

Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen
(Direktor: Prof. Dr. H. BENNHOLD)

Polarisationsoptischer Nachweis von gerichtet in das Sarkoplasma des Herzens eingelagerten Lipoiden*

Von

HANS-PETER MISSMAHL

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 4. Oktober 1955)

Bei unseren polarisationsoptischen Beobachtungen an Herzen fiel ein unterschiedliches Verhalten des Sarkoplasma auf. Der kleinere Teil der untersuchten Organe zeigte im Sarkoplasma positive Doppelbrechung in bezug auf die Länge der Muskelfaser, die übrigen dagegen negative. Wir führten zur Klärung dieses seltsamen Verhaltens weitere Untersuchungen durch.

Da polarisationsoptische Untersuchungen nicht allgemein üblich sind, möchten wir zunächst eine Beschreibung der angewandten Methode und der Befunde geben.

Unser Material bestand aus 50 Herzen von Sektionsfällen des hiesigen Pathologischen Institutes¹. Wir fertigten von allen Organen nach Formalinfixierung 15 μ dicke Gefrierschnitte an und deckten diese mit entsprechenden Mitteln ungefärbt ein. Zur polarisationsmikroskopischen Untersuchung steht uns ein Leitz-Mikroskop „Biopol“ zur Verfügung, welches mit einem elliptischen Kompensator nach BRACE-KÖHLER von $\lambda/16$ ausgerüstet ist und eine völlig spannungsfreie Optik besitzt. Der Hinweis scheint uns hier notwendig, daß Beobachtungen, bei denen sehr schwache Doppelbrechung nachgewiesen werden soll, lediglich mit Hilfe des elliptischen Kompensators gemacht werden können, was vor kurzem auch W. J. SCHMIDT betonte.

Betrachten wir so die verschiedenen Herzen, dann ergeben sich folgende Befunde: Ist das Sarkoplasma in bezug auf die Länge des Herzmuskels positiv doppelbrechend, so wird es, sofern die Muskelfaser unter $+ 45^\circ$ steht, bereits bei einer sehr geringen Drehung des Kompensators in subtraktivem Drehsinn dunkler, als die von anisotropen Strukturen freien Stellen des Gesichtsfeldes. Kompensieren wir weiter, dann werden die verschieden stark doppelbrechenden Teile der Herzmuskelfasern, entsprechend ihrem höheren Gangunterschied, ebenfalls dunkel.

* Herrn Prof. Dr. E. LETTERER zum 60. Geburtstag.

¹ Die Organe wurden uns von Herrn Prof. LETTERER überlassen, wofür wir an dieser Stelle danken.

Das Sarkoplasma ist jetzt überkompensiert und erscheint daher wieder hell. Die Gangunterschiede des Sarkoplasmas betragen in unseren Präparaten 2—4 m μ . Bei Drehung des Kompensators im additiven Drehsinne kommt es in diesem Falle zu keiner Schwärzung des Sarkoplasmas oder der Muskelfasern.

Anders verhält sich dagegen das negativ zur Länge der Herzmuskelfasern doppelbrechende Sarkoplasma. Steht die Muskelfaser wiederum unter $+45^\circ$, so wird das Sarkoplasma, in den mit Caedax oder einem Mittel von entsprechendem Brechungsindex eingebetteten Präparaten, bei subtraktivem Drehsinn des Kompensators sofort heller als seine Umgebung, während die Herzmuskelfasern wiederum dunkel werden. Kompensieren wir im additiven Drehsinn, dann wird das Sarkoplasma

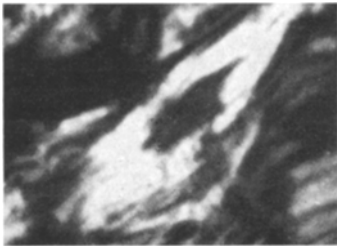


Abb. 1. Leitz-Objektiv P 4b

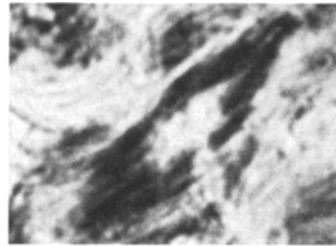


Abb. 2. Leitz-Objektiv P 4b

sofort gleichmäßig dunkel und die Muskelfasern hellen sich auf. Die beiden folgenden Aufnahmen zeigen dieselbe Stelle desselben Präparates bei einem Herzen mit negativ doppelbrechendem Sarkoplasma. In beiden Abbildungen steht die Muskelfaser unter $+45^\circ$. Der Kompensator war bei Abb. 1 so eingestellt, daß die negative Anisotropie des Sarkoplasma voll ausgeglichen wurde, dieses erscheint daher dunkel. In Abb. 2 wurde die positive Doppelbrechung der Muskelfaser durch den Kompensator ausgeglichen, das Sarkoplasma ist hell dargestellt.

Zur Klärung der hier vorliegenden feinstrukturellen Unterschiede im Aufbau des Sarkoplasma wurden weitere Untersuchungen angestellt.

Als erstes stellten wir den Imbibitionsversuch an einem Herzen mit positiv zur Länge des Muskels doppelbrechendem Sarkoplasma an. Wir erhielten eine Imbibitionskurve, die das Vorliegen von positiver Eigen- und Formdoppelbrechung aufdeckte. An genau querschnittenen Herzmuskelfasern konnten wir im Sarkoplasma keine Anisotropie nachweisen. Nun durchtränkten wir Präparate von einem Herzen, dessen Sarkoplasma in den mit Caedax eingedeckten Präparaten negativ ist, mit Mitteln von verschiedenem Brechungsindex. Hierbei erhielten wir mit Wasser positive Doppelbrechung am Sarkoplasma — wir beziehen uns immer noch auf die Länge der Fasern —, mit Caedax dagegen negative Doppelbrechung und mit Glycerin oder Paraffinöl wieder

positive. Die Gesamtdoppelbrechung setzt sich in diesem Falle also aus negativer Eigen- und positiver Formdoppelbrechung zusammen.

Da dieses Verhalten bereits für eine gerichtete Einlagerung von Lipoiden sprach, behandelten wir unsere Schnitte mit verschiedenen Lipoidlösungsmitteln. Durch Alkohol und Äther ergab sich keine Änderung der Doppelbrechung, jedoch änderte sich der optische Charakter des Sarkoplasma, nachdem die Schnitte einige Stunden in Xylol oder Aceton verblieben waren. Die vorher negative Doppelbrechung wurde positiv in bezug zur Länge der Muskelfaser. Imbibitionsversuche an diesem positiv doppelbrechenden Sarkoplasma führten zu demselben Ergebnis, wie jene an dem von vorherein positiv anisotropen.

Zuletzt stellten wir die Osmiumsäurereaktion an, deren Bedeutung für den polarisationsoptischen Nachweis von gerichtet eingelagerten Lipoiden von W. J. SCHMIDT geklärt wurde. Nach Einwirkung von Osmiumsäure wird bei einem Brechungsindex des Eindeckmittels von $n_D = 1,5$ die vorher negative Doppelbrechung in positive umgewandelt.

Welcher feinstrukturelle Aufbau liegt diesen Befunden zugrunde? Zunächst zudem in bezug auf die Länge der Herzmuskelfaser positiv doppelbrechenden Sarkoplasma. Die aus positiver Eigen- und Formdoppelbrechung zusammengesetzte Gesamtanisotropie spricht, in Zusammenhang mit dem isotropen Verhalten des Sarkoplasma am querschnittenen Herzmuskel, für eine Fibrillenstruktur.

Bei dem, in bezug auf die Länge der Herzmuskelfaser, negativ doppelbrechenden Sarkoplasma handelt es sich um eine gerichtete Einlagerung von Lipoiden in die Fibrillenstruktur. Beträgt der Brechungsindex des Eindeckmittels $n_D = 1,5$, so tritt die relativ starke Eigendoppelbrechung der mit der Längsachse der Moleküle senkrecht zu den Fibrillen angeordneten Lipoiden in Erscheinung. Es wirken hier positive Eigen- und negative Formdoppelbrechung der gerichtet eingelagerten Lipoidmoleküle und positive Eigen- und Formdoppelbrechung der Fibrillen des Sarkoplasma zusammen. Da die Lipoidmoleküle jedoch senkrecht zu den Fibrillen stehen, scheint ihre Eigendoppelbrechung in bezug auf die Länge des Muskels negativ zu sein und ihre Formdoppelbrechung positiv. Die in bezug zur Länge der Muskelfaser negative Gesamtdoppelbrechung wird also in diesem Falle durch das Überwiegen der Eigendoppelbrechung der Lipoidmoleküle hervorgerufen. Verstärken wir aber durch geeignete Imbibitionsmittel oder durch Osmiumsäure die Formdoppelbrechung der gerichtet eingelagerten Lipoiden, so überwiegt deren Formdoppelbrechung im Zusammenwirken mit der Anisotropie der Fibrillen.

Das Verhältnis des Auftretens dieser gerichtet eingelagerten Lipoiden zu dem Vorkommen von Lipofuscin in bezug zu setzen, lag nun nahe, um so mehr, als sowohl die im Lipofuscin vorkommenden Lipoiden nach

den Befunden von SACHS und von OBERNDÖRFER, wie die von uns im Sarkoplasma nachgewiesenen Lipoiden bei Behandlung der histologischen Schnitte mit Äther oder Alkohol unlöslich sind. Wir konnten an lipofuscinfreien Herzen niemals eine gerichtete Einlagerung von Lipoiden im Sarkoplasma nachweisen, bei feinkörnig abgelagertem Lipofuscin ist dagegen immer negative Doppelbrechung am Sarkoplasma. In den Fällen mit ausgesprochen grobkörniger Ablagerung des Pigmentes fehlte teilweise die negative Gesamtdoppelbrechung, das heißt, es ließ sich mit unserer Methode kein gerichtet eingelagertes Lipoid nachweisen. Ohne eine endgültige Aussage zu treffen, haben wir den Eindruck, als ob die Verhältnisse dieser Lipoidenlagerungen in das Sarkoplasma ähnlich sind, wie bei den färberisch nachweisbaren Lipoiden im Lipofuscin. Inwieweit jedoch Gleichheit vorliegt, wird letztlich der Chemiker entscheiden müssen. Ein erster Ansatzpunkt hierzu wird durch die Versuche von HEIDENREICH und SIEBERT gegeben, bei denen das Lipofuscin in unveränderter Form chemisch untersucht werden konnte.

Zusammenfassung

1. Das Sarkoplasma des Herzmuskels ist aus einer Fibrillenstruktur aufgebaut, es gibt daher in bezug zur Länge der Muskelfaser positive Eigen- und Formdoppelbrechung.

2. In die Fibrillenstruktur des Sarkoplasmas können Lipoiden gerichtet eingelagert werden. Diese stehen mit der Längsachse ihrer Moleküle quer zur Länge der Fibrillen, sie geben dem Sarkoplasma in bezug auf die Länge der Muskelfaser negative Gesamtdoppelbrechung.

3. Die durch gerichtete Einlagerung von Lipoiden in bezug zur Länge des Herzmuskels negative Gesamtdoppelbrechung setzt sich zusammen aus positiver Eigen- und Formdoppelbrechung der Fibrillenstruktur des Sarkoplasma und aus positiver Eigen- und negativer Formdoppelbrechung der senkrecht zu den Fibrillen stehenden, gerichtet in die Fibrillenstruktur eingelagerten Lipoiden.

Literatur

HEIDENREICH, O., u. G. SIEBERT: Virchows Arch. **327**, 112 (1955). — OBERNDÖRFER, S.: Erg. Path. **19** (II), 119 (1921). — SACHS, H. W.: Beitr. path. Anat. **108**, 267 (1943). — SCHMIDT, W. J.: Ber. oberhess. Ges. Naturwiss. u. Heilk. **23**, 56 (1948).

Dr. HANS-PETER MISSMAHL, Med. Univ.-Klinik und Poliklinik, Tübingen