

Aus dem Pathologischen Institut der Medizinischen Akademie Magdeburg (Gustav-Ricker-Krankenhaus), Neuropathologische Abteilung (Direktor: Prof. Dr. med. hab. H. ESSBACH)

Histochemische Untersuchungen über die „basophile Substanz“ der Skelettmuskulatur bei Glykogenose

Von

RALF SCHNABEL

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 29. März 1958)

Bei der seltenen neuromuskulären (myatonen) Form der Glykogenspeicherungskrankheit wurden von GÜNTHER, CLEMENT u. GODMAN, SELBERG (1, 2), CHILDS u. Mitarb., ZELLWEGER, DARK u. ABU HAIDAR, ZELLWEGER und SCHNABEL (1) „basophile Substanzen“ (BS) in der quergestreiften Muskulatur beobachtet. Es handelt sich um eigenartige, in der Muskelpathologie ansonsten nicht bekannte, granuläre, stark basophile Massen, die zusammen mit dem Glykogen in den vakuolig degenerierten Muskelfasern abgelagert sind. Im Myokard wurden diese Substanzen bisher nur von ANTOPOL, BOAS, LEVISON u. TUCHMAN bei diffuser Herzmuskelglykogenose festgestellt. Bei einem weiteren, wegen der fehlenden Überprüfung des Nervensystems schwer klassifizierbaren Fall von WOLFF traten sie in der glykogenspeichernden Zungen-, Hals- und Zwerchfellmuskulatur auf¹.

Über die Morphologie der glykogendegenerierten Muskulatur haben bereits GÜNTHER, SELBERG (1), CLEMENT u. GODMAN und ZELLWEGER, DARK u. ABU HAIDAR ausführlich berichtet. Auf die stoffliche Natur der BS sind dagegen nur SELBERG (1) und später DARK (bei ZELLWEGER, DARK u. ABU HAIDAR) näher eingegangen. Die Befunde wurden jedoch nicht übereinstimmend beurteilt. Während SELBERG (1) die BS als *Mucoproteide* bezeichnete, kam DARK nach gründlichen histochemischen Untersuchungen zu dem Schluß, daß ein mit Protein verbundenes saures *Mucopolysaccharid* vorliegt.

Es erschien daher berechtigt, an einem eigenen Fall von neuromuskulärer Glykogenose (SCHNABEL, 1) das histochemische Verhalten der BS erneut zu überprüfen. Neben bekannten und bewährten histochemischen Verfahren wurden das Aldehydfuchsin (GOMORI-GABE) ohne Voroxydation und der jüngst eingeführte basische Kupferphthalocyaninfarbstoff „Astrablau“ (Bayer) mit herangezogen.

¹ Die Originalarbeit von HUMPHREYS u. KATO enthält entgegen den Angaben von CLEMENT u. GODMAN und ZELLWEGER keinen eindeutigen Hinweis auf die BS.

Material und Methodik¹

Material. Intercostal- und Oberschenkelmuskulatur eines Falles von neuromuskulärer Glykogenose (Su 76/56). Kontrollversuche: Hyaliner Knorpel, Nabelschnur, Mastzellen, Glykogenoseleber, Niere und Thymus.

Vorbehandlung. Fixierung mit neutralisiertem Formalin, Äthanol oder Jorescher Flüssigkeit. Gefrier-, Celloidin-, Paraffinschnitte (letztere auch celloidinisiert). Hauptsächlich wurden trocken aufgeklebte, formalinfixierte Paraffinschnitte benutzt.

Chemische Extraktionsverfahren

1. Neutrale Hydrolyse $\frac{1}{2}$, 2, 6 und 24 Std bei 37° C. Salzsäure Hydrolyse (0,05 und 0,1 n HCl) $\frac{1}{2}$, 2, 6 Std bei 37° C und 4 Std bei 64° C. Alkalische Hydrolyse (0,05 und 0,1 n NaOH) $\frac{1}{2}$, 2, 6 Std bei 37° C. 0,85%ige NaCl-Lösung $\frac{1}{2}$, 2, 6 Std bei 37° C.
2. 70 und 96%iges Äthanol bis 24 Std bei 37° C.
3. Methanol-Chloroform (1:1) 24 Std bei 60° C.

Enzymatische Extraktionsverfahren

1. Speichelamylase, 1%ige hochgereinigte Diastase („Merck“), 40 min, 80 min bei $37 \pm 1^\circ$ C (s. ROMEIS, LIPP).
2. Testes-Hyaluronidase („Hylase“, Asid-Dessau), Konzentration nicht unter 0,5 mg/ml 0,85% NaCl, 1 und 3 Std bei 37° C.

Weitere technische Angaben über die histochemischen Reaktionen sind aus der Tabelle auf S. 538 ersichtlich.

Zur Erhaltung des metachromatischen Effekts der Thiazinfarbstoffe stellt der Sorbitsirup („Merck“) ein gut geeignetes Einschlußmittel dar (CLEMENS, SCHNABEL, 2). — Celloidin- bzw. celloidinisierte Paraffinschnitte sind bei dem Hyaluronidase-, Diastase- und Acetylierungsverfahren (McMANUS-CASON) nicht brauchbar.

Ergebnisse

Die BS lassen sich mit Hämatoxylin (Abb. 1) oder Eisenhämatoxylin in kräftigem Farbton darstellen, während für die beiden Komponenten der Azan-Methode keine Affinität besteht. Eindeutig negativ

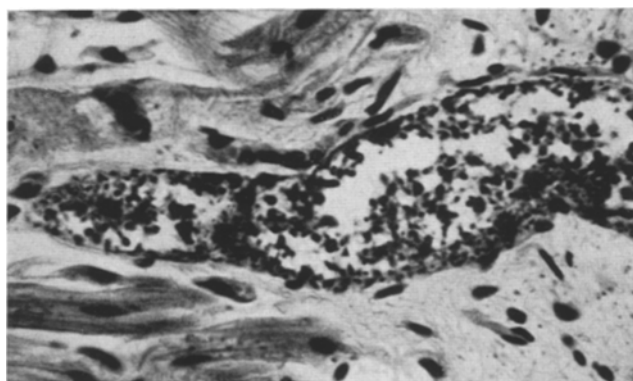


Abb. 1. (PN 45) Zungengrund. Körnige basophile Substanzen in unregelmäßig verbreitete vakuolisierter Faser. Stadium III nach SELBERG. HE, Vergr. 425fach

¹ Den Firmen E. Merck-Darmstadt und Bayer-Leverkusen bin ich für die Überlassung einiger chemischer Substanzen zu besonderem Dank verpflichtet.

Tabelle

Methode	Technik bei	Vorbehand- lung ²	Resultat ³	Kontrolluntersuchungen	
				Nabelschnur- schleim	Hyaliner Knorpel
Sudanschwarz B		G, F	—		
Sudan III		G, F	—		
Äthanol (bis 24 Std, 37°)		P, F	—		
Chloroform-Methanol (24 Std, 60°)		P, F	—		
Neutrale Hydrolyse		P, F	++	$\left. \begin{array}{l} 2 \text{ Std} \\ 37^{\circ} \end{array} \right\}$ $\left. \begin{array}{l} + \\ + \\ + \\ (+) \end{array} \right\}$	
Saure Hydrolyse		P, F	+++		
Alkalische Hydrolyse		P, F	+		
0,85 % NaCl-Lösung		P, F	+ / ++		
Speicheldiastase		P, F	—		
1 % Diastase (Merck)		P, F	—		
Testes-Hyaluronidase		P, F	—		
Jodreaktion		P, F	+ / —		
Besteches Carmin		eP, P, A, F	+		
Schiffssches Reagens		eP, P, F	—		
PJS-Reaktion		eP, P, F	+		
nach Acetylierung			—		
nach Entacetylierung			++		
nach Bromierung			++		
Aldehydfuchsin (frisch)		P, F	++	++	
nach Periodsäure-Oxydation			+++ / +++++	+++	
Astrablau (pH 1,9 und 3,0)		eP, P, F	+++	++	++
nach Periodsäure-Oxydation			+++	+++	+++
nach Acetylierung			+++	+++	+++
nach Methylierung			+++	—	—
nach Äthylierung			+++	++	++
nach Propylierung			+++	++	++

LILLIE, FISHER u. LILLIE

Hale-Reaktion	G. MÜLLER	P, F	++		
Einschlufffärbung	FEYRTER	G, P, F, J	+++	++	++
Toluidinblau	PEARSE	cP, P, F	+++	—	—
nach Methylierung	LILLIE, FISHER u. LILLIE		+++	M	M
nach Äthylierung			+++	+++	+++
nach Propylierung			+++	+++	+++
Methylenblaubindung	PEARSE	P, F	bis pH 2,4		
Feulgen-Reaktion	LIPP	cP, P, F	—		
Ninhydrin-Schiff-Reaktion	YASUMA u. ICHIKAWA (nach LIPP)	P, F	(+)		
Xanthoprotein-Reaktion	PEARSE	P, F	—		
Millon-Reaktion	DANIELL-PEARSE	P, F (!)	—		
Tetrazolium-Kupplungsreaktion					

¹ G = Gefrierschnitt, P = Paraffinschnitt, cP = celloidierter Paraffinschnitt, F = Fixierung mit Formalin, A = Fixierung mit Äthanol, J = Fixierung mit Jorescher Flüssigkeit.

² — = nicht gefärbt bzw. resistent (nicht extrahierbar), + bis +++ = Grad der Farbtintensität bzw. der Extrahierbarkeit, Ch = Chromotropie, M = Metachromasie.

fällt die Kossa- und die Thurnbullblau-Reaktion aus. Weder mit der Molybdat-Methode (PEARSE, SERRA und QUEIROZ LOPES) auf Phosphatgruppen noch mit dem Bleiacetatverfahren (LILLIE, MACALLUM) auf Sulfatgruppen habe ich ein positives Ergebnis erzielen können. Jedoch wird an geeigneterem unfixiertem (gefriergetrockneten) Material und mit leistungsfähigeren Methoden die endgültige Klärung dieser beiden Befunde erforderlich sein. — Über alle weiteren Verfahren unterrichtet die Tabelle.

Besprechung

Die histochemische Analyse zeigt in Übereinstimmung mit DARK, daß sich die BS der glykogendegenerierten Muskulatur in vielen Punkten wie ein saures Mucopolysaccharid verhält. *Ihre endgültige Einordnung und Benennung bleibt jedoch abzuwarten.* Das Substrat ist wasserempfindlich, allerdings weniger labil als das Glykogen, leicht säurelöslich, resistent gegenüber Fettextraktionsmitteln und frei von Lipiden. Eine reaktionsfähige Proteinkomponente konnte nicht nachgewiesen werden. Mit den Mucopolysacchariden, Muco- und Glykoprotoiden stimmt die relative Diastasefestigkeit überein. Die BS widersteht auch der enzymatischen Wirkung von Testes-Hyaluronidase, wie es von den epithelialen, sauren Mucopolysac-

chariden bekannt ist. Zur Abgrenzung dienen ferner die hohe Basophilie, die Aldehydfuchsin- und Astrablauaffinität sowie die relativ alkohol-resistente Metachromasie (Chromotropie). Die Methylenblaubindefähigkeit („methylene blue extinction“, PEARSE) als Maß für die Basophilie erlischt erst unter p_H 2,4. In diesem Zusammenhang sei betont, daß DARK auch durch Ribonuclease (Brachet) keine Extraktion der BS erzielt.

Mit der PJS-Technik erhält man eine mittelgradige positive Reaktion. Auch bei dem kombinierten Astrablau-PJS-Verfahren tritt die erstere Farbkomponente in dem resultierenden Mischton stärker hervor (Abb. 2).

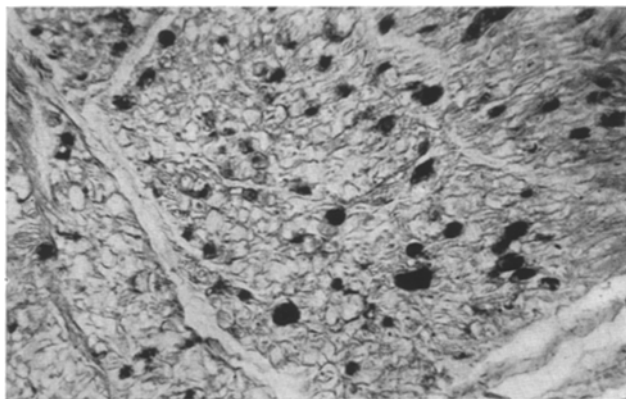


Abb. 2. Oberschenkelmuskulatur. Faserquerschnitte. Basophile Substanzen im Originalpräparat purpur-violett gefärbt. Kombinierte Astrablau-PJS-Reaktion. Vergr. 105fach

Die mit dem Acetylierungs- und Bromierungstest gewonnenen Ergebnisse sprechen dafür, daß die positive PJS-Reaktion auf der Anwesenheit von α -Glykolen beruht. Die BS lassen sich nämlich nicht durch Bromierung, aber in reversibler Weise durch Acetylierung für die nachfolgende Perjodsäure-Oxydation blockieren. — Auf einige Probleme soll näher eingegangen werden.

1. Dem *Astrablau* (Bayer) kommt nach den Untersuchungen von GEDICK (2) und PROCH eine hohe Selektivität für einfache und komplexe saure Mucopolysaccharide zu. Wenn auch über die Konstitution dieses Farbstoffes und das chemische Prinzip der Anfärbbarkeit noch keine volle Klarheit herrscht, so liegt doch die Annahme nahe, daß die sauren Gruppen der Zellen und Gewebe für die Astrablauaffinität verantwortlich sind. Daneben bleiben sterische Faktoren nicht ohne Einfluß (PROCH). — Auch bei den BS der Muskulatur wird durch die oxydative Zerstörung (HJO_4) oder durch die Acetylierung der Hydroxylgruppen die Anfärbbarkeit für diesen Kupferphthalocyaninfarbstoff nicht beeinträchtigt.

2. Bemerkenswerterweise erzielt man aber selbst bei langen Zeiten keine *Methylierung*, die in Bestätigung der Befunde von FISHER u. LILLIE und PLOCH bei der Knorpelgrundsubstanz oder den sauren Schleimstoffen ohne weiteres gelingt. So werden durch die Methylierung weder die Astrablauaffinität noch die Metachromasie der BS unterdrückt. Die zur Zeit vorherrschende Meinung über den Mechanismus der Methylierung von Geweben kann dieses Phänomen nicht erklären. Sie besagt, daß außer der Veresterung von Carboxylgruppen auch die Sulfat- und Phosphatgruppen der Carbohydrate bzw. der Nucleinsäuren blockierbar sind (FISHER u. LILLIE). Dagegen hat BOOIJ an eindrucksvollen in vitro-Ver suchen nachgewiesen, daß methyliertes Chondroitinsulfat seine chromotropen Eigenschaften behält. Weitere Befunde, die an methylierter Gelatine, methylierten und nichtmethylierten Chondroitinsulfat-Gelatine-Gemischen gewonnen wurden, bekräftigen die — übrigens schon bei FISHER u. LILLIE erörterte — Hypothese, daß nur die Carboxylgruppen der Proteine verestert (neutralisiert) werden. Daraus resultiert eine Zunahme der proteinischen positiven Ladungen, die nun mit den kationischen Farbstoffmolekülen erfolgreich um die negativen Ladungen ($-\text{OSO}_2\text{OH}$, $-\text{OPO}(\text{OH})_2$) der prosthetischen Gruppen konkurrieren und damit die Metachromasie unterdrücken (BOOIJ).

Vorerst ein Wort zum Proteingehalt der BS. DARK, der sich allerdings nur auf (die im Vergleich zum normalen Muskel viel schwächer ausfallende) Millonsche Probe stützte, schloß auf ein mit Protein verbundenes saures Mucopolysaccharid („acid mucopolysaccharide in association with protein“, pg. 723). Wir erhielten mit der Ninhydrin-Schiff, der Tetrazonium-Kupplungs- und der Millonschen Reaktion kein positives Ergebnis. Nur bei der Xanthoprotein-Probe trat eine angedeutete Gelbfärbung auf.

Die fehlende Methylierbarkeit der BS spricht einmal dafür, daß ihre negativen Ladungen nicht oder zumindest nicht ausschließlich auf COOH -Gruppen beruhen können. Zum anderen sehen wir einen indirekten Beweis für die in jüngster Zeit wieder durch BOOIJ vertretene Auffassung, nach der die Metachromasie durch die Methylierung der Proteine und nicht der Sulfat- oder Phosphatgruppen unterdrückt wird. Nach dieser Deutung bleiben die BS wegen des Fehlens einer (reaktionsfähigen) Proteinkomponente für die Methylierung unangreifbar.

3. Durch das *Aldehydfuchsin* (GOMORI, GABE) werden die BS intensiv angefärbt. Schon bei kurzer (2minütiger) Färbedauer mit der frisch angesetzten Lösung erreicht man ohne vorhergehende Kaliumpermanganat-Schwefelsäure-Behandlung eine kräftige selektive Darstellung.

Für diesen positiven Ausfall der Aldehydfuchsin-Färbung mit den lipid- und höchstwahrscheinlich auch proteinfreien BS werden von uns ausschließlich negative Ladungen (saure Gruppen) verantwortlich

gemacht, da sich das Substrat ohne oxydierende Vorbehandlung Schiff-negativ verhält. Mit Perjodsäure wird nur eine angedeutete Farbvertiefung für Aldehydfuchsin erzielt. Dies könnte darauf beruhen, daß nur wenige, nicht gebundene benachbarte Hydroxylgruppen für die Oxydation zur Aldehydstufe vorhanden sind. Die verhältnismäßig schwache PJS-Reaktion, die kräftige Metachromasie und der hohe Basophiliegrad sprechen im gleichen Sinne. — In einer erst kürzlich erschienenen Mitteilung betont GRAUMANN die gute Darstellungsmöglichkeit saurer Mucopolysaccharide mit der Aldehydfuchsinfärbung *ohne* Voroxydation.

4. Die BS haben in fixierten Schnittpräparaten eine körnig-krümelige bis klumpige Beschaffenheit (Abb. 1), wie dies auch frühere Untersucher feststellten. Faserige, filz- oder netzartige Substanzen kommen nicht vor. Es handelt sich zweifellos um nicht präexistente, artefiziell vergrößerte Strukturen, die durch die Fixierung und Einbettung entstehen.

Interessanterweise hat SCHMIDT-MATTHIESEN erst kürzlich an rein dargestellten Mucopolysacchariden und Nabelschnur-Gewebsschnitten gezeigt, daß offenbar von der Artefaktstruktur auf den während der Fixierung herrschenden aktuellen Polymerisationsgrad geschlossen werden kann. Hochpolymere Mucopolysaccharide fielen in fibrillärer, filzig-netzartiger Form aus, während mittelpolymere Stoffe durch grobe, körnelig-krümelige Massen gekennzeichnet werden. Bei niedrigem Polymerisationsgrad traten dagegen strukturlose, mit entsprechenden histochemischen Reaktionen nur zarthomogen anfärbbare Produkte auf.

Über die genaue chemische Konstitution und den Entstehungsmodus der BS können zur Zeit noch keine Aussagen gemacht werden. Beim jetzigen Stand der Forschung empfiehlt es sich nicht, bereits von einem „muskulären sauren Mucopolysaccharid“ zu sprechen. Hierzu wäre der Nachweis von Aminosukern (Glucosamin usw.) erforderlich, die definitionsgemäß diese Stoffklasse charakterisieren. Wir haben uns zunächst die Vorstellung gebildet, daß ein vom Glykogen abzuleitendes, unter pathophysiologischen Bedingungen angehäuften, phosphoryliertes Polysaccharid vorliegt.

Von der endgültigen Abklärung der zuletzt angeschnittenen Probleme sind tiefere Einblicke in den gestörten Kohlenhydratstoffwechsel des glykogendegenerierten Muskels zu erwarten.

Zusammenfassung

Bei der neuromuskulären (myatonen) Form der Glykogenosen zeigen die schwer degenerierten quergestreiften Muskelfasern eine spezifische intravacuolär eingelagerte, körnig-krümelige „basophile Substanz“ (BS), die sich in Übereinstimmung mit DARK in vielen Punkten *wie ein freies saures Mucopolysaccharid verhält*. Das wasser- und besonders säureempfindliche Substrat ist lipid- und sehr wahrscheinlich auch proteinfrei. Diastase- und Hyaluronidase-Extraktion bleiben erfolglos. Mit der

PJS-, Astrablau-, Hale- und Aldehydfuchsin-Methode (ohne Voroxydation) ist die BS gut darstellbar. Sie weist eine kräftige, relativ alkoholbeständige Metachromasie auf. Die Methylenblaubindefähigkeit (MBE, PEARSE) erlischt erst unter p_H 2,4. Die Astrablau- und Aldehydfuchsinaffinität sowie die bemerkenswerterweise nicht zu erzielende Methylierung sind unter anderem Gegenstand einer ausführlichen Diskussion. — Über die genaue chemische Konstitution und den Entstehungsmodus können vorerst keine Aussagen gemacht werden.

Summary

In the neuromuscular (myatonic) type of glycogenosis the degenerated muscle-fibers contain in vacuoles a granular „basophilic substance“ (BS), behaving in many points *like a free acid mucopolysaccharide* (DARK). The water- and acid-soluble substrate is free from lipids and very probably free from protein; extraction with diastase and hyaluronidase is without effect. With the periodic-acid SCHIFF, Astra-blue, HALE and aldehyde-fuchsin method (without preliminary oxidation) the BS is well demonstrable. It shows a strong, relatively alcohol-fast metachromasia. The dye-binding capacity for methylene blue (MBE, PEARSE) disappears at p_H 2,4. The Astra-blue and aldehyde-fuchsin affinity and the failing methylation, are discussed. — The precise chemical constitution and the manner of origin of the BS remain unknown.

Literatur

ANTOPOL, W., E. P. BOAS, W. LEVISON and L. TUCHMAN: Cardiac hypertrophy caused by glycogen storage disease in a fifteen year old boy. *Amer. Heart J.* **20**, 546 (1940). — BOOL, H. L.: Colloid chemical aspects of metachromasia (unpubliziert¹); für *Acta physiol. pharmacol. neerl.* vorgesehen. — CHILDS, A. W., R. F. CROSE and P. H. HENDERSON: Glycogen disease of the heart. Report of two cases occurring in siblings. *Pediatrics* **10**, 208 (1952). — CLEMENS, H. J.: Karion „Merck“ — ein wasserlösliches Einschlußmittel in der histologischen Technik. *Z. wiss. Mikr.* **61**, 364 (1953). — CLEMENT, D. H., and G. C. GODMAN: Glycogen disease resembling mongolism, cretinism, and amyotonia congenita. Case report and review of literature. *J. Pediat.* **36**, 11 (1950). — FISHER, E. R., and R. D. LILLIE: The effect of methylation on basophilia. *J. Histochem. Cytochem.* **2**, 81 (1954). — GABE, M.: *Bull. Micr. appl.* (2) **3**, 153 (1953). *Zit. nach HARMS.* — GEDIGK, P.: (1) Histochemische Methoden. In: *Biochemisches Taschenbuch*, S. 855. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956. — (2) Über neue Färbeverfahren für Mucopolysaccharide und Phospholipide. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **95**, 486 (1956). — GOMORI, G.: *Amer. J. clin. Path.* **200**, 665 (1950). *Zit. nach PEARSE.* — GRAUMANN, W.: Vergleichende Untersuchungen zur Frage der Spezifität verschiedener Modifikationen der Polysaccharid-Eisenreaktion. *Acta histochem. (Jena)* **5**, 49 (1958). — GÜNTHER, R.: Beitrag zur Kenntnis der Glykogenspeicherkrankheit. *Virchows Arch. path. Anat.* **304**, 87 (1939). — HALE, C. W.: Histochemical demonstration of acid polysaccharides

¹ Für die Einsichtnahme in das Manuskript bin ich Herrn Prof. Dr. BOOL-Leiden zu besonderem Dank verpflichtet.

in animal tissues. *Nature* (Lond.) **157**, 157 (1946). — HARMS, H.: Ein haltbares Aldehydfuchsin nach GOMORI. *Lab. Bl.* 1954, H. 1, 7. — HUMPHREYS, E., and K. KATO: Glycogen storage disease. *Amer. J. Path.* **10**, 589 (1934). — LANGHANS, TH.: Über Glykogen in pathologischen Neubildungen und den menschlichen Eihäuten. *Virchows Arch. path. Anat.* **120**, 28 (1890). — LILLIE, R. D.: *Histopathologic technic and practical histochemistry*. New York; Blackiston Comp. 1947. — LIPP, W.: *Histochemische Methoden*. München: Oldenbourg 1954 (fortlaufend). — MACALLUM, A. B.: Bei A. WEIL, *Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden* (ABDERHALDEN), Bd. V/2, S. 449. Berlin u. Wien: Urban & Schwarzenberg 1928. — MÜLLER, G.: Über eine Vereinfachung der Reaktion nach HALE (1946). *Acta histochem.* (Jena) **2**, 68 (1955/56). — NIELSEN, N. A., H. OKKELS et C. STOCKHOLM-BORRESEN: Defection histochemique du Glycogène. *Acta path. microbiol. scand.* **9**, 258 (1932). — PEARSE, A. G. E.: *Histochemistry*. London: J. & A. Churchill 1954. — PROCH, W.: Über die Darstellung saurer Mucopolysaccharide mit dem Kupferphthalocyaninfarbstoff Astrablau. *Virchows Arch. path. Anat.* **330**, 337 (1957). — ROMEIS, B.: *Mikroskopische Technik*. München: Oldenburg 1948. — SCHMIDT-MATTHIESEN, H.: Ein Beitrag zur Bewertung der histochemischen Nachweismethoden für saure Mucopolysaccharide. *Acta histochem.* (Jena) **4**, 102 (1957). — SCHNABEL, R.: (1) Über die neuromuskuläre Form der Glykogenspeicherkrankheit. *Virchows Arch. path. Anat.* **331**, 287, (1958). — (2) Karion „Merck“ als Einschlußmittel für die histochemischen Jodreaktionen. *Acta histochem.* (Jena) **5**, 225 (1958). — SELBERG, W.: (1) Zur Klinik und Pathologie der Glykogenspeicherkrankheit. *Dtsch. med. Wschr.* **1952**, 1020. — (2) Die Glykogenose des Säuglings unter dem Bilde einer tödlich verlaufenden cerebraspinalen Erkrankung. *Z. Kinderheilk.* **72**, 306 (1953). — SERRA, J. A., u. A. QUEIROZ LOPES: *Port. Acta biol.* **1**, 111 (1945). *Zit. nach GEDIGK* (1). — WOLFF, K.: Beitrag zur Morphologie und Chemie der Glykogenspeicherkrankheit. *Beitr. path. Anat.* **97**, 289 (1936). — ZELLWEGER, H.: Glykogenspeicherkrankheiten. *Dtsch. med. Wschr.* **1956**, 1907. — ZELLWEGER, H., A. DARK and G. A. ABU HADAR: Glycogen disease of skeletal muscle. Report of two cases and review of literature. *Pediatrics* **15**, 715 (1955).

Dr. med. RALF SCHNABEL,
Oberarzt am Pathologischen Institut der Medizinischen Akademie
Magdeburg, Leipziger Straße 44