

PRO LABORATORIO

Überlebende histologische Gewebeschnitte

Die histologische Technik ist in der Hauptsache auf eine Mumifizierung und färberische Differenzierung des Gewebes ausgerichtet, eine Methodik, die heute grosse Vollkommenheit erreicht hat und ständig weiter ausgebaut wird. So wertvoll und unentbehrlich diese Arbeitsweise ist, so wenig kann sie aber auch darüber hinwegtäuschen, dass dabei – mit dem Streben möglichst lebensnaher Erhaltung – aus der Kontinuität der Lebensvorgänge Momentzustände in eine stationäre Form überführt werden. Dieser Unzulänglichkeit wird teilweise durch vitale Beobachtung von Quetsch- und Zupfpräparaten Rechnung getragen, ein Bestreben, das – da es auf natürliche Zellanordnung verzichtet – nicht nur die Vergleichsmöglichkeit einschränkt, sondern auch neue Fehlerquellen mit sich bringt.

Während die physiologische Gewebeforschung schon seit einigen Jahren mit überlebenden dickeren Gewebeschnitten¹ arbeitet (400–600 μ), ist über dünne überlebende Schnitte für histologische Zwecke (5–40 μ) nichts bekannt.

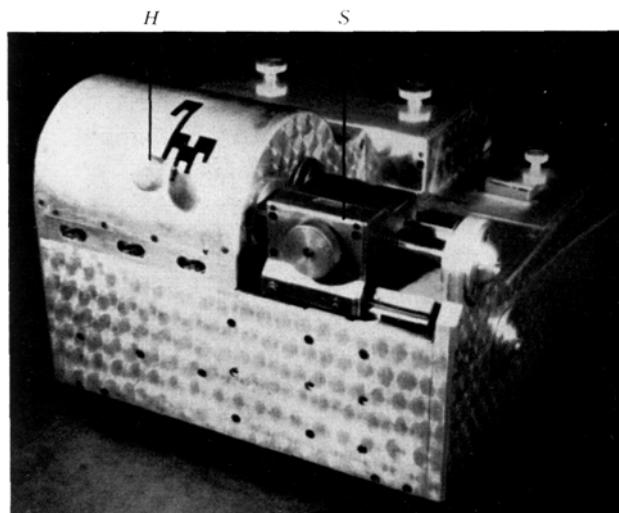


Abb. 1. Gesamtansicht des Mikrotoms. Links der Getriebeteil mit dem hervorstehenden Hebel (H) zum Einstellen der Schnittdicke; rechts der Schlitten (S), hinter dem verdeckt die Messerscheibe liegt. In die Rückwand des Schlittens ist der Objekthalter auswechselbar eingelassen.

1953² konnte erstmalig ein Mikrotom beschrieben werden, das die Herstellung solcher Schnitte ohne jede Härtung der Organe gestattet. Das Gerät (Abb. 1) nutzt die Trägheit des Gewebes gegenüber einem sehr schnell bewegten Messer aus. Das dünne Messer (60 μ) selbst hat die Form eines Dreieckes und ist peripher in eine Scheibe eingelassen (Abb. 2a). Bei hoher Tourenzahl erreicht das Messer eine Umlaufgeschwindigkeit von 450–600 km/h. Das zu schneidende Gewebe wird lebensfrisch so in einen Objekthalter eingespannt, dass ein Teil hervorragt. Dieser vorstehende Gewebeabschnitt kann

hängend durch die Messerbahn geführt und dabei geschnitten werden; die Schnelligkeit der Verschiebung in der Messerbahn bestimmt die Schnittdicke (Abb. 2b).

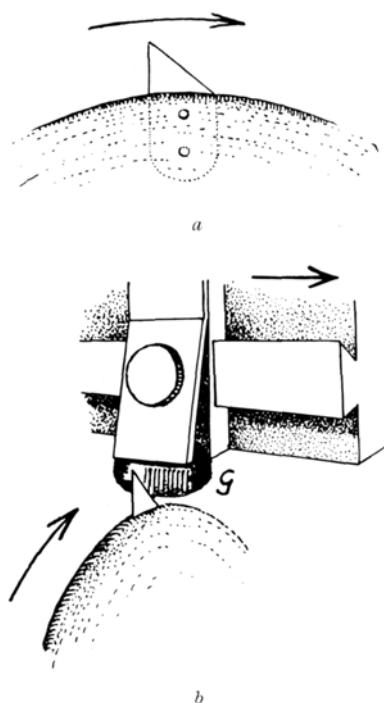


Abb. 2. a Messerscheibe mit eingelassenem Messer. b Prinzip der Schnittführung. Das in dem Gewebehalter festgeklemmte Gewebestück (G) wird mit veränderlicher Geschwindigkeit durch die Messerbahn geführt.

Die einzelnen dünnen Gewebeschnitte hängen zunächst noch an dem im Objekträger gefassten Gewebe teil und müssen durch einen senkrechten Rasierklingen schnitt abgetrennt und in physiologischer Lösung aufgefangen werden. Durch leichte Bewegung der Flüssigkeit lassen sich die nur lose aneinander haftenden Schnitte gut isolieren. Schliesslich können mit einer Pipette die Schnitte auf einen Objekträger übertragen werden. Im allgemeinen dauert bei Säugern der ganze Prozess – Organentnahme bis Beobachtungsbeginn – nicht länger als etwa 100 s.

Untersucht werden die überlebenden Schnitte entweder im normalen Deckglaspräparat, im hängenden Tropfen oder im Durchspülungspräparat. Zur histologischen Auswertung bieten sich die Phasenkontrast-, Dunkelfeld- und Lumineszenztechnik an.

Den optischen Möglichkeiten steht leider noch keine Histotechnik für lebende Schnitte zur Seite, ein Sachverhalt, der bedingt, dass eine optimale Auswertung der Schnitte zur Zeit noch nicht möglich ist. Immerhin sind hier durch Injektionen von Vital- und Lumineszenzfarbstoffen, durch Verfütterung von radioaktiven Substanzen, besonders mit kurzer Halbwertszeit, und schliesslich durch die Gefriertrockenmethode soviele Perspektiven gegeben, dass die Entwicklung der Histotechnik für lebende Schnitte nur eine Frage der Zeit sein kann.

Wie unvergleichlich schwieriger gegenüber der herkömmlichen Histologie die technischen Probleme liegen, geht einfach daraus hervor, dass jedes Gewebe eine von der Festigkeit und Elastizität abhängige ideale Schnittgeschwindigkeit und eine von der Zellgrösse abhängige ideale Schnittdicke beansprucht.

¹ J. FIELD, *Methods of medical research* (The Yearbook Publ. Im., Chicago 1948), S. 1. – W. HÜLSEN, *Exper. 13*, 46 (1957).

² G. STERBA, *Wiss. Z. Friedr. Schiller-Univ. Jena 3*, 239 (1953).

Zum Beispiel gelten für die Niere und das Hirn von *Cavia* (Abb. 3-4) folgende Werte:

Tabelle I

	Niere	Hirn
Ideale Schnittgeschwindigkeit	300 km/h	250 km/h
Ideale Schnittdicke	8 μ	15 μ

Das überlebende Präparat kann zu jedem Zeitpunkt der Beobachtung fixiert werden. Damit aber ist die Möglichkeit gegeben, die gleichen Zellen bzw. Zellgruppen vital und konserviert vergleichend zu betrachten. Schliesslich sei noch angedeutet, dass das Gerät unter Umständen für die Schnelldiagnose bei Operationen Bedeutung erlangen kann.

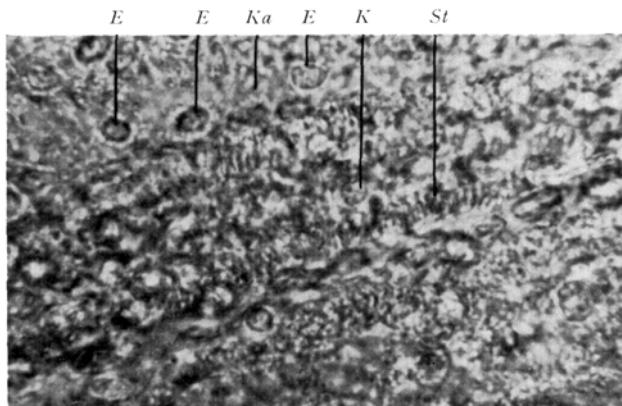


Abb. 3. Überlebender etwa 8 μ dicker Schnitt durch das Hauptstück eines Nierenkanälchens vom Meerschweinchen. *K* = Kerne der Hauptstückzellen; *Ka* = Nierenkapillare mit Endothelkernen (*E*); *St* = Heidenhainsche Stäbchen. Phako Obj. 90 \times , Ok. 9 \times ; 1000fach.

Die Frage nach der Lebensdauer überlebender histologischer Schnitte lässt sich zur Zeit noch nicht ganz befriedigend beantworten, da auch hier nicht nur zahlreiche technische Bedingungen – wie Temperatur, Kon-

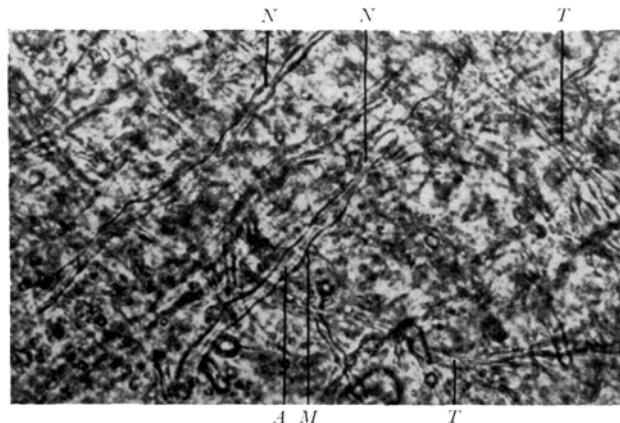


Abb. 4. Überlebender etwa 15 μ dicker Schnitt durch die parietale Grosshirnrinde vom Meerschweinchen. *A* = Achsenzyylinder; *M* = Myelinscheide; *N* = Nervenfasern aus den radialen Zügen; *T* = Nervenfasern aus den tangentialen Zügen. Phako Obj. 90 \times , Ok. 9 \times ; 1300fach.

zentration des Auffangmediums, Montierung des Schnittes und andere – eine entscheidende Rolle spielen, sondern sich auch die Gewebe selbst, ja schliesslich sogar bestimmte Bezirke eines Gewebes unterschiedlich verhalten.

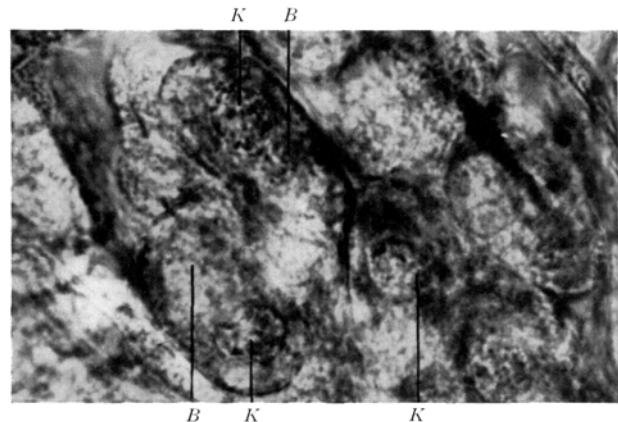


Abb. 5. Überlebender etwa 12 μ dicker Schnitt durch das Fundusepithel des Meerschweinchenmagens. *B* = Belegzellen; *K* = Kerne der Belegzellen. Phako Obj. 90 \times , Ok. 9 \times ; 1300fach.

An überlebenden Schnitten durch die Rindenschicht der *Cavia*-Niere konnten vom Beginn der Organentnahme bis zur deutlichen Entmischung der Zellkerne in den Hauptstücken folgende Zeiten (abgerundete Mittelwerte) beobachtet werden:

Tabelle II

	36° C min	37° C min	38° C min
Normales Deckglaspräparat	12	12	8
Hängender Tropfen.	12	13	8
Durchspülungspräparat	16	16	16

Die noch unvollkommene technische Entwicklung des Gerätes bedingt zur Zeit noch wesentliche Mängel. So lassen sich zunächst nur von einigen Geweben genügend dünne Schnitte herstellen, die Schnitte selbst sind in ihrer Dicke vielfach noch sehr ungleich, die Zellen teilweise stark zerschlagen.

G. STERBA

Zoologisches Institut der Friedrich-Schiller-Universität Jena, den 4. März 1957.

Summary

A high-speed microtome is described, by means of which supravital histological slices can be made with 8-10 μ thickness. The slices are caught under physiological conditions and are made use of by a phase-contrast or luminescence microscope. In the preparation which is being suffused, kidney-slices can be kept alive for 16 min.