschläfer wesentlich stärker entwickelt als bei der Ratte (Abb. 1). Sie verlaufen quer zur Richtung der Myofibrillen und können bis in die Nähe des Kernes gelangen; sie sind meistens in Höhe der Z-Streifen gelegen, ziehen manchmal aber auch schräg durch ein Muskelfach von einem Z-Streifen zum nächsten (Abb. 10). Sie besitzen eine scharfkonturierte, etwa 50 Å breite Membran, die der Protomembran der Herzmuskelzelle entspricht. An diese Membran legt sich innen ein ungefähr 200 Å breiter grauer Streifen an, der der Perimembran der Herzmuskelzelle gleicht. Diese Tubuli wurden als fingerförmige Einstülpungen des Sarkolemmes gedeutet, die von den arkadenförmigen Einziehungen des Sarkolemmes in Höhe der Z-Streifen ausgehen (LINDNER 1957, POCHE 1958 b). Bei der Untersuchung sehr zahlreicher Präparate von Siebenschläferherzen, die längs, quer oder aber schräg zur Verlaufsrichtung der Myofibrillen geschnitten waren, haben wir immer wieder diese Tubuli beobachten können.

Wie wir schon an anderer Stelle ausgeführt haben (POCHE 1958 a, c), kommt es beim Siebenschläfer am Ende der Aktivitätsperiode — d. h. mit zunehmender Winterschlafbereitschaft — zu einer Zunahme der Fetttropfen in den Herzmuskelzellen. Diese Fettvermehrung kann so weit gehen, daß die Fetttropfen in mit Sudan III gefärbten Präparaten auch im Lichtmikroskop sichtbar werden, so daß man von einer physiologischen Verfettung des Herzmuskels sprechen kann. Vergleicht man gleich große Flächen der Dünnschnitte vom Herzmuskel des winterschlafbereiten Siebenschläfers und vom Herzmuskel der normalen Ratte, so kommen pro Flächeneinheit auf 1—2 Fetttropfen bei der Ratte etwa 10—30 Fett-

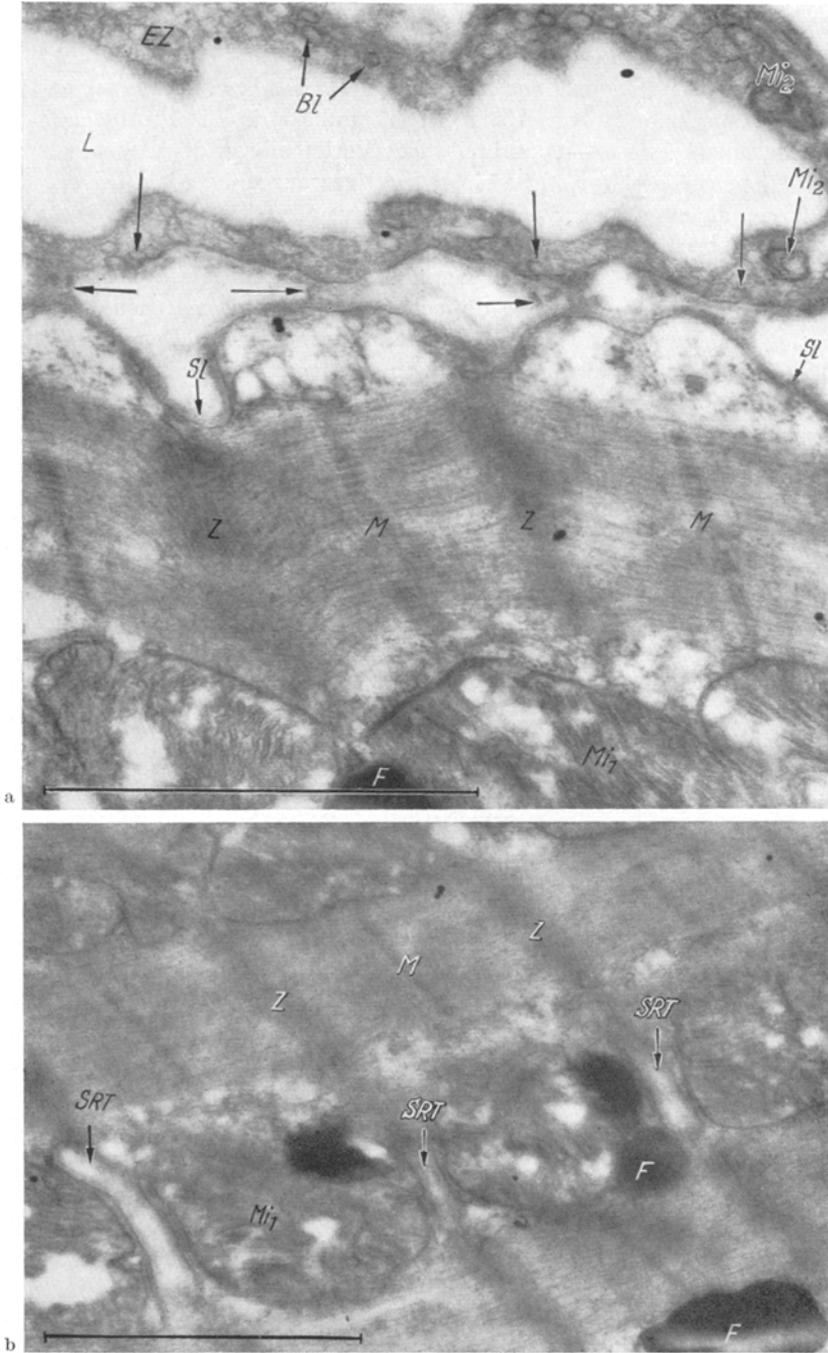


Abb. 1a u. b. Herzmuskel eines wachen, winterschlafbereiten Siebenschläfers. Oben im Bild eine Blutcapillare. Capillarlumen (*L*). Endothelzelle (*EZ*) mit Mitochondrien (*Mi<sub>2</sub>*) sowie zahlreichen kleinen Bläschen (*Bl*) im Cytoplasma und mit nur wenigen Invaginationen an der basalen Zellmembran (senkrechte Pfeile). Bei den waagerechten Pfeilen Brücken von grauer Substanz zwischen der Basalmembran der Capillare und der Perimembran der Herzmuskelzelle; in dieser grauen Substanz sind manchmal kleine dunkle Körnchen und Bläschen eingeschlossen. In der Herzmuskelzelle eine Myo-

tropfen beim Siebenschläfer. Die Fetttropfen liegen frei im Sarkoplasma, aber stets in unmittelbarer Nachbarschaft zum Sarkoplasmaretikulum und neben Mitochondrien; auf Längsschnitten sind sie meistens zwischen Tubuli des Sarkoplasmaretikulums und Mitochondrien gelegen. Sie stellen sich als rundliche bis ovale, manchmal auch etwas unregelmäßige, tiefschwarze Gebilde dar und zeigen meist einen scharfen Rand, der im allgemeinen glatt ist, der aber auch manchmal wie ausgefranst oder gezähnt erscheinen kann. Von den Tubuli des Sarkoplasmaretikulums bzw. von den Mitochondrien sind die Fetttropfen meist gut abgrenzbar. Hin und wieder einmal sieht man aber auch Fetttropfen, die einen verwachsenen Rand zeigen, und die sich dann von den anliegenden Zellorganellen, insbesondere von Mitochondrien, nicht scharf abgrenzen lassen. Vereinzelt finden sich in den Herzmuskelzellen auch granuläre Cytoplasmen (Lipofuscin).

Der Golgi-Apparat ist — ähnlich wie bei der Ratte — beim wachen Siebenschläfer wegen seiner Kleinheit in den Schnittpräparaten nicht sehr häufig zu beobachten. Das Sarkoplasma enthält in geringer Menge kleine Cytogranula (PALADE 1955).

An der Protomembran der Herzmuskelzellen sind Vesikulationen zu beobachten. Zwar sieht man Einstülpungen der Protomembran selbst in der Regel nur selten; man findet jedoch häufiger kleine Bläschen oder längliche, kapselförmige Gebilde unter der Protomembran

(Abb. 1 a). Fast regelmäßig sind solche Gebilde in Höhe der *Z*-Streifen anzutreffen; sie bilden aber auch Reihen, die auf die *M*-Linien zu ausgerichtet sind, und schließlich können sie auch unabhängig von *Z* und *M* gefunden werden. Winzig kleine Bläschen sind auch innerhalb der grauen Substanz der Perimembran anzutreffen (Abb. 1 a). Diese graue Substanz bildet manchmal Brücken zwischen der

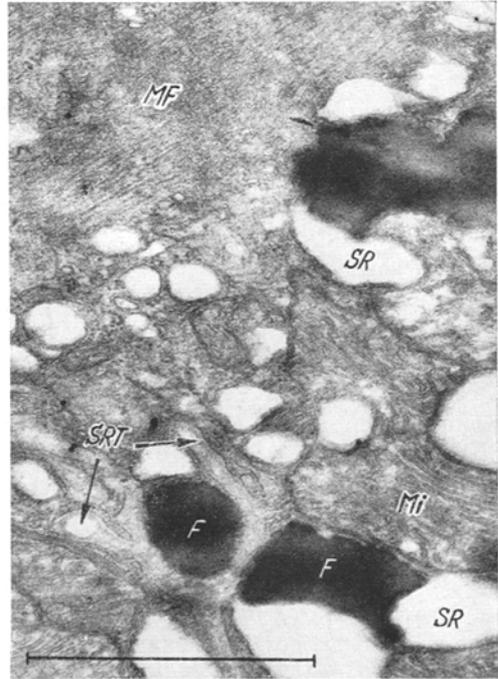


Abb. 2. Ausschnitt aus einer Herzmuskelzelle eines wachen, winterschlafbereiten Siebenschläfers. Myofibrille (*MF*), Erweitertes Sarkoplasmaretikulum (*SR*), Mitochondrien (*Mi*), bogenförmig verlaufender Tubulus des transversalen Systems des Sarkoplasmaretikulums (*SRT*) mit 2 dicht angelagerten Fetttropfen (*F*). Siebenschläfer IV, Fix. nach SJÖSTRAND, Siemens-Elektronenmikroskop UM 100. Elektronenoptisch 16 400:1, Endvergrößerung 37 200:1 (9950/57)

fibrille mit *Z*-Streifen (*Z*) und *M*-Linien (*M*). Das Sarkolemm (*Sl*) in Höhe der *Z*-Streifen arkadenförmig eingezogen. Unter dem Sarkolemm im Sarkoplasma kleine Bläschen, die auf die *Z*-Streifen und die *M*-Linien gerichtet sind. In den Mitochondrien der Herzmuskelzelle (*Mi*) kleinleckige Aufhellungen der Matrix. Fetttropfen (*F*). Tubuli des transversalen Systems des Sarkoplasmaretikulums (*SRT*) mit scharf konturierter äußerer Membran und grauer, der Perimembran des Sarkolemmis entsprechender innerer Membran. Siebenschläfer IV, Fix. nach SJÖSTRAND, RCA-Elektronenmikroskop EMU 3C. Elektronenoptisch 16 600:1, Endvergrößerung a 62 100:1 (146 A/58), b 45 300:1 (146 D/58). Verkleinerung auf  $\frac{1}{10}$ .

Perimembran und der Basalmembran der Blutcapillaren und schließt dann oft kleine dunkle Körnchen und Bläschen von 200 bis 250 Å Dicke ein (Abb. 1a).

Die Blutcapillaren des Herzmuskels sind von einer zusammenhängenden Endothelschicht ausgekleidet, in der sich manchmal schrägverlaufende Zellgrenzen finden. Die Endothelzellen sind nach außen durch eine knapp 50 Å dicke, scharfkonturierte Zellmembran abgegrenzt, an die sich dann die Basalmembran anlegt. Im Cytoplasma der Endothelzellen finden sich kleine Mitochondrien sowie in wechselnder Menge bis 500 Å große, rundliche, von einer dünnen Membran umgebene Bläschen und längliche, meist quer zur Zellmembran orientierte Bläschen, die bis 1000 Å lang sein können. Vereinzelt erkennt man auch längliche Einstülpungen der Zellmembranen, besonders im Kernbereich, wo solche Einstülpungen bis dicht an den Zellkern heranreichen können (Abb. 3a). Bei Betrachtung der Bilder gewinnt man den Eindruck, daß die im Cytoplasma der Endothelzellen befindlichen Bläschen aus den Einstülpungen der Zellmembran durch Abschnürung hervorgehen. Die Zahl der frei im Cytoplasma der Endothelzellen liegenden Bläschen ist jedoch im allgemeinen wesentlich größer als die Zahl der Einstülpungen.

B. Bei den *lethargischen Tieren* (Siebenschläfer I, V und VII) ergibt sich als wichtigster Befund, daß die Zahl der Mitochondrien gegenüber den wachen Tieren nicht vermindert ist (Abb. 4—9). Die Matrix der Mitochondrien zeigt gewöhnlich keine kleinfleckigen Aufhellungen; sie ist vielmehr auffallend elektronendicht und erscheint auf den Bildern dunkelgrau (Abb. 4). Die Mitochondrien sind also nicht „geschwollen“, und ihre Anschnitte sind dementsprechend auch etwas kleiner als bei den winterschlafbereiten wachen Tieren; sie messen im Mittel 0,8:0,4  $\mu$ . Die Innenmembranen oder Cristae mitochondriales sind sehr dicht gepackt. Sie zeigen meistens nicht die sonst bekannte parallele Ausrichtung, sondern sind unregelmäßig und manchmal wirbelartig angeordnet, so daß ein fingerabdruckartiges Bild entsteht (Abb. 4—9). Manchmal erkennt man in den Mitochondrien auch ringförmige kleine Anschnitte von Innenmembranen (Abb. 6). Im Gegensatz zu den oben beschriebenen wachen Tieren finden sich bei den schlafenden Tieren in fast allen Mitochondrien kleine Granula (Abb. 4—9). Die durchschnittliche Zahl dieser Granula je Mitochondrion-Anschnitt beträgt nach sechswöchigem Winterschlaf (Siebenschläfer I) und nach dreieinhalbmonatigem Winterschlaf (Siebenschläfer V) jeweils etwa 2—3, nach achtmonatigem Winterschlaf (Siebenschläfer VII) etwa 5. Die Mitochondriengranula sind unscharf begrenzte Gebilde von rundlicher oder quadratischer bis ovaler oder rechteckiger Form und bestehen aus einer ganz feinkörnigen amorphen Substanz. Ihre Elektronendichte kann unterschiedlich sein, jedoch sind sie stets deutlich kontrastreicher als die Matrix der Mitochondrien. Ihre kleinsten Durchmesser schwanken zwischen 150 und 300 Å und ihre größten Durchmesser zwischen 200 und 500 Å.

Auch bei den schlafenden Tieren findet man im Sarkoplasma Fetttropfen (Abb. 7 und 9). Allerdings beträgt ihre Zahl auf äquivalenten Schnittflächen nur etwa 5—10 gegenüber 10—30 bei den winterschlafbereiten wachen Tieren. Bemerkenswert sind die Lagebeziehungen der Fetttropfen zu den Mitochondrien. Der Kontakt zwischen Mitochondrien und Fett ist wesentlich inniger als bei den winterschlafbereiten wachen Tieren. Es können sich mehrere Mitochondrien eng an einen Fetttropfen anlegen. Häufig findet man Mitochondrien, die sich gleich-

sam hufeisenförmig oder ringförmig um einen Fetttropfen herumgelegt haben, wobei die beiden Enden des Mitochondrions zusammenstoßen können und ge-

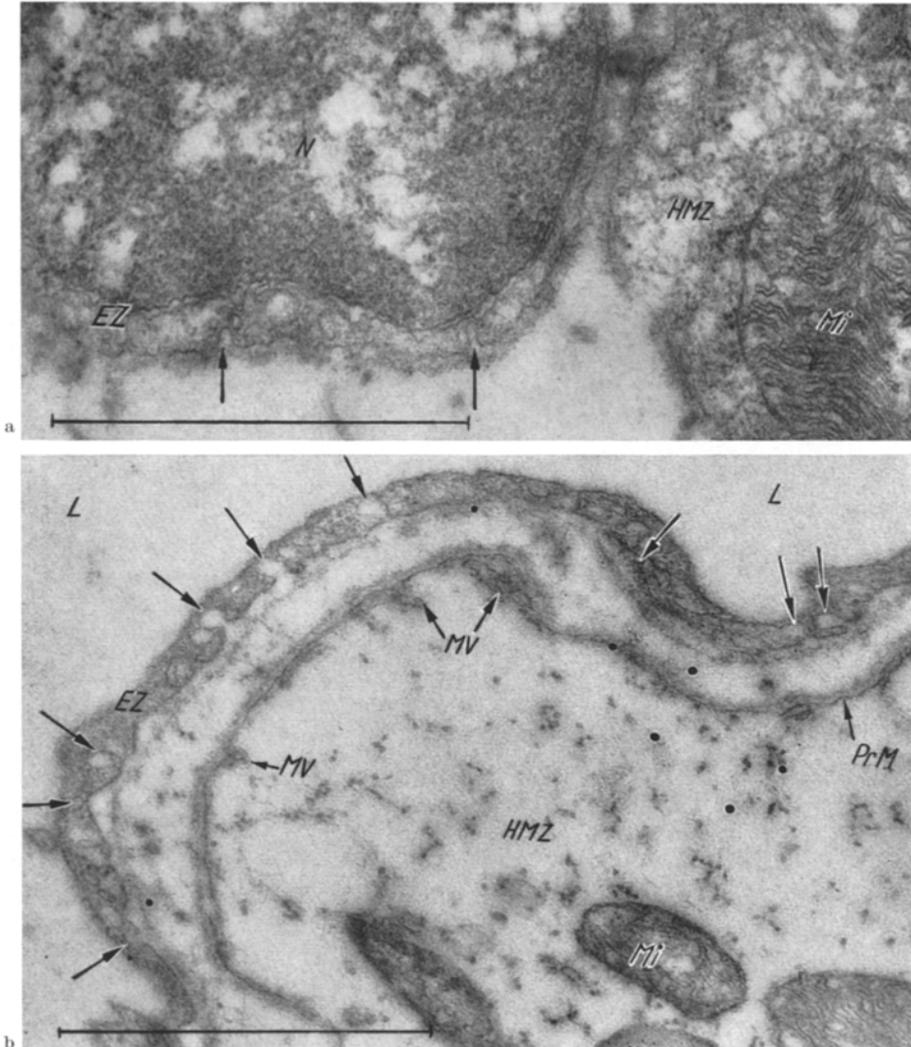


Abb. 3. a Ausschnitt aus einer Capillarendothelzelle (EZ) mit Kern (N) aus dem Herzmuskel eines wachen, winterschlafbereiten Siebenschläfers. Die Pfeile zeigen auf Invaginationen der basalen Zellmembran, die bis dicht an den Kern heranreichen. Rechts eine angrenzende Herzmuskelzelle (HMZ) mit Mitochondrien (Mi). Präparation wie Abb. 2. Elektronenoptisch 16 400:1, Endvergrößerung 54 300:1 (9875/57). b Ausschnitt aus einer Blutcapillare eines Siebenschläferherzens nach 6wöchigem Winterschlaf. Capillarlumen (L). Endothelzelle (EZ). Die Pfeile zeigen auf die zahlreichen Einstülpungen und Invaginationen der basalen Zellmembran in den verschiedenen Stadien der Abschnürung. Auch die Protomembran (PrM) einer angrenzenden Herzmuskelzelle (HMZ) zeigt Membranvesikulationen (MV). Mitochondrien (Mi). Das periphere Sarkoplasma der Herzmuskelzelle ist aufgetrieben und aufgehellert.  
Siebenschläfer I, Fix. nach SJÖSTRAND, Siemens-Elektronenmikroskop UM 100.  
Elektronenmikroskopisch 16 400:1, Endvergrößerung 48 600:1 (10 488/57)

wissermaßen eine „Nahtstelle“ bilden (Abb. 7a). An anderen Stellen liegen Fetttropfen in Eindellungen der Außenmembran der Mitochondrien. Werden solche

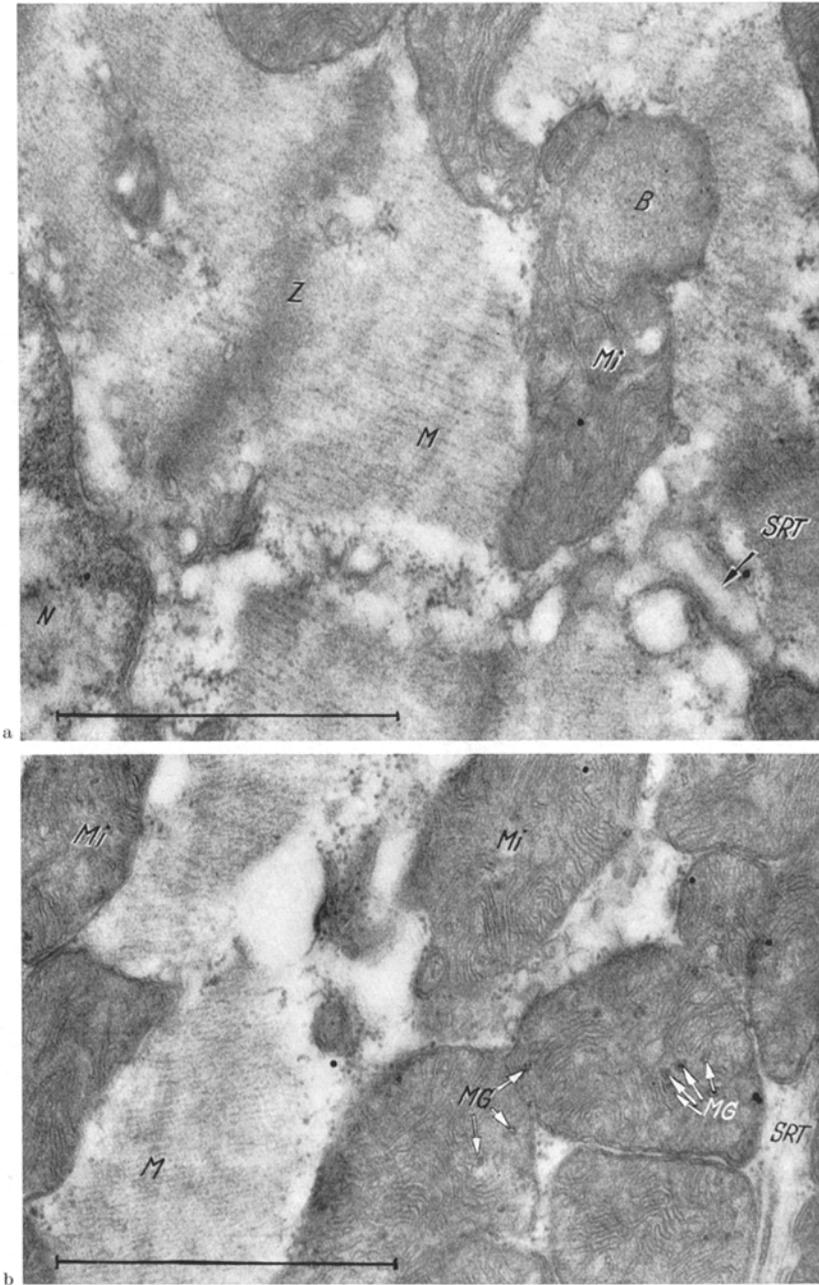


Abb. 4 a u. b. Herzmuskel eines SiebenschlÄfers nach 6wöchigem Winterschlaf. Kern der Herzmuskelzelle (*N*). Myofibrille mit *Z*-Streifen (*Z*) und *M*-Linien (*M*). Die Mitochondrien (*Mi*) mit dicht gepackten, unregelmäßig oder fingerabdruckartig angeordneten Innenmembranen und dunkelgrauer Matrix. Vermehrung der Mitochondriengranula (*MG*). Tubuli des transversalen Systems des Sarkoplasmaretikulums (*SRT*). Bei *B* ein Cytosom *B*. SiebenschlÄfer I, Fix. nach SJÖSTRAND, Siemens-Elektronenmikroskop ÜM 100. Elektronenmikroskopisch 16400:1, Endvergrößerung 48600:1, a (10497/57), b (10495/57). Verkleinerung auf  $\frac{1}{10}$ .

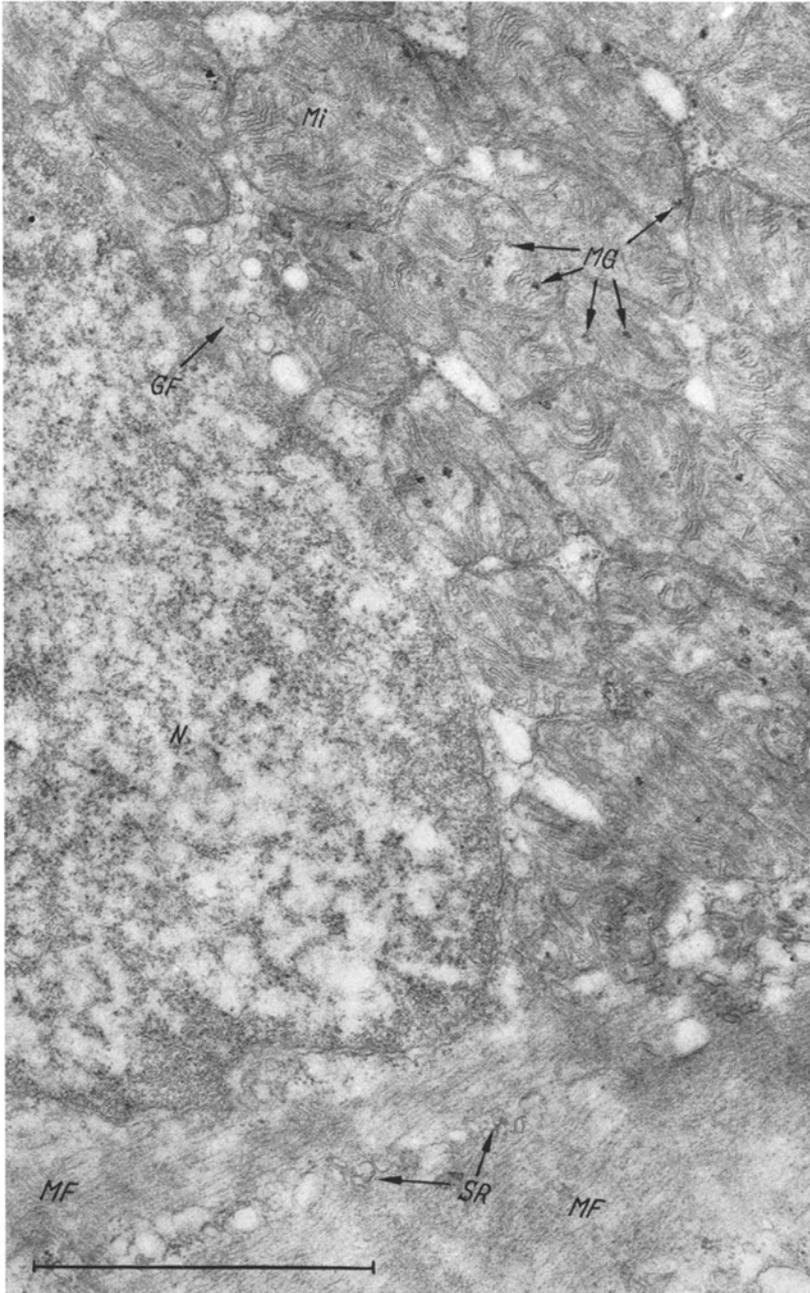


Abb. 5. Herzmuskel eines Siebenschläfers nach 3 $\frac{1}{2}$ monatigem Winterschlaf. Myofibrille (MF) Sarkoplasmaretikulum, longitudinales System (SR). Zellkern (N) Mitochondrien (Mi) mit fingerabdruckartigen Innenmembranen, dunkler Matrix und Vermehrung der Mitochondriengranula (MG) Golgi-Feld (GF). Siebenschläfer V, Fix. nach SJÖSTRAND, Siemens-Elektronenmikroskop UM 100 Elektronenmikroskopisch 16400:1, Endvergrößerung 48600:1 (10569/57). Verkleinerung auf  $\frac{1}{10}$

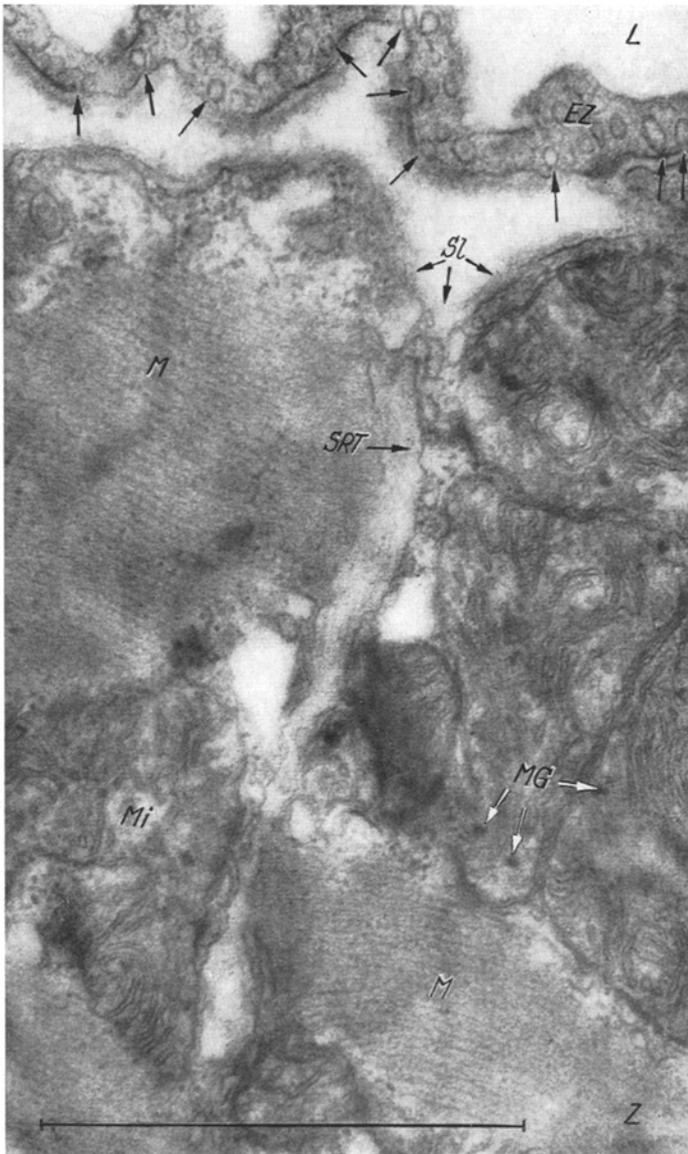


Abb. 6. Herzmuskel eines Siebenschläfers nach  $3\frac{1}{2}$ monatigem Winterschlaf. Myofibrille mit Z-Streifen (Z) und M-Linien (M). In Höhe von Z ein längsgeschnittener Tubulus des transversalen Systems des Sarkoplasmaretikulums (SRT). Die der Protomembran entsprechende Membran des Tubulus zeigt kleine Eindellungen. Sarkolemm (SI) mit Protomembran und Perimembran. Mitochondrien (Mi) mit fingerabdruckartigen Innenmembranen, dunkelgrauer Matrix und kleinen Mitochondriengranula (MG). Oben im Bild Teil einer Blutcapillare. Capillarlichtung (L), Endothelzelle (EZ). Zahlreiche Einstülpungen der basalen Zellmembran (Pfeile). Siebenschläfer V. Fix. nach SJÖSTRAND, RCA-Elektronenmikroskop EMU 3C. Elektronenmikroskopisch 16 600:1, Endvergrößerung 63 200:1 (221 C/58)

Mitochondrien flach geschnitten, so kann fälschlicherweise der Eindruck entstehen, daß die Fetttropfen innerhalb des betreffenden Mitochondrions gelegen seien (Abb. 7b). In den meisten Fällen läßt sich aber auch hier die abgrenzende

Außenmembran der Mitochondrien erkennen. Ganz vereinzelt findet man Mitochondrien, deren Außenmembranen sich an Kontaktstellen mit Fett aufzulösen bzw. zu öffnen scheinen. Vereinzelt fällt auf, daß die Mitochondrien an den Stellen, die Kontakt mit Fetttropfen haben, sehr kleine fleckige Aufhellungen der Matrix zeigen. Trotz der Vergrößerung der Kontaktflächen zu den Mitochondrien

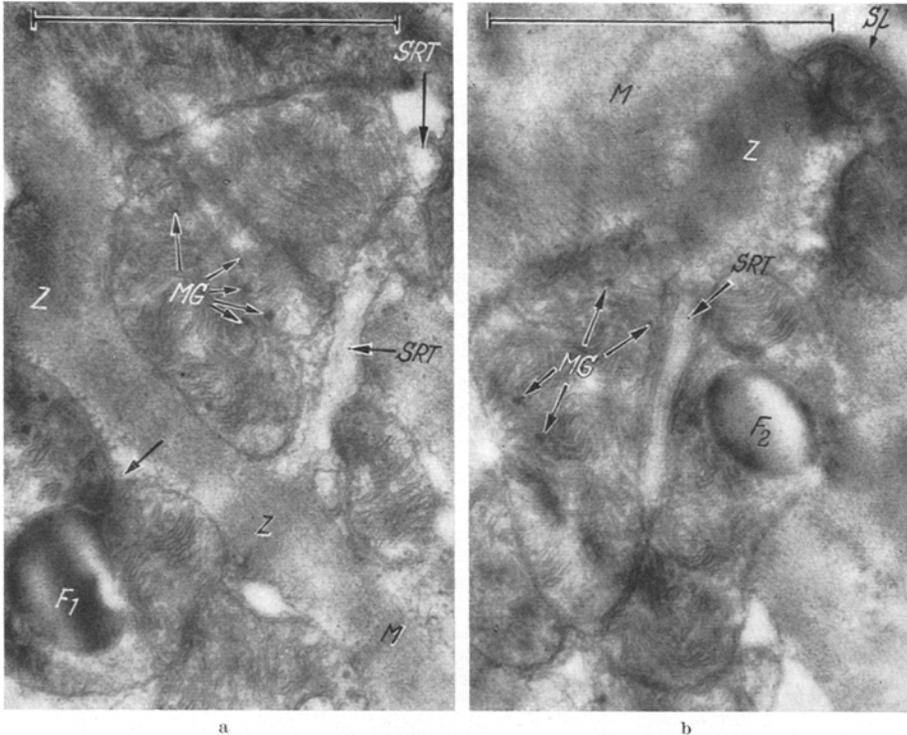


Abb.7 a u. b. Herzmuskel eines Siebenschläfers nach  $3\frac{1}{2}$  monatigem Winterschlaf. Links im Bild ein Fetttropfen ( $F_1$ ) ringförmig von einem Mitochondrion umgeben; der schräge Pfeil zeigt auf die „Nahtstelle“. Rechts im Bild ein Fetttropfen ( $F_2$ ), der scheinbar in einem Mitochondrion liegt; man erkennt jedoch die begrenzen Membran zwischen Mitochondrion und Fett; dieses Bild entspricht einem Flachschnitt von  $F_1$ . Mitochondriengranula (MG). Tubuli des transversalen Systems des Sarkoplasma-retikulums (SRT). Myofibrillen mit Z-Streifen (Z) und M-Linien (M). Sarkolemm (SL). Präparation wie Abb. 6. Elektronenmikroskopisch 16 600:1, Endvergrößerung a 47 800:1 (222 E/58), b 45 500:1 (222 A/58)

geben die Fetttropfen aber ihre engen Lagebeziehungen zum Sarkoplasma-retikulum, insbesondere zum transversalen System, nicht auf. Manchmal hat man geradezu den Eindruck, daß sich die Mitochondrien um solche Tubuli herum ansammeln, neben denen gleichzeitig auch ein Fetttropfen liegt. Bei einem Tier (Siebenschläfer I) fanden wir kleine Cytosomen, die bestimmten, von uns früher im Herzmuskel des Hundes beschriebenen Gebilden ähneln (POCHE und LINDNER 1955) und die von LINDNER (1957) als Cytosomen B bezeichnet worden sind. Diese Cytosomen bestehen aus einer feinkörnigen Substanz, sind manchmal von einer einfachen Membran umgeben und liegen meistens an den Enden von Mitochondrien (Abb. 4a). Einzelne dichte Körper haben wir vor allem bei Siebenschläfer VII gesehen (Abb. 9c). Größere granuläre Cytosomen (Lipofuscin)

(Abb. 9b) sind bei den schlafenden Tieren öfter anzutreffen als bei den wachen; und zwar nimmt ihre Häufigkeit mit der Dauer des Winterschlafes etwas zu.

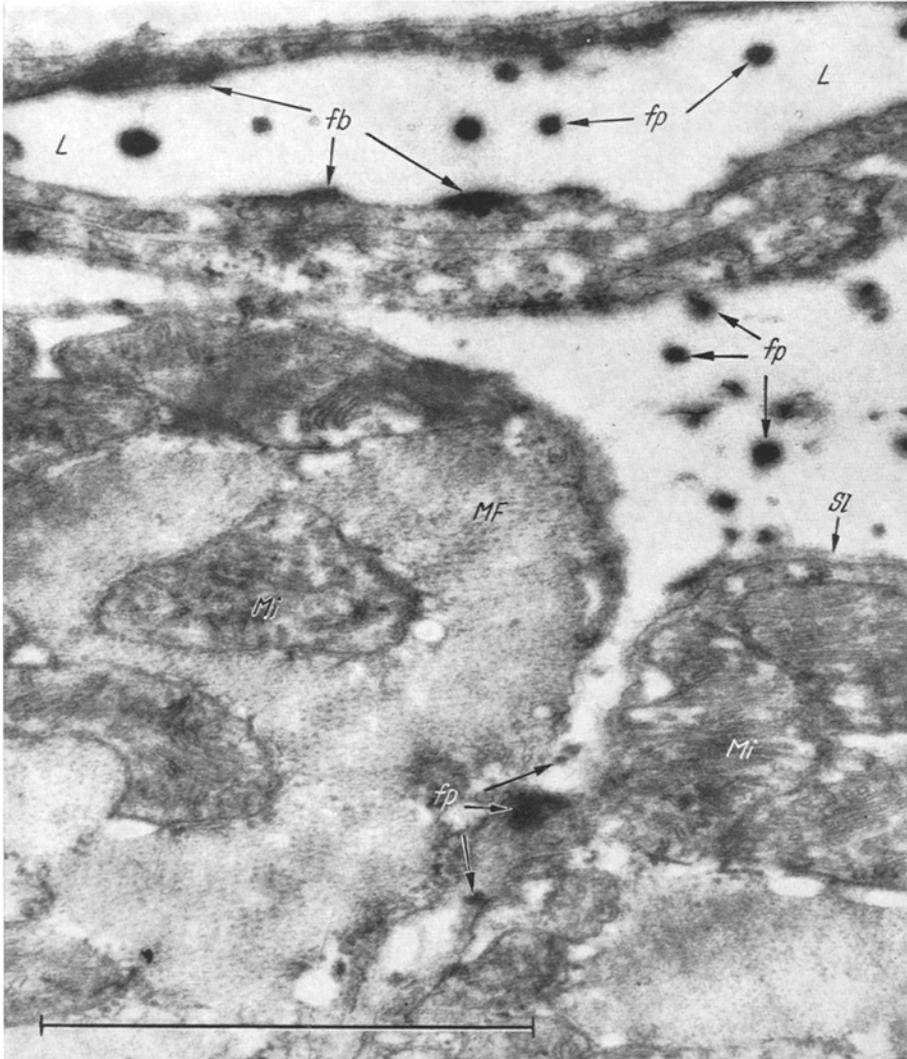


Abb. 8. Herzmuskel eines Siebenschläfers nach 3½monatigem Winterschlaf. Oben im Bild eine Blutcapillare mit kleinen Fettpartikelchen (*fp*) im Capillarlumen (*L*). Stellenweise die Zellmembran der Capillarendothelien mit Fett beschlagen (*fb*). Auch im Interstitium verschiedene große Fettpartikelchen (*fp*), die weit in den Interzellularraum eindringen. Sarkolemm (*Sl*). Myofibrille, schräg geschnitten (*MF*). Mitochondrien (*Mi*). Präparation wie Abb. 6. Elektronenmikroskopisch 16 600:1, Endvergrößerung 64 600:1 (243 D/58)

Bemerkenswert ist, daß man fast immer in der Umgebung der Lipofuscinkörnchen oder zwischen ihnen kleine Anhäufungen von winzigen Bläschen und Membranen findet, die sehr an ein Golgi-Feld erinnern (Abb. 9b). An typischer Stelle im perinukleären Sarkoplasma gelegene Golgi-Felder sind bei schlafenden Siebenschläfern häufiger anzutreffen als bei wachen (Abb. 5). Schließlich sei noch er-

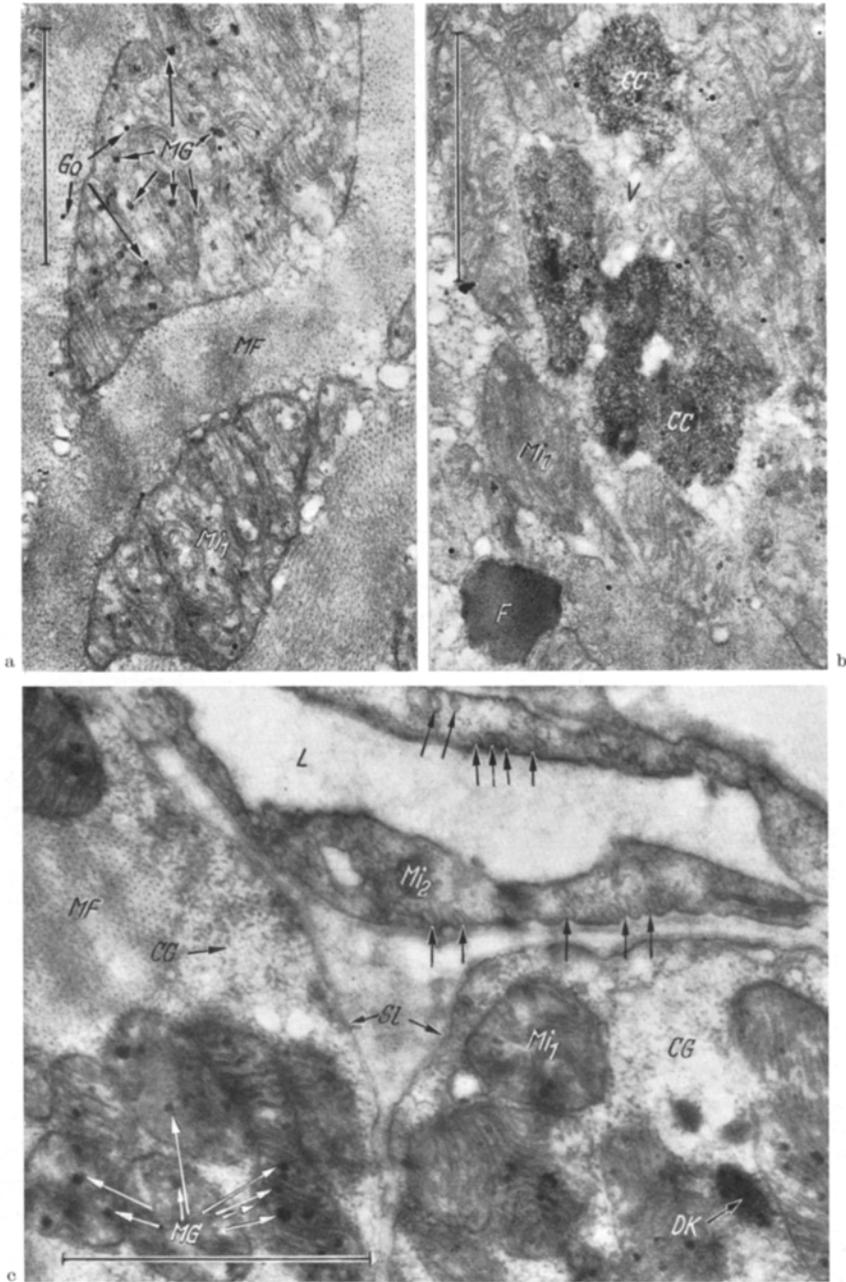


Abb. 9a—c. Herzmuskel eines SiebenschlÄfers nach 8monatigem Winterschlaf. Mitochondrien der Herzmuskelzellen ( $Mi_1$ ) mit starker Vermehrung der Mitochondriengranula (MG). Bei den drei runden, metallharten, schwarzen Scheibchen in Abb. 9a handelt es sich um Goldsol (Go). Myofibrillen (MF), schräg bzw. quer geschnitten. Lipofuscin (CC), daneben im Sarkoplasma kleine BlÄschen (V). Vermehrung der kleinen Cytogranula (Paladesche Granula) (CG) im peripheren Sarkoplasma. Sarkolemm (SL). Blutcapillare (Lumen = L) mit zahlreichen Invaginationen der Zellmembranen der Endothelzellen (Pfeile). Mitochondrion ( $Mi_2$ ) in einer Capillarendothelzelle. Dichter K6rper (DK). Fett-tropfen (F). SiebenschlÄfer VII. Fix. nach SJ6STRAND. a und b Siemens-Elektronenmikroskop UM 100, elektronenoptisch 16400:1, Endvergr6Berung a 34500:1 (9927/57), b 36700:1 (9939/57). c RCA-Elektronenmikroskop EMU 3C, elektronenmikroskopisch 16600:1, Endvergr6Berung 44800:1 (326 C/58). Verkleinerung auf  $1/10$ .

wähnt, daß die feinen Cytogranula des Sarkoplasmas (Paladesche Granula) im Winterschlaf vermehrt gefunden werden, und zwar um so stärker, je länger der Winterschlaf gedauert hat (Abb. 4 und 9). An einzelnen Stellen ist das periphere Sarkoplasma etwas vermehrt und dabei deutlich aufgehellt. Dies wird besonders bei Siebenschläfer I deutlich (Abb. 3 b).

An den Protomembranen der Herzmuskelzellen und vor allem an den Zellmembranen der Capillarendothelzellen sind die Vesikulationsvorgänge während des Winterschlafes deutlich abgewandelt. Einstülpungen der Protomembran der Herzmuskelzellen sind bei schlafenden Tieren häufiger als bei wachen; dies wird besonders dort deutlich, wo das periphere Sarkoplasma vermehrt und aufgehellt ist (Abb. 3 b). An den Zellmembranen der Capillarendothelzellen findet man auffallend viele Einstülpungen in verschiedenen Stadien der Abschnürung in das Cytoplasma hinein (Abb. 3 b). Demgegenüber ist die Zahl der frei im Cytoplasma liegenden Bläschen bei den lethargischen Tieren wesentlich geringer als bei den winterschlafbereiten wachen Tieren.

Bei einem schlafenden Tier (Siebenschläfer V) ergaben sich interessante Befunde an Blutcapillaren und am Interzellularraum (Abb. 8). Man erkennt im Capillarlumen kleine rundliche, sehr kontrastreiche Partikel, bei denen es sich höchstwahrscheinlich um Fettsubstanzen entsprechend den Chyluskörperchen handelt. Außerdem ist an manchen Stellen die Oberfläche der inneren Zellmembran der Capillarendothelien mit einer entsprechenden, sehr kontrastreichen Substanz (Fett) beschlagen. In dem an diese Capillaren angrenzenden Interzellularraum findet man ebenfalls kleine kontrastreiche Partikel, die Chyluskörperchen entsprechen könnten. Diese Partikel dringen weit in die schmalen Interzellularspalten zwischen den Herzmuskelzellen ein. Die Protomembranen der Herzmuskelzellen sind in diesen Bereichen vielfach gefaltet. Obwohl es sich bei diesen Bildern um verhältnismäßig selten zu erhebende Befunde handelt, glauben wir, daß hier der Vorgang der Resorption von Fett aus den Blutcapillaren getroffen worden ist. An einzelnen Stellen findet man Fetttropfen neben den Blutcapillaren im Extrazellularraum, die genau so groß wie die im Sarkoplasma der Herzmuskelzellen gelegenen Fetttropfen sind. Wenn man die elektronenmikroskopischen Präparate von wachen und schlafenden Tieren bei Übersichtsvergrößerungen von etwa 1300:1 bis 3000:1 miteinander vergleicht, so fällt auf, daß bei den schlafenden Tieren die Blutcapillaren häufig weiter gestellt sind als bei den wachen Tieren.

C. Eine besondere Beschreibung verdienen die Befunde am Herzmuskel eines Siebenschläfers (Siebenschläfer VI), der *nach fünfwöchigem spontanem Winterschlaf erweckt und anschließend im Wachzustand vier Tage lang ohne Nahrung und ohne Wasser gehalten wurde*. Das Tier mußte also nach vorzeitiger Unterbrechung seines Winterschlafes bei dem hohen Stoffwechsel des Aktivitätszustandes weiter ausschließlich von seinen Fettreserven leben. Bei diesem Siebenschläfer zeigen nun die Mitochondrien im allgemeinen ein ähnliches Bild wie bei den schlafenden Tieren. Es finden sich jedoch schon etwas häufiger ganz leicht „geschwollene“ Mitochondrien mit kleinen Aufhellungen der Matrix, besonders an solchen Stellen, wo die Mitochondrien in Kontakt mit Fetttropfen stehen (Abb. 12). Dementsprechend haben die mittleren Maße der Mitochondrienanschnitte mit  $0,90:0,45 \mu$  schon fast wieder die gleiche Größe wie bei den winterschlafbereiten wachen

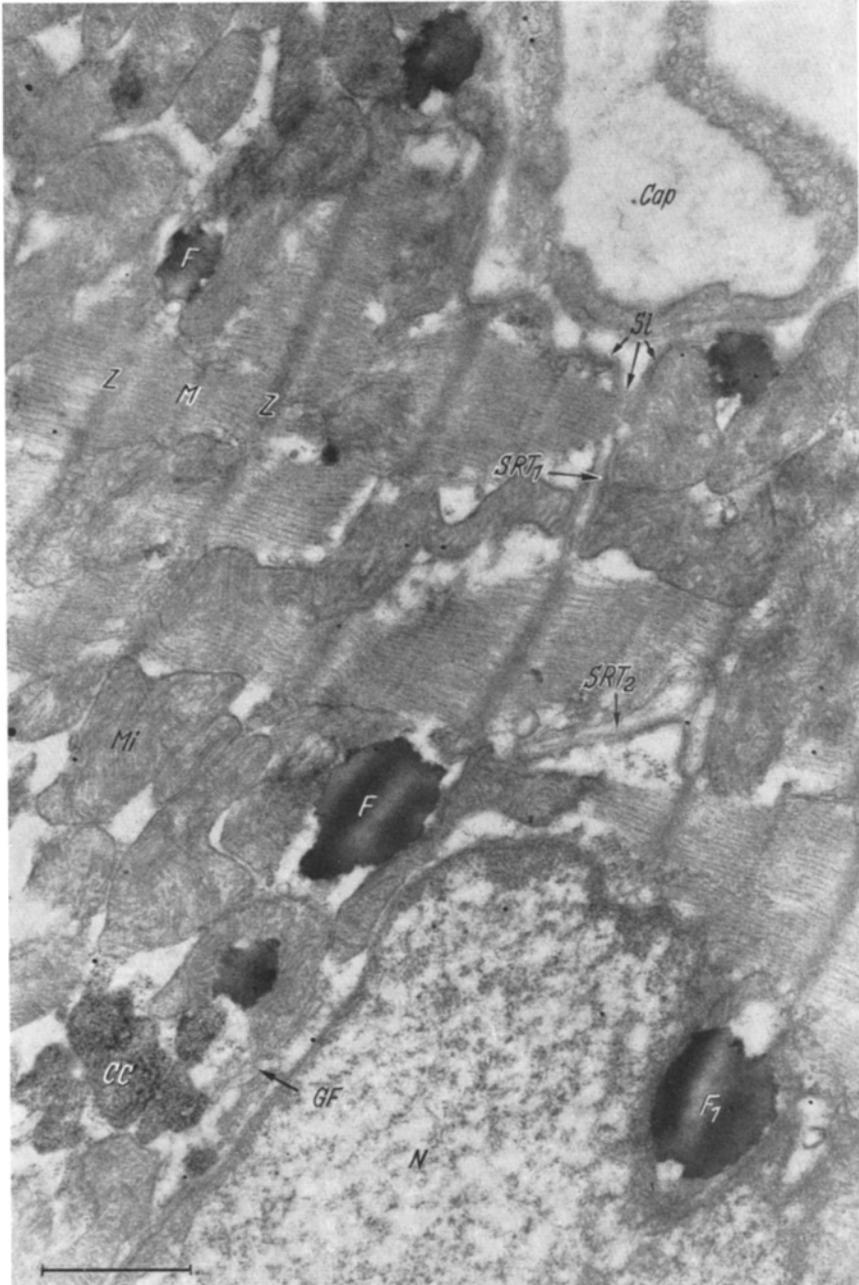


Abb. 10. Herzmuskel eines Siebenschläfers, der nach 5wöchigem Winterschlaf erweckt und anschließend 4 Tage bei Hunger und Durst gehalten wurde. Myofibrillen mit Z-Streifen (Z) und M-Linien (M). Zellkern (N). Fettropfen (F). Bei  $F_1$ , ein Fettropfen in einer Eindellung der Kernmembran; bei einem Flachschnitt von  $F_1$  könnte fälschlich der Eindruck von sog. Kernfett entstehen. Lipofuscin (CC), daneben ein Golgi-Feld (GF). In den Mitochondrien (Mi) keine Vermehrung der Mitochondrien-granula mehr. Bei  $SRT_1$ , ein Tubulus des transversalen Systems des Sarkoplasmaretikulums, der aus einer Einstülpung des Sarkolems (SI) hervorgeht; bei  $SRT_2$ , ein Tubulus des transversalen Systems, der schräg von einem Z-Streifen zum anderen verläuft. Oben rechts eine Blutcapillare (Cap), deren Endothelzellen prall mit kleinen Bläschen angefüllt sind. Siebenschläfer VI, Fix. nach Sjöstrand, Siemens-Elektronenmikroskop UM 100. Elektronenmikroskopisch 7900:1, Endvergrößerung 20 800:1 (10 519/57). Verkleinerung auf  $\frac{1}{10}$ .

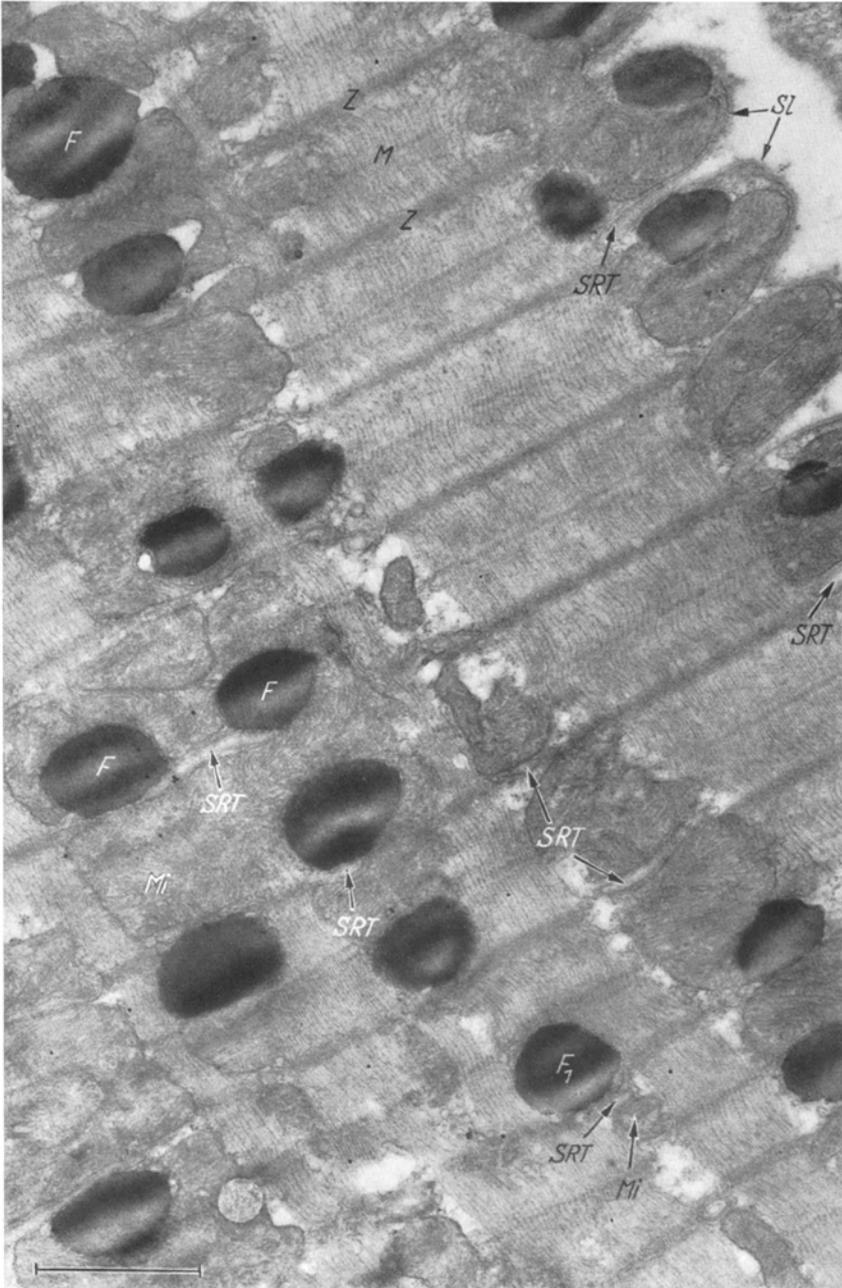


Abb. 11. Starke Verfettung des Herzmuskels bei einem Siebenschläfer 4 Tage nach vorzeitiger Unterbrechung des Winterschlafes und anschließendem Hunger und Durst. Die meisten Fetttropfen (*F*) sind entsprechend der *Abbauform* des Herzmuskelfettes von Mitochondrien (*Mi*) umgeben; dabei sind die engen Lagebeziehungen der Fetttropfen zu den Tubuli des transversalen Systems (*SRT*) bestehengeblieben. Nur bei *F*<sub>1</sub> ein Fetttropfen, der keinen innigen Kontakt mit Mitochondrien hat und der *Speicherform* des Herzmuskelfettes entspricht. Myofibrillen mit Z-Streifen (*Z*) und M-Linien (*M*). Sarkolemm (*Sz*). Präparation wie Abb. 10. Elektronenmikroskopisch 7900:1, Endvergrößerung 23 800:1 (10 522/57). Verkleinerung auf  $\frac{1}{10}$ .

Tieren erreicht. Mitochondriengranula sind — wie bei den winterschlafbereiten wachen Tieren — nur selten zu finden.

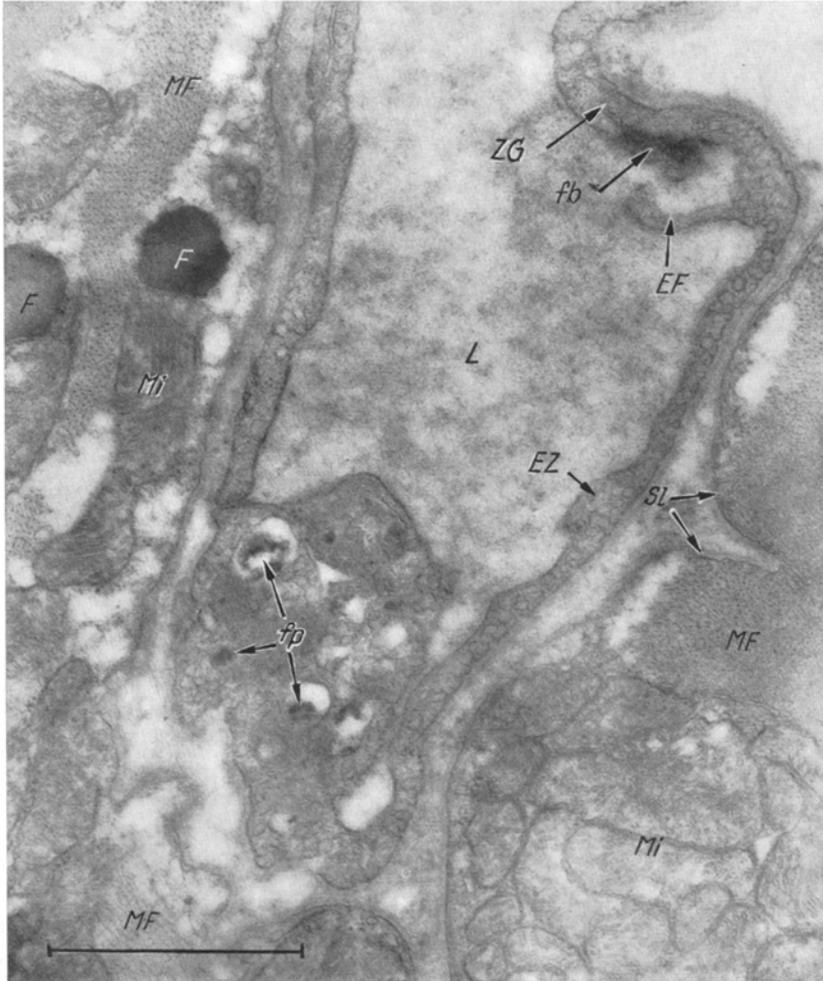


Abb. 12. Herzmuskel eines Siebenschläfers 4 Tage nach vorzeitiger Unterbrechung des Winterschlafes mit anschließendem Hunger und Durst. Mitochondrien (*Mi*), keine Vermehrung der Mitochondriengranula mehr. Myofibrillen (*MF*). Fetttropfen (*F*). Sarkolemm (*SL*). Blutcapillare (Lumen = *L*) mit Fettbeslag der inneren Zellmembran (*fb*). Fortsätze (*EF*) und Zellgrenzen (*ZG*) der Endothelzellen (*EZ*). Bei *fp* kleine Fettpartikelchen in Nischen der Capillarwand (entsprechend einem Flachschnitt durch *EF* und *fp*). Zahlreiche freie Bläschen im Cytoplasma der Endothelzellen. Präparation wie Abb. 10. Elektronenmikroskopisch 16 400:1, Endvergrößerung 32 300:1 (10 537/57)

Am auffallendsten ist bei diesem Tier die starke Verfettung des Herzmuskels (Abb. 11). Mit 20—50 pro Flächeneinheit ist die Zahl der Fetttropfen durchschnittlich etwa doppelt so groß wie bei den winterschlafbereiten wachen Tieren. Für die Lagebeziehung der Fetttropfen zu den Mitochondrien gilt aber in besonderem Maße auch das für die schlafenden Tiere Gesagte: Der weitaus größte Teil der Fetttropfen steht in sehr engem Kontakt mit Mitochondrien und ist fast vollständig von Mitochondrienmaterial umgeben (Abb. 11). Dabei sieht

man häufig auch Tubuli des transversalen Systems des sarkoplasmatischen Retikulums mit angelagerten Fetttropfen, die vollständig von Mitochondrienmaterial umgeben sind. Die Mitochondrien umlagern die Fetttropfen oft halbmond- bis hufeisenförmig oder ringförmig, und manchmal hat man den Eindruck, daß mehrere von den die Fetttropfen umlagernden Mitochondrien zu größeren Einheiten verschmolzen sind (Abb. 11). Daneben sieht man aber vereinzelt immer wieder auch Fetttropfen, die neben Elementen des Sarkoplasmaretikulums gelegen sind und keinen so innigen Kontakt zu den Mitochondrien erkennen lassen (Abb. 11). An manchen Stellen liegen Fetttropfen in Einbuchtungen des Zellkernes (Abb. 10). Wenn solche Einbuchtungen flach geschnitten werden, kann fälschlicherweise der Eindruck des sog. Kernfettes entstehen. Echtes Kernfett haben wir bei unseren Tieren aber ebensowenig wie echtes Mitochondrienfett gesehen.

Granuläre Cytosomen und Golgi-Felder sind bei Siebenschläfer VI etwa genau so häufig wie bei den schlafenden Tieren. Dagegen ist von einer Vermehrung der Paladeschen Granula im Sarkoplasma nichts mehr zu sehen (Abb. 10 und 12).

Die Endothelzellen der Blutcapillaren enthalten größtenteils sehr reichlich kleine Bläschen. Sie lassen auch Einstülpungen und Abschnürungen der Zellmembran erkennen, aber längst nicht so viele, wie bei den schlafenden Tieren (Abb. 12). Die Befunde an den Endothelzellen entsprechen vielmehr den winterschlafbereiten wachen Tieren, wobei im ganzen die Bläschen bei Siebenschläfer VI jedoch wesentlich zahlreicher sind. Auf Abb. 12 ist eine Blutcapillare dargestellt, bei der die Endothelzelle eine eigentümliche Verbreiterung aufweist. Es handelt sich hier um teilweise dicht mit Bläschen besetzte Fortsätze der Endothelzelle, die schräg oder tangential geschnitten sind. Diese Fortsätze scheinen zum Teil verbacken zu sein und sind fleckweise eigentümlich homogenisiert. Dadurch sind Nischen und Taschen entstanden, in denen sich kleine dunkle Partikel entsprechend Chyluskörperchen finden. An der gegenüberliegenden Seite ist die Oberfläche der Capillarendothelzelle mit kontrastreicher Substanz (Fett) beschlagen.

### Besprechung der Ergebnisse

Die elektronenmikroskopische Untersuchung des Herzmuskels von Siebenschläfern vor dem Winterschlaf, während der Lethargie und nach vorzeitiger Unterbrechung des Winterschlafes erlaubt uns, die submikroskopische Morphologie der Herzmuskelzelle zu verschiedenen Stoffwechselintensitäten in Beziehung zu setzen. Der gesamte Stoffumsatz eines Winterschläfers ist während der Lethargie auf ungefähr  $\frac{1}{100}$  des normalen Umsatzes gedrosselt (KAYSER 1950). Allerdings dürfen wir diesen am ganzen Tier gewonnenen Wert nicht ohne weiteres auf den Herzmuskel übertragen. Das Herz ist das während des Winterschlafes am stärksten in Tätigkeit befindliche Organ. Die Herzfrequenz ist im Schlafzustand auf  $\frac{1}{10}$  herabgesetzt, und dementsprechend schätzen wir auch die Stoffwechselintensität des Herzmuskels auf etwa  $\frac{1}{10}$  des Normalwertes. Trotz dieser immerhin doch sehr erheblichen Abnahme der Stoffwechselintensität kommt es während des Winterschlafes nicht zu einer Verminderung der Zahl der *Mitochondrien* in der Herzmuskelzelle — ganz im Gegensatz etwa zum Alveolarepithel der Lunge (SCHULZ 1957, 1958). Das bedeutet, daß die Zahl der Mitochondrien in der Herzmuskelzelle des Siebenschläfers *nicht* mit der Stoffwechselintensität,

sondern vielmehr mit der fakultativen Stoffwechsellkapazität parallel geht. Die Intensität des Stoffwechsels hat jedoch einen Einfluß auf die Feinstruktur der Mitochondrien. Bei den wachen Tieren zeigten die Mitochondrien größtenteils kleinfleckige Aufhellungen der Matrix, und ihre Schnittfiguren maßen bei Auswertung von etwa 1000 Mitochondrien im Mittel  $0,95:0,45 \mu$ . (Die tatsächliche Größe liegt etwas höher, weil beim Ausmessen auch die kleinsten Mitochondrien-Anschnitte mit erfaßt worden sind.) Bei den lethargischen Siebenschläfern dagegen fanden sich nur ganz selten einmal kleinfleckige Aufhellungen der Matrix in den Mitochondrien, und ihre Schnittfiguren waren im Mittel  $0,8:0,4 \mu$  groß. Dies bestätigt die von und schon früher vertretene Ansicht (POCHE 1958 b), daß in den Mitochondrien während ihrer Stoffwechselltätigkeit Substrat verbraucht wird, wobei gleichzeitig Produkte entstehen, deren physikalisch-chemische Eigenschaften wie  $p_H$ -Wert usw. zu einer geringen Quellung führen. Beides — Substratverbrauch bzw. Matrixverlust und Quellung durch die entstehenden Metaboliten — ergibt dann das Bild einer „geringen Schwellung“ des Mitochondrions mit kleinen fleckenförmigen Aufhellungen der Matrix. Ein solches Bild ist demnach charakteristisch für ein in Funktion befindliches Mitochondrion. Bei unseren lethargischen Tieren war eine derartige „geringe Schwellung“ bei der weitaus überwiegenden Mehrzahl der Mitochondrien nicht nachzuweisen. Außerdem zeigten diese Mitochondrien sehr dicht gepackte und unregelmäßig, zum Teil fingerabdruckartig angeordnete Innenmembranen (Cristae mitochondriales) sowie eine verhältnismäßig kontrastreiche, dunkelgraue Matrix. Dieses morphologische Bild spricht dafür, daß die betreffenden Mitochondrien nicht in Funktion oder zumindest nicht in voller Funktion befindlich sind und daß sowohl eine Zunahme des Fermentmaterials (Cristae) als auch eine Speicherung von Substrat (Matrix) eingetreten ist. Solche Mitochondrien sind aber in der Lage, ihre Funktion bei Bedarf sofort wieder aufzunehmen. Sie befinden sich gewissermaßen in einem Zustand der Bereitschaft. Ob dabei der Anstoß zu neuer Tätigkeit allein durch eine Erhöhung der Temperatur gegeben wird, erscheint fraglich, da ja die Winterschläfer bekanntlich auch bei einer Unterschreitung der sog. Minimaltemperatur spontan aus ihrer Lethargie erwachen. Unsere Befunde über die Abhängigkeit der Form der Mitochondrien von der Funktion stimmen mit den Ergebnissen von HARMAN und FEIGELSON (1952) überein, die gezeigt haben, daß sich die Mitochondrien des Herzmuskels bei Senkung der Oxydation in sphäroide, verdichtete Scheiben verwandeln.

Etwas schwieriger zu deuten ist die mit der Dauer des Winterschlafes zunehmende Vermehrung der *Mitochondriengranula*. Bei unseren bisherigen elektronenmikroskopischen Untersuchungen des Herzmuskels unter verschiedenen experimentellen Bedingungen (POCHE 1957, 1958 b) fanden wir nur bei der Hungeratrophie eine Vermehrung der Mitochondriengranula. Nach Überdosierung von Schilddrüsenhormon fehlten die Mitochondriengranula völlig. LINDNER und WELLENSIEK (1958) sahen eine starke Vermehrung der Mitochondriengranula nach Durchströmung des überlebenden Herzens (Langendorff-Herz) mit Elektrolytlösungen. WEISS (1955 b) hat eine Vermehrung der Granula in den Mitochondrien der Epithelzellen des Duodenums nach der Resorption größerer Mengen von Kalium oder Natrium beschrieben; er mißt den Mitochondrien eine besondere Bedeutung für den Mineralstoffwechsel, insbesondere für den Kationentransport,

bei und hält die Granula möglicherweise für Ansammlungen von Kationen. Nun sind Verschiebungen der Blutmineralien während der Lethargieperiode bei Winterschläfern schon seit langem bekannt. So sinkt der Kaliumgehalt des Blutes ab, während der Calciumgehalt steigt, wobei sich das K/Ca-Verhältnis von etwa 4:1 auf etwa 1:1 verschiebt (FEINSMIDT und FERDMANN 1932). Auch der Bromgehalt (SUOMALAINEN 1935) und der Magnesiumgehalt (SUOMALAINEN 1944) des Blutes steigen im Winterschlaf an. SPECTOR (1953) hat nachgewiesen, daß Kalium von den Mitochondrien absorbiert werden kann. Es wäre also denkbar, daß während des Winterschlafes mit dem Absinken des Blutkaliums das intrazelluläre Kalium ansteigt und sich in den Mitochondrien in Form der Mitochondriengranula ansammelt. Es gibt aber noch andere Deutungsmöglichkeiten. So könnte man beispielsweise daran denken, daß es sich bei den Mitochondriengranula um feinstdisperse Fettsubstanzen, also einfach um Substrat des auf ausschließliche Fettverbrennung eingestellten Winterschlafstoffwechsels handelt. Eine weitere Möglichkeit wäre, die Mitochondriengranula als Vitamin  $K_1$  anzusehen. Vom 2-Methylnaphthochinon (Vitamin  $K_3$ ) ist bekannt, daß es sich in den Mitochondrien des Herzmuskels ansammelt (MARTIUS 1957, 1958). Durch Einbau eines Phytolrestes wird das Vitamin  $K_3$  in die wirksame Form des Vitamin K, das Phyllochinon (Vitamin  $K_1$ ), überführt. Dabei hat die Seitenkette des Phytolrestes den Zweck, die eigentliche Wirkgruppe — das Redoxsystem des Naphthochinons — in Zellstrukturen von Lipoproteidcharakter zu verankern; und damit könnte das Vitamin  $K_1$  möglicherweise auch elektronenmikroskopisch darstellbar werden. Nach MARTIUS (1956, 1958) ist das Vitamin  $K_1$  in der Atmungskette an der ersten Oxydationsstufe (Codehydrasen) maßgeblich beteiligt; der Wasserstofftransport über das Vitamin  $K_1$  soll zu einem besonders hohen Energiegewinn führen. Es wäre deshalb vorstellbar, daß bei dem auf Sparbetrieb eingestellten Stoffwechsel des lethargischen Winterschläfers vorzugsweise dieser besonders rationelle Weg benutzt wird, und daß das Vitamin  $K_1$  in Form der Granula in den Mitochondrien angereichert ist. Eine ähnliche Erklärung könnte man auch für die von uns beobachtete Vermehrung der Mitochondriengranula bei der Hungeratrophie und für ihr völliges Fehlen bei der 1-Trijodthyroninvergiftung bei der Ratte geben. Andererseits ist es aber noch nicht erwiesen, ob die Mitochondriengranula überhaupt spezifische Strukturen einheitlicher Natur darstellen oder ob nicht die verschiedensten Stoffe, die sich unter gewissen Bedingungen in den Mitochondrien anreichern, als Mitochondriengranula in Erscheinung treten können. So könnten beispielsweise ähnliche Verhältnisse wie für das Vitamin K auch für andere fettlösliche Vitamine, insbesondere für das Vitamin E (vgl. MARTIUS 1956 1957), und vielleicht auch für das Vitamin A, angenommen werden.

Das *Grundsarkoplasma* zeigte bei unseren lethargischen Tieren eine mit der Dauer des Winterschlafes zunehmende Vermehrung der kleinen Cytogranula oder Paladeschen Granula. PALADE (1955) hat diese Granula als Ribonukleinsäure gedeutet. Bei der vergleichenden histochemischen Untersuchung des Herzmuskels unserer Tiere ergab die Bestsche Karminfärbung keine verwertbaren Ergebnisse. Allerdings haben wir bei der Fixierung aus technischen Gründen nicht auf einen späteren Glykogennachweis Rücksicht nehmen können, sondern das Material wurde lediglich in kaltem 10%igem Formalin fixiert. Die PAS-Reaktion ergab jedoch deutliche Unterschiede zwischen wachen und schlafenden Tieren.

Bei den lethargischen Siebenschläfern fanden sich im Sarkoplasma wesentlich mehr staubförmige bis feinkörnige PAS-positive Substanzen als bei den wachen Tieren. Dagegen war die Feulgen-Reaktion im Sarkoplasma sowohl der schlafenden als auch der wachen Tiere negativ. Es ist deshalb zu fragen, ob es sich bei den Paladeschen Granula stets nur um Ribonukleinsäure handelt. Auf Grund unserer Beobachtungen möchten wir es für möglich halten, daß auch Kohlenhydrate in Form kleiner Granula im elektronenmikroskopischen Bild erscheinen können, zumal bei Siebenschläfer VI 4 Tage nach der Erweckung aus dem Winterschlaf keine Vermehrung der Paladeschen Granula mehr festzustellen war. Dies würde auch mit der schon seit langem bekannten Tatsache übereinstimmen, daß die Muskulatur und die Leber während des Winterschlafes einen relativ hohen Gehalt an Glykogen aufweisen (FERDMANN und FEINSCHMIDT 1932, EISENTRAUT 1956). Dieses Glykogen stellt eine Energiereserve für das Erwachen aus der Lethargie dar, bei dem es zu einem rapiden Anstieg der Stoffwechselintensität kommt, die vorübergehend das 500fache des Winterschlafwertes erreichen kann (LYMAN und LEDUC 1953). Da die kleinen Granula mit der Dauer des Winterschlafes zunehmen, muß daran gedacht werden, daß unter den Bedingungen des Winterschlafes in der Herzmuskelzelle eine Umwandlung von Fett in Kohlenhydrate erfolgen kann.

Das *Sarkoplasmaretikulum* der Herzmuskelzelle ist bei den Siebenschläfern sehr gut ausgebildet. Besonders ausgeprägt ist das sog. transversale System (LINDNER 1957), das bei den einzelnen Tierarten unterschiedlich entwickelt ist und beispielsweise bei der Ratte weniger deutlich erscheint als beim Meerschweinchen, beim Hund und beim Menschen. Wir haben bei unseren ausgedehnten Untersuchungen an den Herzen von Siebenschläfern stets nur Befunde erheben können, die für die von LINDNER (1957) und POCHE (1958b) geäußerte Anschauung sprechen, daß es sich bei diesen Tubuli um fingerförmige Einstülpungen der Exomembran (Sarkolemm) der Herzmuskelzelle handelt.

An den *Zellmembranen* zahlreicher Zellen, unter anderem auch der Herzmuskelzellen und der Capillarendothelzellen (POCHE und LINDNER 1955), sind durch elektronenmikroskopische Untersuchungen *Vesikulationsvorgänge* mit Einstülpung oder Invagination der Zellmembranen und bläschenförmiger Abschnürung dieser Invaginationen in das Zellinnere hinein nachgewiesen worden. Dieser Vorgang wird von ODOR (1956) als „Mikropinocytose“ und von MOORE und RUSKA (1957) als „Cytopenpsis“ bezeichnet. Nach der neueren elektronenmikroskopischen Literatur (vgl. BARGMANN 1958) gilt es heute als sicher, daß es sich hierbei um den morphologischen Ausdruck einer aktiven Stoffaufnahme bzw. eines selektiven Stofftransportes durch die betreffenden Zellen handelt. SCHULZ (1957, 1958) hat am Alveolarepithel und an den Capillarendothelzellen der Lunge des Siebenschläfers eine Vermehrung dieser Vesikulationsvorgänge während des Winterschlafes beschrieben. Wir konnten nun bei unseren lethargischen Siebenschläfern an den Protomembranen der Herzmuskelzellen und besonders deutlich an den Zellmembranen der Capillarendothelien des Herzmuskels ebenfalls Veränderungen der Membranvesikulationen feststellen. Bei den wachen Tieren waren in den Capillarendothelzellen im Vergleich zu den schon abgeschnürten, frei im Cytoplasma befindlichen Bläschen verhältnismäßig wenig Einstülpungen und Abschnürungen der Zellmembran zu finden; diese Einstülpungen waren

hauptsächlich auf die äußere, basale Zellmembran der Capillarendothelzelle beschränkt. Die freien Bläschen waren an manchen Stellen sehr zahlreich. Im Gegensatz dazu waren bei den lethargischen Tieren die Einstülpungen bzw. Invaginationen der Zellmembranen vermehrt, und zwar nicht nur an der äußeren, basalen Zellmembran, sondern teilweise auch an der inneren, dem Capillarlumen zugewandten Zellmembran, während sich frei im Cytoplasma nur verhältnismäßig wenig Bläschen fanden. Auf Grund der experimentellen Bedingungen haben wir diese Befunde so gedeutet, daß der Vorgang der Einstülpung der Zellmembran bis zur Abschnürung eines Bläschens — zumindest unter den Bedingungen des Winterschlafes — wesentlich mehr Zeit in Anspruch nimmt als die Wanderung eines abgeschnürten Bläschens durch das Cytoplasma hindurch von einer Zellmembran zur anderen.

Da der Stoffwechsel der Siebenschläfer während des Winterschlafes im wesentlichen auf die Verbrennung von Fett eingestellt ist, waren bei unseren Untersuchungen Aufschlüsse über die *Morphologie des Fettstoffwechsels* der Herzmuskelzelle zu erwarten. In früheren Arbeiten (POCHE 1958 a, b) haben wir festgestellt, daß die Fetttropfen frei im Sarkoplasma liegen, daß sie aber immer enge topographische Beziehungen zu dem Sarkoplasmaretikulum und zu den Mitochondrien erkennen lassen. Anhaltspunkte für eine Fettphanerose oder aber für eine Entstehung von Fett in Mitochondrien, wie sie von SHELDON und ZETTERQVIST (1955, 1956) im Cornealepithel der Maus unter Vitamin A-Mangel beschrieben und von OBERLING und ROUILLER (1956) auch in der Leber nach Tetrachlorkohlenstoffvergiftung angenommen worden ist, haben sich weder in früheren Untersuchungen bei der pathologischen Verfettung des Herzmuskels der Ratte nach Phosphorvergiftung, nach alimentärem Kaliummangel oder nach 1-Trijodthyroninvergiftung (POCHE 1957, 1958 b) noch bei den vorliegenden Untersuchungen im Herzmuskel der Siebenschläfer ergeben. Auch Fetteinschlüsse in anderen Zellorganellen — etwa im Ergastoplasma, wie es BARGMANN und KNOOP (1959) kürzlich in den Drüsenzellen der Mamma bei der Milchsekretion nachgewiesen haben — konnten wir bei den vorliegenden Untersuchungen in den Herzmuskelzellen der Siebenschläfer nicht feststellen. Wir müssen deshalb in Übereinstimmung mit früheren Untersuchern (z. B. DIBLE 1934, DIBLE und GERRARD 1938, LEICK und WINCKLER 1902, LEISERING 1864, ROSENFELD 1901, WOTTON und MOSTI 1955) an unserer Auffassung festhalten, daß sowohl die physiologische als auch die pathologische Verfettung der Herzmuskelzelle durch eine Infiltration von Fett in die Herzmuskelzelle hinein zustande kommt (POCHE 1958 a, b).

Bei den drei von uns untersuchten Gruppen von Siebenschläfern lagen nun hinsichtlich des Fettstoffwechsels unterschiedliche Bedingungen vor: Bei den winterschlafbereiten wachen Tieren kommt es zu einer physiologischen Verfettung der Herzmuskelzelle, wobei die Fetttropfen sehr wahrscheinlich hauptsächlich auf Vorrat und weniger zur sofortigen Verbrennung in die Herzmuskelzelle eingelagert werden. Bei den schlafenden Tieren nimmt die Verfettung gegenüber den winterschlafbereiten wachen Tieren sehr deutlich ab. Bei ihnen wird das Fett, das laufend aus den Fettdepots des Körpers in die Herzmuskelzellen hineingelangt, sofort verbraucht. Siebenschläfer VI, der nach vorzeitiger Unterbrechung des Winterschlafes vier Tage lang ohne Nahrung und ohne Wasser im

Wachzustand gehalten wurde, zeigte nun den höchsten Grad der Herzmuskelverfettung. Bei diesem Tier mußte der hohe Energiebedarf des Aktivitätszustandes wie bei den lethargischen Tieren ausschließlich aus der Verbrennung von Fett bestritten werden. Auch hier diente also das jetzt stark vermehrt in die Herzmuskelzellen eingebrachte Fett der sofortigen Energiegewinnung. Vergleicht man nun unsere Befunde bei den drei verschiedenen Gruppen von Siebenschläfern, so ergeben sich bemerkenswerte Unterschiede in den Lagebeziehungen der Fetttropfen. Bei den winterschlafbereiten wachen Tieren ist der Kontakt der Fetttropfen zu den Mitochondrien, bezogen auf den Umfang eines Fetttropfens, nur sehr gering. Wir möchten diese Form der Fettlagerung deshalb als *Speicherform* (Abb. 1, 2, 11) des Herzmuskelfettes bezeichnen. Bei den lethargischen Tieren und bei Siebenschläfer VI ist der größte Teil der Fetttropfen fast vollständig von Mitochondrienmaterial umgeben. Der Kontakt zwischen Fett und Mitochondrien ist also, bezogen auf den Umfang eines Fetttropfens, sehr groß. Dabei sind die Lagebeziehungen der Fetttropfen zum Sarkoplasmaretikulum, insbesondere zu den Tubuli des transversalen Systems, aber nicht verlorengegangen. Die Fetttropfen liegen den Tubuli nach wie vor dicht an, und man hat den Eindruck, daß die Mitochondrien von sich aus den Kontakt zu den Fetttropfen vergrößert haben, sei es nun, daß mehrere Mitochondrien sich an einen Fetttropfen angelagert haben oder daß ein Mitochondrion zunächst halbmond- oder hufeisenförmig und dann schließlich ringförmig einen Fetttropfen umgibt. Wo das Fett derartig eng von Mitochondrienmaterial umgeben ist, wird kaum ein nennenswerter weiterer Anbau von Fettsubstanz erfolgen; es ist vielmehr anzunehmen, daß dieses Fett in der Hauptsache abgebaut wird, während ein Anbau höchstens zur Ergänzung der verbrauchten Fettsubstanz erfolgt. Wir möchten diese Form der Fettlagerung deshalb als *Abbauform* (Abb. 7, 11) des Herzmuskelfettes bezeichnen. Meistens ist bei dieser Abbauform noch eine begrenzende Membran zwischen Fett und Mitochondrien, nämlich die Mitochondrien-Außenmembran, zu erkennen. Nur an einzelnen Stellen ist die Grenze zwischen Fett und Mitochondrien unscharf. Solche Bilder sind in vielen Fällen sicherlich durch die Schnittführung oder sonstige Einflüsse der Präparation bedingt, in einzelnen Fällen jedoch könnte man sie auch mit dem Eindringen von Fettsubstanz in das Mitochondrion in Zusammenhang bringen. Ganz vereinzelt findet man Mitochondrien, deren Außenmembran an umschriebenen Kontaktstellen mit Fettsubstanz zu fehlen scheint; solche Bilder sind möglicherweise reell.

Wir haben bis jetzt noch keine elektronenmikroskopischen Bilder, die den Fettdurchtritt durch die Protomembran der Herzmuskelzelle und den Fetttransport innerhalb der Herzmuskelzelle belegen, etwa in dem Sinne, wie es WEISS (1955a) im Duodenalepithel der Maus beschrieben hat. Wir konnten jedoch bei lethargischen Siebenschläfern und bei Siebenschläfer VI in einigen Blutcapillaren feine Fettpartikelchen beobachten. Diese Fettpartikelchen können sich an der inneren Zellmembran der Capillarendothelzelle niederschlagen. Manchmal kann hier das unmittelbar angrenzende Cytoplasma der Endothelzelle eigentümlich diffus geschwärzt sein (Abb. 8), oder aber kleine Areale der Endothelzelle werden eigentümlich homogenisiert (Abb. 12). Man erkennt dann weiterhin feine Fettpartikelchen außerhalb der Blutcapillaren im Extrazellularraum, wo sie bis weit in die Interzellularspalten zwischen den Herzmuskelzellen und wahrscheinlich auch in

die Tubuli des transversalen Systems des Sarkoplasmaretikulums hineinwandern (Abb. 8). Auch hier erkennt man stellenweise an der Protomembran der Herzmuskelzellen diffuse, unscharf begrenzte Schwärzungen. Zum Verständnis dieser Befunde sowie der Befunde von WEISS (1955a) muß man sich die beiden zur Zeit gültigen Theorien der Fettresorption vor Augen führen (Lit. bei DEUEL 1955). Die *lipolytische Theorie* nach VERZÁR (1938) nimmt an, daß das Fett zu Glycerin und Fettsäuren hydrolysiert werden muß, bevor es resorbiert werden kann, und daß dann in der Zelle bzw. nach Durchtritt durch die Membran eine Resynthese erfolgt. Die *Partitionstheorie* nach FRAZER (1938) dagegen besagt, daß nur ein Teil des aufgenommenen Fettes im Darm partiell hydrolysiert wird. Die dadurch entstehende Fraktion der Mono- und Di-Glyceride bewirkt eine so feine Emulgierung der Masse des nichthydrolysierten Fettes, daß negativ geladene Teilchen von weniger als  $0,5 \mu$  Größe entstehen. Diese winzigen Teilchen sollen dann in der Lage sein, die Zellmembran zu passieren. Diese Theorie wurde gestützt durch WOTTON und ZWEMER (1939), denen es gelang, winzige Fettpartikel während der Passage durch die apikale Zellmembran der Darmepithelzelle zu fotografieren, sowie durch die Untersuchungen von FRAZER, SCHULMAN und STEWART (1944), nach denen das bisher als nichtresorbierbar geltende Paraffin im Darm ohne weiteres resorbiert werden kann, sofern es nur in einer Emulsion mit einer Teilchengröße von weniger als  $0,5 \mu$  vorliegt. Wir möchten deshalb glauben, daß bei der Darmepithelzelle, deren Aufgabe in der Resorption von Fett aus dem Darm lumen und in der Weitergabe des resorbierten Fettes an die Lymphe bzw. an das Blut besteht, die Partitionstheorie durchaus ihre Gültigkeit besitzt. Die Herzmuskelzelle dagegen hat keine besonderen Transportaufgaben. Das Fett gelangt in feinemulgierter Form in die Interzellularspalten oder in die Tubuli des transversalen Systems des Sarkoplasmaretikulums und wird dort sehr wahrscheinlich vor dem Durchtritt durch die Protomembran der Herzmuskelzelle hydrolysiert. Als Fermentträger für diese Hydrolyse kommt die Perimembran der Herzmuskelzelle in Betracht, die der Basalmembran der Capillaren entspricht. Im Herzmuskel vollzieht sich die Fettresorption also im wesentlichen nach der lipolytischen Theorie, was wahrscheinlich sowohl für die Blutcapillaren als auch für die Herzmuskelzellen selbst zutrifft. Daß dabei die Basalmembran der Blutcapillaren als Fermentträger in Frage kommt, kann nach histochemischen Untersuchungen von HORT und HORT (1958) als wahrscheinlich gelten. In diesem Zusammenhang seien auch die Befunde von SCHIEBLER (1953) sowie die vorstehend beschriebenen eigenen lichtmikroskopischen Befunde erwähnt, nach denen das Sarkolemm der Herzmuskelzellen genau so PAS-positiv ist wie das Capillargrundhäutchen. LINDNER (1957) hat schon angenommen, daß das Sarkolemm der Herzmuskelzellen wie die Basalmembran der Blutcapillaren eine Verteilerfunktion für durchtretende Substanzen hat. Diese Auffassung wird weiter gestützt durch unsere an den Siebenschläferherzen gewonnenen Befunde, nach denen die graue Substanz der Perimembran und der Basalmembran manchmal Brücken bildet und winzige kleine Bläschen sowie auch kleine dunkle Körnchen einschließen kann. Nach dem Durchtritt durch die Membranen der Herzmuskelzelle wird das gespaltene Fett sehr wahrscheinlich sofort wieder resynthetisiert und bleibt dann am Ort der Resynthese — also entweder unter dem Sarkolemm oder neben den Tubuli des transversalen Systems — liegen. Da das Fett bei Bedarf an Ort und Stelle von

den Mitochondrien erreicht, umschlossen und abgebaut werden kann, ist ein weiterer Fetttransport innerhalb der Herzmuskelzelle selbst nicht mehr notwendig. Im Hinblick auf die Theorien der Fettersorption glauben wir deshalb mit DEUEL (1955), daß beide Theorien etwas Richtiges für sich haben. Nach welchem Modus die Fettersorption im Einzelfalle vor sich geht, hängt von den speziellen Aufgaben und Erfordernissen der betreffenden Gewebe ab.

### Zusammenfassung

Elektronenmikroskopische Untersuchungen des Herzmuskels von Siebenschläfern (*Myoxus glis*, *Glis glis glis* L.) am Ende der Aktivitätsperiode bzw. nach einer verlängerten Aktivitätsperiode (in Winterschlafbereitschaft), während des Winterschlafes und nach vorzeitiger Unterbrechung des Winterschlafes mit anschließendem Hunger und Durst sowie gleichlaufende lichtmikroskopische Untersuchungen des Herzmuskels, der Leber, der Nieren, der Nebennieren, der Milz und der Lungen führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Die *allgemeine submikroskopische Morphologie* des Herzmuskels vom Siebenschläfer stimmt grundsätzlich mit der des Herzmuskels von den bisher untersuchten Vertebraten überein. Der Herzmuskel zeigt einen zellulären Aufbau. Die Herzmuskelzellen enthalten sehr viele Mitochondrien. Das *transversale System* des Sarkoplasmaretikulums, das aus fingerförmigen Einstülpungen des Sarkolemmis in Höhe der Z-Streifen hervorgeht, ist beim Siebenschläfer im Vergleich zu den bisher untersuchten Tieren am besten entwickelt. Auch die Perimembran des Sarkolemmis ist beim Siebenschläfer deutlicher ausgeprägt als etwa bei der Ratte. Die Protomembranen der Herzmuskelzellen und die Zellmembranen der Capillarendothelien zeigen das Phänomen der Membranvesikulation.

2. Während des Winterschlafes kommt es trotz der auf etwa  $\frac{1}{10}$  des Normalwertes herabgesetzten Stoffwechselintensität des Herzmuskels nicht zu einer Verminderung der Mitochondrien in den Herzmuskelzellen. Die *Zahl der Mitochondrien* geht hier also der Stoffwechselkapazität und nicht der jeweiligen Stoffwechselgröße parallel. Dagegen hängt die *Form der Mitochondrien* offensichtlich von der Stoffwechselintensität ab: Bei den wachen Siebenschläfern lassen die Mitochondrien der Herzmuskelzellen als Ausdruck einer regen Funktion nicht selten kleinste fleckige Aufhellungen ihrer Matrix erkennen; bei den lethargischen Tieren zeigen sie eine kontrastreiche, im elektronenmikroskopischen Bild dunkelgraue Matrix und sehr dichtgepackte, unregelmäßige, häufig „fingerabdruckartig“ angeordnete Innenmembranen (Cristae), d. h. als Ausdruck der stark herabgesetzten Stoffwechselintensität kommt es zu einer Speicherung von Substrat und zu einer Zunahme des Fermentmaterials in den Mitochondrien, ohne daß ihre Größe dabei zunimmt. Die *Mitochondriengranula* sind bei den lethargischen Tieren vermehrt, und zwar um so mehr, je länger der Winterschlaf gedauert hat. Die Bedeutung der Mitochondriengranula ist noch nicht endgültig geklärt; es könnte sich bei ihnen um Vitamin K<sub>1</sub>, um Substratpartikelchen (Fettsubstanz) oder um Ansammlungen von Kationen handeln.

3. Die Zahl der kleinen *Cytogranula* (Paladesche Granula) des Sarkoplasmas der Herzmuskelzellen nimmt bei den lethargischen Tieren mit der Dauer des Winterschlafes zu. Nach vergleichenden histochemischen Untersuchungen scheinen diese Granula eher Kohlenhydrate zu enthalten als Ribonukleinsäure.

Die Frage der Entstehung von Kohlenhydraten aus Fett im Herzmuskel wird erörtert.

4. Der Golgi-Apparat, der normalerweise in den Herzmuskelzellen nur spärlich entwickelt ist, vergrößert sich während des Winterschlafes, so daß fast in allen Schnittpräparaten, die einen Kernanschnitt enthalten, in der Nähe des Zellkernes auch Anteile des Golgi-Apparates zu finden sind.

5. Die Abwandlung der *Membranvesikulation* während des Winterschlafes wird besonders an den Endothelzellen der Blutcapillaren des Herzmuskels deutlich. Bei den lethargischen Siebenschläfern sind als Ausdruck des hochgradig herabgesetzten Stoffwechsels und der damit verbundenen Verlangsamung der Stoffaustauschvorgänge die Einstülpungen, Invaginationen und Abschnürungen der Zellmembran deutlich vermehrt, während die Zahl der schon abgeschnürten, das Cytoplasma durchwandernden Bläschen im Vergleich zu den wachen Tieren stark vermindert ist.

6. Die winterschlafbereiten wachen Siebenschläfer zeigen eine deutliche feintropfige Verfettung der Herzmuskelzellen. Bei den lethargischen Tieren ist die Verfettung nur sehr gering, während sie nach vorzeitiger Unterbrechung des Winterschlafes mit anschließendem Hunger und Durst gut doppelt so stark ist wie bei den wachen Tieren. Die Fetttropfen liegen frei im Sarkoplasma, aber in enger Nachbarschaft zum Sarkoplasmaretikulum und zu den Mitochondrien. Die nähere Differenzierung dieser Lagebeziehungen erlaubt es, eine *Speicherform* und eine *Abbauform des Herzmuskelfettes* zu unterscheiden. Bei der Speicherform, die bei den winterschlafbereiten wachen Tieren vorherrscht, findet man auf Längsschnitten die Fetttropfen jeweils zwischen einem Tubulus des transversalen Systems und einem Mitochondrion gelegen; der unmittelbare Kontakt zwischen Fett und Mitochondrion ist nur sehr gering. Bei der Abbauform sind die Fetttropfen unter Wahrung ihrer engen Lagebeziehungen zu den Tubuli des transversalen Systems des Sarkoplasmaretikulums allseitig sehr dicht von Mitochondrien umgeben und umschlossen, so daß der überwiegende Teil des Umfanges eines Fetttropfens in innigem Kontakt mit Mitochondrienmaterial steht. Diese Abbauform herrscht während des Winterschlafes sowie nach vorzeitig unterbrochenem Winterschlaf mit anschließendem Hunger und Durst vor, d. h. bei den Tieren, die das in die Herzmuskelzellen eingebrachte Fett zur Energiegewinnung sofort verbrennen müssen. Die *Fettresorption* geht im Herzmuskel wahrscheinlich nach dem Modus der lipolytischen Theorie (VERZÁR) vor sich, d. h. das Fett wird vor dem Durchtritt durch die Exomembranen (Sarkolemm) der Herzmuskelzellen bzw. die Membranen der Tubuli des transversalen Systems des Sarkoplasmaretikulums hydrolysiert und anschließend sofort wieder resynthetisiert. Da das Fett am Ort der Resynthese von den Mitochondrien erreicht und bei Bedarf abgebaut werden kann, ist ein weiterer Fetttransport innerhalb der Herzmuskelzelle nicht notwendig.

7. Lichtmikroskopisch ließen die lethargischen Siebenschläfer selbst nach einem 8 Monate währenden Winterschlaf gegenüber den wachen Tieren *keine* nennenswerte *Atrophie* der Herzmuskelfasern erkennen. Elektronenmikroskopisch fand sich bei den lethargischen Tieren eine geringe, mit der Dauer des Winterschlafes etwas zunehmende Vermehrung von *Lipofuscin* in den Herzmuskelzellen.

8. Die *lichtmikroskopische Untersuchung* von Leber und Milz ergab eine Siderose, die bei den wachen Siebenschläfern stärker war als bei den lethargischen. In den Nieren zeigten die Epithelzellen der Tubuli contorti I eine feinkörnige Eisenspeicherung, und die Epithelzellen der Tubuli contorti II sowie der rindennahen Tubuli recti enthielten fettarmes Lipofuscin; diese Pigmentbefunde waren ebenfalls bei den wachen Tieren deutlicher als bei den lethargischen. Die Nebennieren zeigten nach sechswöchigem Winterschlaf eine Verbreiterung der Zona glomerulosa. Nach  $3\frac{1}{2}$ monatigem Winterschlaf fand sich eine diffuse Verbreiterung der Rinde, die nach 8monatigem Winterschlaf wieder zurückgegangen war. Die Milz zeigte während des Winterschlafes eine Vergrößerung der Follikel, insbesondere der Keimzentren.

9. Wird der Winterschlaf bei Siebenschläfern auf länger als 12 Monate ausgedehnt, so sterben die Tiere.

### Literatur

- ARON, M., et CH. KAYSER: Le phénomène de l'adaptation thermique et sa relation avec l'activité thyroïdienne appréciée d'après l'examen histologique chez quelques hibernants. C. R. Soc. Biol. (Paris) **130**, 395—397 (1939). — BARGMANN, W.: Über die Struktur der Blutkapillaren. Dtsch. med. Wschr. **1958**, 1704—1710. — BARGMANN, W., u. A. KNOOP: Über die Morphologie der Milchsekretion. Licht- und elektronenmikroskopische Studien an der Milchdrüse der Ratte. Z. Zellforsch. **49**, 344—388 (1959). — BENEDICT, F. G., and R. C. LEE: Hibernation and marmot physiology. Carnegie Inst. Publ. No 497. Washington 1938. — BENNETT, H. S.: The sarcoplasmic reticulum of striped muscle. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 171—174 (1956). — DEUEL jr., H. J.: The lipids. Their chemistry and biochemistry. Vol. II.: Biochemistry, digestion, absorption, transport and storage. New York and London: Interscience Publ. 1955. — DIBLE, J. H.: Is fatty degeneration of the heart muscle a phanerosis? J. Path. Bact. **39**, 197—207 (1934). — DIBLE, J. H., and W. E. GERRARD: The source of the fat in experimentally produced fatty degeneration of the heart. J. Path. Bact. **46**, 77—84 (1938). — DONTCHEFF, L., et CH. KAYSER: La dépense d'énergie chez la marmotte en état d'hibernation. C. R. Soc. Biol. (Paris) **119**, 565—567 (1935). — EISENTRAUT, M.: Winterstarre, Winterschlaf und Winterruhe. Eine kurze biologisch-physiologische Studie. Mitt. zool. Museum Berlin **19**, 48—63 (1933). — Der Winterschlaf mit seinen ökologischen und physiologischen Begleiterscheinungen. Jena: Gustav Fischer 1956. — FEIN-SCHMIDT, O., u. D. FERDMANN: Beiträge zur Biochemie des Winterschlafes. Biochem. Z. **248**, 67—114 (1932). — FERDMANN, D., u. O. FEIN-SCHMIDT: Der Winterschlaf. Ergebn. Biol. **8**, 1 (1932). — FRAZER, A. C.: Fat absorption and metabolism. Analyst **63**, 308—314 (1938). — FRAZER, A. C., J. H. SCHULMAN and H. C. STEWART: Emulsification of fat in the intestine of the rat and its relationship to absorption. J. Physiol. (Lond.) **103**, 306—316 (1944). — HARMAN, J. W., and M. FEIGELSON: Studies on mitochondria. III. The relationship of structure and function of mitochondria from heart muscle. Exp. Cell Res. **3**, 47—58 (1952). — HENSEL, H.: Mensch und warmblütige Tiere. In PRECHT, CHRISTOPHERSEN u. HENSEL: Temperatur und Leben. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — HORT, W., u. H. HORT: Beiträge zur Histochemie der Blutgefäßendothelien und der Capillargrundhäutchen. Virchows Arch. path. Anat. **331**, 591—615 (1958). — HORVATH, A.: Einfluß verschiedener Temperaturen auf die Winterschläfer. Verh. phys.-med. Ges. Würzb. **15**, 187—219 (1881). — KAYSER, CH.: La léthargie hibernale des mammifères et le mécanisme de sa genèse. Mammalia **14**, 105—125 (1950). — KAYSER, CH., et G. HIEBEL: L'hibernation naturelle et artificielle des hibernants et l'hypothermie généralisée expérimentale du rat et de quelques hibernants. Presse méd. **60**, 1699—1702 (1952). — LEICK u. WINCKLER: Die Herkunft des Fettes bei Fettmetamorphose des Herzfleisches. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. **48**, 163—169 (1902). — LEISERING: Phosphorvergiftung bei Hühnern. Virchows Arch. path. Anat. **30**, 478—479 (1864). — LINDNER, E.: Die submikroskopische Morphologie des Herzmuskels. Z. Zellforsch. **45**, 702—746 (1957). — Der elektronenmikroskopische Nachweis von Eisen im Gewebe. Ergebn. allg. Path. path. Anat. **38**, 46—91 (1958). — LINDNER, E., u.

H.-J. WELLENSIEK: Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Langendroff-Herzen unter normalen und abnormen Bedingungen. IV. Internat. Kongr. für Elektronenmikroskopie, Berlin, 10.—17. 9. 1958 (im Druck). — LYMAN, C. P., and P. O. CHATFIELD: Physiology of hibernation in mammals. *Physiol. Rev.* **35**, 403—425 (1955). — LYMAN, C. P., and E. H. LEDUC: Changes in blood sugar and tissue glycogene in the hamster during arousal from hibernation. *J. cell comp. Physiol.* **41**, 471—488 (1953). — MARTIUS, C.: Thyroxin und oxydative Phosphorylierung. *Conférences et Rapports, 3. Congr. Internat. de Biochimie, Bruxelles, 1.—6. Août 1955*, S. 1—9, Liège 1956. — Die oxydative Phosphorylierung und ihre hormonale Steuerung. *Klin. Wschr.* **1957**, 223—225. — Der Wirkungsmechanismus der K-Vitamine. *Dtsch. med. Wschr.* **1958**, 1701—1704. — MOORE, D. H., and H. RUSKA: The fine structure of capillaries and small arteries. *J. biophys. biochem. Cytol.* **3**, 457—462 (1957). — ODOR, D. L.: Uptake and transfer of particulate matter from the peritoneal cavity of the rat. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, Suppl., 105—108 (1956). — OBERLING, CH. et CH. ROULLER: Les effets de l'intoxication au tétrachlorure de carbone sur le foie de rat. *Ann. anat. path.* **1**, 401—427 (1956). — PALADE, G. E.: A small particulate component of the cytoplasm. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 59—68 (1955). — POCHE, R.: Das submikroskopische Bild der Herzmuskelveränderungen nach Überdosierung von Schilddrüsenhormon. *Beitr. path. Anat.* **118**, 407—420 (1957). — Submikroskopischer Beitrag zur Pathologie des Herzmuskels. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **41**, 351—355 (1958a). — Submikroskopische Beiträge zur Pathologie der Herzmuskelzelle bei Phosphorvergiftung, Hypertrophie, Atrophie und Kaliummangel. *Virchows Arch. path.* **331**, 165—248 (1958b). — Experimentelle Pathologie des Herzmuskels. IV. Internat. Kongr. für Elektronenmikroskopie, Berlin, 10.—17. 9. 1958c (im Druck). — POCHE, R., u. E. LINDNER: Untersuchungen zur Frage der Glanzstreifen des Herzmuskelgewebes beim Warmblüter und beim Kaltblüter. *Z. Zellforsch.* **43**, 104—120 (1955). — PORTER, K. R., and G. E. PALADE: Studies on the endoplasmic reticulum. III. Its form and distribution in striated muscle cells. *J. biophys. biochem. Cytol.* **3**, 269—300 (1957). — ROSENFELD, G.: Über die Herzverfettung des Menschen. *Zbl. inn. Med.* **22**, 145—160 (1901). — SCHIEBLER, TH. H.: Herzstudie. I. Histochemische Untersuchung der Purkinjefasern von Säugern. *Z. Zellforsch.* **39**, 152—167 (1953). — SCHULZ, H.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Lunge des Siebenschläfers nach Hibernation. *Z. Zellforsch.* **46**, 583—597 (1957). — Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Lunge des Siebenschläfers im Winterschlaf und der embryonalen Rattenlunge. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **41**, 342—344 (1958). — SHELDON, H., and H. ZETTERQVIST: Experimentally induced changes in mitochondrial morphology: Vitamin A deficiency. *Exp. Cell Res.* **10**, 225—228 (1955). — An electron microscope study of the corneal epithelium in the vitamin A deficient mouse. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* **98**, 372—405 (1956). — SPECTOR, W. G.: Elektrolyte flux in isolated mitochondria. *Proc. roy. Soc. B* **141**, 268—278 (1953). — SUOMALAINEN, P.: Über den Winterschlaf des Igels mit besonderer Berücksichtigung der Enzymtätigkeit und des Bromstoffwechsels. *Ann. Acad. Sci. fenn. A* **45**, 1—115 (1935). — Über die Physiologie des Winterschlafes. *S.-B. finn. Akad. Wiss.* **1943**, 163—179 (1944). — VERZÁR, F.: Fat metabolism. *Ann. Rev. Biochem.* **7**, 163—188 (1938). — VIETINGHOFF-RIESCH, A., Frhr. v.: Beiträge zur Biologie des Siebenschläfers (*Glis glis* L.). *Bonner zool. Beitr.* **3**, 167—186 (1952). — Neuere Untersuchungen über die Biologie des Siebenschläfers [*Glis glis glis* (LINNÉ 1758)], auf Grund von Freilandmarkierungen im Deister, Niedersachsen, und Beobachtungen im Tierhaus in Hannoversch-Münden. *Säugetierkundl. Mitt.* **3**, 113—121 (1955). — WEISS, J. M.: The role of the Golgi complex in fat absorption as studied with the electron microscope with observations on the cytology of duodenal absorptive cells. *J. exp. Med.* **102**, 775—782 (1955a). — Mitochondrial changes induced by potassium and sodium in the duodenal absorptive cell as studied with the electron microscope. *J. exp. Med.* **102**, 783—788 (1955b). — WOTTON, R. M., and M. E. MOSTI: The direct absorption of previously stained fat in droplet form by the myocardium of the cat. *Anat. Rec.* **122**, 39—47 (1955). — WOTTON, R. M., and R. L. ZWEMER: Studies on direct and visible ingestion of fat by differentiated body cells of cat. *Anat. Rec.* **75**, 493—507 (1939).

Privatdozent Dr. R. POCHE, Düsseldorf,  
Pathologisches Institut der Medizinischen Akademie, Moorenstr. 5