

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Göttingen  
(Direktor: Prof. Dr. F. FEYRTER).

## Die Glykogendarstellung und Glykogenablagerung in der Leber, untersucht mit dem nativen Gefrierschnittverfahren.

Von

**W. EGER und H. OTTENSMEIER.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 6. Dezember 1951.)

Im Rahmen einer Untersuchung über das Verhalten des Glykogens und des Fettes in der Leber unter Alkoholwirkung tauchte wieder die Frage nach der optimalen histologischen Darstellung des Leberglykogens auf. In früheren vergleichenden Untersuchungen mit der BEST- und BAUERSchen Färbung und gleichzeitigen chemischen Bestimmungen hatte EGER gezeigt, daß beide Färbungen quantitativ dasselbe leisten. Die BAUERSche verdient aber infolge ihrer distinkten und klaren Darstellung des Glykogens und als chemische Reaktion den Vorzug. Bei ihr handelt es sich um einen quantitativ ablaufenden Vorgang, während bei der BESTschen Färbung sich durch das Differenzieren eine Fehlermöglichkeit ergibt, die gerade bei vergleichenden Arbeiten störend sein kann.

Bei der BAUERSchen Reaktion hatten sich aber insbesondere für ihre Anwendung an Leberschnitten einige Mängel herausgestellt. Es fand sich nämlich meist ein intensiv positiver Randstreifen, der ziemlich rasch in das ganz schwach positive oder völlig negative Zentrum des Schnittes überging. Dieses „Randphänomen“ war bei BESTscher Färbung nicht deutlich oder überhaupt nicht zu sehen oder trat eher umgekehrt auf. Die Randzone konnte nun einen schwächeren, das Zentrum eher einen stärkeren Glykogengehalt aufweisen. Die Klärung dieser merkwürdigen Beobachtung sollte weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

In einer späteren Arbeit stellten WALLRAFF und BEDNARA-SCHÖBER ebenfalls solche vergleichenden Untersuchungen an. Auch sie sahen dieses Randphänomen bei der BAUERSchen Färbung, während bei der BESTschen das Glykogen gleichmäßig über den ganzen Schnitt aufschien. Sie erklärten das Entstehen der Randzone damit, daß in der unter der Kapsel gelagerten Zone die Zellen dichter lägen und dadurch das Glykogen zusammengedrängt würde, sich aber wohl auch Abbauvorgänge abspielten. Im ganzen erleide anscheinend das Glykogen eine postmortale, für die BAUERSche Reaktion nachteilige Veränderung und könne dann nicht mehr so vollständig erfaßt werden. Es würde also viel weniger Glykogen aufscheinen als bei der BESTschen Färbung.

ROMEIS prüfte dieses Ergebnis nach. Die oben angeführten Mängel der BAUERSchen Färbung beruhten nach seinen Befunden auf Fehler der Bearbeitung des Materials und der Schnitte. Bei dieser Methode würde das Glykogen in der 4%igen Chromsäure herausgelöst, wenn es nicht durch Celloidin geschützt wäre. Man müsse entweder den Schnitt vor dem Einstellen in Chromsäure celloidinieren oder das einzubettende Material sorgfältig mit Celloidin durchtränken. Bei einer üblichen

Celloidin-Paraffineinbettung würden nur die Randteile des Gewebsstückes mit Celloidin durchtränkt. Dieses Glykogen wäre bei der Behandlung mit Chromsäure geschützt, während das im Inneren gelegene herausgelöst würde und dadurch die Randgebiete einen stark positiven Befund aufwiesen. Bei einer sachgemäßen Aufarbeitung des Materials würde das Randphänomen nicht auftreten. Die BAUERSche Färbung wäre die bessere und der BESTschen unbedingt vorzuziehen. Damit kommt ROMELS zu derselben Schlußfolgerung, wie sie EGER an Hand seiner vergleichenden Untersuchung zog.

Bei unseren jetzigen Arbeiten gingen wir zunächst so vor, daß wir die im Experiment anfallenden Leberstückchen in Alkohol fixierten und über Celloidin-Paraffin einbetteten. Entsprechend unserer früheren Erfahrung wandten wir fast ausschließlich die BAUERSche Färbung an, die BESTsche nur gelegentlich zum Vergleich. Auch jetzt sahen wir wieder die weniger prägnante Färbung nach BEST, allerdings bei der BAUERSchen Methode auch das Randphänomen im Gewebsschnitt.

In unseren früheren Untersuchungen hatten wir uns dahingehend ausgesprochen, daß die Randzone ein Kunstprodukt sei. Durch das Fixierungsmittel würde das Glykogen in den Randbezirken rasch ausgefällt, während es im Innern einem weiteren Abbau anheimfiele und nach BAUER sich nicht mehr intensiv färbte, jedoch nach BEST kräftig angefärbt würde. Wir suchten deshalb nun eine Methode, um das Fixierungsmittel augenblicklich und gleichmäßig auf die ganze Schnittfläche wirken zu lassen. Für das besondere Ziel unserer Untersuchungen erwies sich das von FEYRTER empfohlene *native Gefrierschnittverfahren* als *der Idealfall* und für unsere weiteren Arbeiten als *die Methode der Wahl*. Die damit gewonnenen Ergebnisse erlaubten es, zu den oben angeschnittenen Fragen Stellung zu nehmen, sie klar zu beantworten und bisherige Befunde zu überprüfen.

#### *Material und Methodik.*

Für unsere Versuche benutzen wir Ratten von etwa 150—200 g und Meerschweinchen von 250 g und mehr. Die Tiere wurden jeweils für die histologische und chemische Glykogenuntersuchung der Leber durch Nackenschlag getötet, sofort ein Stück Leber entnommen und auf dem Gefriermikrotom durchgefroren. Herstellung des Schnittes in der üblichen Weise, Auffangen auf einem Objekträger und sofortige Fixierung in 96% Alkohol. Für die Färbung wurde der Schnitt celloidiniert und anschließend nach BAUER gefärbt. Für die quantitative Bestimmung wurde zur gleichen Zeit ein zweites Stückchen in ein mit 60%iger Kalilauge beschicktes und vorgewogenes Zentrifugenröhren gebracht, gewogen und sofort auf dem Wasserbad bis zur Auflösung gekocht. Weitere Verarbeitung nach der üblichen Methode von PFLÜGER. Bestimmung des Glykogens als Zucker nach HAGEDORN-JENSEN in aliquoten Teilen.

#### *Zum sog. Randphänomen und zum postmortalen Abbau des Glykogens.*

Wir wollen uns zuerst mit der Frage des Randphänomens befassen. Was unter dieser Erscheinung zu verstehen ist, wurde einleitend ausgeführt. An unserem eingebetteten Material sahen wir wieder mit der

BAUERSchen Reaktion die ausgesprochene Randzone, wie sie Abb. 1 b zeigt. Am nativen Gefrierschnitt desselben Materials trat diese Erscheinung nicht auf. Der Gewebsschnitt war in allen Teilen gleichmäßig gefärbt (Abb. 1 a). Auch nach BEST fand sich eine gleichmäßige Glykogenverteilung über dem ganzen Schnitt, während sich an eingebetteten Lebern unsere frühere Beobachtung bestätigte, nämlich die ziemlich kräftige Anfärbung des nach BAUER schwach reagierenden Zentrums und die im Vergleich zu BAUER eher schwächere Anfärbbarkeit der Randzone.

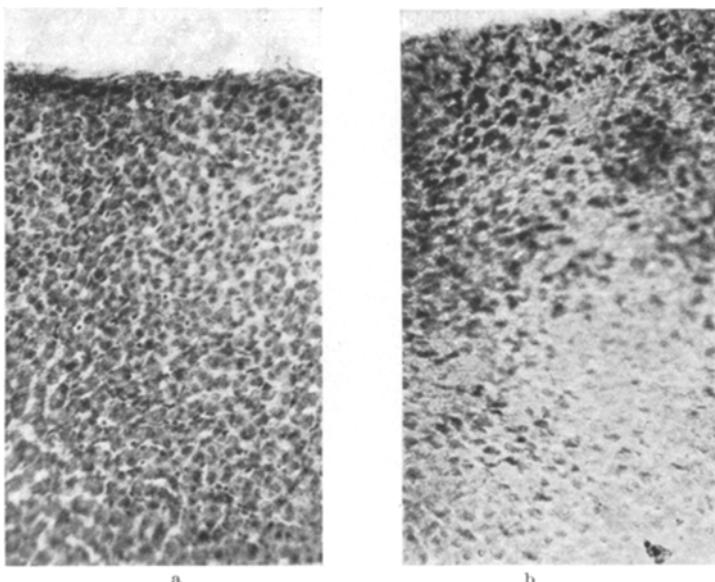


Abb. 1 a u. b. a Rattenleber. Gleichmäßige Glykogenverteilung am nativen Gefrierschnitt bei BAUERScher Reaktion. b Die Randzone am eingebetteten Material derselben Leber bei der gleichen Färbung. Sog. Randphänomen.

Wir erklärten nun die schwächere Reaktion des Zentrums des Schnittes am eingebetteten Material mit Abbauvorgängen, ROMEIS aber damit, daß dort das Glykogen herau gelöst würde, da es durch Celloidin nicht geschützt wäre. Wir prüften erst einmal die Frage der Celloidinwirkung nach. Es wurde von dem eingebetteten Material und von Gefrierschnitten ein Teil der Schnitte celloidiniert, die darauffolgenden ohne diese Maßnahme nach BAUER gefärbt.

Es zeigt sich auch an den celloidinierten Schnitten des eingebetteten Materials die ausgeprägte Randzone und das schwach färbare Innere der Schnitte bei der BAUERSchen Reaktion (s. Abb. 1). Beim Vergleich der Schnitte muß zugegeben werden, daß bei der BAUERSchen Färbung ohne Celloidinschutz Glykogen bis zu einem gewissen Grade herausgelöst wird. Die Abnahme ist aber nicht so stark, daß sie am nativen Gefrier-

schnitt beim Vergleich sofort zu entscheiden ist und ohne weiteres ins Auge springt und daß man so das Randphänomen erklären könnte. Offensichtlich löst sich in gleicher Weise aus der schwach positiven Mitte wie aus dem intensiven, angeblich celluloidindurchtränkten und geschützten Randgebiet Glykogen heraus, so daß das Zentrum noch blasser, der Rand abgeschwächt erscheint.

Um zu unserer Meinung über das sog. Randphänomen Stellung nehmen zu können, prüften wir die Frage des postmortalen Abbaues von Glykogen nach. Darüber liegen einige zum Teil eingehende Untersuchungen vor, die die Frage nicht ganz einheitlich beantworten (HANSER, BOBBIT und DEUL, BURGHARDT und PAFFRATH, ZIEMKE). Es wird wohl dabei mehr auf die Bedingungen ankommen, unter denen man den postmortalen Abbau beobachtet. Solche Untersuchungen wurden meist in der Form durchgeführt, daß man den Abbau im Lebergewebe bei 37° studierte. Unter solchen Bedingungen arbeitet der Morphologe im allgemeinen nicht. Denn sein Material wird gewöhnlich bei Zimmertemperatur gelagert oder fixiert.

Wir gingen deshalb so vor, daß wir Leberlappen von Ratten in einer feuchten Kammer bei Zimmertemperatur liegen ließen und davon die Glykogenbestimmung machten. In Vorversuchen wollten wir in ziemlich kurzen Abständen von 10, 20 und 30 min aus der Annahme eines raschen Glykogenabbaues untersuchen. Das Ergebnis belehrte uns, daß wir unter diesen Bedingungen in so kurzen Zeitabständen keinen wesentlichen Glykogenschwund zu erwarten hatten.

In einem weiteren Versuch zeigte sich dann bei einem

	Am Beginn	Nach 1 Std	
Normaltier	2,67 %	2,58 %	Glykogen der Leber
Hungertier (1 Tag)	1,25 %	1,08 %	Glykogen der Leber

Wir haben also bei einem Normaltier nach 1 Std einen Glykogenschwund von etwa 3,4%, bei einem Hungertier einen solchen von 13,6%. Man muß wohl annehmen, daß eine wesentliche Rolle für den postmortalen Glykogenabbau der funktionelle Zustand spielt, in dem sich gerade die Leber im Augenblick des Todes des Organismus befindet. Ein kleiner Hinweis sind die obigen Ergebnisse.

Um das noch auf andere Weise beobachten zu können, spritzten wir einem Tier 2 Std vor dem Versuch 0,5 cm<sup>3</sup> Suprarenin und einem anderen 30 EH Insulin bis etwa zum Schock. Hier ergibt sich folgender postmortaler Abbau:

	Am Beginn	Nach 1/2 Std	Nach 1 Std	
Adrenalin-tier	0,27 %	0,21 %	0,15 %	Glykogen der Leber
Insulintier	0,44 %	0,25 %	0,09 %	Glykogen der Leber

Das bedeutet für das Adrenalin-tier einen postmortalen Glykogenschwund der Leber von 44,5% in der Stunde, für das Insulintier von 79,5%, also einen weit höheren Verlust als bei dem Normal- oder Hungertier.

Für unsere spezielle Frage interessierte nicht so sehr die Schnelligkeit des postmortalen Abbaues an sich, sondern die Verhältnisse bei Alkoholfixierung. Wir gingen in einem weiteren orientierenden Versuch folgendermaßen vor. Es hatte sich bei unseren Untersuchungen gezeigt, daß zwischen dem Glykogengehalt der einzelnen Leberlappen von Ratten gewisse, wenn auch geringe Unterschiede bestehen, die bei kleineren Ausschlägen der Werte doch eine Rolle spielen können.

Deshalb nahmen wir für eine Untersuchung nur einen Lappen (den großen linken), der in Stücke von etwa 500—600 mg aufgeteilt wurde. Vom ersten Stück bestimmten wir sofort das Glykogen, von den darauffolgenden Stücken legten wir jeweils das eine in 96% Alkohol und das nächste in eine feuchte Kammer und führten nach 1 bzw. nach 2 Std die Glykogenbestimmung aus. Die Ergebnisse lauten:

	Am Beginn	Nach 1 Std	Nach 2 Std
Normaltier G <sub>1</sub>	7,0%	feuchte Kammer 6,3%	5,3% Glykogen der Leber
		Alkohol 6,9%	6,6% Glykogen der Leber
Normaltier G <sub>2</sub>	8,8%	feuchte Kammer 8,4%	7,3% Glykogen der Leber
		Alkohol 8,5%	7,0% Glykogen der Leber

Diesmal finden wir am Normaltier nach 1 Std in der feuchten Kammer bei Zimmertemperatur einen Schwund von 4,5 bzw. 10%; nach 2 Std von 17 bzw. 24,3%. Der Abbau ist also in der 2. Std schon beträchtlich stärker. Der Befund steht in Übereinstimmung mit der Angabe von ZIEMKE, der besonders bei glykogenreichen Lebern in der 1. Std eher eine Hemmung des postmortalen Abbaues sah.

Wichtiger aber erscheint, daß auch im alkoholfixierten Material ein solcher Schwund einsetzt, der zwar geringer ist (1,4 bzw. 2,3% in der 1. Std, 5,7 bzw. 17,1% in der 2. Std) als ohne Alkoholeinwirkung, der aber doch recht beträchtlich sein kann, wie gerade das 2. Beispiel zeigt.

Wir wollen aus den wenigen Versuchen nicht detaillierte Schlüsse ziehen, können aber doch wohl folgendes feststellen:

1. Der postmortale Glykogenschwund ist unter den Bedingungen, bei denen der Morphologe im allgemeinen arbeitet, zumindest in der 1. Std post mortem nicht so erheblich, wie man erwarten würde.

2. Der Abbau ist weitgehend davon abhängig, in welchem Funktionszustand sich das Lebergewebe im Augenblick des Todes des Organismus befindet.

3. Der postmortale Schwund geht auch in Leberstückchen vor sich, die zur Fixierung in Alkohol gegeben werden.

Ich möchte darüber hinaus annehmen, daß der Alkohol, sobald er die äußere Schicht des Leberstückchens fixiert hat, um so schwerer durch diese Schicht diffundieren und in das Innere eindringen kann. Es bleibt also der zentralen Zone um so mehr Zeit, Glykogen abzubauen. Auch hier scheint nach unseren Zahlen mit der Länge der Zeit die Schnelligkeit der Glykogenolyse zuzunehmen. Wir glauben damit gezeigt zu haben, daß das Randphänomen durch die Alkoholfixierung und durch zentralen postmortalen Abbau des Glykogens herbeigeführt wird, eine Herauslösung aber bei der BAUERSchen Färbung dafür nicht in erster Linie verantwortlich gemacht werden kann, wie es ROMEIS annimmt.

Es bleibt die Frage, warum das nach BAUER schwach färbbare Innere des Schnittes sich nach BEST kräftiger anfärbt. In unseren früheren Untersuchungen und auch jetzt haben wir wiederholt betont, daß dieses Zentrum bei BAUERScher Färbung meist nicht vollständig leer ist, sondern

immerhin noch eine schwach positive Reaktion gibt. *Dieses schwach sichtbare Glykogen läßt sich*, wie man immer wieder sieht, *mit BESTschem Carmin deutlich anfärben*. Die BESTsche Methode ist im eigentlichen Sinne eine subjektive, da man zumindest die Intensität der Anfärbung durch das Differenzieren lenken kann, während sie bei BAUER durch die chemische Reaktion bestimmt wird. Das mag ein Grund zur Erklärung des unterschiedlichen Verhaltens sein.

Andererseits sprachen wir früher die Vermutung aus, daß das im Abbau begriffene niedriger polymerisierte Glykogen nicht mehr vollständig von der BAUERSchen Reaktion erfaßt wird und deshalb weniger deutlich aufscheint. Die Unterschiede sind nicht ganz klar zu überblicken. Auf jeden Fall gibt auch die BESTsche Färbung dort, wo die BAUERSche völlig negativ ist, keinen Glykogenbefund mehr.

Diesen Zweifeln und Fragen ist man enthoben, wenn man den nativen Gefrierschnitt anwendet. Er zeigt weder das Randphänomen, noch die Glykogenflucht, noch die Pressung der oberflächlichen Parenchymformationen des Lebergewebes, sondern ein gleichmäßiges Schnittbild, das noch am ehesten den tatsächlichen Verhältnissen entspricht.

In dem Zusammenhang muß noch ein Befund erwähnt werden, der wohl auch als Kunstprodukt anzusehen ist. MEIXNER und ARNDT u. a. erwähnen eine stärkere Glykogenanhäufung unter der Leberkapsel und führen sie auf die dort herrschenden besonderen Kreislaufverhältnisse zurück. An unseren nativen Gefrierschnitten ist dieser Befund nicht zu erheben, wahrscheinlich also ein Kunstprodukt, hervorgerufen durch die Einwirkung der fixierenden Flüssigkeit.

#### *Zur Form der Glykogenablagerung in der Zelle.*

Nach PFUHL sehen wir das Glykogen in der Leberzelle in Form von groben unregelmäßig geformten Schollen oder größereren oder kleinen Körnchen, manchmal auch staubfein in den Hohlräumen des Plasmas verteilt. Diese Beschreibung ist allgemein zu finden (HANSER). Die Abhängigkeit dieser Form von der Vorbehandlung der Gewebsstücke wird betont. Bekannt ist die einseitige Verlagerung des Glykogens in den Zellen der oberflächlichen Schichten nach der der Oberfläche abgewandten Seite am eingebetteten Material. Diese Erscheinung ist Folge des eindringenden Fixierungsmittels (Alkohol), wird als Glykogenflucht bezeichnet (WALLRAFF) und als ausgesprochenes Kunstprodukt angesehen. Bei Fixierung mit mehr wässrigen Flüssigkeiten (ZENKER) sieht man das Glykogen fein verteilt, indem es das Maschenwerk des Plasmas durchtränkt (PFUHL). Es ist unter diesen Umständen schwer zu entscheiden, welche Bilder am ehesten den tatsächlichen Verhältnissen entsprechen und welche als Kunstprodukte anzusehen sind.

Am nativen Gefrierschnitt der Leber durchsetzt das Glykogen bei geringem und mäßigem Gehalt spinnwebenartig, zart und netzförmig das Plasma und ist selten in granulärer oder körniger Form abgelagert. Wir bezeichnen diesen Zustand als „Glykogenschleier“. Dieser Schleier kann mitunter bei der ersten Betrachtung infolge seiner Zartheit über den beträchtlichen Glykogengehalt hinwiegäuschen. Der Vergleich mit der chemischen Bestimmung klärt darüber auf, welcher Glykogengehalt sich

dahinter verbirgt. Allmählich erst lernt man diesen Schleier beachten und einschätzen. Er entspricht wohl am ehesten dem, was PFUHL bei Fixierung mit ZENKER gesehen hat, und kommt den tatsächlichen Verhältnissen am nächsten, die wohl in einer gleichmäßigen Durchtränkung des Plasmas und seiner Eiweißstrukturen mit Glykogen bestehen. Wir wollen aber damit nicht behaupten, daß unsere histologischen Bilder mit den Verhältnissen an der lebenden Zelle vollkommen übereinstimmen. Gelegentlich begegneten wir auch einer feineren oder größeren scholligen Ablagerung, ohne daß wir bisher die Bedingungen aufdecken konnten, unter denen diese Formen auftreten.

Unsere Befunde decken sich mit den Ergebnissen von ITOH und NAGAHIRO und MANCINI. Erstere untersuchten mit verschiedenen Fixierungsmethoden die Glykogenablagerungen in der Leberzelle und fanden eine diffuse Durchtränkung des Zellplasmas, was nach ihrer Meinung dem tatsächlichen Zustand entspricht, während die schollige Ablagerung eine durch den fällenden Alkohol herbeigeführter Artefakt sei. MANCINI wandte die freezing-drying Methode an und sah ebenfalls das Glykogen gleichmäßig diffus im Plasma verteilt. Er glaubt, daß es in kolloidaler Lösung das Plasma durchsetze.

*Bei stärkerer Ablagerung* nun finden wir das Glykogen zwar dicht, aber doch *in sich aufgelockert*, spongios zusammenhängend, wie eine Wolke den Kern umgebend. Wir bezeichnen diesen Zustand als „*Glykogenwolke*“. Auch hierbei sehen wir in der Regel keine Auflösung in dichte einzelne Schollen, keine Glykogenflucht und keine Randzone (Abb. 2).

Unter besonderen Bedingungen fielen aber noch andere Ablagerungsformen des Glykogens in der Leberzelle auf. Die dichte Glykogenwolke rückt dann vom Kern ab, der freiliegend erscheint. Das Glykogen liegt mehr am Rand der Zelle, an der Capillarseite, also perivasculär. Es kommen girlandenartige Bilder zustande, wie sie Abb. 3 zeigt. In unseren Fütterungsversuchen, über die wir an anderer Stelle ausführlich berichten werden, schwindet unter Äthylalkoholwirkung bei der Ratte das Leberglykogen, ein Befund, der im Gegensatz zu alten Angaben von PETERSON, AUBERTIN und HERBERT steht, daß Alkohol die Glykogenbildung fördern soll. An alloxanvergifteten Ratten setzt ebenfalls ein schon nach der 1. Std deutlich merkbarer Schwund des Glykogens ein. Es treten dann dieselben histologischen Bilder auf. *Demnach möchten wir in der Auflösung der Glykogenwolke und der perivasculären und girlandenartigen Lagerung des Glykogens Abbaubilder sehen.* Das Glykogen wird anscheinend an die Peripherie der Zelle, unmittelbar an die Capillarwand gebracht, um rasch von dem Blutstrom nach entsprechender Umformung abtransportiert zu werden. Oder Äthylalkohol und Alloxan hemmen die Glykogenie, die nach unserer Ansicht im Kern vor sich geht oder zumindest von ihm direkt beeinflußt wird. Es fehlt der Nachschub, das vorhandene Glykogen setzt sich allmählich vom Kern ab, um an der Capillarseite abgebaut und ins Blut abgegeben zu werden.

Die Frage, wieweit das Glykogen an besondere Trägersubstanzen im Plasma gebunden ist, wurde besonders von ARNOLD diskutiert. Er nahm dafür die Plastosomen (Mitochondrien) in Anspruch und erklärte damit die körnige Ablagerung. Nach unseren Befunden wird die Erklärung in

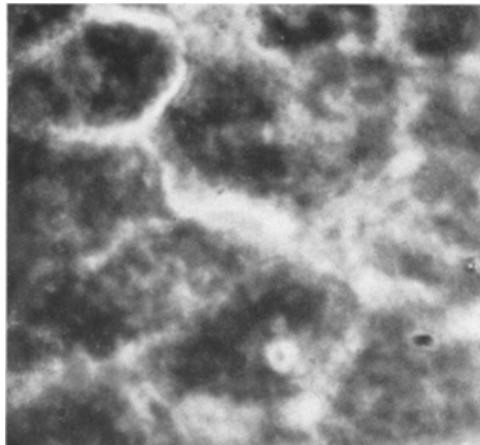


Abb. 2. Dichte Ablagerung des Glykogens in der Zelle als „Glykogenwolke“.

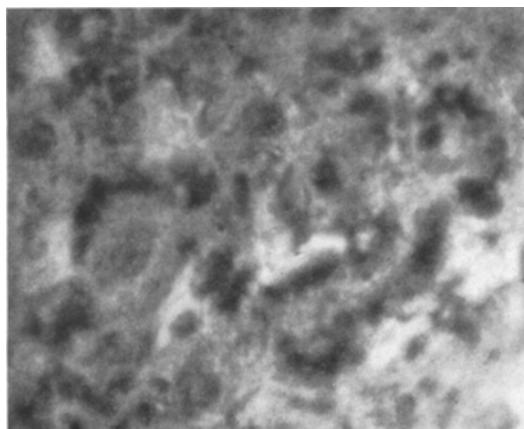


Abb. 3. Girlandenartige perivasculäre Ablagerung von Glykogen in der Leberzelle bei forciertem Abbau.

dieser Form hinfällig, da wir eine körnige oder feinschollige Ablagerung in der Regel nicht feststellen können. Nach unseren Bildern dürfte das Plasma ziemlich gleichmäßig, mehr oder minder dicht von Glykogen durchtränkt sein. Die *Mitochondrien* sind eher *von der Beladung mit Glykogen ausgenommen*, so daß eine feinfädig-netzartige Struktur zustande kommt und häufig zu sehen ist. Für die Annahme einer besonderen Trägersubstanz geben unsere Bilder keinen Anhaltspunkt.

*Zur Glykogenablagerung in den einzelnen Leberlappen  
und zum Schwellenwert.*

Im Zusammenhang unserer Untersuchungen interessierte uns die Frage, wie weit Unterschiede im Glykogengehalt der einzelnen Leberlappen bestehen. nach älteren Angaben (PFUHL) ist das Glykogen in den Leberlappen ziemlich gleichmäßig verteilt. In neuerer Zeit weist SCHEIFF auf größere Unterschiede hin. Er findet bei Hunden zwischen einzelnen Lappen Differenzen von 17,9%, bei Kaninchen sogar von 37,8% und erklärt dies mit einer unterschiedlichen Blutversorgung der Lappen. In den letzten Jahren berichten GOMORI und GOLDNER, daß zwischen den einzelnen Leberlappen bei Ratten Unterschiede von mehreren 100% auftreten. Diese etwas überraschende Angabe prüften wir an einigen Kontrollversuchen nach.

Ratten, 1 Normaltier und 2 Tiere, die 24 Std gehungert hatten, wurden zur selben Zeit durch Nackenschlag getötet und nun vom rechten, dem mittleren und dem großen linken Lappen das Glykogen bestimmt. Es ergaben sich folgende Werte:

	Rechter Lappen	Linker Lappen	Mittellappen	
Normaltier	1,1%	1,49%	1,44%	Glykogen
1. Hungertier	0,18%	0,18%	0,15%	Glykogen
2. Hungertier	0,31%	0,25%	0,27%	Glykogen

Die Werte zeigen, daß kleine Unterschiede im Glykogengehalt zwischen den einzelnen Lappen bestehen, die aber um so geringer werden, je mehr man die Rattenleber durch Hungern entleert hat. Wir glauben also, daß man durch vorsichtige Entspeicherung der Rattenleber bis zum Schwellenwert von 0,15% man sich eine gute und brauchbare Ausgangsbasis schafft, um vergleichende Untersuchungen über Glykogenbildung und Ablagerung durchzuführen.

Als Schwellenwert in der Leber finden wir diesmal etwa 0,15% Feuchtgewicht. *Er stellt die unterste Grenze des Glykogengehaltes dar, um histologisch mit der nativen Gefrierschnittmethode noch Glykogen in der Leber nachweisen zu können.* Dieser Schwellenwert stimmt mit dem von EGER und KLÄRNER an menschlichen Lebern gefundenen von 0,1—0,2% überein und *scheint damit allgemein für jede Leber Geltung zu haben.*

Auf das Bestehen eines quantitativen Schwellenwertes für die histologische Darstellbarkeit des Glykogens hatten zuerst WALLRAFF und TONUTTI und EGER hingewiesen. Dieser Wert spielt übrigens, wie wir an anderer Stelle zeigen werden, auch beim Fettgehalt der Leber und für das Aufscheinen und die Anfärbbarkeit des Fettes unter normalen wie pathologischen Bedingungen eine Rolle.

In den vorliegenden Versuchen wurde zur Ermittlung des Schwellenwertes in einer großen Anzahl von Schnitten erneut das histologische Bild mit den chemischen Bestimmungen verglichen und das Ergebnis in der folgenden Tabelle zusammengestellt (s. Tabelle 1). Die Tabelle gibt den Glykogengehalt in Prozenten an. Es wurde, da mikroskopisch nur eine annähernde Mengenbestimmung möglich ist, für die Auswertung der Schnitte die Bezeichnung negativ, Spuren, positiv und stark positiv verwendet. Es ergab sich, daß das histologisch erste Aufscheinen von Glykogen erheblich um einen Durchschnittswert herum streut. Und zwar wird diese Streuung geringer, je weiter sich die Werte nach oben

oder unten vom Schwellenwert entfernen. Dieser wurde folgendermaßen errechnet. Aus den herangezogenen Schnitten wurde zunächst derjenige unter den *histologisch positiven* herausgesucht, *der dem chemisch niedrigsten Wert mit 0,12% entsprach*, und dann umgekehrt der *histologisch negative Schnitt, der den chemisch höchsten Wert von 0,28% aufwies*. Alle zwischen diesen Werten liegenden positiven wie negativen Schnitte wurden nun herausgesucht und jeweils der Durchschnitt errechnet. Es ergab sich für die histologisch negativen Schnitte ein Durchschnitt von 0,15% und für die histologisch positiven ein Durchschnitt von 0,18%.

Tabelle 1.

Glykogengehalt der Leber	Zahl der Fälle nach mikroskopisch geschätzten Werten				
	%	negativ	Spuren	positiv	stark positiv
0 bis 0,10	22	1	—	—	—
bis 0,15	21	7	—	—	—
bis 0,20	5	4	1	—	—
bis 0,30	4	4	1	3	—
über 0,30	—	3	1	10	—

EGER fand früher einen Schwellenwert für Rattenlebern von 0,3%. Wir führen diesen Unterschied und unsere bessere Ausbeute mit der histologischen Methode auf den von uns angewendeten Nachweis zurück, der eine sofortige Fixierung des Glykogens in der Leber erlaubt und jeglichen Abbau augenblicklich unterbindet.

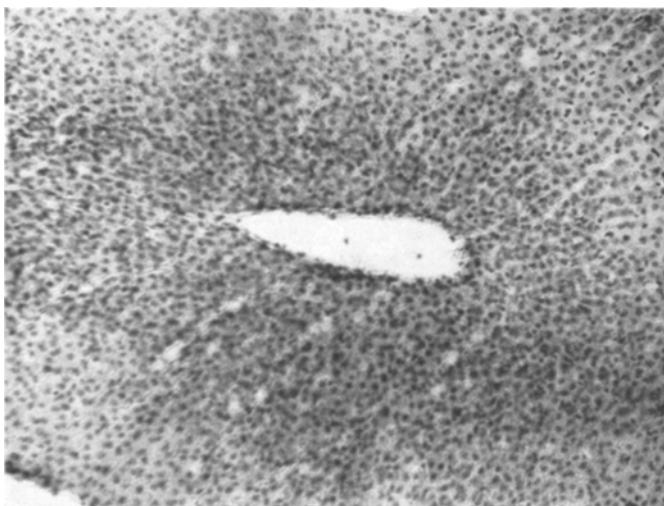
#### *Zur Glykogenablagerung innerhalb des Leberläppchens.*

Das Glykogen wird innerhalb des Leberläppchens zentral, diffus oder peripher abgelagert. Die diffuse Ablagerung kann man als einen erweiterten Zustand der zentralen und als den Normalfall ansehen, die periphere als Ausdruck einer funktionellen Schädigung (EGER).

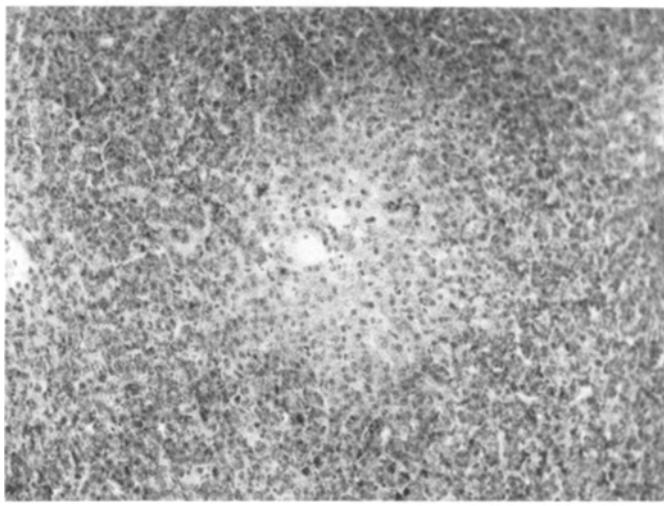
Wir stellten auf Grund unserer früheren Untersuchungen zu diesen Ablagerungsformen die These vom peripheren und zentralen Funktionsfeld des Leberläppchens auf. Das zentrale Feld ist der ständig stoffwechselaktive Ort, in dem für unseren besonderen Fall Glykogen aufgebaut, abgelagert und umgesetzt wird, während die Peripherie mehr eine Ersatz- und Ausweichfunktion ausübt. Sie tritt in Tätigkeit, wenn die Anforderung an das Zentrum zu hoch oder dieses geschädigt ist. Die Glykogenablagerung und -bildung in der Leber ist unseres Erachtens der feinste für uns morphologisch faßbare Indicator und Ausdruck der funktionellen Tätigkeit.

Auch für die Beurteilung dieser Verhältnisse ist die Untersuchung am nativen Gefrierschnitt ein wertvolles Hilfsmittel. Bei schwacher Ablagerung ohne schädigende Einwirkung findet man das Glykogen im zentralen Funktionsfeld. Geht der zentrale Schleier in einen diffusen über und wird der Glykogengehalt sehr massiv, dann wird das Glykogen als Wolke vorwiegend in den peripheren Zellen gespeichert (Speicherfunktion der Peripherie). An dieser Stelle sieht man dann bei forcierter Anregung des Abbaus die oben beschriebenen Abbaubilder (z. B. bei Alkoholfütterung und Alloxanvergiftung). Das Glykogen wird zuerst aus dem peripheren Speicher abgegeben.

Entleert man durch Hunger eine Meerschweinchenleber vollständig und füttert wieder Traubenzucker nach, so findet man im Vergleich zum



a



b

Abb. 4a u. b. a Zentrale Ablagerung des Glykogens in der Meerschweinchenleber nach Hunger und Wiederauffütterung mit Traubenzucker. b Periphere Ablagerung des Glykogens beim Meerschweinchen nach Hunger und Wiederauffütterung mit Traubenzucker und Methylalkohol.

vorher entnommenen Leberstückchen eine zentrale Ablagerung (Abb. 4a). Gibt man unter denselben Vorbedingungen Traubenzucker und Methylalkohol und schädigt damit — wie wir es hier nicht näher ausführen

wollen — funktionell das Zentrum, so kommt es nun vorwiegend zur peripheren Ablagerung (Abb. 4b). Wir sehen also auch experimentell das Prinzip des zentralen peripheren Funktionsfeldes gewahrt, nach dem man die Ablagerungsform des Leberläppchens erklären kann. Wir wollen diese Frage hier nur kurz streifen und gehen im Zusammenhang mit der Verfettung des Leberläppchens an anderer Stelle näher darauf ein.

#### *Zusammenfassung.*

1. Für eine einwandfreie Glykogendarstellung im Lebergewebe ist der native Gefrierschnitt am lebendfrischen Material und die BAUERSCHE Färbung die Methode der Wahl.
2. Mit dieser Methode findet sich in der Regel bei schwächerer Ablagerung des Glykogens eine gleichmäßige Durchtränkung des Protoplasmas der Zelle. Diese Form bezeichnen wir als „Glykogenschleier“. Bei stärkerer Ablagerung ist das Glykogen um den Kern geballt und hüllt ihn ein. Wir sprechen dann von „Glykogenwolke“.
3. Die Ablagerung des Glykogens innerhalb des Leberläppchens geht nach dem Prinzip des peripheren und zentralen Funktionsfeldes vor sich.

#### *Literatur.*

ARNDT, H. J.: Virchows Arch. **253**, 254 (1924). — AUBERTIN et HERBERT: C. r. Soc. Biol. Paris **1907**. — BOBBIT, G. B., and H. J. DEUL: Amer J. Physiol. **131**, 521 (1940). — BURGHARD u. PAFFRATH: Z. Kinderheilk. **45**, 68 (1928). — EDELmann, H.: Klin. Wschr. **1927**, 6. — EGER, W.: Virchows Arch. **309**, 607 (1942). — EGER, W., u. CH. KLÄRNER: Virchows Arch. **315**, 135 (1948). — FEYRTER, F.: Über die Pathologie der vegetativen nervösen Peripherie und ihrer ganglionären Regulationsstätten. Wien: Wilhelm Maudrich 1951. — GOMORI, G., and M. G. GOLDNER: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **66**, 163 (1947). — HANSER, R.: HENKE-LUBARSCH' Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie, Bd. V/1, S. 172. Berlin: Springer 1930. Dort weitere Literatur. — ITOH, T., u. T. NAGAHIRO: Fol. anat. jap. **21**, 37 (1942). — MANCINI, R. E.: Anat. Rec. **101**, 2 (1948). — PFUHL, W.: v. MÖLLENDORFS Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. V/2, S. 291. Berlin: Springer 1932. Dort weitere Literatur. — ROMEIS, B.: Z. mikrosk.-anat. Forschg **55**, 165 (1950). — SCHEIFF, W.: Pflügers Arch. **226**, 481 (1931). — TONUTTI, E., u. J. WALLRAFF: Z. mikrosk.-anat. Forschg **44** (1938). — WALLRAFF, J., u. M. BEDNARA-SCHÖBER: Z. mikrosk.-anat. Forschg **53**, 102 (1943). — ZIEMKE, H.: Z. exper. Med. **106**, 704 (1939).

Dozent Dr. W. EGER, Göttingen, Pathol. Institut der Universität.