

(Aus der Physiologischen Anstalt in Jena.)

## Zum Glykogennachweis in der Muskulatur.

Von  
A. Noll.

Mit 1 Abbildung im Text.

(Eingegangen am 18. Juli 1934.)

Der Versuch, durch eingreifende chemische Mittel Bestandteile der Muskelfaser sichtbar zu machen, die ohne weiteres nicht in vollem Umfang mikroskopisch darzustellen sind, war mir früher bezüglich der Muskellipoide geglückt<sup>1</sup>. Es gelang, mit eiweißlösenden Mitteln, am besten mit Pepsin-Salzsäure, eine Art Fettphanerose hervorzurufen.

Es lag nun nahe, in ähnlicher Weise die künstliche Darstellung des Glykogens in der Muskulatur zu versuchen, soweit es nicht schon im Leben granulär darin vorhanden ist. Pepsin-Salzsäure allerdings eignet sich hierzu nicht, da sie das Glykogen zu leicht aus der Faser herauslöst, und wenn auch das noch nicht ganz extrahierte Glykogen durch die folgende Alkoholwirkung wieder gefällt wird, so ist dann doch die Lokalisation des Glykogens im Schnittpräparat größtenteils verlorengegangen, und man trifft es dort reichlich *zwischen* den Fasern an.

Auf Grund meiner früheren Erfahrungen hoffte ich mit Kalilauge zum Ziel zu kommen. Das ist in der Tat der Fall. Man erhält Präparate, in denen das Glykogen fast nur innerhalb der Fasern selbst liegt. Da man auf diesem Wege, wie mir scheint, nicht nur unter normalen Verhältnissen, sondern auch in pathologischen Fällen erst zu einem richtigen Urteil über die wirklich vorhandenen Glykogenmengen kommt, teile ich hier das Verfahren mit, das ich hauptsächlich an Pferdemuskeln erprobt habe.

### Verfahren.

Frische, etwa  $\frac{1}{2}$ —1 cm lange und einige Millimeter breite Stückchen des Muskels werden in 5% wäßriger Kalilauge — schwächere Kalilauge ist nicht ratsam — bis zu 4 Stunden lang<sup>2</sup> bei Zimmertemperatur liegen gelassen, 1 Min. in Wasser abgespült und dann in 96% Alkohol gelegt. Der Alkohol wird innerhalb der ersten Stunden mehrmals erneuert und schließlich durch absoluten Alkohol ersetzt. Nach mindestens 24stündiger Alkoholbehandlung erfolgt Einbettung in Celloidin und Färbung der Schnitte mit Hämalan und *Bestschem* Carmin oder Einlegen in Jodgummischleim.

<sup>1</sup> Noll, A.: Arch. f. Physiol. 1913, 35.

<sup>2</sup> Die günstigste Zeitdauer ist für jedes Muskelgewebe eigens festzustellen.

Durch die Kalilauge wird der Inhalt des Sarkolemmeschlauches weitgehend verändert. Fasereiweiß wird gelöst und auch Glykogen kann zum Teil in Lösung gehen, während die Lipoide anscheinend weniger angegriffen werden. Es tritt eine Entmischung ein. Die Folge davon ist natürlich eine Zerstörung der normalen Struktur, die an den Schnitterändern, wo die Wirkung der Kalilauge am stärksten ist, besonders hervortritt. Weiter nach innen zu aber wird man die meisten Fasern gut voneinander abgrenzen und manchmal sogar noch eine Andeutung von Querstreifung sehen können. Die Kerne sind am widerstandsfähigsten. Was nun das Wesentliche ist, ist das Verhalten des Glykogens.

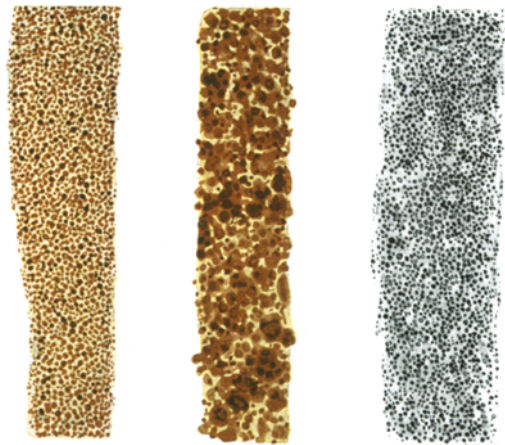


Abb. 1. Muskelfasern vom Pferd nach Behandlung mit 5 % Kalilauge. a, b Glykogen-tropfen mit Jod braun, c Lipoidtropfen mit Osmiumsäure schwarz gefärbt (a und b Schnitterpräparate, c Zupfpräparat). Zeiß Obj. D, Ok. 4.

Dieses erscheint durchweg in Form von Tropfen verschiedener Größe. In solchen Fasern, in denen die Destruktion noch nicht sehr weit vorgeschritten ist, sind es kleine Granula, in stärker veränderten Fasern größere oder kleinere Tropfen. Je mehr Faserinhalt (Eiweiß) gelöst ist, um so unregelmäßiger sind die Tropfen gelagert, die in frühen Stadien der Laugenwirkung noch in regelmäßigen Reihen angeordnet sein können. Da es sich hierbei, morphologisch betrachtet, um Kunstprodukte handelt, sollen die Bilder im einzelnen hier nicht beschrieben werden. Erwähnt sei nur das Aussehen der Kerne. Deren Ränder sind stellenweise gefärbt (mit Jod bzw. Carmin). Es muß also Glykogen oberflächlich an sie gebunden sein, wahrscheinlich in der Weise, daß gelöstes Glykogen durch den Alkohol auf sie niedergeschlagen wurde. Die Abbildung (a und b) zeigt Fasern, in denen der typische Erfolg der Behandlung zu sehen ist (Ausscheidung der Glykogen-tropfen).

Der wesentliche Erfolg des geschilderten Verfahrens besteht also darin, daß das Glykogen im Schnittpräparat in Tropfenform erscheint. Dadurch erhält man von dem wahren Glykogengehalt der Faser einen ganz anderen Eindruck, als wenn man den Muskel nur mit Alkohol behandelt. Im Pferdemuskel wenigstens ist in letzterem Falle fast das ganze Glykogen in der Faser diffus verteilt und tritt, besonders an Jodpräparaten, wenig hervor. Erst durch die Kalilauge kommt eine vollständige Glykogenphanerose zustande.

Die Pferdemuskulatur — ich benutzte den *M. gluteus max.* und den *M. pectoralis* — ist durch einen besonders hohen Glykogengehalt ausgezeichnet. Quantitativ geringer, aber ebenfalls sehr deutlich nachweisbar, fand ich das Glykogen bei Kaninchen, Taube und Schildkröte.

### Zur Beurteilung des Verfahrens.

Es ist zu beweisen, daß die gefärbten Tropfen wirklich Glykogen enthalten. Die Beweise hierfür sind folgende:

1. Die mit Jod und die nach *Best* gefärbten Schnitte zeigen genaue Übereinstimmung der Tropfen nach Größe, Lagerung und Menge.

2. Die mit Jod gewonnene Braunfärbung der Tropfen verschwindet beim Erwärmen des Schnittes.

3. Nach Vorbehandlung des Schnittes mit Speichel bei 37—38° C läßt sich keine Jodreaktion mehr erzielen. Daß es sich dabei um Fermentwirkung handelt, ergab sich aus der Feststellung, daß destilliertes Wasser allein, selbst nach 7stündiger Einwirkung bei gleicher Temperatur, unwirksam war, und daß andererseits Speichel, der einige Stunden lang auf 80° C erhitzt war, innerhalb von 2 Stunden bei 37° C das Glykogen nicht zu lösen vermochte; die Jodreaktion gelang danach vielmehr ebenso gut wie ohne die Speichelbehandlung.

Es ist ferner zu erörtern, ob die Tropfen lediglich aus Glykogen bestehen. Um dies zu klären, muß man mit Osmiumsäure behandelte Muskulatur zum Vergleich heranziehen.

Wenn man ein Stückchen Pferdemuskel nach 4stündigem Liegen in 5%iger Kalilauge in Wasser abspült und dann auf 24 Stunden in 1%ige Osmiumsäurelösung legt, sieht man im Zupfpräparat lauter kleine dichtgelagerte braune Tröpfchen, die bei Zusatz von 70%igem Alkohol noch dunkler werden (Abb. c). Das sind die Lipoide, die hier durch die Kalilauge, in ähnlicher Weise wie durch Pepsin-Salzsäure, infolge eines Entmischungsvorganges sichtbar werden. Nach ihrem Aussehen und ihrer Zahl gleichen diese Lipoidtröpfchen ganz den kleinen Formen der Glykogentröpfchen des Kalilauge-Alkoholpräparates. Man könnte sie für identisch erklären, sofern nicht bei der einen Behandlungsweise der Alkohol Lipoid und bei der anderen die Osmiumsäure Glykogen gelöst hat. Somit ist nicht ausgeschlossen, daß die kleinen Glykogentropfen

Lipoide enthalten. Das ist auch bei den größeren Tropfen wohl der Fall. In den Osmiumpräparaten zwar sah ich so große Tropfen nicht, wenn die Kalilauge 4 Stunden eingewirkt hatte. Man muß aber bedenken, daß die Osmiumsäure die Lipoide fixierte, bevor die Fasern mit Alkohol in Berührung kamen, der Alkohol aber das Aussehen der unfixierten Lipoide beeinflussen kann.

### **Zusammenfassung.**

Durch Behandlung von Skelettmuskulatur mit 5%iger Kalilauge läßt sich das Glykogen nach Fixierung mit Alkohol und Einbettung in Celloidin durch Jod oder *Best*-Färbung in Gestalt von Tropfen verschiedener Größe sehr deutlich sichtbar machen. Man bekommt erst auf diesem Wege einen Eindruck von dem wahren Glykogengehalt der Faser.

---