

2 Literaturdiskussion

2.1 Der Weg zur histopathologischen Analyse – ein historischer Überblick

Die Pathologie, wie wir sie im heutigen Sinne kennen, ist eine verhältnismäßig junge Disziplin in der Geschichte der Medizin (1, 2). Sie stellt keineswegs ein apartes Fach dar, sondern entleiht Vieles anderen Fächern der klinischen Disziplinen sowie der Grundlagenwissenschaften. Zu Beginn des 20. Jahrhunderts wurde das Fach Pathologie von der makroskopischen Anatomie, der Durchführung von Autopsien, der Histologie und Physiologie sowie von in klinischer Medizin geschulten Ärzten be- und vorangetrieben. Heutzutage stellt das enge Zusammenspiel mit anderen klinischen und forschenden Fachdisziplinen eine Grundvoraussetzung der Pathologie dar (1). Obwohl die Wurzeln der Pathologie in der ersten Hälfte des 19. Jhdts. liegen, entwickelte sich diese Fachdisziplin aus vielen zuvor entwickelten Techniken und erlangten Erkenntnissen. Die Erkenntnis um einen Zusammenhang zwischen Klinik und organopathologischem Befund begann mit der Untersuchung Toter und wurde später auf die Untersuchung der Lebenden erweitert (1).

In ersten öffentlichen Autopsien lag zunächst das Ziel allein im Wiedererkennen vorbeschriebener Strukturen. Obwohl Anomalien und Pathologien auffielen und oftmals sogar beschrieben wurden, bestand darin in den meisten Fällen nicht der Zweck der Obduktion. Mit der Zeit wurden Autopsieergebnisse zwar gänzlich verstanden und Ärzte sowie Naturforscher lernten allmählich Schlüsse aus Autopsiebefunden zu ziehen und auf Malformationen, Pathologien, Erkrankungen und Todesursachen zu reagieren mit dem Ziel, Erkrankungen zu verstehen und korrekte Diagnosen zu stellen (3). Doch erst die Einführung des Mikroskops zu Beginn des 20. Jahrhunderts ermöglichte es dem Untersucher aus dem feingeweblichen, morphologischen Befund spezifische und relevante klinische Informationen abzulesen (1). Diese Innovation bildete letztlich den Grundstein für die Begründung der modernen Pathologie.

2.1.1 Erste Untersuchungen des menschlichen Körpers in Prähistorik und Antike

Das Innere des menschlichen Körpers faszinierte Menschen bereits in sehr frühen Stadien. In prähistorischer Zeit entwickelte sich durch die Jagd und das Schlachten großer Tiere ein Wissen über die makroskopische Anatomie von Säugetieren. In der Frühzeit übte der „Urmensch“ einige Rituale an tierischen und menschlichen Überresten aus, die auf Grundkenntnisse in makroskopischer Anatomie schließen lassen (3). Im alten Ägypten basierte das Wissen über den menschlichen Körper auf dessen Präparation für die Mumifizierung. So wurde die Bauchhöhle zur Entfernung der inneren Organe eröffnet und das Gehirn durch die Nasenlöcher entfernt – wofür Kenntnisse über die Anatomie des Schädels notwendig waren. Nichtsdestotrotz waren Wissen und Fertigkeiten der alten Ägypter sehr beschränkt, da sie niemals darauf zielten, medizinische Erkenntnisse zu erlangen, sondern stets dem religiösen Zweck dienten (3, 4). Im alten Griechenland war Aristoteles (4. Jhdt. v. Chr.) einer der ersten Gelehrten, der Sektionen durchführte, wenn auch nur an Tieren. Durch die Untersuchung der Körper verstümmelter Soldaten und deren Vergleich mit der tierischen Anatomie erlangten er und seine Schüler Kenntnisse der menschlichen makroskopischen Anatomie. Wenig später führte Herophilos von Chalkedon (3. Jhdt. v. Chr.) öffentliche Autopsien durch und erläuterte sein Wissen dem Publikum. Er beschrieb erstmals das Kreislaufsystem, unterschied Venen von Arterien und Nerven, präsentierte erstmals eine allgemeine Darstellung des zentralen Nervensystems und der Geschlechtsorgane. Gemeinsam mit Erasistratos gründete Herophilos die Medizinische Hochschule in Alexandria mit dem ersten Institut für Anatomie in der Geschichte. Galen (2. Jhdt. v. Chr.) untersuchte die Anatomie von Affen und übertrug sie auf den Menschen, zudem erlangte er weitreichende Kenntnisse über den muskuloskelettalen Apparat durch die Versorgung verwundeter Soldaten und Gladiatoren. Fernab von Europa entstand im 1. Jhdt. v. Chr. in Indien das erste indische Medizinbuch, die Sushruta Samhita, in welchem eine Anleitung zur Durchführung einer Autopsie enthalten war. Auf diesem Werk basierend wurden in der Charaka Samhita 300 Knochen, 500 Muskeln, 210 Gelenke, der Aufbau des Herzens und 70 als Blutgefäße bezeichnete Kanäle beschrieben (3).

2.1.2 Früh- und Hochmittelalter

In den Jahrhunderten des Mittelalters verschwand das griechische Wissen nahezu gänzlich aus Europa und die Überzeugung, dass die Autopsie ein wichtiges wissenschaftliches Instrument darstellte, schwand. Jenes Wissen blieb jedoch in der islamischen Welt erhalten und zahlreiche antike Schriften aus Griechenland, Rom, Persien und Indien wurden durch persische Ärzte wie Yūhannā ibn Māsawayh ibn Masawayh (latinisiert Masojah, 9. Jhdt. n. Chr.), Anhänger der Bukhtishu-Familie und Abū Bakr Muḥammad-e Zakariyā-ye Rāzī (latinisiert Rhazes oder Rasis, 10. Jhdt. n. Chr.) in das Arabische übersetzt und weiterentwickelt (3, 5, 6). Letzterer widmete in seinem später ins Lateinische übersetzten Werk Kitāb al-Manṣūrī fī al-ṭibb 26 Kapitel der Anatomie und trug mit seiner Forschung in Neuroanatomie mit der Beschreibung von Hirn- und Spinalnerven zum weiteren Wissensgewinn bei. Der berühmte Arzt Abū 'Alī al-Ḥusayn ibn 'Abd Allāh Ibn Sīnā (latinisiert Avicenna, 11. Jhdt. n. Chr.) verfasste mit seinem Werk Kitāb al-Qānūn fī al-ṭibb (lat. Canon medicinae, Kanon der Medizin) eines der bis in das 18. Jhdt. n. Chr. einflussreichsten medizinischen Bücher. In fünf Hauptkapiteln beschrieb er die Theorie der Medizin, Arzneimittel und ihre Wirkungsweise, Pathologie und Therapie, Chirurgie und Allgemeinkrankheiten sowie die Produktion von Heilmitteln. Er systematisierte die Anatomie und schilderte eine detaillierte Beschreibung der funktionalen Neuroanatomie. Zudem schloss er aus dem Verständnis pathologischer Veränderungen auf Möglichkeiten der Therapie (3, 7-9). In der islamischen Welt wurden anatomische Kenntnisse in die praktische Chirurgie implementiert. So erprobte Abū Merwān 'Abdal-Malik ibn Zuhr (12. Jhdt. n. Chr.) chirurgische Verfahren an Tieren und wandte sie dann am Menschen an. Basierend auf seinen anatomischen Kenntnissen war er der Erstbeschreiber der Tracheotomie zur Rettung erstickender Patienten (3, 10).

2.1.3 Spätmittelalter

Im 13. Jhdt. n. Chr. wurden Dank der Regulierung des Ärzteswesens im Jahre 1240 durch Kaiser Friedrich II. die Anatomie und Chirurgie als offensichtlich notwendige ärztliche Kenntnisse allmählich zu obligatem ärztlichem Allgemeinwissen. Chirurgen mussten sich spezielles anatomisches Wissen aneignen, bevor es ihnen erlaubt war zu praktizieren. Kaiser Karl IV. machte die Durchführung von Autopsien zur Bedingung für jeden Medizinstudenten. Diese

wurden im Rahmen studentischer Vorlesungen durchgeführt oder zu wissenschaftlichen Zwecken, so bspw. 1286 in Cremona am Leichnam eines Pestopfers, um dessen Todesursache zu erforschen (3). 1302 wurde durch Bartholomeo de Varignana an der Universität von Bologna in Anwesenheit dreier weiterer Ärzte die erste forensische Expertenmeinung basierend auf einer Autopsie protokollarisch niedergelegt (11, 12), derzufolge andere Meinungen widerlegend eine Vergiftung des Opfers vorlag (3). Mit dem 1316 veröffentlichten Werk *Anathomiamundini* von Mondino de Lucci (1275-1326), der zudem die erste Sektionsanleitung verfasste, lag das erste große Anatomielehrbuch vor (3, 13). 1299 verbot Papst Bonifatius VIII durch die päpstliche Bulle *De Sepulturis* das Zerteilen und Abkochen menschlicher Leichen und Knochen und setzte deren Zuwiderhandlung unter die Strafe der Exkommunikation. Das Ziel des Papstes lag allerdings nicht in einem Verbot der Obduktion sondern der Sitte, den Leichnam fernab Verstorbener vor der Überführung in die Heimat zu zerteilen und abzukochen. So war es etwa auch verbreitet Leichenteile gefallener Kreuzfahrer abzutrennen, zu kochen und als Reliquien nach Europa zu überführen (3, 12-15). Auch wenn die päpstliche Bulle die Durchführung von Obduktionen zunächst einschränkte, wurden diese dennoch weiter durchgeführt und verhalfen Anatomen und Ärzten, ihr Wissen und ihre Fähigkeiten zu erweitern sowie den anatomischen Blick werdender und junger Ärzte an der geöffneten Leiche zu schulen (3, 13). 1339 wurden in Avignon aus Angst vor der Pest auf nachdrücklichen Wunsch des damaligen Papstes Sektionen durchgeführt. Sogar der Leibarzt von Papst Urban V, Guy de Chauliac, führte im 14. Jhdt. n. Chr. eine Vielzahl an Sektionen durch (13), aus welchen zahlreiche Beschreibungen von Hernien und anatomischen Relationen von Organen hervorgingen (3).

2.1.4 Neuzeit

Im 15. und 16. Jhdt. n. Chr. wurden anhand von Obduktionen weitere Pathologien beschrieben, darunter Steinleiden wie Uro-, Nephro- und Cholezystolithiasis. Zu Beginn des 16. Jahrhunderts änderte Berangario da Carpi die bis dahin gängige Methode der Autopsie. Der an der Universität von Bologna lehrende Professor war einer der wenigen, der eigenhändig über 100 Obduktionen durchgeführt hatte und verstand, dass neue Erkenntnisse nur dann generiert werden, wenn eine Obduktion nicht wie bislang dazu diente, in bestehenden Werken vorbeschriebene und während der Sektion von einem Vorleser

bspw. aus *Anathomia mundini* vorgetragene Strukturen wiederzuerkennen, sondern selbst während der Obduktion neue zu entdecken. Er veröffentlichte sein Werk „*Anatomia Carpi, Isagogae breves*“, das 1535 erschien und die Erstbeschreibung der Appendix vermiformis enthielt (3, 16, 17). Zur selben Zeit lebte auch Leonardo da Vinci (1452-1519), dessen Kenntnisse in Anatomie und über den menschlichen Körper aus Beobachtungen der Lebenden sowie von Toten entstammten. Er war mit Alessandro Benedetti und Marco Antonio della Torre, ein Professor für Anatomie in Pavia, bekannt. Dies verhalf ihm zur eigenhändigen Durchführung von mindestens 35 Autopsien, aus welchen eine detaillierte Beschreibung der Herzklappen und ihrer mechanischen Funktion hervorging. Ferner war er der erste, der arteriosklerotische Veränderungen in den Blutgefäßen älterer Menschen beschrieb. Aufgrund des Einflusses der Lehren von Galen unterliefen dem begabten Beobachter jedoch auch einige Fehler. So waren seine Zeichnungen sehr präzise für die einsehbaren Stellen, andere Darstellungen wie Poren im interventrikulären Septum nach Galen allerdings fehlerhaft. Antonio Benivieni aus Florence hatte über 100 Autopsien durchgeführt auf der Suche nach der verborgenen, nicht geheimen Ursache des Todes (3). Seine Notizen und Beschreibungen von interessanten Fällen und Autopsieprotokollen wurden 1507, fünf Jahre nach seinem Tod, von seinem Freund Rosati mit dem Titel „*De Abditis Morborum Causis*“ (Die verborgenen Ursachen von Krankheit) publiziert und gilt heute als eines der ersten Werke über anatomische Pathologie. 1514 wurde in Brüssel Andreas Vesalius (1514-1564) geboren. Dieser studierte bei Jacques Sylvius, einem Verfechter der Lehren von Galen, und zeigte schon bald sein großes Talent für Anatomie. Er führte zahlreiche Autopsien durch, in welchen er eine Vielzahl an Fehlern in Galens Lehre aufdeckte. Durch Zufall entdeckte er bei der Sektion eines Affen viele Ähnlichkeiten mit den Beschreibungen Galens und schloss daraus, dass dieser nie einen menschlichen Körper seziiert hatte, sondern all seine Erkenntnisse auf Vergleiche und Rückschlüsse tierischer Obduktionen beruhten. Die Erstellung seines Buches „*De humani corporis fabrica libri septem*“ basierte auf den Erkenntnissen aus menschlichen Obduktionen, wofür er sogar Leichname stahl, um sie zu Hause zu sezieren (3). Die Kirche übte großen Einfluss auf die Wissenschaft aus und stand neuen Kenntnissen skeptisch gegenüber. Der Arzt und Theologe Miguel Serveto (1511-1553), welcher erstmals den kleinen Kreislauf beschrieb, fiel 1553 der Inquisition zum Opfer. Interessanterweise wurde 1533 die vermutlich einzige Autopsie allein zur Klärung einer theologischen Fragestellung der katholischen Kir-

che durchgeführt. Nach der Geburt siamesischer Zwillinge, zweier Mädchen, die vom Umbilicus bis zum Thorax miteinander verbunden waren, war sich der zuständige Priester unsicher, ob in diesem Falle eine oder zwei Personen zu taufen seien. Nachdem der Kindsvater berichtet hatte, dass eines der Mädchen schreien kann, während das andere schwieg und eines schlafen kann, während das andere wachte, wurden beide Mädchen getauft. Der Priester war allerdings weiterhin unsicher und als die Mädchen nach acht Tagen verstarben, erfolgte eine Obduktion. Nachdem zwei vollständig angelegte Organsysteme vorgefunden wurden, konnte entschieden werden, dass wohl zwei Seelen vorlagen - die vermutlich einzige jemals postmortem durchgeführte Untersuchung zur Begutachtung der Seele des Verstorbenen (12, 18). In Padua, das im 16. Jhdt. als Hauptstadt der Anatomie galt, wurde 1594 das erste anatomische Operationstheater erbaut, das bis 1872 vor allem öffentlichen anatomischen Sektionen diente (Abbildung 1). Weitere Operationstheater entstanden in Leiden, Niederlande (1597), Frankfurt/Oder (1648) und in Altdorf in Deutschland (1650) (19).

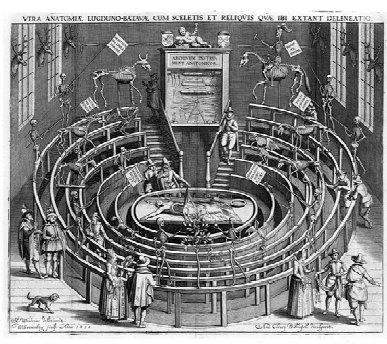


Abbildung 1: Das 1594 erbaute Teatro Anatomico in Padua (links) und das 1597 erbaute Theatrum Anatomicum in Leiden, Niederlande (rechts) (20, 21).

William Harvey (1578-1657) erkannte die zentrale Bedeutung des Vergleichs klinischer Observationen mit dem Sektionsbefund post mortem für das Verständnis von Krankheit. Er systematisierte die Autopsie und widmete den Organsystemen feste Zeitabschnitte zu, so dass der erste Tag dem Abdomen galt, der zweite Tag dem Thorax, am dritten Tag das Gehirn untersucht wurde, bis am Ende der Leichnam vollständig inspiziert war. 1613 wurde erstmals öf-

fentlich ein Fötus obduziert, der eine Malformation zeigte (19). Im 17. Jhdt. brach eine neue Ära der Medizin an, welche empirisch und experimentell nach neuen Erkenntnissen suchte. Es wurde begonnen, Organpathologien separat zu untersuchen und als Grund von Erkrankung zu sehen, nicht wie bisher als *Lusus naturae* (lat. Laune der Natur). Marcelo Malpighi (1628-1694), ein Anatomieprofessor der Universität Bologna, trug weitreichend zur Erforschung der Anatomie der Lunge und ihrer Funktion in der Oxygenierung des Blutes bei. Giovanni Maria Lancisi (1654-1720) beschrieb deutlich Pathologien wie Aneurysmata oder syphilitische Veränderungen am Herzen und erstellte die erste Klassifizierung von Herzkrankheiten (11, 19). Nicolas Tulp (1593-1674), Bürgermeister von Amsterdam und einer der anerkanntesten Chirurgen zu seiner Zeit, trug durch seine beliebten postmortalen öffentlichen Sektionen von zum Tode verurteilten Straftätern zu weitreichenden Kenntnissen in der Chirurgie bei und beschrieb zudem Krankheitsbilder wie Migräne und Cluster-Kopfschmerz (19, 22). Frederic Ruysch (1638-1731) gelang es, präparierte Organe mittels einer nur ihm bekannten Methode zu konservieren. Die Möglichkeit verschiedene Pathologien und Anomalien dauerhaft festzuhalten und seine Art, diese zu präsentieren, verhalf ihm zu großer Berühmtheit in ganz Europa. Seine Kollektionen anatomopathologischer Präparate wurden von Monarchen wie Peter dem Großen und August dem Starken gekauft (Abbildung 2) (19, 23).



Abbildung 2: Die Anatomie des Dr. Tulp, Rembrandt van Rijn, 1632 (links). Die Anatomiestunde des Dr. Frederick Ruysch, Jan van Neck, 1683 (rechts) (24, 25).

Hermann Boerhaave (1668-1738) legte großen Wert auf die Patientengeschichte und suchte die Bestätigung seiner Diagnose in Korrelation mit den

klinischen Symptomen. Wenn diese gefunden war, wurde die Sektion nicht weiter ausgeführt (11, 12). Demgegenüber stand die Methode von Gianbattista (Giovannbattista) Morgani (1682-1771), der die anatomische Pathologie entscheidend voranbrachte: Er verzichtete auf jegliche Spekulationen a priori und suchte, basierend auf klinischen Daten, für jegliche pathologische Symptomatik, die zur Bestätigung oder Erweiterung der Diagnose beitragen könnte. Er sammelte dadurch sämtliche pathologischen Befunde, welche einzeln betrachtet irrelevant schienen, in Kombination jedoch zu einer völlig neuen Betrachtungsweise verschiedener Krankheiten führten (12). Dies war der erste Versuch, schlüssig das Vorhandensein eines Zusammenhangs zwischen klinischer Symptomatik und anatomischem Befund zu belegen (19). Xavier Bichat (1771-1802) unterschied, ohne Mikroskop, 21 Gewebearten des menschlichen Körpers. Dies gelang mit seinen durch Sektionen erlangten Erkenntnissen und verschiedenen physikalischen und chemischen Verfahren, mit welchen er das Gewebe behandelte. Der sog. „Vater der Histologie“ richtete seine Aufmerksamkeit weg von den Organen hin zu deren Bestandteilen und war sich sicher, dass das Geheimnis um Gesundheit und Krankheit innerhalb der Gewebe des Körpers lag (12, 19). Etwa zur selben Zeit wirkten in Schottland die Ärzte William (1718-1783) und John Hunter (1728-1793) gemeinsam mit ihrem Neffen Matthew Baillie (1761-1823). Basierend auf ihrer Sammlung von Gewebeproben und dem Wissen durch Obduktionen schrieb Baillie 1793 das erste systematische Pathologiebuch. Er gilt als Erstbeschreiber der Transposition der großen Gefäße und des Situs inversus. In Paris trug Jean Nicolas Corvisart (1755-1821), der Leibarzt Napoleon Bonapartes, mit seinen Untersuchungen und Publikationen zu kardialen Pathologien entscheidend zum Kenntnisgewinn von Herzerkrankungen bei (19).

2.1.5 Die Entwicklung der modernen Pathologie

Im 19. Jhdt. beeinflusste der Fortschritt durch die Industrialisierung auch Bildung und Wissenschaft. Die Entwicklung bedeutete Spezialisierung, auch die Medizin war hiervon betroffen. Zu Beginn des 19. Jhdt. lag in den meisten größeren Krankenhäusern ein Sektionssaal vor und die Anatomopathologie wurde als Basis von Diagnostik und Krankheitslehre verstanden. Ärzte beschrieben Krankheitsentitäten genauer, entdeckten neue Erkrankungen und untersuchten zeitliche Abläufe im pathologischen Geschehen. Zeitgleich revolutionierten der Fortschritt in der Physiologie und Chemie sowie die Entwick-

lung des Mikroskops die Anatomie und Pathologie. Im Jahre 1819 wurde an der Universität Strasbourg das erste Institut für Pathologie gegründet mit Johann Friedrich Georg Lobstein (1777–1835) als ersten Professor für Pathologie (19, 26). Zwar wurde das Mikroskop bereits im 17. Jhdt. erfunden, jedoch stand es mit wenigen Ausnahmen wie Antoni van Leeuwenhoek (1632–1723), der rote Blutzellen, Protozoen und den N. opticus des Rinds untersuchte, oder Robert Hooke (1635–1703), der in seinem 1665 erschienen Werk „Micrographia“ erstmals den Begriff „Zelle“ verwendete, nicht im Fokus der Wissenschaftler (1, 27). Die Weiterentwicklung des Mikroskops im 18. und 19. Jhdt. mit immer besseren Linsen und dessen Einzug in die Medizin revolutionierte die Anatomie und Pathologie (1, 19, 27). So war es nun möglich, pathologische Grundideen wie Inflammation, Degeneration, Thrombose und Tumorstadium präziser zu untersuchen (12). Mit der Entdeckung lebender Zellen, welche ausschließlich durch die Erfindung des Mikroskops möglich war, erfuhr das biologische Wissen einen weiteren, entscheidenden Aufschwung (28). Bereits im Jahre 1844 postulierte John Hughes Bennett (1812–1875), dass die makroskopische Pathologie nicht mehr ausreiche und im Sinne der Wissenschaft um die mikroskopische Untersuchung der Gewebe erweitert werden müsse (12, 19, 29, 30). Der Durchbruch wurde unter dem entscheidenden Einfluss der beiden Pathologen Carl Freiherr von Rokitansky (1804–1878) und Rudolf Virchow (1821–1902) erreicht (Abbildung 3). Die Etablierung der Pathologie als eigene Disziplin innerhalb der Medizin und die Einführung der Histologie als festen Bestandteil der Pathologie stellten einen Meilenstein der damaligen Medizin und Wissenschaft dar (1, 19, 31).

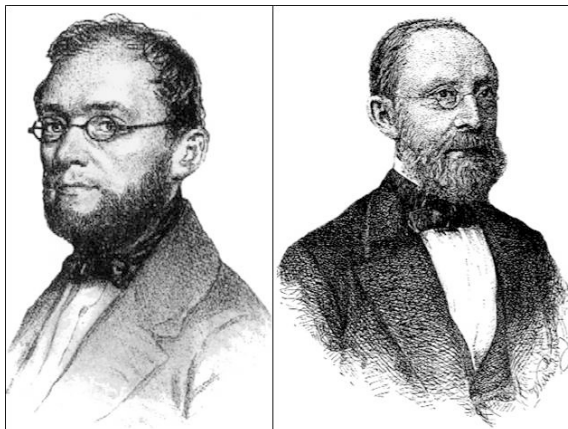


Abbildung 3: Zwei entscheidende Persönlichkeiten in der Entwicklung der modernen Pathologie: Der Wiener Carl Freiherr von Rokitansky (links), ein Verfechter der makroskopischen Pathologie mit über 30.000 selbst durchgeführten Obduktionen und der Berliner Rudolf Virchow (rechts), der die Lichtmikroskopie in die Pathologie einführte (1).

Die feingewebliche Analyse unter dem Mikroskop setzte neue Maßstäbe nicht nur in der Entwicklung der Medizin und insbesondere der Pathologie, sondern für die gesamte Wissenschaft (19). Rokitansky war ein Verfechter der makroskopischen anatomischen Pathologie und führte über 30.000 Obduktionen durch (1, 2, 12, 31-35). Als Professor an der Universität Wien plädierte er für die Errichtung eines eigenständigen Instituts für Pathologie als Bestandteil jedes Krankenhauses und führte die Entwicklung der Pathologie als eigenständige Fachrichtung der Medizin voran (1, 32). Rudolph Virchow leitete mit seinem herausragenden Beitrag zur Zelltheorie eine völlig neue Dimension der Untersuchung und des Verständnisses von Krankheiten ein (1, 2, 12, 30-32, 34). Sein 1858 erschienenes Werk „Die Cellularpathologie“, das 1860 ins Englische übersetzt wurde, zählt zu den wichtigsten Monographien der Medizingeschichte (1, 2, 32) und läutete durch seine noch heute gültige Beschreibung der Ursache von Krankheit aufgrund Veränderungen auf zellulärer Ebene den Beginn der „neuen Pathologie“ ein (1, 36). Weiterhin war Virchow ein Verfechter dafür, die Handhabung von Gewebe und das Handwerk des Pathologen zu professionalisieren. So bestand er auf die vollständige Obduktion mit der Untersuchung aller Organe des Patienten, nicht wie damals üblich nur das durch den Kliniker beschriebene (vermutlich) erkrankte Organ (30, 37). Des Weiteren wies er Chirurgen an, entgegengesetzt der damals üblichen Praxis, operativ entfernte Tumore meist ohne Dokumentation wegzuworfen (1, 38), sämtliches intraoperativ entnommenes Gewebe aufzubewahren und zu beschreiben. Darüber hinaus förderte er die systematische Ausbildung junger Pathologen und initiiert die Durchführung von Obduktionen nach einem festen Ablauf durch einen Pathologen - nicht wie zu seiner Zeit üblich durch den Kliniker selbst (1, 12, 30-32, 39).

Die bahnbrechenden Arbeiten auf dem Gebiet der Histopathologie in der zweiten Hälfte des 19. Jhdt. führten allmählich zur Entwicklung einer eigenen Fachrichtung und der Gründung eigenständiger Institute und Lehrstühle für Pathologie. Insbesondere auf dem Gebiet der Neoplasien gewann die Histologie zunehmend an Bedeutung. Das Mikroskop veränderte das Verständnis von Krankheit von Grund auf, vom gesamten Organ hin zur einzelnen Zelle. Die Histotechnologie wurde durch die enthusiastische Untersuchung mannigfaltiger Gewebearten und der Entdeckung einer Vielzahl an Färbemethoden stetig vorangetrieben (Abbildung 4).

färbung durch den Würzburger Franz Böhmer, der Alaun als Beizmittel verwendete, wodurch Hämatoxylin basisch wird und somit saure Nukleinsäuren bindet mit dem Ergebnis einer Zellkernfärbung. Abgesehen von kleinen Modifikationen wird diese Methode noch heute angewandt (1, 41, 42, 45). Neben der Anwendung in Geweben wurden Färbemittel auch in anderen biologischen Proben wie Blut eingesetzt. Paul Ehrlich (1854-1915), der die Anilinfärbung entdeckte, färbte in den späten 1870er Jahren Blutaussstriche mit sauren, basischen und neutralen Farbstoffen und stellte fest, dass sich verschiedene Immunzellen mit nur einem dieser Stoffe anfärben ließen. Hieraus entwickelten sich die Begriffe „eosinophil, basophil und neutrophil“ – eine Revolution, da Zellen, Strukturen und Krankheiten nun anhand ihrer mikroskopischen Eigenschaften beschrieben wurden (1, 45).

Große Anstrengungen wurden unternommen, um Methoden zu entwickeln, Gewebe reproduzierbar zuzuschneiden und anzufärben. Anfangs wurden die Schnitte händisch mit einem scharfen Messer oder einer Rasierklinge angefertigt. Das Mikrotom wurde in den 1830er Jahren erfunden und erlaubte das feine Zuschneiden einer reproduzierbaren Schnittdicke. Das 1885 eingeführte Rotationsmikrotom stellt den Vorreiter des heutigen elektrischen Mikrotoms dar (1). Das Härten von Gewebe zur Optimierung des Zuschnitts begann im frühen 19. Jhd. mit dem Gefrieren der Probe in Salzwasser, was jedoch nicht den gewünschten Erfolg zeigte (1, 46, 47). Die in den 1870er Jahren eingeführten Gefriermikrotome führten letztlich zur Entwicklung des Gefrierschnittes, welcher intraoperativ erstmals durch den Amerikaner William Henry Welch (1850-1934) im Rahmen einer Brustoperation eingesetzt wurde – die Schnittanfertigung mittels Kohlendioxid-Gefriermikrotom dauerte jedoch länger als die Operation selbst. Thomas Stephen Cullen (1868-1953) gelang 1895 Dank seiner Kenntnisse im Härten und Gefrieren von Gewebe das erste Schnellschnittverfahren mittels Gefrierschnitttechnik, indem er die Gewebeprobe vor dem Schneideprozess in Formalin vorfixierte (1, 47, 48). Louis B. Wilson gelang 1905 durch die Anfärbung von Gefrierschnitten mit Methylenblau eine Diagnosestellung innerhalb weniger Minuten (1, 47, 49-51). Die Einbettung in Paraffinwachs wurde 1869 durch Edwin Klebs (1834-1913) beschrieben. Um den Einbettprozess zu optimieren, war das Härten und Dehydrieren des Gewebes notwendig; bald gehörte die Verwendung von Chromsäure (1844), Chrom-Osmium-Acetatsäure und das Zenker'sche Gemisch zum Alltag eines Histologen. Die Gewebefixierung mit Glutaraldehyd wurde 1893 erstmals durch Ferdinand Blum (1865-1959) und seinen Vater Isaac Blum (1833-1903)

beschrieben und gehört heute zu den meistverwendeten Fixiermitteln, insbesondere in der Elektronenmikroskopie (1, 36, 52).

Friedrich von Recklinghausen (1833-1910), ein Schüler Virchows, war einer der führenden Köpfe der Pathologie in der letzten Dekade des 19. Jhdt. Neben seiner bekannten Beschreibung der Neurofibromatose hinterließ er mit seinen bedeutenden Arbeiten zu primärem und sekundärem Knochenwachstum, Knochenpathologie, Thrombose, Embolie, Infarzierung, Degeneration, Hämochromatose, Adenomyomatosis des Uterus und vielen anderen seine Spuren auf nahezu jedem Gebiet. Edwin Klebs (1834-1913), ebenfalls ein Schüler Virchows, untersuchte Bakterien und Infektionskrankheiten und entdeckte 1878 die infektiöse Ursache der Endokarditis. Julius Cohnheim (1839-1884) und Carl Weigert (1845-1904) trugen maßgeblich zum Verständnis von Immunabwehr, Degeneration und Nekrose bei. Zu Beginn des 20. Jhdt. nahm das Tempo der pathologischen Wissenschaft rapide zu mit einem beinahe exponentiellen Ausmaß an neuen Entdeckungen. So wurde um die Jahrhundertwende die Sternberg-Reed-Zelle entdeckt und zahlreiche heute zur Basisausstattung der Histopathologie zählende Methoden und Gerätschaften erstmals beschrieben. Die erste Hälfte des 20. Jhdt. wurde durch Persönlichkeiten geprägt wie Ludwig Aschoff (1866-1942), der das retikuloendotheliale System entdeckte, und Nikolai Anitschkov (1885-1964), der die Histopathologie des Herzens bei rheumatischem Fieber beschrieb und die Rolle des Cholesterins in der Arteriosklerose aufdeckte. Neue Erkenntnisse zu Nierenerkrankungen wurden durch die Zusammenarbeit des Nephrologen Franz Volhard (1872-1950) und des Pathologen Karl Theodor Fahr (1877-1945) gewonnen, während Paul Klemperer (1884-1964) im Jahre 1942 seine Entdeckungen zur „Kollagenkrankheit“ vorstellte. Der Pathologe Karl Landsteiner (1868-1943) begründete durch seine Forschungsarbeit den Grundstein für die Blutgruppentypisierung und stellte damit die Weichen für die Bluttransfusion und letztendlich auch für die Organtransplantation. Vom Beginn des 20. Jhdt. bis heute nahm die Geschwindigkeit der Entdeckungen mit nachfolgenden Veränderungen nochmals zu. Andauernde Fortschritte auf den Gebieten Gewebefixierung, Einbetten, Schneiden, immunhistochemische Färbung, molekulare Methoden, Mikroskopie und Bildverarbeitung führten zu einer kontinuierlichen Verbesserung diagnostischer Verfahren und genaueren Diagnosen. Viele neue Fachzeitschriften entstanden, um diese Neuerungen zu dokumentieren, darunter subspezialisierte Journals, welche die gesamte Breite der Pathologie abdecken. Zahlreiche neue Entitäten wurden beschrieben, weiterentwickelt, klassi-

fiziert, erneut beschrieben und reklassifiziert als neue Methoden weitere Einblicke gewährten. Revolutionäre Entdeckungen wie die Immunfluoreszenz durch Albert Coons (1912-1978), monoklonale Antikörper durch George Köhler (1946-1995) und César Milstein (1927–2002) sowie die Polymerase-Kettenreaktion durch Kary Mullis (*1944) hatten einen enormen Einfluss und führten zur Redefinition einer Vielzahl morphologiebasierter Krankheitsklassifikationen, wie beispielsweise die fortlaufenden Änderungen von Tumorklassifikationen zeigen. Diese Entdeckungen haben die heutige pathologische Praxis geformt (36).

Im Gegensatz zum Aufschwung der Histologie unterlag die Durchführung von Obduktionen im 20. und 21. Jhdt. erheblichen Schwankungen. Die Anzahl an Autopsien stieg zunächst merklich an, als der Amerikaner Richard Clarke Cabot (1868-1939) im Jahre 1910 nachwies, dass Autopsien durch die Diskrepanz der klinischen Diagnose und des pathologischen Befundes hervorragend dazu dienen können, post mortem Fehldiagnosen aufzudecken. Dies bestärkte weiter den Einfluss der Pathologie auf die Klinik, tatsächlich wurde der Ruf amerikanischer Krankenhäuser im frühen 20. Jhdt. anhand deren Autopsierate beurteilt (19, 53). Nach Einzug radiologischer Methoden in die Klinik in den 1980er Jahren verlor die Autopsie an Bedeutung und die Anzahl an Sektionen sank zunächst, erfuhr jedoch zu Beginn des 21. Jhdt. einen erneuten Aufschwung als deren fortwährend bedeutende Rolle für das medizinische Lernen aufgezeigt und eine direkte Korrelation zwischen einer steigenden Anzahl an Autopsien eines Krankenhauses und dem Rückgang klinischer Fehldiagnosen nachgewiesen wurde (19, 45, 54-56). Trotz aller modernen Verfahren und fortschrittlicher Technologien - auch heute kommt der Obduktion von Patienten durch einen gut ausgebildeten Pathologen nach wie vor eine hohe Notwendigkeit und Bedeutung zu (45).

Die Entwicklung neuer Technologien in den letzten Jahrzehnten und die damit entstanden Erkenntnisse um das Krankheitsverständnis, von der zellbasierten über die genbasierte Krankheitsidee hin zu einzelnen Molekülen und deren Zusammenspiel, wirft die Frage auf, ob wir bereits wieder einer neuen Revolution gegenüberstehen, wie etwa die nächste Pathologie, die Nanopathologie? Die Zukunft wird es zeigen (36). Fest steht, die moderne Pathologie versteht sich als Weichensteller in der Behandlung des Patienten, die durch die Diagnose der Erkrankung die Richtung der klinischen Therapie entscheidend vorgibt. Hierfür stehen neben der klassischen Obduktion und der Histologie weitreichende Methoden zur Verfügung wie die Immunhistochemie, Elektronen-

mikroskopie, Immunfluoreszenz und Molekularpathologie. Zudem wurden die Methoden der Gewebefixierung und Einbetttechniken weiterentwickelt. Nicht zu vergessen ist zudem der technische Fortschritt mit hochentwickelten Mikrotomen und Mikroskopen (1, 36). Die Expertise des Pathologen ist im klinischen Alltag mit ihrer großen Rolle für den Patienten genauso gefragt wie in der Entwicklung neuer Methoden und der naturwissenschaftlichen Forschung, nicht nur beschränkt auf die Medizin, sondern im gesamten Spektrum der Natur- und Lebenswissenschaften. So wird die moderne Erforschung noch nicht verstandener Mechanismen und Pathologien mittels des Zusammenspiels interdisziplinärer Expertise vorangebracht, wobei der teils aufwändigen feingeweblichen, molekularbiologischen oder elektronenmikroskopischen Untersuchung des Gewebes durch den Pathologen in der fachdisziplinübergreifenden Zusammenarbeit eine bedeutende Rolle zukommt (57-67). Beispielsweise hat die professionelle Beurteilung der Gewebereaktion auf Implantate und Biomaterialien und deren Einfluss auf feingewebliche Prozesse eine erhebliche Bedeutung für Forschung und Klinik der operativen Fächer, sowohl zur Aufdeckung zugrundeliegender Pathomechanismen verschiedener Erkrankungen und Heilungsprozesse, als auch zur Entwicklung und Optimierung therapeutischer Materialienimplantate (60, 68-70). Auch in der Entwicklung bildgebender Verfahren ist die Pathologie ein unverzichtbares Instrument. Der feingewebliche Vergleich mit radiologischen Messungen stellt eine weit verbreitete und entscheidende Hilfe dar zur Beurteilung und Optimierung radiologischer Methoden (71-75).

2.2 Fixierung und histologische Gewebeaufbereitung

Bei der histologischen Aufbereitung durchlaufen Gewebeproben verschiedene Schritte wie Fixierung, Einbettung, Schneiden und Färbung. Dabei unterscheiden sich die methodischen Schritte abhängig von der Art der Färbung und der Art der Fixierung und Einbettung, beispielsweise in Paraffin oder als Gefrierschnitt (76).

2.2.1 Die Fixierung des Gewebes

Durch die Fixierung sollen Gewebe und Zellen in ihrem ursprünglichen und momentanen Zustand erhalten bleiben. Es sollen sowohl die Größe als auch

die Form aller Bestandteile unverändert bleiben. Die Fixierung sollte die Moleküleigenschaft, Antigenität, Enzymaktivität und Färbbarkeit nach Möglichkeit nicht verändern, vielmehr sollte sie auf die folgende Präparation vorbereiten, sprich das Gewebe festigen und schneidbar machen. Somit ist die Fixierung einer der wichtigsten Prozessierungsschritte in der Präparation biologischen Materials für die mikroskopische Untersuchung (77). Allerdings gibt es leider keine Fixiermethode, die diese Kriterien gleichmäßig erfüllt. Aufgrund der Unterschiede in pH-Wert, Wassergehalt und Osmolarität, welche in verschiedenen Kompartimenten, Organellen und im Zytoplasma vorherrschen, reagieren die verschiedenen Zellkomponenten und Gewebe durch ihre unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften nicht gleich auf eine Fixierung. Dies erfordert die Wahl einer der Struktur angepassten Fixierweise. Je höher die Auflösung ist, mit der das Präparat durch das Mikroskop betrachtet werden soll, desto besser muss die Struktur erhalten bleiben und desto genauer muss die Fixierung auf das Präparat abgestimmt werden. Für die meisten Anwendungen und insbesondere für die lichtmikroskopische Untersuchung ist allerdings eine optimale Fixierung nicht nötig (77). Ebenfalls abhängig von den chemischen und physikalischen Eigenschaften der jeweiligen Umgebung verändert sich physiologischerweise das Gewebe Post mortem aufgrund verschiedener Mechanismen: So kommt es durch Wasserausstrom oder Austrocknung zur Schwellung oder Schrumpfung des Gewebes und die noch vorhandene Aktivität zelleigener Enzyme führt zur Autolyse. Diese Prozesse müssen schnellstmöglich unterbunden werden, um ein naturgetreues histologisches Bild zu erhalten (76).

2.2.1.1 Die chemische Fixierung mit Formalin

Die Standardmethode der Gewebefixierung stellt heute die chemische Fixierung mit Formalin - Formaldehyd in isotonischer, gepufferter Kochsalzlösung - in Konzentrationen zwischen 4-10% dar. Hierfür wird das Gewebe schnellstmöglich nach Entnahme in ein 50-faches Volumen Formalin eingelegt. Formalin bewirkt eine Vernetzung und leichte Denaturierung der Proteine. Nicht proteinassoziierte Kohlenhydrate und Lipide werden hierbei nicht fixiert (76). Polysaccharide werden indirekt fixiert und kleine Moleküle wie Zucker, Peptide und Ionen bleiben bei einer chemischen Fixierung meist nicht erhalten. Formalin durchdringt auch größere Präparate und erhält Form, Farbe und Struktur sehr gut (77).

2.2.1.2 Die physikalische Fixierung durch Gefrieren

Neben der chemischen Proteinvernetzung stellt rasches Gefrieren eine physikalische Möglichkeit der Gewebefixierung dar. Die Gewebeprobe wird hierzu in flüssigen Stickstoff getaucht, was zu einem sehr raschen Gefrieren und dadurch zum Erhalt des Gewebes führt. Die hart gefrorene Gewebeprobe kann dann mit einem Mikrotom geschnitten und der Gewebeschnitt im Anschluss sofort gefärbt werden (76). Das schnelle Abkühlen auf tiefe Temperaturen beendet sofort die Stoffwechselvorgänge und fixiert dadurch die Moleküle und Strukturen in lebensnaher Konformation und Lokalisation. Dabei muss allerdings auf kontrollierte Bedingungen geachtet werden, damit eine destruktiv wirkende Eiskristallbildung ausbleibt. Sind diese Bedingungen gegeben, gehört die Gefrierfixierung zu den Verfahren, mit welchen man ein fast realistisches Bild des Gewebes zum Zeitpunkt der Fixierung erreichen kann (77).

2.2.2 Das Einbetten in Paraffin

Zur Herstellung dünner Schnitte von 2 bis 7 μm muss das Gewebe in eine Konsistenz überführt werden, die hart genug für deren Anfertigung ist. Hierfür wird das Gewebe mit erwärmtem und somit flüssigem Paraffin durchtränkt. Nach dessen Abkühlen härtet das Paraffin aus, wodurch ein Gewebe-Paraffin-Block fester Konsistenz entsteht. Von diesem ist es nun möglich, die gewünschten Schnitte anzufertigen. Paraffin ist nicht mit Wasser mischbar, so dass das Gewebe vor der Einbettung in Paraffin entwässert werden muss. Das Wasser wird dem Gewebe durch den Ersatz mit Ethanol entzogen. Hierfür erfolgt das schrittweise Zuführen des Gewebes an Ethanol mittels Bädern aufsteigender Ethanolkonzentrationen von 50% bis 100%. Im Anschluss wird Ethanol durch ein Intermedium wie Xylol und dieses schließlich durch Paraffin ersetzt, das nach dem Abkühlen aushärtet (76).

2.2.3 Das Schneiden, Färben und Eindecken

Der Paraffinblock wird nun in ein Mikrotom eingespannt, welches mit Spezialklingen ausgestattet ist, und so die Anfertigung von Schnitten in gewünschter Dicke (zumeist zwischen 2 und 7 μm) ermöglicht. Die Paraffinschnitte werden dann auf Objektträger aufgetragen und müssen, da das anschließende Färben meist in wässrigen Lösungen stattfindet, vor dem kommenden Schritt entparaf-

finiert werden. Hierfür wird das Paraffin mittels Xylol aus den Präparaten herausgelöst. Das anschließende Färben erfolgt durch Einstellen des Objektträgers in eine Färbelösung. Die überschüssige Farbe wird danach durch Spülen entfernt und die Schnittpräparate mit einem Deckglas und eines an der Luft aushärtenden Mediums eingedeckt. Neben der Konservierung des Schnitts verbessert dieses Procedere aufgrund der lichtbrechenden Eigenschaften von Deckglas und Eindeckmedium auch das histologische Bild unter dem Mikroskop (76).

2.2.4 Histologische Standardfärbungen

Das Ziel histologischer Standardfärbungen ist es, verschiedene Gewebestrukturen so hervorzuheben, dass sie voneinander unterschieden werden können. Dies wird durch die unterschiedliche Affinität der Farbstoffe zu bestimmten Zell- und Gewebebestandteilen möglich. Hierbei werden entweder hauptsächlich die Kerne (z. B. bei Eisenhämatoxylin), Kerne und Zytoplasma (z. B. bei Hämatoxylin-Eosin, HE) oder zusätzlich Kollagenfasern (z. B. bei Bindegewebsfärbungen durch Azan, Masson, Goldner oder van Gieson) hervorgehoben. Elastische Fasern wiederum können durch spezielle Elastika-Färbungen dargestellt werden. Eine Spezialform stellt die Färbung retikulärer Fasern dar, die durch eine Silberimprägnation, beispielsweise mittels Versilberung nach Gomori, ermöglicht wird. Die Silberionen einer Silbersalzlösung werden durch oxidierte Aldehydgruppen zu metallischem Silber reduziert und färben sich schwarz, wodurch retikuläre Fasern und die Basalmembran dargestellt werden können. Am häufigsten jedoch sind elektrostatische Interaktionen zwischen dem Färbemittel und dem jeweiligen Gewebebestandteil ausschlaggebend. So werden **basische, kationische Farbstoffe** an anionische Komponenten gebunden, wie beispielsweise DNA, RNA oder sulfatierte Glykosaminoglykane, und werden daher als basophil bezeichnet. Sie werden u. a. zur Kernfärbung eingesetzt. Der gängigste basische Farbstoff ist Hämatoxylin, dessen Oxidationsprodukt Hämatein bei der Färbung als Komplexverbindung mit einem Metallion (Al^{3+} , Fe^{3+} , Cr^{3+}) vorliegt. Die Metallionen sind die Träger der Positivladung und werden meist in Form von sog. Alaunen der Färbelösung beige-fügt. Handelt es sich dabei um Aluminium-Alaun, wird der Komplex aus Farbstoff und Metallion als Hämalalaun bezeichnet, bei einem Eisenion als Eisenhämatoxylin und bei Chromionen als Chromhämatoxylin. Andere basische Farbstoffe wie Methylenblau oder Azur sind in den Färbemischungen enthalten, die

zur Färbung hämatologischer Präparate (Pappenheim-Färbung) und lymphatischer Gewebe verwendet werden (Giemsa-Färbung). Kresylviolett und Toluidinblau dienen der in der Neuroanatomie angewandten Nissl-Färbung, Alcianblau findet bei der Färbung stark anionischer Substanzen wie sulfatierten Glykosaminoglykanen und sulfatierten Muzinen Anwendung. Hingegen binden **saure, anionische Farbstoffe** an kationische Komponenten, wie verschiedene Proteine, Hämoglobin, Mitochondrien sowie diverse Speicher- und Sekretgranulae, und werden daher als azidophil oder eosinophil bezeichnet. Sie werden u. a. zur Zytoplasmafärbung verwendet, wobei neben dem am häufigsten angewandten sauren Farbstoff Eosin auch Stoffe wie Azokarmin, Säurefuchsin, Ponceau, Orange G oder Pikrinsäure eingesetzt werden (76).

2.2.5 Äquivalenzbild und Artefaktbildung

Das Bild fixierten Gewebes ist nicht identisch mit dem lebender Zellen, da durch die Anfertigung histologischer Präparate Kunstprodukte und Artefakte entstehen. Bei gleichbleibender Methode sind viele Eigenschaften dieser Kunstbilder allerdings reproduzierbar und für die betreffende Zellart kennzeichnend, beispielsweise die Basophilie des Zytoplasmas einer ribosomenreichen Zelle. Diese reproduzierbaren Eigenschaften erlauben Rückschlüsse auf den zu Lebzeiten herrschenden Zustand und werden als Äquivalenzbild bezeichnet. Als Artefakt werden hingegen nicht reproduzierbare Veränderungen bezeichnet, welche durch insuffiziente Fixier- und Präparationstechniken entstehen und keine sicheren Rückschlüsse auf den lebenden Zustand erlauben. Beispiele hierfür sind die mechanische Schädigung des Gewebes bei der Probengewinnung, autolytische Veränderungen infolge verspäteter Fixierung, Farbstoffniederschläge oder Risse, Scharten und Falten im Schnittpräparat. Auch die Schrumpfung oder Quellung des Gewebes bspw. durch nicht-isotonische Fixierlösungen führt zur Artefaktbildung (76).

2.3 Der Paraffin- und der Gefrierschnitt

Die verschiedenen Fixiermethoden bringen unterschiedliche Vor- und Nachteile mit sich. Paraffin durchdringt unterschiedlich schnell das Gewebe abhängig von dessen Konsistenz und Zusammensetzung, im Durchschnitt jedoch ca. 1 mm pro Stunde (78), wodurch ausreichend viel Zeit für diese Fixiermethode

notwendig ist, um eine vollständige Fixierung zu gewährleisten. Die Gefrierfixierung hingegen ist nach wenigen Sekunden abgeschlossen und das Gewebe kann nach der anschließenden Schnitterfertigung im Mikrotom sofort gefärbt werden. Die im Anschluss an die Paraffinfixierung notwendigen weiteren Aufbereitungsschritte vor der eigentlichen Färbung entfallen (76). Diese sehr rasche Methode wird daher in der Schnellschnittdiagnostik der Pathologie angewandt, um bspw. intraoperative Aussagen über die Dignität eines Gewebes treffen oder den Abstand zum Tumorrand im Falle einer Resektion bewerten zu können (79-86). Neben dem Zeitgewinn werden im Rahmen der Gefrierfixierung Proteine in geringerem Maße denaturiert verglichen zur Paraffinfixation, sodass Enzymaktivitäten und Antigeneigenschaften besser erhalten bleiben. Zudem werden beim Gefrieren, anders als bei der Paraffinfixierung, Lipide nicht extrahiert. Andererseits ist der Strukturverlust des Gewebes im Paraffinschnitt dem des Gefrierschnittes überlegen (76). Zudem kann sich die Fixier- und Aufbereitungsmethode auf die Ansprechbarkeit auf immunhistochemische Verfahren und die Möglichkeit der Durchführung molekularpathologischer Methoden wie der Polymerasekettenreaktion auswirken (82, 87-101). Auch kann die intraoperative Schnellschnittdiagnose von der richtigen, im Nachhinein im Paraffinschnitt gestellten Diagnose abweichen. Aus diesen Gründen muss nach einer Schnellschnittdiagnostik mittels Gefrierschnitt stets noch eine nachfolgende Verifizierung der Diagnose mittels Paraffinschnitten erfolgen (84, 102-106). Obwohl berichtet wurde, dass verschiedene humane Gewebearten während der Anfertigung von Gefrierschnitten schrumpfen, wurde das genaue Ausmaß dieses Effektes bisher kaum untersucht (107).

2.4 Das Phänomen der Gewebeschrumpfung

Das Schrumpfen von Gewebe vor und nach der Gewebefixierung und -aufbereitung ist ein weithin bekanntes Phänomen in der mikroskopischen Anatomie und der Pathologie (77, 108, 109). Biologische Präparate schrumpfen bei Luftexposition sowie durch histologische Aufbereitungsschritte wie der Fixierung in Medien wie Formalin oder Alkohol, dem Einbetten in Paraffin oder dem Schneidevorgang. Dies hat zur Folge, dass sich die Gewebegröße *in vivo* von der nach Exzision und Fixierung vorliegenden Präparatgröße unterscheidet (110-112). Die genaue Ursache der fixier- und aufbereitungsbedingten Schrumpfung sowie deren zugrundeliegender Mechanismus sind bisher nicht geklärt, könnten aber mit einer Miniaturisierung von Zellorganellen zusammen-

hängen (110, 113, 114). Der Effekt der Gewebeschrumpfung wurde bereits in unterschiedlichen pflanzlichen, tierischen und menschlichen Gewebearten untersucht, wie in den Blättern und Wurzeln verschiedener Pflanzenspezies (115, 116), in Arterien (117-120), glatter und quergestreifter Muskulatur (121, 122), Perikard (123), Gewebe des Gastrointestinaltraktes (124) wie Ösophagus (125, 126), Kolon und Rektum (127, 128), Nervengewebe (129-132), Kopf-, Mund-, Hals- und Nackengewebe (133-140), Prostata (141, 142), gynäkologischem Gewebe (143), Zahn- (144, 145) und Knorpel- und Knochengewebe (146-150), in der Haut und in benignen und malignen dermalen Läsionen (112, 151-154) sowie in ophthalmologischem Gewebe wie dem Endothel der Kornea (109, 114, 155, 156), dem Nervus opticus (110) und dem Uveamelanom (157). Auch in Lungengewebe wurde ein fixierbedingter Schrumpfeffekt beschrieben (158-161). Das Ausmaß der Schrumpfung im Zuge der histologischen Gewebeaufbereitung hängt eng mit dem Gewebetyp, der Art und Dauer der Fixierung sowie der gewählten Aufbereitungsmethode zusammen und unterliegt hierbei verschiedensten Einflussfaktoren (77, 110). So führen die Fixierung in Formalin, welche eine Denaturierung von Proteinen bedingt, und die nachfolgende Entwässerung des Gewebes durch Alkohol zur Gewebeschrumpfung (110, 122). Größenveränderungen können durch physikalische Einflüsse entstehen wie das rasche Erwärmen eines gefrorenen Gewebeschnittes bei der Kontaktaufnahme mit dem warmen, raumtemperierten Objektträger (162). Interessanterweise kann sogar die Dauer der Exposition an Raumluft nach Entnahme des Gewebes einen erheblichen Einfluss auf den Schrumpfeffekt ausüben (110, 127). Die Gewebeschrumpfung ist nicht nur in der Histologie von Bedeutung, sondern spielt auch in weiteren morphologischen Verfahren wie der Elektronenmikroskopie eine große Rolle (115, 121, 163-169). Insbesondere beim Vergleich von Gewebeproben, die nach unterschiedlichen Methoden aufbereitet wurden, kann der fixierungs- und aufbereitungsbedingten Gewebeschrumpfung eine erhebliche Bedeutung zukommen (124, 162). Obwohl eine fixier- und aufbereitungsbedingte Gewebeschrumpfung auch in Lungengewebe bekannt ist (158, 159), wurde der Schrumpfungseffekt von Bronchialgewebe und der Vergleich der beiden am häufigsten angewandten Aufbereitungsmethoden, Paraffin- und Gefrierschnitt, bislang nicht untersucht. Die vorliegende Arbeit repräsentiert die erste vergleichende, histologische Untersuchung der Bronchienwanddicke im Paraffin- und Gefrierschnitt mit dem Ziel der Erörterung ob im Schweinebronchus ein Größenunterschied zwischen diesen beiden histologischen Methoden vorliegt.

2.5 Histologie und Computertomographie der Bronchialwand

Die Visualisierung der Atemwegswand mittels Computertomographie repräsentiert ein sinnvolles und zuverlässiges Instrument zur nicht invasiven Darstellung der Atemwege (170). Neben dem Beitrag zu einem besseren Verständnis verschiedener Lungenerkrankungen erweitert diese Methode den Rahmen diagnostischer Möglichkeiten (171-176). Für die akkurate Atemwegsquantifizierung wurden bereits unterschiedlichste Methoden erprobt und diese Entwicklungen sind noch immer Gegenstand der aktuellen Forschung (177, 178). Zur Bewertung und Weiterentwicklung bildgebender Verfahren ist es notwendig radiologische Daten mit histologischen Daten zu vergleichen (71, 179, 180). Zahlreiche, heute im klinischen Alltag fest verwurzelte Entwicklungen wie die Sonographie der Carotiden (181, 182) und die Mammographie (106) entstanden durch den Vergleich von Bildgebung mit dem histologischen Korrelat. Auch konnten hierdurch Limitierungen in der Brauchbarkeit radiologischer Methoden aufgedeckt werden, wie die Beurteilung der Infiltration des N. opticus bei Retinoblastompatienten (183) oder die radiologische Charakterisierung von Raumforderungen der Adnexen (184). In der Beurteilung der Lunge und Diagnose von Lungenerkrankungen wie dem pulmonalen Adenokarzinom bildet die Computertomographie ein sinnvolles Verfahren zur Festlegung der besten chirurgischen Herangehensweise (185) durch die Vermessung der Tumorgröße und Bestimmung der Tumorlokalisation (186). Allerdings erfordert der Schrumpfeffekt des Gewebes nach Entnahme, welche auch in Lungengewebe stattfinden (158, 159, 161, 187-192), die Untersuchung von Volumenveränderungen bedingt durch Fixierung und histologischer Aufbereitung. Demgegenüber ist die radiologische Vermessung der Atemwege aktuell Gegenstand von Entwicklung und Verbesserung, sodass der Vergleich mit der Histologie eine sinnvolle und häufig zur Überprüfung des radiologischen Ergebnisses verwendete Methode darstellt (71, 180, 193). Allerdings wurde bislang nie die histologische Methode im Hinblick auf die Größenveränderung mit einbezogen. Um einen Einblick in verschiedene Größenverhältnisse in der Vermessung der Bronchialwand anhand verschiedener histologischer und radiologischer Verfahren zu erhalten, wurden in der vorliegenden Arbeit erstmals die Messungen der Bronchialwanddicke mittels Gefrierschnitt, Paraffinschnitt, Mikro-CT und CT miteinander verglichen.

Bronchialwandvermessung in der modernen Diagnostik
Vergleich histologischer und bildgebender Verfahren im
Tierversuch

Schmitt, C.

2017, XIV, 96 S. 11 Abb., Softcover

ISBN: 978-3-658-16190-3