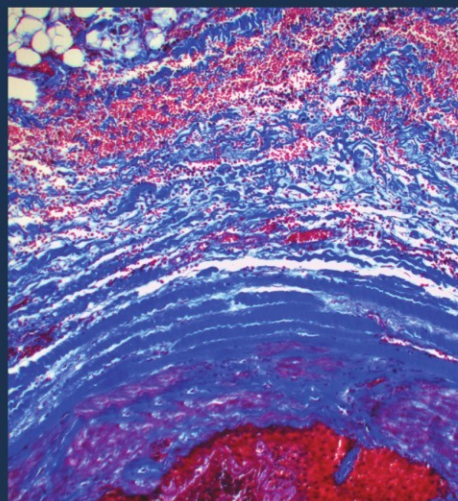


Gudrun Lang

Histotechnik

Praxislehrbuch für die
Biomedizinische Analytik

2. Auflage



Gudrun Lang

Histotechnik

Praxislehrbuch für die
Biomedizinische Analytik

Zweite, überarbeitete und aktualisierte Auflage

SpringerWienNewYork

Gudrun Lang

Biomedizinische Analytikerin, Linz, Österreich

Das Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersetzung, des Nachdruckes, der Entnahme von Abbildungen, der Funksendung, der Wiedergabe auf photomechanischem oder ähnlichem Wege und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Buch berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

Produkthaftung: Sämtliche Angaben in diesem Fachbuch/wissenschaftlichen Werk erfolgen trotz sorgfältiger Bearbeitung und Kontrolle ohne Gewähr. Insbesondere Angaben über Dosierungsanweisungen und Applikationsformen müssen vom jeweiligen Anwender im Einzelfall anhand anderer Literaturstellen auf ihre Richtigkeit überprüft werden. Eine Haftung des Autors oder des Verlages aus dem Inhalt dieses Werkes ist ausgeschlossen.

© 2006 und 2013 Springer-Verlag/Wien

SpringerWienNewYork ist ein Unternehmen von
Springer Science + Business Media
springer.at

Satz: le-tex publishing services GmbH, Leipzig, Deutschland
SPIN: 86057960

Mit 213 Abbildungen

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek.

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

ISBN 978-3-211-33141-5 1. Aufl. SpringerWienNewYork
ISBN 978-3-7091-1189-5 SpringerWienNewYork

Geleitwort zur ersten Auflage

Diagnosen, die auf Basis histologischer Präparate erstellt werden, besitzen den höchsten Sicherheitsgrad und die größte Aussagekraft gegenüber allen sonstigen diagnostischen Untersuchungen am Patienten. Außerdem haben sie einen weiteren, nicht zu unterschätzenden Vorteil, nämlich den der niedrigen Kosten. Wie gelangt man eigentlich zu einem guten oder – besser gesagt – schönen, histologischen Schnitt, Ziel und Wunschtraum eines jeden Pathologen? Die Verarbeitung eines Präparates beginnt bekanntlich bereits bei seiner Entnahme. Wie kann falsche Behandlung, die zu Schäden am Präparat führt, bereits bei der Entnahme vermieden werden? Schließlich kann die beste histologische Technik eine einmal eingetretene Veränderung nicht mehr wettmachen. Diese und viele weitere Fragen beantwortet dieses Buch. Beste technische Verarbeitung stellt nicht nur die Grundlage für einen qualitativ hochwertigen Befund dar, sondern ist unabdingbar für alle weiterführenden Untersuchungen wie Immunhistochemie und PCR.

Seit längerer Zeit ist zu diesem Thema im deutschen Sprachraum keine so umfassende Publikation erschienen. Daher wird dieses Buch nicht nur den Biomedizinischen AnalytikerInnen in Ausbildung und bei der täglichen Laborarbeit eine wertvolle Stütze sein, sondern sollte auch allen angehenden PathologInnen helfen, sich mit der Technik der Aufarbeitung von Gewebe auseinanderzusetzen. Nur wer die beste technische Qualität kennt und weiß, wie man sie erreichen kann, ist im Stande unzureichendes Material zurückzuweisen und damit Fehler zu vermeiden.

Linz, Februar 2006

Univ.-Doz. Dr. Gerhard Syré

Vorwort zur zweiten Auflage

Ein Satz, den man häufig beim Studium von histotechnischen Texten über Färbungen findet, ist: „Das Rezept wurde empirisch ermittelt.“ Viele dieser Rezepte sind mittlerweile über hundert Jahre alt. Viele Histologen, Anatomen, Pathologen haben sich damit beschäftigt, auch ein paar Histochemiker und kaum ein Molekularbiologe. Trotzdem findet man eben diesen Satz immer noch in unserer modernen histotechnischen Literatur und leider fehlt meist die entsprechende histochemische/zellbiologische Erklärung der Methode. Eine große Zahl dieser Rezepte ist über die Jahre wieder in Vergessenheit geraten oder hat sich ganz einfach erübrigt. Die wenigen, die sich im modernen Histodiagnostiklabor durchgesetzt haben, sind eigentlich überschaubar. Es ist auch irgendwie auffällig, dass sich manche Prinzip-Beschreibungen durch das Histotechnik-Jahrhundert hindurch kaum verändert haben. So verwende ich selbst auch – in Ermangelung von besseren Erkenntnissen – teilweise alte Begriffe und Erklärungen.

Diese Technik, auf deren Basis einschneidende Diagnosen erstellt werden, ist erschreckend unpräzise und schleierhaft. Denken wir nur an die Formaldehydfixierung, die mehr oder weniger per Zufall entdeckt und deren genaue Wirkungsweise immer noch nicht restlos aufgeklärt ist. Dazu kommen unsere vielgeliebten, laborspezifischen Eigenheiten – also das genaue Gegenteil der Standardisierung.

Geht es Ihnen auch wie mir? Als Biomedizinische Analytikerin im 21. Jahrhundert würde ich es lieber sehen, wenn wir unsere tägliche Arbeit auf wissenschaftlich fundierte und im Detail erforschte Grundlagen stellen könnten. Ehrlicherweise muss man zugeben, dass die histologische Routinediagnostik immer noch auf dem Äquivalentbild beruht. Das bedeutet, dass der Histologe davon ausgehen kann, dass sich Gewebe- und Gewebeveränderungen immer gleich darstellen, sofern die Vorbehandlung des Präparats die gleiche war. Und die Beurteilung dieses Äquivalentbildes ist zudem eine subjektive, auf Erfahrung beruhende Fähigkeit.

Wer kann sich der ungelösten Fragen annehmen? Ich finde es ungeheuer spannend, was sich histochemisch in den Gewebeproben und -schnitten abspielt. Die Beschäftigung mit dieser Problematik ist sehr anspruchsvoll. Der Forscher benötigt Wissen in Histologie, Histochemie, organischer und anorganischer Chemie, Zellbiologie, Molekularbiologie u. v. m. Mit einem Augenzwinkern muss man eingestehen, dass es wohl „viel Plag und wenig Ehr“ bedeutet, sich der wissenschaftlichen Histotechnik zu widmen.

Und trotzdem. Die klassische Histotechnik ist ein überaus wichtiges Element in Diagnostik und Forschung. In vielen Fällen stellt sie die Basis für die modernsten Therapiewege da. Und nebenbei ist sie auch noch kostengünstig. Keine Angst – Histotechnik funktioniert, was im Laufe des letzten Jahrhunderts ständig bewiesen wurde.

Ich hoffe, dass Sie in diesem Histotechnikbuch, einen modernen Ansatz in den jeweiligen Erklärungen entdecken und Sie neugierig macht, die zellbiologischen Zusammenhänge selbst zu erforschen. Auch die neueste Histotechnik, sprich Molekularpathologie im Histo-diagnostiklabor, hat ihren Platz bekommen und deutet auf zukünftige Entwicklungen hin.

Apropos Zukunft. Der klassischen, diagnostischen Histotechnik wurde schon öfters ein frühes Ableben vorausgesagt. Schon vor Jahren prognostizierte man, dass sich die Herstellung und morphologische Begutachtung von Gewebeschnitten als nicht mehr notwendig erweisen würde. Bis jetzt hat sich das allerdings nicht bewahrheitet und ich denke, auch in den nächsten Jahren werden histodiagnostische Laboratorien ihre Daseinsberechtigung haben. Im Besonderen durch die Bestimmung von Tumorzelleigenschaften auf Protein- oder DNA-Ebene, um die sinnvolle Anwendung neu entdeckter Behandlungswege direkt zu prüfen, bieten sich große Entwicklungschancen.

Die Organisation innerhalb von histologischen Labors könnte sich jedoch ändern. Es gibt Bestrebungen in unterschiedliche Richtungen. Einerseits werden kleinere Labors aus wirtschaftlichen Gründen immer mehr zu Groß-Histologien zusammengefasst, wo man dann durch Aufgliederung der Tätigkeiten auch weniger qualifizierte Mitarbeiter auf eingeschränkte Prozessschritte schulen kann und eine Art Fließband-Histologie erzeugt. Gleichzeitig versucht man die Probenmassen durch „kontinuierlichen Workflow“ möglichst schnell durchzuschleusen und kommt dabei in die Gefahr Mindest-Fixierzeiten zu unterschreiten, wenn die „Diagnose am selben Tag“ zur obersten Zielsetzung erklärt wird. Andererseits gibt es Stimmen, die immer lauter eine Standardisierung, die Einhaltung von Mindest-Fixierzeiten und die Anerkennung der Histotechnik als hochkomplexe und hochqualifizierte Untersuchungsmethode fordern. Die Zusammenhänge zwischen Präanalytik, Fixierung und validen Untersuchungsergebnissen werden herausgestellt. Referenzzentren leiden heute schon unter der Anforderung auf Proben, die reichlich unterschiedlich vorbehandelt wurden, ihre Analysen durchzuführen. Szenarien, wo in „Histofabriken“ Routinehistotechnik betrieben wird und in Speziallabors die weiterführenden Analysen angeschlossen werden, sind denkbar und bestimmt auch schon Realität. Ob dies der Qualität und somit der Patientenbehandlung zuträglich ist, muss erst entschieden werden.

Der Inhalt von *Histotechnik* wurde aktualisiert und etwas umgestaltet, im Bestreben, die Übersichtlichkeit und Verständlichkeit zu verbessern.

Linz, Juli 2012

Gudrun Lang

Vorwort zur ersten Auflage

Das histologische Labor löst bei Vertretern unserer Berufsgruppe sehr unterschiedliche Reaktionen aus. Die eine Hälfte denkt an unangenehme Gerüche, monotone Tätigkeiten und unappetitliche Eindrücke. Die andere Hälfte denkt an einen sehr abwechslungsreichen Tagesablauf, an handwerkliches Geschick, an Teamwork und verantwortungsvolles Arbeiten. Als langjährige „Histotechnikerin“ teile ich die Begeisterung für diesen Bereich der Laboratoriumsmedizin und halte ihn für anspruchsvoll, auch wenn die Biomed. AnalytikerIn hier nicht selbst befundet. Die histologische Technik ist Grundlage für die Erstellung von pathologischen Befunden aber auch Basis für Forschungsarbeiten und Studien. Erkenntnisse daraus beeinflussen wiederum die Entwicklung neuer Therapieformen.

Die Verantwortung den PatientInnen gegenüber ist hoch. Wir sind uns als HistotechnikerInnen bewusst, dass hinter jedem Präparat ein Mensch steht, der ungeduldig auf Antworten wartet. Proben, die uns überantwortet werden, sind Unikate und unwiederbringlich. Im Gegensatz zu bspw. Blutproben kann ein auffälliges Gewebeareal kein zweites Mal exzidiert werden. Wir verarbeiten die Gewebeproben über eine Vielzahl an Arbeitsschritten zu mikroskopierbaren Präparaten. Dabei befolgten wir schon immer Gesetze der Qualitätssicherung, noch bevor sie als solche bezeichnet wurden. Dies geschieht in dem Bewusstsein, dass auch die besten Mediziner aus schlecht verarbeitetem Material nichts mehr ablesen können und so eine Befunderstellung unmöglich wird. So bilden im pathologischen Institut MedizinerInnen und TechnikerInnen ein Team im Dienste des Patienten.

Mit diesem Buch möchte ich den umfangreichen theoretischen Hintergrund unserer Tätigkeit beleuchten. Ich habe mich dabei bemüht, vor allem relevante Fakten aus der Sicht der Biomedizinischen AnalytikerIn hier einzubringen. Im Vordergrund stehen die Abläufe im modernen, histodiagnostischen Labor.

Vielleicht wird es verwundern, dass es sich hier nicht um ein „Rezeptbuch“ handelt. Der Grund liegt einerseits im Umfang, den genaue Testvorschriften mit entsprechenden Tipps und Tricks einnehmen würden, andererseits darin, dass veröffentlichte Rezepte entweder durch eigene Erfahrung oder durch genaue Quellen legitimiert sein sollten. Aufgrund der Vielzahl an funktionierenden Verarbeitungswegen kann man die eigenen nicht unbedingt als die ultimativ besten darstellen, wenn man die anderen in der Praxis nicht kennt. Ich habe deshalb Rezepte als „Beispiele“ angeführt bzw. nur allgemein beschrieben.

Die „Basis“-Kapitel wie Fixierung, Einbettung, Schneide- und Färbetechnik sind recht ausführlich behandelt. Die „modernen“ Methoden wie Zellkultur, In-situ-Hybridisierung, PCR, Microarrays sind eher theoretisch umrissen. Es handelt sich bei diesen Bereichen um Spezialgebiete, die aus der Routine ausgelagert sind oder erst seit kurzem ihren Weg hinein finden.

Für einen Einblick in die Farbenvielfalt der Histologie empfehle ich das Internet als leicht zugängliche Quelle. Eine Auswahl von interessanten Links mit Gewebebildern, Beschreibungen und Online-Protokollen habe ich im Anhang zusammengestellt.

Ansprechen möchte ich mit diesem Buch Mitarbeiter im histologischen Labor, die die theoretischen Grundlagen ihrer Arbeit nicht außer Acht lassen wollen. Allen, die neugierig sind, möchte ich den Zugang etwas erleichtern. Es ist mir wichtig, dass sich unsere Berufsgruppe als Träger des histotechnischen Wissens sieht. Und ich denke, dass dieses Buch für Studenten der Laboratoriumstechnik als praktische Lernunterlage dienen kann.

Mein Dank geht vor allem an meine Familie, die meine ungeteilte Aufmerksamkeit doch für längere Zeit entbehren musste. Ich bedanke mich auch bei Frau Kreuzberger für das Korrekturlesen, bei Frau Fliesser für ihre Unterstützung bei der EM-Technik, und bei Herrn Univ.-Dozent Syré für seine einleitenden Worte. Bei allen Firmen bedanke ich mich für das freundliche Bereitstellen der Geräteabbildungen. Außerdem danke ich all jenen, die mir zeigten, wie wichtig eine selbstständige Fortbildung, das berufliche Selbstbewusstsein und der Mut zur Umsetzung einer Idee sind.

Linz, Juni 2006

Gudrun Lang

Inhaltsverzeichnis

1	Aufgaben der histologischen Technik / Pathologie	1
2	Ablauf in einem histodiagnostischen Labor	5
3	Biochemie	9
3.1	Aufbau der Zelle	10
3.1.1	Zellkern (Nukleus)	10
3.1.2	Nukleolus	10
3.1.3	Cytoplasma	11
3.1.4	Endoplasmatisches Reticulum (ER)	11
3.1.5	Ribosomen	11
3.1.6	Mitochondrien	11
3.1.7	Lysosome	12
3.1.8	Peroxisome	12
3.1.9	Golgi-Apparat	12
3.1.10	Zentriol	12
3.1.11	Paraplasma	12
3.1.12	Zellmembran	12
3.1.13	Mikrovilli	13
3.2	Gewebe-Bausteine	13
3.2.1	Wasser	14
3.2.2	Salze	14
3.2.3	Proteine	15
3.2.4	Kohlenhydrate	22
3.2.5	Lipide	27
3.2.6	Nukleinsäuren	29
3.2.7	Bindegewebeaufbau	30
3.3	Zusammenfassung	33
4	Untersuchungsmaterial	35
4.1	Gewinnungsart	36
4.2	Präanalytik – Faktoren der Vorbehandlung	38
4.2.1	Einsenderichtlinien	38
4.2.2	Gewünschte Vorbehandlung durch den Chirurgen	38
4.2.3	Art des Fixiermittels	40
4.2.4	Menge des Fixiermittels – Einsendegefäße	40
4.2.5	Identifikation und Beschreibung der Probe – Etiketten, Einsendeschein	40
4.2.6	Probentransport	41
4.3	Fixierungszustand	41

4.3.1	Fixiertes Gewebe	41
4.3.2	Natives, unfixiertes Material	41
4.4	Vitalzustand	44
4.4.1	Tote Zellen, totes Gewebe	44
4.4.2	Lebende Zellen	44
4.5	Sonstiges Probenmaterial	44
4.5.1	Probenmaterial von Obduktionen	44
4.5.2	Probenmaterial von Tieren	45
4.5.3	Probenmaterial von Pflanzen	45
5	Fixierung	47
5.1	Faktoren der Fixierung	48
5.2	Fixierungsartefakte	50
5.3	Fixierung der Gewebe-Bausteine	51
5.3.1	Proteine	51
5.3.2	Lipide	53
5.3.3	Kohlenhydrate	53
5.3.4	Nukleinsäuren	53
5.4	Fixiermittel	54
5.4.1	Formaldehyd	54
5.4.2	Andere gebräuchliche Fixative	65
5.4.3	Eigenschaften der einzelnen Fixative – Übersicht	71
5.4.4	Übersicht der Fixative nach dem Untersuchungsziel	73
5.5	Andere Formen der Fixierung	73
5.5.1	Trocknen	73
5.5.2	Gefrieren	74
5.5.3	Gefriertrocknen	75
5.5.4	Gefriersubstitution	76
5.5.5	Kritische-Punkt-Trocknung	76
5.5.6	Bedampfen	76
5.5.7	Phasentrennung	76
5.5.8	Mikrowelleneinsatz bei der Fixierung	77
6	Verarbeitung von hartem Gewebe	79
6.1	Entkalkung	81
6.1.1	Entkalkung durch Säure	81
6.1.2	Entkalkung durch Chelatbildung	82
6.1.3	Prüfung der Entkalkung	83
6.1.4	Vor- und Nachbehandlung der Entkalkung	84
6.1.5	Beschleunigung der Entkalkung	84
6.1.6	Erweichen von Knorpel und Horn (Nägel, Haare)	85
6.1.7	Einbettung von entkalktem Gewebe	85
6.1.8	Schneiden von entkalktem Gewebe	85

6.1.9	Oberflächenentkalken	85
6.1.10	Färbung von entkalktem Gewebe	85
6.1.11	Kalkhartes Untersuchungsmaterial im Histodiagnostiklabor	86
6.2	Mazeration	88
6.3	Hartschnitttechnik – Hartschlifftechnik	88
6.3.1	Geräte zur Präparatherstellung	88
6.3.2	Beispiele für Knochenverarbeitung	89
6.3.3	Gefrierschnitte von unentkalkten Präparaten	90
6.3.4	Färbungen an unentkalkten Schliffpräparaten	90
6.3.5	Färbungen an Methacrylatschnitten von unentkalkten Knochenbiopsien	91
6.3.6	Fluoreszenz-Markierung in Knochen	92
6.3.7	Autoradiografie	92
6.3.8	Kontaktradiografie	92
6.3.9	Histomorphometrische Methoden am unentkalkten Knochen	92
7	Makroskopische Begutachtung – vom Fläschchen in die Kassette	95
8	Einbettungsprozess	101
8.1	Paraffinwachseinbettung	103
8.1.1	Beispiel eines Einbettungsprotokolls	103
8.1.2	Faktoren des Einbettungsprozesses	103
8.1.3	Prozessschritte	105
8.1.4	Automation	108
8.1.5	Ausgießen, Einblocken (Embedding)	111
8.1.6	Multigewebeblock (Tissuearray)	113
8.1.7	Rückführen	114
8.2	Gelatine-Einbettung	114
8.3	Agar-Einbettung	115
8.4	Celloidin-Einbettung (Nitrocellulose)	116
8.5	Polyethylenglykol-Einbettung (PEG)	117
8.6	Polyesterwachs-Einbettung	118
8.7	Kunststoff-Einbettung	119
8.7.1	Prinzip	120
8.7.2	Kunststoff-Typen	122
8.8	Übersicht – Processing-Reagenzien	129
8.8.1	Nachbehandlung bei Fixierung mit anderen Fixantien außer neutral gepuffertem Formalin	129
8.8.2	Dehydrations-Reagenzien	130
8.8.3	Clearing-Reagenzien	130
8.8.4	Reagenzien für kombinierte Entwässerung und Clearing-universelle Lösungsmittel	131
8.8.5	Einbettungsmedien	131

9	Mikrotomie	133
9.1	Einbettmedien – Schnittdicken	134
9.2	Mikrotom	134
9.2.1	Schlittenmikrotom	135
9.2.2	Rotationsmikrotom	137
9.2.3	Kryostat	138
9.2.4	Ultramikrotom	138
9.2.5	Gefriermikrotom	139
9.2.6	Rocking Mikrotom (Schaukelmikrotom)	139
9.2.7	Sägemikrotom	139
9.2.8	Vibratom	140
9.3	Mikrotommesser	140
9.3.1	Stahlmesser	141
9.3.2	Einmalklingen	143
9.3.3	Wolframcarbidmesser	143
9.3.4	Glasmesser	143
9.3.5	Diamantmesser	144
9.3.6	Saphirmesser	145
9.4	Schneidetechnik	145
9.4.1	Schneidewinkel	146
9.4.2	Herstellen von Paraffinschnitten	147
9.4.3	Herstellen von Gefrierschnitten	153
9.4.4	Schneiden am Ultramikrotom	157
9.4.5	Herstellen von Sägepräparaten	161
9.4.6	Herstellen von Schliffpräparaten	162
9.5	Anhaften der Schnitte am Objektträger	162
9.5.1	Adhäsive	163
9.5.2	Tape-Transfersystem	165
9.6	Laser Capture Microdissection (LCM)	166
10	Histologische Färbung	169
10.1	Geschichtliches	170
10.2	Farbstoffe	171
10.2.1	Chemische Struktur	171
10.2.2	Numerische Deskriptoren von Farbstoffen	176
10.2.3	Elektrische Ladung / Säure-Base-Verhalten von Farbstoffen	176
10.2.4	Kernfarbstoffe	177
10.2.5	Cytoplasmafarbstoffe	178
10.3	Färbetheorie	178
10.3.1	Faktoren der Färbereaktion	179
10.3.2	Bindungstypen der Färbereaktion	185
10.4	Behandlung der Schnitte vor der Färbung	190
10.4.1	Formalin-fixiertes-Paraffin-eingebettetes Gewebe (FFPE)	190

10.4.2	Andere Fixantien und Einbettungsmedien	191
10.5	Färbeprotokolle	191
10.5.1	Begriffe	192
10.5.2	Hinweise für die Praxis	193
10.5.3	Mikrowelle in der Färbetechnik	194
10.5.4	Alphabetische Aufstellung der Spezialfärbungen nach Färbesubstrat	194
10.6	Hämatoxylin – Eosin – Färbung	197
10.6.1	Hämatoxylin	197
10.6.2	Eosin	203
10.6.3	Protokoll und Färbeergebnis HE-Färbung	203
10.7	Trichromfärbung	205
10.7.1	Geschichtliches	205
10.7.2	Färbesubstrat	205
10.7.3	Farbstoffe der Trichromfärbung	207
10.7.4	Farbstoffbindung	208
10.7.5	Färbetheorien	209
10.7.6	Masson-Trichrom-Färbung	211
10.7.7	Van-Gieson-Färbung	212
10.7.8	Chromotrop-Anilinblau-Färbung nach Gömöri (CAB)	213
10.7.9	MSB-Färbung (Martius-yellow-Solubel Blue-Brillant Crystal)	213
10.7.10	SFOG-Färbung nach Mallory/Cason	214
10.8	Silberimprägnation	215
10.8.1	Silberimprägnation nach Gömöri – Gitterfaserfärbung	217
10.8.2	Perjodsäure-Silbermethenamin-Imprägnation nach Gömöri/Jones – Basalmembranfärbung	218
10.9	Darstellung der elastischen Fasern	219
10.9.1	Weigert's Resorcin-Fuchsin-Färbung	219
10.9.2	Verhoeff'sche Färbung	220
10.10	Lipid-Darstellung	220
10.10.1	Sudan-III-Färbung	221
10.11	Kohlenhydrat-Darstellung	222
10.11.1	Perjod-Acid-Schiff'sche Reaktion nach McMannus	222
10.11.2	Best's Carmin-Färbung	225
10.11.3	Alcianblau-Färbung	225
10.11.4	Müller-Mowry-Färbung (Kolloidales Eisen, Hale-Färbung)	226
10.11.5	Azur A-Färbung / Toluidinblau-Färbung	227
10.11.6	Kohlenhydrat-Darstellung mit Lektinen	227
10.12	Romanowsky-Giemsa-Färbung	228
10.13	Kongorotfärbung nach Highman – Amyloidfärbung	230
10.14	Pigment-Darstellung	231
10.14.1	Berliner-Blau-Reaktion – Eisenfärbung	232
10.14.2	Silberimprägnation nach Fontana-Masson – Melaninfärbung	233
10.14.3	Schmorl-Reaktion – Lipofuszin-färbung	233

Inhaltsverzeichnis

10.14.4	Hall-Färbung (Fouchet) – Bilirubinfärbung	234
10.14.5	von Kossa-Silberimprägnation – Kalziumnachweis	234
10.14.6	Alizarinrot S-Färbung – Kalziumfärbung	235
10.14.7	Rhodanin-Färbung – Kupferfärbung	235
10.15	Mikroorganismen-Darstellung	235
10.15.1	Gramfärbung	236
10.15.2	Ziehl-Neelsen-Färbung – säuerfeste Stäbchen	236
10.15.3	Silberimprägnation nach Grocott-Gömöri (GMS) – Pilze, Pneumocystis	237
10.15.4	Warthin-Starry-Versilberung – Spirochäten	238
10.16	Darstellung neurologischer Strukturen	239
10.16.1	Kresylechtfärbung – Nissl Substanz Färbung	240
10.16.2	Versilberung nach Bielschowsky – Axonfärbung	240
10.16.3	Luxol-Fast-Blue nach Klüver-Barrera – Myelinscheidenfärbung	241
10.16.4	PTAH-Färbung (Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin nach Mallory) – Astrozytenfärbung	241
10.17	Nukleinsäuren-Darstellung	241
10.17.1	Feulgenreaktion – DNA-Färbung	242
10.18	Darstellung von biogenen Aminen	243
10.19	Darstellung funktioneller Gruppen	243
10.20	Knochenfärbungen	243
10.21	Nachbehandlung der Schnitte	244
10.22	Färbeautomaten	247
10.22.1	Zitadellenfärber	247
10.22.2	Linearfärber	247
10.22.3	Robotfärber	248
10.22.4	Tellerfärber	248
10.23	Färbung in der Elektronenmikroskopie	249
11	Enzymhistochemie	251
11.1	Enzyme	252
11.2	Indikationen	253
11.3	Fixierung	253
11.4	Nachweisprinzip	254
11.4.1	Diazo-Reaktion	254
11.4.2	Tetrazolium-Reaktion	255
11.4.3	Metall-Präzipitationsreaktion	257
11.4.4	Farbige Substrate	257
11.4.5	Praxis-Tipps	257
11.5	Phosphatasen	257
11.5.1	Alkalische Phosphatase	257
11.5.2	Saure Phosphatase	258
11.5.3	Glucose-6-Phosphatase	259
11.6	Esterasen	259

11.6.1	Unspezifische Esterasen.....	259
11.6.2	Lipasen	260
11.6.3	Acetylcholinesterase (AChE, ACE)	260
11.6.4	Cholinesterase.....	261
11.6.5	Naphtol AS-D Chlorazetatesterase	261
11.6.6	Peptidasen und Proteinasen.....	261
11.7	Oxidoreductasen	262
11.7.1	Succinodehydrogenase (SDH, Bernsteinsäuredehydrogenase).....	264
11.7.2	Coenzym abhängige Dehydrogenasen.....	264
11.7.3	Diaphorasen	265
11.7.4	Peroxidasen	265
11.7.5	Cytochromoxidase.....	267
11.7.6	Tyrosinase (DOPA-Oxidase).....	268
11.7.7	Aminoxidase (Monoaminoxidase, MAO).....	268
12	Immunhistochemie	269
12.1	Prinzip	270
12.2	Diagnostische Anwendung der Immunhistochemie	271
12.3	Antikörper	272
12.3.1	Antikörper sind Glykoproteine.....	273
12.3.2	Monoklonal – Polyklonal	274
12.3.3	Spezifität des Antikörpers	274
12.3.4	Affinität / Bindungsstärke des Antikörpers	275
12.3.5	Reaktionstemperatur – Inkubationszeit	275
12.4	Marker	276
12.4.1	Enzyme	276
12.4.2	Fluorochrome	276
12.4.3	Biotin	276
12.4.4	Enzymkonjugierte Polymere	277
12.4.5	Radioisotope	278
12.4.6	Kolloidale Metalle	278
12.4.7	Quantum Dots.....	278
12.5	Fixierung, Processing, Schneiden in der Immunhistologie	278
12.6	Antigen-Demaskierung	280
12.6.1	Andauung durch proteolytische Enzyme.....	281
12.6.2	Hitze.....	281
12.6.3	Kombination von Hitze und Enzymandauung	283
12.7	Reaktionspartner	283
12.7.1	Antigen	283
12.7.2	Primärer Antikörper.....	283
12.7.3	Sekundärer Antikörper / Brückenantikörper	285
12.7.4	Enzymkomplexe/-konjugate	285
12.7.5	Chromogene	285

12.7.6	Gegenfärbung.....	286
12.8	Methoden	286
12.8.1	Direkte Methode (Ein-Schritt-Methode)	287
12.8.2	Indirekte Methode (Zwei-Schritt-Methode).....	288
12.8.3	Drei-Schritt-Methode	289
12.8.4	Unmarkierte-Antikörper-Methode (PAP, APAAP)	289
12.8.5	ABC-Methode (Avidin-Biotin-Complex)	290
12.8.6	LAB / LSAB-Methode (Labelled-Strept-Avidin-Biotin).....	291
12.8.7	Zwei-Schritt-Polymermethode	291
12.8.8	Doppelfärbungen	293
12.9	Amplifikationsmethoden	294
12.9.1	Amplifikation durch Mehrschritttechnik.....	294
12.9.2	Amplifikation durch Imidazol	294
12.9.3	Amplifikation mit biotinyliertem Tyramid	294
12.9.4	Amplifikation durch Silberpräzipitation bei Gold-Labeling-Methoden.....	294
12.10	Hintergrund-Färbung	295
12.10.1	Hydrophobe und elektrostatische Wechselwirkungen	295
12.10.2	Endogene Enzymaktivität	295
12.10.3	Endogenes Biotin.....	296
12.10.4	Spezifische Hintergrundfärbung	297
12.10.5	Autofluoreszenz	297
12.10.6	Sonstige Ursachen.....	297
12.11	Qualitätssicherung in der Immunhistologie	298
12.11.1	Positivkontrollen	298
12.11.2	Negativkontrollen	299
12.11.3	Troubleshooting.....	299
12.12	Bearbeitung von zytologischem Material und Gefrierschnitten	300
12.13	Automation	301
12.14	Begriffe	303
13	In-situ-Hybridisierung	305
13.1	Anwendungen	306
13.2	Prinzip und Methoden	308
13.2.1	Sondentypen.....	310
13.2.2	Sondenherstellung und Marker.....	311
13.3	Ablauf	312
13.3.1	Gewebe-Vorbehandlung	312
13.3.2	Denaturierung.....	314
13.3.3	Hybridisierung	314
13.3.4	Stringentes Waschen.....	315
13.3.5	Detektion	315
13.3.6	Gegenfärbung.....	317
13.3.7	Puffer	317

13.3.8	Protokoll-Beispiel für DNA-ISH	317
13.3.9	Kontrollen.....	318
13.3.10	Auswertung Interphasen-ISH.....	319
13.3.11	Hintergrundfärbung	319
13.3.12	Kunststoffschnitte, Gefrierschnitte	320
13.4	Automation	320
13.5	In-situ-PCR	320
13.6	Begriffe	321
14	Molekularpathologie	323
14.1	Extraktion von Nukleinsäuren aus fixiertem Gewebe	324
14.2	PCR	326
14.3	Gelelektrophorese	326
14.4	Mutationsanalyse	327
14.4.1	Real-time PCR	328
14.4.2	Pyrosequenzierung	328
14.4.3	Sanger Sequenzierung.....	329
14.4.4	Mutationsanalysen mit Festphasen-Hybridisierung	330
14.5	OSNA	331
14.6	Microarrays	331
15	Zellkultur	335
15.1	Technik	336
15.1.1	Kulturgefäße	337
15.1.2	Kulturmedien	337
15.1.3	Methoden.....	338
15.2	Anwendungsbeispiele	343
15.2.1	Toxizitätstest	343
15.2.2	Virusnachweis	344
15.2.3	Chromosomenpräparation	344
15.3	Gewebe- und Organkulturen	344
15.4	Begriffe	345
16	Mikrowellentechnik	347
16.1	Mikrowellen-Physik	348
16.2	Faktoren der Energieaufnahme	349
16.2.1	Resonanz des Körpers.....	349
16.2.2	Leitfähigkeit des Materials	349
16.2.3	Dipolarität	349
16.2.4	Relaxationszeit	349
16.2.5	Erwärmung	349
16.2.6	Dielektrizitätskonstante.....	350
16.2.7	Eindringtiefe	350

16.3	Temperatursteigerung	350
16.4	Mikrowellenherde	351
16.4.1	Vorsichtsmaßnahmen beim Umgang mit Mikrowellenherden	351
16.4.2	Leistungsregelung.....	351
16.4.3	Mikrowellenprozessor	352
16.5	Praktisches Arbeiten mit Mikrowellen	352
16.6	Anwendungen	353
16.6.1	Stabilisierung von unfixiertem Gewebe durch Mikrowellen	353
16.6.2	Mikrowellenunterstützte Fixierung mit Fixativen	353
16.6.3	Mikrowellen zur Gewebeeinbettung mit Paraffin	354
16.6.4	Mikrowellen zur Entkalkung.....	355
16.6.5	Mikrowellen und Färben	355
17	Mikroskopie	357
17.1	Hellfeldmikroskop	358
17.2	Dunkelfeldmikroskop	359
17.3	Phasenkontrastmikroskop	359
17.4	Interferenzkontrastmikroskop	359
17.5	Polarisationsmikroskop	359
17.6	Fluoreszenzmikroskop	360
17.7	Konfokales Raster-Lasermikroskop	360
17.8	Stereomikroskop	361
17.9	Elektronenmikroskop	361
17.9.1	Transmissionselektronenmikroskop (TEM)	361
17.9.2	Rasterelektronenmikroskop (REM)	362
17.9.3	Rastertransmissionselektronenmikroskop (STEM, scanning transmission electronmicroscopy)	362
17.9.4	Environmental Scanning Electron Microscopy (ESEM)	363
17.9.5	Rasterkraftmikroskop (Atomic force microscopy, AFM)	363
17.9.6	Rastertunnelmikroskop (Scanning Tunnel Microscopy, STM).....	363
17.9.7	Präparation für Elektronenmikroskopie	363
17.10	Digitale Bildgebung	365
18	Qualitätssicherung im Labor	367
18.1	Projekt	368
18.2	Produkt	371
18.3	Prozesse	372
18.4	Projektteam	374
18.4.1	Fehlermanagement (Messung, Analyse, Verbesserung)	374
18.4.2	Schulungen, Fortbildung (Management der Mittel).....	375
18.4.3	Schnittstellen zu anderen Bereichen	376
18.4.4	Beschaffung.....	376
18.5	Dokumente	376

18.5.1	Vorgabedokumente	377
18.5.2	Formulare	378
18.5.3	Nachweisdokumente	378
18.6	Faktor Mensch	378
18.7	Begriffe	378
19	Sicherheit im histologischen Labor	383
19.1	Chemische Arbeitsstoffe	384
19.1.1	Aufnahme in den Körper	385
19.1.2	Metabolisierung und Ausscheidung	385
19.1.3	Der Begriff „Gift“	385
19.1.4	Beurteilung der Gefährlichkeit	386
19.1.5	Kennzeichnung gefährlicher Stoffe	387
19.1.6	Sicherheitsdatenblatt	390
19.1.7	Grenzwerte	391
19.1.8	Gesundheitsüberwachung	393
19.1.9	Die Evaluierung	393
19.1.10	Maßnahmen im Labor zur Vermeidung von Gefahren	394
19.2	Biologische Arbeitsstoffe	395
19.3	Wohlfühlfaktor am Arbeitsplatz	396
19.4	Gesetzliche Richtlinien	397
19.4.1	Arbeitnehmerschutzrecht	397
19.4.2	Mutterschutzgesetz	398
19.4.3	Chemikaliengesetz	398
19.4.4	Verordnung über biologische Arbeitsstoffe	398
19.4.5	Abfallwirtschaftsgesetz und Abfallverordnung	399
19.5	Auflistung von Chemikalien im Histolabor	399
20	Geschichte der histologischen Technik	415
20.1	Zeittabelle	417
20.2	Persönlichkeiten der historischen Histopathologie	426
	Anhang	431
	Abkürzungsverzeichnis	432
	Quellen	434
	Bildnachweis	440
	Sachverzeichnis	442

1 Aufgaben der histologischen Technik / Pathologie

Man könnte sagen: Der Zweck der histologischen Technik liegt darin, die Neugier des Menschen auf sein Inneres zu befriedigen.

Die medizinische Forschung versucht schon seit Jahrhunderten, die Geheimnisse des menschlichen Lebens zu ergründen. Mit den Leichenöffnungen im Mittelalter wurde die Anatomie erkundet. Der erste Riesenschritt gelang mit der Erfindung des Mikroskops (1621). Dazu musste man auch Techniken entwickeln, die es möglich machten, Präparate von Zellen und Gewebe herzustellen. Damit wurde der Schritt von der Makroskopie in die Mikroskopie gemacht. Die Techniken wurden immer mehr verbessert und die darstellbaren Strukturen immer kleiner. Die Elektronenmikroskopie brachte uns in die Zelle hinein. Und die Molekularbiologie zeigt uns die Welt der Erbinformation, der menschlichen Codierung. Wer weiß, wie der nächste Schritt aussieht?

Der **Pathologe** ist jener Mediziner, der die krankhaften Veränderungen im menschlichen Organismus untersucht. Er möchte herausfinden, wie diese Veränderungen aussehen und wodurch sie ausgelöst werden. Je nachdem, wie sich die Veränderung darstellt, wird er sie einer Erkrankung zuordnen können. Er liefert dem Kliniker Informationen, die für die Diagnose, Therapie und Prognose des Patienten ausschlaggebend sind.

Als Untersuchungsmaterialien dienen dem Pathologen einerseits gewonnene Zellen (Zytologie) oder Gewebe (Histologie). Früher lag die Hauptaufgabe des Pathologen in der Leichenbeschau (Obduktion) zur Feststellung der Todesursache und Erforschung des Krankheitsverlaufs. Dieser Teil wird zu Gunsten der morphologisch-mikroskopischen Untersuchung von biopsischem Material zurückgedrängt.

Als moderne Gebiete in der Pathodiagnostik kommen die Techniken der Zell- und Gewebekulturen, Immunologie, Molekularbiologie und Gentechnik dazu.

Aus Gründen der leichteren Lesbarkeit wird in diesem Buch nur die männliche Berufsbezeichnung verwendet. Es soll aber ausdrücklich betont werden, dass auch viele Frauen als **Pathologinnen** in der morphologischen Diagnostik arbeiten.

Aufgaben der morphologischen

Untersuchungen:

- Instrument der Vorsorgeuntersuchung (z. B. Portioabstrich)
- Sicherung der klinischen Diagnose
- Frühdiagnostik von Tumoren (z. B. Magenbiopsien)
- Diagnostik und Differenzierung von gut- und bösartigen Tumoren
- Erkennen von Stoffwechselerkrankungen, parasitären, bakteriellen, entzündlichen Erkrankungen
- Nachweis von immunpathologischen Vorgängen
- Informationen zur Therapiewahl
- intraoperatives Instrument zur Diagnosesicherung (Schnellschnittuntersuchung)
- Forschung

Aufgaben der molekularbiologischen

Methoden in der Histotechnik:

- Nachweis von Genmutationen zur Tumordiagnostik (Therapieansprechen bei bestimmten Mutationen in Tumorzellen, molekulare Medizin, Molekularpathologie) oder im Rahmen von Erbkrankheiten
- Untersuchung der genomspezifischen Wirksamkeit von Medikamenten
- Darstellung von viralen Erregern (Bsp. Human Papilloma Virus)
- allgemein Darstellung von Genen (DNA-Nachweis) und ihrer Expression (mRNA-Nachweis)
- Forensik
- Forschung

Aufgaben der Elektronenmikroskopie:

- allgemein Darstellung von Ultrastrukturen
- Nachweis von Viren
- bioptische Diagnostik von Niere, Leber und Muskel
- Forschung

Aufgaben von Zell- und Gewebekultivierung:

- Nachweis von Viren
- Herstellung von Antikörpern
- Zytogenetik
- Nachweis von zellschädigenden Substanzen (Gifte, Strahlung, Onkogene)
- Überprüfung von Medikamenten
- Tissue engineering (Gewebe- und Organersatz),
Untersuchungen mit biomimetischen Materialien
- Forschung

Aufgaben der Obduktion:

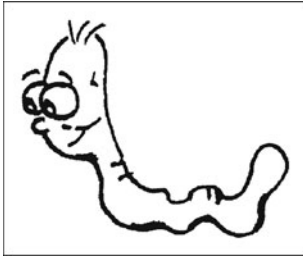
- Überprüfung der klinischen Diagnose und der Therapieeffekte
- Aussagen über Entstehung und Verlauf von Krankheiten
- Abklärung der Folgezustände von Krankheiten
- Erfassung der Todesursachen
- Grundlagen für Statistiken über Krankheiten und Todesursachen
- Erkennung von Erbkrankheiten (Familienplanung)
- Ausbildung von Medizinern
- Gerichtsmedizinische Erkenntnisse
- Forschung

Die unmittelbare Aufgabe der Histotechnik umfasst alle Prozeduren, die notwendig sind, um aus Gewebe **mikroskopierbare Präparate** zu fertigen. Im weiteren Sinne umfasst die Histotechnik auch die modernen Prozeduren, wo Gewebe in irgendeiner Form aufgearbeitet wird, um daraus Informationen zu gewinnen. Mit der Histotechnik verwandte Methoden findet man auch in der Botanik und in der Werkstoffanalyse.

2 Ablauf in einem histodiagnostischen Labor

Dieses Buch will anhand des Ablaufs in einem histodiagnostischen Labor die grundlegenden Prozeduren der Histotechnik beschreiben. Im Weiteren werden noch Spezialtechniken bzw. Spezialgebiete behandelt.

Zur Veranschaulichung wollen wir den Standardweg einer Appendix verfolgen (Abb. 1).



■ Abb. 1

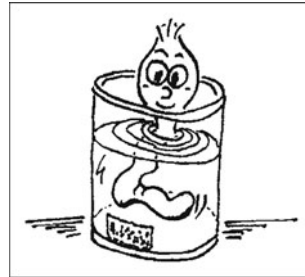
1. Unser Patient hat seit mehreren Tagen heftige Unterbauchschmerzen. Er beschließt sich in der chirurgischen Ambulanz untersuchen zu lassen und erfährt die Diagnose „Appendicitis“. Die **Operation** wird gleich angesetzt (Abb. 2).



■ Abb. 2

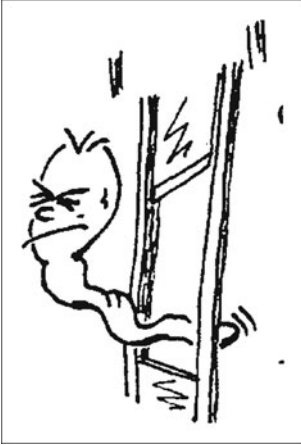
2. Während der Operation wird dem Patienten im endoskopischen Verfahren die Appendix entfernt. Wir erhalten ein **Operationspräparat**.

3. Um die Appendix möglichst gut zu erhalten, wird sie sofort in die **Fixierlösung** gebracht. Das Gewebe wird in einem mit Formalin gefüllten Probengefäß, das mit dem Datenetikett des Patienten beklebt ist, untergetaucht und „fixiert“ (Abb. 3).

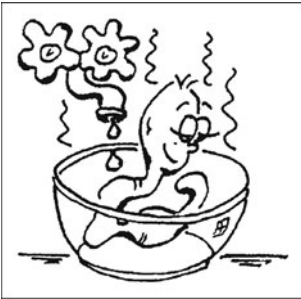


■ Abb. 3

4. Der Chirurg füllt einen Begleitschein aus. Darauf findet man die Daten des Patienten und die **klinischen Angaben** zur Operation.
5. Gewebeprobe (Appendix) und Begleitschein werden ins Labor gebracht.
6. In der „Materialannahme“ im pathologischen Institut wird die Probe entgegengenommen. Dabei werden die Angaben auf dem Gefäß und dem Begleitschein überprüft. Die Gewebeprobe bekommt eine Einlaufnummer zur Identifikation. Die zugehörigen Daten werden im EDV-System erfasst.
7. Der nächste Schritt ist die „**makroskopische Beurteilung**“ der Appendix. Der Pathologe beschreibt Aussehen, Form, Größe und Besonderheiten an der Gewebeprobe. Ist die Appendix schon gut durchfixiert, wird sie zurechtgeschnitten. Die aussagekräftigen Teile der Appendix kommen in eine Kunststoffkassette (2,5 x 3 x 0,5 cm), die mit der Identifikationsnummer beschriftet ist (Abb. 4).
8. Gemeinsam mit vielen anderen Kassetten wird die Appendix über Nacht in einem **Einbettungsautomat** (*processing*) entwässert und dabei von der Fixierflüssigkeit in ein Paraffinbad übergeführt (Abb. 5).

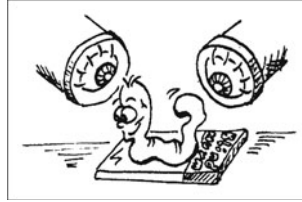


■ Abb. 4



■ Abb. 5

9. Am nächsten Morgen werden die Gewebestückchen in einen Paraffinblock ausgegossen (eingeblockt). Man hat nun einen kleinen Paraffinquader, in dem man die Gewebeteile erkennen kann. Dieser Quader ist fest verbunden mit dem gekennzeichneten Unterteil der Kunststoffkassette.
10. Der gekühlte Block kann nun in ein Mikrotom eingespannt werden. Mit diesem Gerät **schneidet** man mikrometerdünne Schnitte von der Appendix, die man auf Glasobjektträger aufbringt.
11. Diese Schnittpräparate werden mit der üblichen **Übersichtsfärbung** (Hämatoxylin-Eosin-Färbung) angefärbt.



■ Abb. 6

12. Schließlich hat man ein fertiges histologisches Präparat, das zur **mikroskopischen Befundung** einem Pathologen vorgelegt wird (Abb. 6).
13. Der Pathologe erstellt einen histologischen Befund. In unserem Fall passt die Morphologie des Präparates mit der **Diagnose** „akute Appendicitis“ zusammen.
14. Der Befund wird in der Datenverarbeitung erfasst und an die Einsenderabteilung geschickt. Der Chirurg kann nun seinem Patienten die Bestätigung seiner klinischen Diagnose vorlegen. In ein paar Tagen wird dieser das Krankenhaus wieder verlassen können.
15. In der Pathologie werden alle Präparate im **Archiv** über viele Jahre aufgehoben. Der Befund ist Teil der Patientengeschichte. Der Rest der Appendix wird nach Fertigstellung des Befundes entsorgt.

Bei einem komplikationslosen Fall dauert es von der Entnahme des Gewebes bis zum histologischen Präparat ein bis zwei Tage, je nach Größe des Gewebes. Die Befundung des Präparates hängt von der Schwierigkeit des Falles ab, sollte üblicherweise aber auch innerhalb eines Tages erfolgen, sofern keine weiteren, technischen Verarbeitungen notwendig sind. (Hier wurde der Postweg ins Labor und zurück zum Einsender nicht berücksichtigt.)

Aus der kleinen Geschichte kann man vier Prozeduren der Histotechnik ableiten:

1. Fixierung
2. Einbettung (*processing*) und Ausblocken
3. Schneidetechnik (Mikrotomie)
4. Histologische Färbung

Außerdem kann man erkennen, dass die Qualität der Untersuchung nicht nur vom Labor allein abhängt. Auch die **Probengewinnung und -behandlung** vor dem Eintreffen im Labor ist ausschlaggebend und sollte mittels „**Einsenderichtlinien**“ festgelegt werden. Im Allgemeinen sollte **Qualitätssicherung** im Labor groß geschrieben werden (Probenidentifikation, einheitliche Arbeitsvorschriften, Fehlermanagement etc.).

Im modernen Histolabor spielt natürlich auch die **elektronische Datenverarbeitung** eine immer größer werdende Rolle. Einerseits kann sie in der Textverarbeitung, andererseits in der Datenverwaltung und auch zur **Statistik und Befundauswertung** eingesetzt werden.

In letzter Zeit werden auch elektronische Systeme zur **Probenverfolgung** angeboten. Hierbei

werden die Proben und die produzierten Präparate mit Barcodes oder anderen Code-Systemen gekennzeichnet. Mit den entsprechenden Lesegeräten an den einzelnen Prozesspunkten lässt sich die „Spur“ der Probe verfolgen und in der EDV anzeigen. Idealerweise ist diese Anwendung mit der IT des Labors und den einzelnen Färbeautomaten kompatibel und erlaubt so bspw. eine online-Anforderung von weiteren Färbungen oder die Auswertung der gesammelten Daten (Umlaufzeiten, Anzahl bestimmter Färbungen, Leistungsabrechnung).

Da wir im Histolabor bleibende Präparate herstellen, die man als „Patientendokument“ ansehen kann, werden sie entsprechend den gesetzlichen Vorschriften jahrelang im **Archiv** aufbewahrt.

3 Biochemie

3.1 Aufbau der Zelle – 10

3.1.1 Zellkern (Nukleus) – 10

3.1.2 Nukleolus – 10

3.1.3 Cytoplasma – 11

3.1.4 Endoplasmatisches Reticulum (ER) – 11

3.1.5 Ribosomen – 11

3.1.6 Mitochondrien – 11

3.1.7 Lysosome – 12

3.1.8 Peroxisome – 12

3.1.9 Golgi-Apparat – 12

3.1.10 Zentriol – 12

3.1.11 Paraplasma – 12

3.1.12 Zellmembran – 12

3.1.13 Mikrovilli – 13

3.2 Gewebe-Bausteine – 13

3.2.1 Wasser – 14

3.2.2 Salze – 14

3.2.3 Proteine – 15

3.2.4 Kohlenhydrate – 22

3.2.5 Lipide – 27

3.2.6 Nukleinsäuren – 29

3.2.7 Bindegewebeaufbau – 30

3.3 Zusammenfassung – 33

Um die Vorgänge bei der Fixierung und anderen histotechnischen Prozessen zu verstehen, sollte man über die Bestandteile von Gewebe bzw. Zellen und deren biochemischen Eigenschaften Bescheid wissen.

Der Inhalt des Kapitels „Aufbau der Zelle“ wurde zum Teil dem Roche Lexikon Medizin, 5. Auflage © Urban & Fischer Verlag München entnommen. Für umfangreichere und detailliertere Erklärungen siehe die Lehrbücher von Zytologie, Histologie und Biochemie.

3.1 Aufbau der Zelle

3.1.1 Zellkern (Nukleus)

Die größte Organelle der Zelle ist durch die Kernmembran gegen das Zytoplasma abgegrenzt (poröse, Stoffaustausch ermöglichende Doppelmembran). Der Zellkern enthält in seiner Matrix (Karyoplasma, Karyolymphe) Erb-

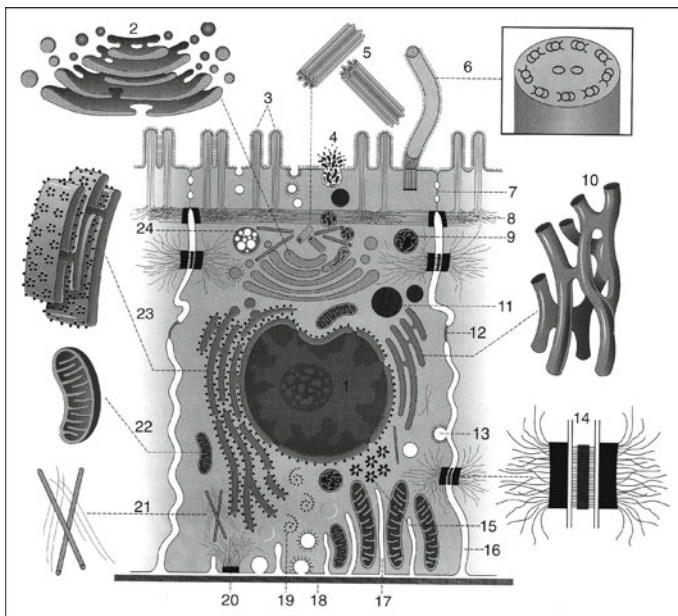
gut in Form der **DNA**, die bei der Mitose und Meiose als sichtbare **Chromosomen** erkennbar wird (Chromatin), und das **Kernkörperchen** (Nucleolus).

Er besteht zu 75 % aus Nucleoproteinen; u. a. an DNA gebunden, darunter Histone, und frei als Enzyme (siehe *Nukleoproteide Seite 15*, *Nukleinsäuren Seite 29*).

3.1.2 Nukleolus

Der Nukleolus beschreibt einen scharf begrenzten, homogenen, **RNA** und basische Proteine enthaltenden Raum im Zellkern; bildet sich solitär oder multipel in der späten Telophase an Nucleolar-chromosomen, wächst in der Interphase, löst sich zwischen Pro- und Metaphase auf oder ab.

Bildungs- und primärer Sammelraum für m-RNA, r-RNA und Ribosomen.



- 1 Kern mit Hetero- (dunkel) und Euchromatin (heller) sowie Nucleolus;
- 2 Golgi Apparat;
- 3 Mikrovilli (mit Glykokalix);
- 4 Sekretgranulum (mit Exozytose);
- 5 Zentriolen;
- 6 Kinozilie;
- 7 Zonula occludens;
- 8 terminales Netz mit Zonula adhaerens;
- 9 Lysosom;
- 10 glattes endoplasmatisches Retikulum (glattes ER);
- 11 Peroxisom (ein Zytosom);
- 12 Verbindung („gap junction“);
- 13 klathrinbedeckte Endozytosefigur;
- 14 Desmosom;
- 15 Glykogen;
- 16 Interzellularspalt;
- 17 Einfaltung des basalen Labirynths;
- 18 Lamina densa der Basallamina;
- 19 Polysomen;
- 20 Hemidesmosom;
- 21 Mikrotubuli und Keratinfilamente;
- 22 Mitochondrium;
- 23 raues endoplasmatisches Retikulum (raues ER);
- 24 multivesikulärer Körper

■ **Abb. 7** Schematische Darstellung einer Epithelzelle mit den wichtigsten Organellen und typischen Oberflächendifferenzierungen. Einige der Zellbestandteile, die im Schnittpräparat zweidimensional erscheinen, sind zum besseren Verständnis dreidimensional und vergrößert herausgezeichnet.

3.1.3 Cytoplasma

Das Protoplasma der Zelle (in der Elektronenmikroskopie bezeichnet als „Hyaloplasma“, in der Biochemie als „Zytosol“, in den Muskelzellen als „Sarkoplasma“) ist durchsetzt von Zellorganellen, Neuro-, Tono-, Myofibrillen; ist der Ort des Glucosestoffwechsels, der Fettsäuresynthese, Porphyrinbiosynthese, der Aktivierung von Aminosäuren und deren Übertragung auf die t-RNA, des Abbaus von Aminosäuren und Pyrimidinen; steht in lebhaftem Stoffaustausch (meist über Carrier) mit den Mitochondrien; ist beteiligt (zusammen mit der Zellmembran an der Bildung von Pseudopodien, Mikrovilli etc.

3.1.4 Endoplasmatisches Reticulum (ER)

Das ER ist ein im Zellplasma (Endoplasma) gelegenes Zellorganell als System kommunizierender, bläschen- oder schlauchförmiger Hohlräume und konzentrischer Membran-Doppellamellen, welches mit dem kernnahen Raum (perinukleäre Zisterne) und, über den Golgi-Apparat, mit dem Extrazellularraum verbunden ist; liegt in der Nähe des Zellkerns, ist v. a. bei Zellproliferation sowie in Drüsen-, Nerven- und Embryonalzellen reichlich ausgeprägt (fehlt aber in reifen, kernlosen Erythrozyten, in Thrombozyten und in Bakterien).

Die aus Phospholipiden und Proteinen bestehenden Wände enthalten RNA; sie sind z. T. mit Ribosomen besetzt (= **raues endoplasmatisches Reticulum**), z. T. aber ohne Ribosomenbesatz (= **glattes endoplasmatisches Reticulum**).

Die Rauform sieht man gelegentlich als dicht gelagerte parallele Zisternen = „**Ergastoplasma**“. Es enthält als „**Retikuloplasma**“ von den Ribosomen gebildete Polypeptide in Form von Granula, welche anschließend im Golgi-Apparat zur Endform der Proteine heranreifen; ist im Übrigen elektronenoptisch kontrastarm.

Wird in seiner Glattform gebildet durch Knospung aus der Rauform, von der auch die Kernmembran gebildet wird.

Funktionen. Polypeptid-Transport, Synthese von Glykogen, Potentialverteilung in der Zelle (Calcium-Ionen-Akkumulation), Entgiftung von Endo- und Exotoxinen.

3.1.5 Ribosomen

Bei allen Organismen in Vielzahl vorhandene, elektronenmikroskopisch kleine, rundliche bis ellipsoide Zellpartikel (15–25 nm), in denen die Biosynthese der Eiweißkörper stattfindet (Anlagerung von t-RNA an die Codons der m-RNA und Verknüpfung der aktivierten Aminosäuren).

Sie sind den Membranen des endoplasmatischen Retikulums angelagert (= gebundene Ribosomen; bilden v. a. Sekretproteine wie Verdauungsenzyme, Immunglobulin) oder frei im Zytoplasma, evtl. in Gruppen und v. a. zelleigene Proteine bildend. Sie enthalten basische Proteine, niedermolekulare Basen sowie v. a. **RNA**.

3.1.6 Mitochondrien

Stäbchenförmiges bis kugeliges Organell der Zellen, das zahlreich im Zellleib der Eukaryonten vorkommt als „**Kraftwerk**“ der Zelle für die Umwandlung von Substraten in energiereiches ATP. Es besteht aus feingranulärem Grundplasma und zwei Elementarmembranen; von der inneren, eng der äußeren anliegenden Membran springen Falten und/oder Röhrchen, selten gestielte Bläschen in die Matrix vor (Crista-, Tubulus- bzw. Sacculus-Typ).

Die Matrix enthält außer DNA und RNA-Ribosomen zu Einheiten geordnete Multi-Enzymsysteme für den **Citratzyklus** und **oxidativen Fettsäureabbau**.

In der inneren Membran sind für die **Atmungskette** an ATP-Bildung beteiligte Enzyme eingelagert.

Die Mitochondrien sind halbautonom. Sie bilden einige ihrer Bauproteine selbst und sind zur identischen Vermehrung (= Reduplikation) befähigt.