

**Medizinische Fakultät
Institut für Anatomie
Gertrudenstr. 9
18057 Rostock**

ZELLBIOLOGISCH-MIKROSKOPISCHE ÜBUNGEN

Einleitende Bemerkungen

Dieser Kurs dient in spezifischer Weise der Vorbereitung auf das Forschungslabor. Alle Krankheiten rufen Veränderungen in Zellen und Geweben der Erkrankten hervor, selbst wenn nicht in jedem Fall eine mikroskopisch erkennbare Schädigung nachweisbar ist. Viele Diagnosen können nur durch histologische Untersuchungen von Gewebeproben aus den erkrankten Organen gestellt werden (Untersuchungen von Biopsien). Erkrankte Zellen, Gewebe und Organe können aber nur dann beurteilt werden, wenn dem Untersucher die Zustände im Gesunden bekannt sind. Diese Kenntnisse sollen Sie sich aus eigener Anschauung in diesen mikroskopischen Übungen erarbeiten.

Das didaktische Prinzip dieses Kurses beruht auf der selbständigen Arbeit der Teilnehmer. Deshalb bestimmt die Eigeninitiative weitgehend den Kurserfolg. Die in diesem Skriptum gegebenen Anleitungen zur Bearbeitung eines jeden Präparates ersetzen keineswegs die Histologiebücher, deren gründliche Lektüre wird als Vorbereitung auf das tägliche Kursprogramm vorausgesetzt. Darüber hinaus machen Sie bitte von der Gelegenheit Gebrauch, an Kursleiter und Assistenten Fragen zu stellen, die Ihr Verständnis histologischer Zusammenhänge fördern.

Mikroskop: Behandeln Sie die Mikroskope pfleglich. Sie sind empfindlich und teuer (pro Kursmikroskop etwa 1000,- € , die Bestückung des Kurssaales also über 150.000,- €). Außerdem müssen die Instrumente noch vielen Studentengenerationen dienen. Objektive nicht abschrauben. Verschmutzte Frontlinsen und Okulare lediglich mit Leinenlappen putzen (evtl. Putzmittel erbitten). Sobald Sie einen Defekt bemerken, teilen Sie diesen gleich dem Kursleiter mit. Im übrigen haftet jeder für sein Mikroskop.

Präparate: Auf die Langwierigkeit und Schwierigkeit der Herstellung guter Kurspräparate sei hingewiesen. Bitte alle Präparate sehr sorgfältig behandeln. Bruch sofort mitteilen. Jeder haftet für seinen Präparatekasten. **Die Anfertigung der Präparate wurde durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung im Rahmen des „Studium Optimum“ finanziell unterstützt.** Die Präparate wurden von Studentinnen und Studenten der Medizinischen Biotechnologie und Humanmedizin hergestellt. Hierbei wurden Sie von der Medizinisch Technischen Assistentin Frauke Winzer angeleitet. **Mein besonderer Dank für den Histokasten gilt daher Frau Winzer, Nina Boxberger, Julia Schulze, Christin Völkner, Anika Witt, Johannes Wurm und Michael Tasler!**

Zeichnungen: Wie bei jedem Präparat in der Anleitung angegeben, wobei jede Zeichnung etwa eine halbe DIN A4-Seite einnehmen soll. Wichtig ist die **genaue Beschriftung** der Zeichnung (Überschrift, Vergrößerung, Färbung, Markierung der Einzelheiten). Auch im Zeichnen Ungeübte sollten Mühe auf ihre Skizzen verwenden und nicht schematisch oder aus dem Lehrbuch abzeichnen, sondern naturgetreu die Präparate abbilden, denn aus den Zeichnungen wird Ihnen und Ihren Betreuern am leichtesten klar, ob Sie auch die wesentlichen Strukturelemente des jeweiligen Präparates erkannt haben. Es soll Ihr "Sehen" und optisches Erinnerungsvermögen geschult werden.

Vorgehen beim Mikroskopieren der Präparate: Grundsätzlich ist jedes Präparat in folgender Reihenfolge auszuwerten:

- Betrachtung mit bloßem Auge
- Untersuchung mit schwacher Mikroskopvergrößerung
- Weitere Untersuchung mit mittlerer und dann mit starker Mikroskopvergrößerung

Diese Reihenfolge ist im speziellen Teil der Arbeitsanleitung nicht immer ausdrücklich angegeben. Trotzdem ist sie einzuhalten. Bitte machen Sie sich stets klar, welche neuen Informationen Sie bei jedem Schritt gewinnen. Beim Studium von Einzelheiten mit starker Vergrößerung ist es häufig vorteilhaft, zwischendurch zu Übersichtsvergrößerungen zurückzukehren.

Im einzelnen ist beim Mikroskopieren eines Präparates folgendes zu erfassen:

- Die Färbung und was mit dieser Färbung im Gewebe besonders hervorgehoben wird, z. B. Zellkerne oder kollagene Fasern.
- Die Begrenzung des Präparates (natürlich oder künstlich).
- Bei einer natürlichen Begrenzung das Gewebe, das die Grenze bildet, z. B. Epithel oder Bindegewebe.
- Sofern Epithel vorliegt, die Art des Epithels und seine Verbindungen mit dem umgebenden Gewebe (z. B. Bindegewebe).
- Sofern Bindegewebe vorliegt, die Art des Bindegewebes (z. B. kollagenes Bindegewebe, Fettgewebe u. a.) sowie Zweck des Bindegewebes, z. B. Kapselbildung um Organe.
- Der Aufbau des Präparates: Verteilung von epithelialen und bindegewebigen Strukturen, Muskulatur, Anordnung und Menge von Blutgefäßen, Nervengewebe, lymphatischem Gewebe, Drüsengewebe, Septen- und Kammerbildung etc.
- Diagnose mit Differentialdiagnosen.

Zusammenfassende Angaben zur histologischen Technik

Die meisten Kurspräparate sind gefärbte Dünnschnitte. In abweichenden Fällen ist die besondere Herstellungsart angegeben: z. B. Knochenschliff, Ausstrich (z. B. Blut). Ein Teil des Kursprogramms besteht aus elektronenmikroskopischen Aufnahmen.

Herstellung der Dünnschnitte

1. Fixierung: Das Gewebe wird durch Eiweißfällungsmittel konserviert, z. T. gehärtet. Die wichtigsten Fixierungsmittel unserer Präparate sind:

Formol = wässrige Lösung von Formaldehyd (4- oder 10%ig)

PFA = wässrige Lösung von Paraformaldehyd

Bouin = Pikrinsäure + Formol + Essigsäure

Bodian = Alkohol + Formol + Essigsäure

Susa = u. a. Sublimat + Kochsalz + Formol + Essigsäure

2. Einbettung und Schneiden: Nach der Fixierung (Dauer: Stunden bis Tage) Auswaschen des Fixierungsmittels, Entwässerung durch aufsteigende Alkoholreihe, Einbringen über Methylbenzoat und Benzol in ca. 60 °C flüssiges Paraffin; nach Durchdringung Abkühlung des Paraffins (Dauer dieser Prozeduren zusammen meist mehrere Tage). Die Gewebestückchen im Paraffinblock werden auf einem Mikrotom geschnitten (Schnittdicke ca. 5 - 10 µm) und durch Wärme auf Glasobjekträger aufgeklebt.

Fette werden in der Alkoholreihe herausgelöst, Enzyme sind im Paraffinschnitt weitgehend inaktiviert. Für Fettnachweise wird das fixierte Gewebe zumeist eingefroren und auf dem Gefriermikrotom bzw. im Kryostaten geschnitten.

3. Häufig verwendete Färbungen:

Hämalaun-Eosin = H.-E.: Hämalaun ist ein basischer Farbstoff, färbt daher saure (basophile) Gewebsbestandteile, vor allem DNS, RNS. Daher vor allem Kernfarbstoff: Kerne (Chromatin) blauviolett.

Eosin: Saurer Farbstoff, färbt Zytoplasma hellrot.

Azan = Azokarmin + Anilinblau: Kollagene und retikuläre Fasern leuchtend blau, Kerne und Zytoplasma in verschiedenen Rottönen. Schleim meist blau.

van Gieson: Kerne schwarzbraun, Zytoplasma gelb, kollagene und retikuläre Fasern leuchtend rot.

Spezialmethoden werden bei den einzelnen Präparaten erklärt (z. B. Silberimprägnation, Resorcinfuchsin-Färbung oder immunhistochemische Markierungen).

Verzeichnis der Kurspräparate

Teil I: HISTOLOGIE (Gewebelehre)

lfd. Nr. im Kurs		Kasten-Präp. Nr.	Seite
<u>Epithelgewebe</u>			
1.	Nierenrinde, einschichtiges prismatisches Epithel (Formol, H.-E.)	1	6
2.	Dünndarm (Ileum), einschichtiges hochprismatisches Epithel (Formol, H.-E.) Ergänzung: Zylinderepithel, elektronenmikr. Aufnahme	2	6
3.	Ösophagus, mehrschichtiges unverhorntes Plattenepithel (Formol, H.-E.)	3	7
4.	Fingerbeere, mehrschichtiges verhorntes Plattenepithel (Formol, H.-E.)	4	8
5.	Trachea, Flimmerepithel (Formol, H.-E.)	5	8
6.	Ureter, Übergangsepithel (Formol, H.-E.)	6	9
<u>Drüsengewebe</u>			
7.	Glandula parotis, seröse Drüse (Bodian, Azan)	7	10
8.	Laktierende Milchdrüse, alveoläre Endstücke (Bouin, Azan bzw. H.-E.)	8	10
9.	<i>Golgi</i> -Apparat , Dünndarm (Osmiumsäure, Zinkjodid)	9	10
10.	Mitose, neuronale Progenitorzellkultur (Nissl)	10	11
11.	Blutausstrich (n. <i>Pappenheim</i>)	11	12
<u>Bindegewebe und Stützgewebe</u>			
12.	Subcutis, lockeres Bindegewebe (Resorcinfuchsin)	12	12
13.	Leber, retikuläre Fasern (Formol, Silberimprägnation)	13	13
14.	Uni- und plurivakuoläres Fettgewebe (PFA, H.-E.)	14/1	13
15./16.	Sehne, längs und Sehne quer (Formol, H.-E.)	16/17	14
<u>Knorpelgewebe</u>			
17.	Trachea, hyaliner Knorpel (Formol, H.-E.)	5	15
18.	Zwischenwirbelscheibe, Faserknorpel (PFA, Hämalaun)	18	15

19.	Ohrmuschel, elastischer Knorpel (Formol, Resorcinfuchsin)	19	16
	<u>Knochengewebe</u>		
20.	Embryonaler Kopf, desmale Ossifikation (Formol, Azan)	20	16
21.	Embryonale Extr., chondrale Ossifikation (Susa, Azan)	21	17
22.	Knochenschliff (ungefärbt)	22	18
	<u>Muskelgewebe</u>		
23.	Dünndarm (Ileum), glatte Muskulatur (Formol, H.-E.)	2	18
24.	Skelettmuskulatur, längs (Formol, H.-E. bzw. Hämalaun) Ergänzung: Herzmuskulatur, elektronenmikr. Aufnahme	23	19
25.	Skelettmuskulatur, quer (Formol, H.-E.)	24	20
26.	Herzmuskulatur, längs (Formol, Goldner) Ergänzung: Herzmuskulatur, Glanzstreifen, elektronenmi Aufnahme	25	21
	<u>Nervengewebe</u>		
27.	Rückenmark (Formol, Kresylechtviolett)	26	22
28.	Spinalganglion (Formol, H.-E. bzw. Azan)	27	22
29.	Nerv, quer (Susa, Azan)	28	23
30.	Nerv, quer (Osmiumsäure, Zinkjodid)	29	23
31.	Nerv, längs (Osmiumsäure, Zinkjodid)	30	23
32.	Rattenhirn, Nervenzellen (Anti-NeuN)	31	25
33.	Rattenhirn, Faserastrozyten (Anti-GFAP)	32	25
33.	Rattenhirn, Mikrogliazellen (Anti-OX-42)	33	26

Teil I: HISTOLOGIE (Gewebelehre)

Gewebe (Definition): Gewebe sind morphologisch und funktionell zusammengehörige Zellverbände (Epithelgewebe, Binde- und Stützgewebe, Muskelgewebe, Nervengewebe).

Epithelgewebe

Epithel ist ein Verband von Zellen ohne nennenswerte Interzellulärsubstanz.

Präparat 1: Niere (Maus), Kasten-Präp. Nr. 1 (Formol, H.-E.)

Einschichtiges prismatisches Epithel

Machen Sie sich bitte bei diesem Präparat zuerst die Funktion der verschiedenen Teile des Mikroskops klar:

Schwache Vergrößerung: Nehmen Sie zunächst das kleinste Objektiv. Sollte das Gesichtsfeld nicht voll ausgeleuchtet sein, senken Sie den Kondensator. Bei Mikroskopen mit festverschraubten Kondensoren ist das nicht möglich. Präparat auflegen (Deckglasseite nach oben) und mit der Mikrometerschraube scharf einstellen. Mit der Blende Kontrast regeln.

Mittlere und starke Vergrößerung: Vergrößerungswechsel erfolgt durch Drehen des Objektivrevolvers. Dann Kondensator heben (wenn möglich). Durch Drehen der Mikrometerschraube das Präparat in allen optischen Ebenen erfassen. Optimale Stellung der Blende für jede Vergrößerung gesondert ermitteln.

Untersuchung des Präparates:

Es handelt sich um ein bohnenförmiges Organ. Suchen Sie bitte am gegenüberliegenden Ende der Einbuchtung, direkt unter der Organoberfläche einen distalen Tubulus auf!

Distale Tubuli werden durch eine Schicht eng aneinander stehender, iso- bis hochprismatischer Epithelzellen ausgekleidet, deren Zellgrenzen deutlich sichtbar sind. Ein runder Zellkern liegt in einem meist schwach rosa angefärbten Zytoplasma. Zwischen den distalen Tubuli liegen zahlreiche Kapillaren, in denen häufig Erythrozyten zu erkennen sind, sowie Anschnitte von proximalen Tubuli und Glomeruli (Filtrationsapparat). Der Aufbau der Niere wird im Sommersemester besprochen.

Zeichnen: Kubisches/Isoprismatisches Epithel eines distalen Tubulus bei starker Vergrößerung.

Präparat 2: Dünndarm (Ileum, Ratte), Kasten-Präp. Nr. 2 (PFA, H.-E.)

Einschichtiges hochprismatisches Epithel mit Becherzellen

Betrachtung mit bloßem Auge: Querschnitt durch ein Hohlorgan, dessen Wand einen Schichtenaufbau zeigt. Die innerste, vorwiegend dunkel-violett gefärbte Schicht zeigt bei Okularvergrößerung eine stark gefaltete Oberfläche (= Zotten).

Einstellung des Zottenepithels bei starker Vergrößerung. Es handelt sich um ein einschichtiges hochprismatisches Epithel mit Bürstensaum (Mikrovillibesatz) und Becherzellen (Becherzellen werden später behandelt). Die länglichen Zellkerne der Enterozyten im basalen Zellabschnitt sind deutlich zu erkennen. Die Gesamtheit der

Mikrovilli ist durch feintriebige hin- und herdrehen an der Mikrometerschraube als schmaler Saum erkennbar. Eine Mehrreihigkeit des Epithels kann durch eine schräge Schnitfführung durch das Epithel vorgetäuscht werden.

Zeichnen: Ausschnitt aus dem Epithel bei starker Vergrößerung.

Ergänzung zu Präparat 2: Zylinderepithel des Darms, Fledermaus
(elektronenmikroskopische Aufnahme, Vergr. ca. 7500 : 1)

Die Zylinderepithelzellen reichen von der Basalmembran (BM) bis zum Lumen (Lu) des Darms. Der lichtmikroskopisch erkennbare Zellsaum zeigt hier zahlreiche zytoplasmatische Fortsätze (Mikrovilli Mv), deren Zytoskelett (nicht sichtbar) im terminalen Netzwerk (TN) der Zelle verankert ist. Die Epithelzellen sind fingerförmig miteinander verzahnt (*). Innerhalb der Epithelzellen sieht man jeweils den Zellkern (N) sowie Mitochondrien (M) und Lipidtropfen (L). Eine dicht gedrängte Masse von Sekretröpfchen ist typisch für eine schleimsezernierende Zelle (SchT, Becherzelle). In dem unterhalb der Basalmembran gelegenen Bindegewebe (Lamina propria) sind Kapillaren im Quer- (Kp) und Längsschnitt (Kp'), glatte Muskelzellen (GM), feine vegetative Nervenfasern (NF) und Kollagenfasern (Ko) zu erkennen. Am unteren linken Bildrand liegt ein Fibroblast (F).

Zeichnen: Ausschnitt aus dem Epithel mit Beschriftung.

Präparat 3: Ösophagus (Schwein), Kasten-Präp. Nr. 3 (Formol, H.-E.)
Mehrschichtiges unverhorntes Plattenepithel

Betrachtung mit bloßem Auge und bei schwacher Vergrößerung: Es handelt sich um einen Querschnitt, bei dem sich am Lumen des Gewebeschnitts das Epithel befindet.

Epithel bei starker Vergrößerung: Der Basalmembran (nicht erkennbar) sitzt eine einschichtige Zellage aus iso- bis hochprismatischen Zellen mit meist deutlich basophilem Zytoplasma auf = Stratum basale. Die Zellkerne erscheinen länglich. Ein Schrägschnitt kann mehrere Schichten vortäuschen. Es folgen zur Oberfläche hin mehrere Lagen aus polyedrischen Zellen (= Stratum spinosum = Stachelzellschicht), die durch hier nicht sichtbare Desmosomen verbunden sind. Ihre Zellkerne erscheinen rundlich. Zwischen den Haftkomplexen sind die Interzellularräume erweitert. Um die Stachelzellschicht gut zu erkennen, muß die Aperturblende geschlossen werden. Stratum basale und Stratum spinosum bilden gemeinsam das Stratum germinativum. Weiter zur Oberfläche hin erfolgt eine allmähliche Abflachung der Zellen (= Stratum superficiale). Das Zytoplasma dieser Zellen ist acidophil und deshalb rosa gefärbt. Bei manchen Präparaten ist die Abstufung von basophil (Stratum basale) zu acidophil (Stratum superficiale) besonders gut zu erkennen. Auch in der obersten Zellschicht sind noch Zellkerne zu erkennen, sie haben eine ovale Form und liegen quer.

Hinweis: Bei mehrschichtigen Epithelien erfolgt die Benennung des Epithels nach der oberflächlichen Zellschicht.

Zeichnen: Bei starker Vergrößerung Ausschnitt aus dem Epithel mit den verschiedenen Schichten.

Präparat 4: Haut der Fingerbeere (Mensch), Kasten-Präp. Nr. 4 (Formol, H.-E.)
Mehrschichtiges verhorntes Plattenepithel

Betrachtung mit dem bloßen Auge: Zu erkennen ist eine Schichtenbildung. Bei der dunkelsten, relativ schmalen Schicht handelt es sich um (lebende) Zellen zwischen Hornschicht und Bindegewebe der Lederhaut. An manchen Präparaten kann man erkennen, daß sich die Hornschicht stellenweise abhebt (Artefakt).

Okularvergrößerung: Zwischen der dunklen Zellschicht und der Hornschicht liegt ein gelblich bis rosafarben leuchtender Streifen, das Stratum lucidum (nicht in allen Präparaten gut zu sehen). Auf der Innenseite des Epithels sind regelmäßige Einstülpungen des Bindegewebes sichtbar, die als Bindegewebspapillen bezeichnet werden. Sie enthalten die Blutkapillaren, die das Epithel ernähren. Schrägschnitte durch Bindegewebspapillen lassen diese gelegentlich wie Inseln im Epithel erscheinen (Papillae occultae).

Mikroskopische Untersuchung: Aufsuchen von Stratum basale und Stratum spinosum des Epithels. Für das Stratum spinosum sind deutliche Interzellularspalten charakteristisch. Durch Drehen an der Mikrometerschraube kann man sie und die durchziehenden Interzellularbrücken erkennen. Über dem Stratum spinosum liegt das Stratum granulosum, eine Schicht aus Zellen mit zahlreichen dunkelblauen Keratohyalin granula im Zytoplasma. Anschließend folgen das Stratum lucidum (Umwandlungszone) und dann das mächtige Stratum corneum, das aus in Hornschuppen umgewandelten Zellen besteht.

Zeichnen: Übersicht über das ganze Epithel bei schwacher Vergrößerung, Ausschnitt aus den verschiedenen Schichten bei starker Vergrößerung, genaue Beschriftung.

Präparat 5: Trachea (Schwein), Kasten-Präp. Nr. 5 (Formol, H.-E.) Mehrreihiges hochprismatisches Epithel mit Kinozilien (respiratorisches Epithel), mehrreihiges Flimmerepithel

Schwache Vergrößerung: Es handelt sich um einen Querschnitt der ringförmigen Luftröhre, die durch hellviolett angefärbten hyalinen Knorpel (Trachealspangen) gestützt wird. Suchen Sie die lumenwärts gelegene Schleimhaut auf und betrachten Sie das Epithel bei starker Vergrößerung.

Starke Vergrößerung: Alle Zellen sitzen der Basalmembran auf (diese ist nicht deutlich erkennbar), jedoch erreichen nicht alle die freie Oberfläche. Die Zellen der oberen Schicht sind langgestreckt mit dementsprechend länglichen Zellkernen. Sie erreichen die Basalmembran oft nur mit einem dünnen Zytoplasmafortsatz, der lichtmikroskopisch nicht zu erkennen ist. Die Zellkerne bilden mehrere Reihen (2 - 4). Die nahe der Basalmembran gelegenen rundlichen bis ovalen Zellkerne gehören zu Ersatzzellen, die die Oberfläche nicht erreichen. Die Oberfläche trägt Flimmerhärchen (Kinozilien), darunter befindet sich ein roter bis rotvioletter Saum von Basalkörpern (= Kinetosom: dient der Verankerung der Flimmerhaare).

Hinweis: Becherzellen, die für das respiratorische Epithel des Menschen charakteristisch sind, finden sich in diesem Präparat selten und fehlen in einzelnen Schnitten ganz.

Zeichnen: Bei starker Vergrößerung Ausschnitt aus dem Epithel.

Präparat 6: Ureter (Schwein), Kasten-Präp. Nr. 6 (Formol, H.-E.)
Übergangsepithel (Urothel)

Übergangsepithel kommt in allen ableitenden Harnwegen vor. Es kann sich durch Umorientierung der Epithelschichten dem entsprechenden Dehnungszustand des Organs anpassen.

Okularvergrößerung: Das Ureterlumen ist sternförmig durch Einfaltung der Schleimhaut nach innen. Das Epithel ist grau/blau gefärbt.

Mikroskopische Untersuchung (Benutzung aller Vergrößerungen): Das Epithel wird von polygonalen bis hochprismatischen Zellen gebildet. Die oberste Schicht besteht aus auffällig großen, gelegentlich zweikernigen Deckzellen, in denen das apikale Zytoplasma (einschl. der apikalen Zellmembran) die meist etwas intensiver angefärbte Crusta bildet. Im ungedehnten Zustand ist die Form dieser Zellen überwiegend hochprismatisch, im gedehnten Zustand erscheinen sie platt und gestreckt und überdecken mehrere Zellen der darunter gelegenen Intermediärschicht. Diese besteht aus einer wechselnden Zahl irregulär geformter Zellen. Die untere Schicht, das Stratum basale, wird aus iso- bis hochprismatischen Zellen gebildet, deren größter Durchmesser senkrecht zur Basalmembran steht.

Hinweis: Beim Übergangsepithel handelt es sich um ein mehrschichtiges Epithel.

Zeichnen: Bei starker Vergrößerung Ausschnitt aus dem Epithel.

Drüsengewebe

Drüsen sind Epithelzellkomplexe, deren Zellen Stoffe mit spezifischer Wirkung produzieren und sezernieren. Das Sekret kann direkt oder durch Ausführungsgänge an innere oder äußere Oberflächen abgegeben werden (exokrine Drüsen) oder als Inkret (Hormon) in die Blutbahn gelangen (endokrine Drüsen).

Die Sekretproduktion kann auch in einzelnen Drüsenzellen erfolgen, die innerhalb eines oberflächenbedeckenden Epithelverbandes liegen (z. B. Becherzellen). Sekretion findet auch durch nichtepitheliale Zellen statt (z. B. Fibroblasten produzieren Interzellulärschicht), allerdings bilden sie niemals einen geschlossenen Zellverband.

Extraepitheliale exokrine Drüsen können nach der Form der Endstücke in tubulöse (schlauchförmige), azinöse und alveoläre Drüsen eingeteilt werden, wobei die beiden letzteren kugelförmig sind, aber entweder hohe Drüsenzellen mit zentralem kleinem Lumen (azinös) oder flache Drüsenzellen mit zentralem großem Lumen (alveolär) aufweisen. Außerdem können sie als einfache, gewundene oder verzweigte Drüsenschläuche ausgebildet sein. Bei gemischten Drüsen treten sowohl tubuläre als auch azinöse bzw. alveoläre Endstücke auf.

Die meisten größeren Drüsen liegen als sog. zusammengesetzte Drüsen (vielfach verzweigtes Ausführungsgangssystem) mit gemischten Drüsenendstücken (z. B. tubuloazinös) vor.

Nach der Art der Sekretion unterscheidet man bei exokrinen Drüsen vier Formen:

1. Merokrine (ekkrine) Sekretion durch Exozytose. Das Sekret enthält vorwiegend Eiweiße.
2. Apokrine Sekretion durch Abschnürung apikaler Zellabschnitte.
3. Holokrine Sekretion durch Auflösung der Zelle und Freigabe des gesamten Zellinhalts (z. B. bei Talgdrüsen).
4. Molekulare Sekretion (z. B. Ionentransporte der Belegzellen des Magens).

Nach Art des Sekretes können unterschieden werden:

1. Seröse Drüsenzellen,
2. Muköse Drüsenzellen,
3. Lipidsezernierende Drüsenzellen.

Präparat 7: Glandula parotis (Ratte), Kasten-Präp. Nr. 7 (PFA, Azan)

Rein seröse Drüsenendstücke (Acinus)

Die Glandula parotis ist eine rein seröse Speicheldrüse mit einem gut entwickelten Ausführungsgangsystem.

Schwache Vergrößerung: Die Drüse ist in Läppchen gegliedert, zwischen den Läppchen liegt kräftig blau gefärbtes interlobuläres Bindegewebe, das die Ausführungsgänge der Glandula parotis sowie Gefäße und Nerven enthält. Im Gegensatz zum Menschen fehlen hier die zahlreichen univakuolären Fettzellen!

Mittlere und starke Vergrößerung: Aufsuchen der Drüsenendstücke (Acini), die von den serösen Drüsenzellen gebildet werden. Jeder Acinus ist von einer Basalmembran (blau) umfaßt. Der runde Zellkern liegt mittig in der pyramidenförmigen Drüsenzelle. Die Zellgrenzen sind durch Spielen mit der Mikrometerschraube zu erkennen. Für seröse Drüsenzellen typisch sind eine starke Basophilie des basalen und eine deutlich geringere Azidophilie des apikalen Zytoplasmas. Die Basophilie wird durch das reichlich vorkommende rauhe endoplasmatische Retikulum hervorgerufen, die teilweise granular erscheinende apikale Azidophilie durch das Vorkommen proteinreicher Zymogengranula. Weitere strukturelle Einzelheiten der Gl. parotis werden im Sommersemester abgehandelt.

Zeichnen: Seröses Drüsenendstück (Acinus) bei starker Vergrößerung.

Präparat 8: Laktierende Milchdrüse, (Ratte), Kasten-Präp. Nr. 8 (Bouin, Azan bzw. H.-E.)

Alveoläre Endstücke

Schwache Vergrößerung: Das Drüsengewebe ist durch Bindegewebssepten in Lobuli unterteilt. In einem Lobulus sind neben Milchgängen (sternförmiges Lumen) zahlreiche Anschnitte alveolärer Drüsenendstücke zu finden.

Mittlere und starke Vergrößerung: Das große, mit fixierten Milchbestandteilen angefüllte Lumen der Alveole wird von einem einschichtigen kubischen Epithel umgeben. Die Zellgrenzen sind nicht immer deutlich zu erkennen. Die Besprechung weiterer Einzelheiten erfolgt in Teil II.

Zeichnen: Alveoläre Endstücke bei starker Vergrößerung.

Präparat 9: Golgi-Apparat, Dünndarm, Kasten-Präp. Nr. 9 (Osmiumsäure/ Zinkjodid)

Die feinere Struktur des *Golgi*-Apparates ist nur mit Hilfe des Elektronenmikroskops zu erkennen. Die lichtmikroskopische Darstellung ist durch Osmierung oder Imprägnierung mit Silbersalzen möglich und zeigt auch dann nur grobe Strukturen. Im vorliegenden Präparat ist der *Golgi*-Apparat in den hochprismatischen Zellen des einschichtigen Dünndarmepithels zu

finden. Er erscheint bei starker Vergrößerung über den nicht immer deutlich erkennbaren, hellen Zellkernen der Epithelzellen in Form von schwarzen, z. T. sehr kompakt zusammengelagerten Körnchen. Der *Golgi*-Apparat ist in den am weitesten lumenwärts gelegenen Epithelzellen der Darmzotten am dichtesten angefärbt. Zwischen den Epithelzellen liegen bauchige, helle Becherzellen.

Zeichnen: Bei starker Vergrößerung einige Zellen des Epithels mit *Golgi*-Apparat.

Präparat 10: Immortalisierte Progenitorzellen, Kasten-Präp. Nr. 10 (PFA, Kresylvioletazetat)
Präparat zum Studium der Mitose

Es handelt sich um temperatur-sensitiv immortalisierte neurale Progenitorzellen aus der Ratte (Zelllinie CSM14.1). Diese Zellen teilen sich bei 33° C Umgebungstemperatur etwa alle 20 Stunden und eignen sich daher besonders gut zur Beobachtung der unterschiedlichen Mitosestadien. Die Zellen wurden als adhärenente Zellen auf dem beschichteten Deckglas unter sterilen Bedingungen kultiviert. Solche Kultivierungsbedingungen sind Standard in den heutigen Forschungslaboren. Daher dient das mikroskopieren dieses Präparates auch als Übung für weitere Praktika (z. Bsp. Modul 12, Methodenbezogene Praktika).

Die Zellkerne sind im Verhältnis zum Plasma groß und rund (große Kern-Plasma-Relation). Das Zytoplasma ist deutlich blasser angefärbt als die Kerne, die Zellgrenzen sind trotzdem gut zu erkennen. Gut geeignet sind Regionen mit einem dichten „Zellrasen“.

Starke Vergrößerung: Suchen Sie unter sorgfältiger Durchmusterung des Präparates die verschiedenen Mitosestadien.

1. Interphasekern: Keine Chromosomen sichtbar, deutlicher Nucleolus (häufig auch mehrere), deutliche Kernhülle. Die verschiedenen Phasen (G1, S, G2) sind mit dieser Methodik nicht zu erkennen. Bitte machen Sie sich die Phasen dennoch klar.

2. Verschiedene Mitosestadien:

- a) Prophase: Sichtbarwerden des Chromosomenknäuels (Spirembildung), in späteren Stadien Verschwinden der Kernhülle und des Nucleolus.
- b) Metaphase: Ausrichtung der Chromosomen in der Äquatorialebene; Chromosomen sind so gekrümmt, daß ihre Zentromeren in der Äquatorialebene liegen und ihre Chromatidenanteile aus dieser herausragen (Bild des Monasters).
- c) Anaphase: Auseinanderrücken der Chromosomen; Ausbildung von zwei Tochtersternen (Diaster).
- d) Telophase: Wiederausbildung der Kernhülle und eines Nucleolus oder mehrerer Nukleoli. Gleichzeitig erfolgt die Durchschnürung des Zelleibs (Zytokinese).

Achten Sie auf die unterschiedliche Häufigkeit der Stadien, die proportional zur zeitlichen Länge der jeweiligen Phase ist!

Zeichnen: Interphasekern und Mitosestadien bei starker Vergrößerung.

Präparat 11: Blutausstrich, Mensch, Kasten-Präp. Nr. 11 (Pappenheim)

Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten

Starke Vergrößerung: Studium der roten und weißen Blutkörperchen; Aufsuchen und Zeichnen (bei starker Vergrößerung) von Leukozyten in folgender Reihenfolge:

1. segmentkerniger neutrophiler Granulozyt (55-70 %)*
2. eosinophiler Granulozyt (1-4 %)*
3. basophiler Granulozyt (0,5-1 %)*
4. stabkerniger (meist neutrophiler) Granulozyt (2-3 %)*
5. kleiner Lymphozyt, großer Lymphozyt (20-35 %)*
6. Monozyt (4-8 %)*

* Häufigkeit in Prozent aller Leukozyten.

Außerdem sollen Erythrozyten und Thrombozyten gezeichnet werden. Dabei auf richtige Größenverhältnisse achten!

Binde- und Stützgewebe

Weitmaschige Zellverbände, die durch Weiterentwicklung des Mesenchyms entstehen. Die Zellen sind, mit Ausnahme der Chondrozyten, untereinander durch Zytoplasmafortsätze verbunden (ortsansässige, fixe Zellen, z. B. Fibrozyten, Retikulumzellen, Osteozyten). Im Interzellularräum befinden sich bewegliche Bindegewebszellen (z. B. Histozyten, Mastzellen) und Interzellulärsubstanz. Sie kann ungeformt (als Grundsubstanz) oder geformt (als Bindegewebsfasern) auftreten.

Präparat 12: Subcutis (Ohrmuschel, Schwein), Kasten-Präp. Nr. 19 (PFA, Orcein)

Lockeres Bindegewebe

Es handelt sich hierbei um eine Darstellung elastischer Fasern.

Lockeres Bindegewebe ist im Organismus weit verbreitet, es umhüllt z. B. auch Gefäße und Nerven und liegt in den Freiräumen zwischen den Organen. Häufig bildet es das Stroma (Nieren, Leber, Drüsen, Hoden, Eierstock). Die Kollagenfaserbündel sind oft nach dem Scherengitterprinzip angeordnet. Eingelagert sind alle Typen von Bindegewebszellen, besonders aber Fibrozyten und Makrophagen.

Mit Hilfe der Fasern verbindet die Subcutis die Cutis mit einer Unterlage, z. B. Muskelfaszie, Periost, Perichondrium, ermöglicht aber andererseits auch deren Verschieblichkeit.

Schwache Vergrößerung: Es handelt sich um einen Schnitt durch das Ohr eines Schweins. Die dunklen „Streifen“ bestehen aus elastischem Knorpel (siehe Präparat 19). Neben dem Knorpelgewebe liegen ein dünner und ein breiter Gewebestreifen, der von einem verhornten Plattenepithel bedeckt ist. Unterhalb des Plattenepithels liegen die irregulär verlaufenden elastischen Fasern, die sich durch ihre violette-rötliche Anfärbung deutlich vom Untergrund abheben. Nicht markierte kollagene Faserbündel sind dicker und haben eine gewellte Form. Diese liegen blass zwischen den elastischen Fasern. Durch verschließen der Kondensorblende kann man sie eventuell besser erkennen.

Starke Vergrößerung: An günstigen Stellen kann man die stark gewellte Struktur der kollagenen Fasern erkennen (Engelshaar!).

Zeichnen: Bei starker Vergrößerung kollagene und elastische Fasern.

Präparat 13: Leber (Maus), Kasten-Präp. Nr. 13 (PFA, Silberimprägnation)
Retikuläre Fasern (Retikulinfasern)

Retikuläre Fasern sind Fasern vom Kollagen Typ III und bestehen aus Grundeinheiten von quergestreiften Mikrofibrillen. Sie bleiben im Routineschnitt unsichtbar, lassen sich aber durch ihre Affinität zu Silbersalzen darstellen ("argyrophile" Fasern). Während der Entwicklung werden zunächst nur retikuläre Fasern gebildet, dann aber größtenteils schrittweise durch Kollagenfasern (Typ I) ersetzt. Retikulinfasern bleiben nur als zartes Netzwerk erhalten und umspinnen z. B. Fettzellen, Muskelzellen, Kapillaren, Sinus. Entlang der Grenzflächen zwischen dem interstitiellen Bindegewebe eines Organs (= Stroma) und dessen spezifischen Zellen (= Parenchym, im vorliegenden Präparat Leberzellen) bilden sie ein filigranes Netzgitter ("Gitterfasern").

Schwache Vergrößerung: Zu erkennen sind die polygonalen Leberläppchen mit den meist leer erscheinenden Zentralvenen.

Starke Vergrößerung: Die kubisch geformten Leberzellen mit deutlichen Zellkernen lassen sich gut gegeneinander abgrenzen. Die dunkel gefärbten Retikulinfasern heben sich ab. Sie umgeben nicht nur die Leberzellen, sondern sind auch deutlich an der Peripherie der Zentralvenen und an den Lebersinus zu erkennen.

Zeichnen: Bei starker Vergrößerung Leberzellbälkchen mit angrenzenden Sinus und retikulären Fasern.

Präparat 14: Fettgewebe

Univakuoläres Fettgewebe (Ratte), Kasten-Präp. Nr. 14 (Formol, H.-E.),
Plurivakuoläres Fettgewebe, Maus, Kasten-Präp. Nr. 1 (Paraformaldehyd, H.-E.)

Univakuoläres Fettgewebe:

„Unbewaffnetes“ Auge: Suchen Sie zunächst das Präparat auf. Es ist sehr unscheinbar und blass. Am besten Sie legen ein weißes Blatt unter, merken sich die Lage auf dem Objektträger und finden dann das Gewebe mit dem kleinen Objektiv wieder auf!

Schwache Vergrößerung: Präparat auffinden und dann zur 400fachen Vergrößerung übergehen.

Starke Vergrößerung: Überwiegend sind univakuoläre Fettzellen zu erkennen. Sichtbar ist ein schmaler, ringförmiger Zytoplasmasaum, in dem gelegentlich ein abgeplatterter Kern zu sehen ist. Kern und Zytoplasma ergeben das Bild der sog. "Siegelringform" eines univakuolären Lipozyten. Durch Entwässerung (Alkohol) wurde das Fett aus den Zellen herausgelöst, so daß das Zellinnere leer erscheint (Vakuole = 1 großer Fetttropfen).

Plurivakuoläres Fettgewebe:

Plurivakuoläres Fettgewebe ist wegen seines hohen Gehaltes an Cytochrom C bräunlichgelb gefärbt und wird deshalb auch als braunes Fettgewebe bezeichnet. Es ist meist deutlich in Läppchen gegliedert. Bei menschlichen Fetten und beim Säugling ist das braune Fettgewebe noch relativ häufig vorhanden (etwa 4 % des Körpergewichts), beim Erwachsenen wird es zunehmend durch univakuoläres Fettgewebe verdrängt und läßt sich kaum noch nachweisen.

Schwache Vergrößerung: Präparateregion auffinden und dann zur 400fachen Vergrößerung

übergehen. Es handelt sich um die Niere und das umgebende Fettgewebe einer Maus. Am Nierenhilum (bei der Einbuchtung des Bohnenförmigen Organs) findet sich plurivakuoläres Fettgewebe.

Starke Vergrößerung: Die charakteristische Struktur des plurivakuolären Fettgewebes zeigt sich in der schaumigen Zustandsform des Zytoplasmas, die durch zahlreiche kleine Fettvakuolen bedingt ist. Das Fett ist während der Bearbeitung durch fettlösende Reagenzien herausgelöst worden, so daß viele unterschiedlich große Hohlräume, getrennt durch feine Zytoplasmabrücken, zurückbleiben. Das Zytoplasma ist rötlich gefärbt, die rundlichen Zellkerne liegen zentral und sind blauviolett.

Zeichnen: Jeweils Anschnitte mit typischen Fettzellen bei starker Vergrößerung.

Präparate 15/16: Sehne, Kn.-Präp. Nr. 16, 17 (Formol, H.-E.)

Sehnen zählen ebenso wie elastische Bänder zum straffen, faserreichen Bindegewebe und bestehen aus parallel angeordneten Kollagenfaserbündeln, die im ungedehnten Zustand gewellt erscheinen.

Längsschnitt (Kn.-Präp. 17, Schwein)

Schwache Vergrößerung: Zu erkennen sind gestreckt bzw. wellig verlaufende Kollagenfaserbündel (Sehnenfasern). Dazwischen liegen Züge aus lockerem Bindegewebe mit kleinen Blutgefäßen und Nerven (Peritendineum internum).

Starke Vergrößerung: Zwischen den in Reihen angeordneten, parallel verlaufenden Kollagenfaserbündeln liegen lange, stiftförmige Kerne von Sehnenzellen (Fibrozyten). Sie besitzen nur wenig Zytoplasma, das sich in drei bis vier dünn auslaufende flügelartige Fortsätze erstreckt. Sehnenzellen werden deshalb auch als Flügelzellen (Tendozyten) bezeichnet. Das Zytoplasma der Sehnenzellen ist in den vorliegenden Präparaten jedoch nicht sichtbar. Häufig sind die Tendozytenkerne bogenförmig, womit sie sich dem wellenförmigen Verlauf der Kollagenfasern anpassen.

Querschnitt (Kn.-Präp. 16, Maus)

Mittlere Vergrößerung: Unterschiedlich viele Kollagenfaserbündel werden von lockerem Bindegewebe (Peritendineum internum) umhüllt. Das Peritendineum externum umhüllt die gesamte Sehne und ist in dem Präparat nicht immer vorhanden.

Starke Vergrößerung: Die Kerne der Flügelzellen weisen dreieckige Konturen auf, teilweise sind die flügelartigen Zytoplasmafortsätze deutlich zu erkennen.

Zeichnen: Sehne längs und quer bei starker Vergrößerung.

Knorpelgewebe

Präparat 17: Trachea (Schwein), quer, Kasten-Präp. Nr. 5 (Formol, H.-E.)

Hyaliner Knorpel

Betrachtung mit bloßem Auge: Der vorliegende Querschnitt entstammt der Trachea. Die aus hyalinem Knorpel aufgebauten Trachealspangen fallen durch ihre bläuliche Farbe auf. Das Lumen des Querschnitts wird durch Schleimhaut begrenzt, die lumenabgewandte Seite des Präparates wird durch adventitielles Bindegewebe gebildet.

Schwache Vergrößerung: Die Grundsubstanz (Interzellulärsubstanz) des Knorpels ist rötlich bis hellblauviolett gefärbt. In ihr liegen ungefärbt die Knorpelhöhlen. Gegen das umgebende Gewebe wird der Knorpel durch Kollagenfasern des Perichondriums abgegrenzt, die sich in die Knorpelgrundsubstanz fortsetzen, aber nicht mehr sichtbar sind. In der Grundsubstanz des hyalinen Knorpels sind die Kollagenfibrillen nämlich "maskiert", d. h. im Lichtmikroskop nicht sichtbar. Sie können aber im Polarisationsmikroskop erkannt werden.

Starke Vergrößerung: In den Knorpelhöhlen befinden sich Zellkerne von Knorpelzellen (Chondrozyten), deren Zytoplasma kaum sichtbar ist (Schrumpfung). Die Knorpelhöhlen sind im Zentrum der Knorpelspangen besonders groß und enthalten hier zahlreiche Chondrozyten. Die Knorpelgrundsubstanz um die Knorpelhöhlen mit den Chondrozyten herum ist etwas stärker gefärbt (nicht bei allen Präparaten) und bildet den sog. Knorpelhof. Eine Gruppe von Chondrozyten in einer oder mehreren eng benachbarten Knorpelhöhlen wird zusammen mit ihrem gemeinsamen Knorpelhof als Chondron oder Territorium bezeichnet. Zwischen den Territorien liegt die Interterritorialsubstanz, d. h. schwächer gefärbte, zellfreie Knorpelgrundsubstanz.

Hinweis: Die Schrumpfung der Knorpelzellen ist bei den einzelnen Präparateserien unterschiedlich, ebenso die Größe der Knorpelhöhlen (in Abhängigkeit von der Tierart). Bei einigen Serien werden die Knorpelhöhlen und ihre Zellen zum Perichondrium hin flacher.

Zeichnen: Bei mittlerer Vergrößerung mehrere Chondrone mit Interterritorialsubstanz und angrenzendem Perichondrium.

Präparat 18: Zwischenwirbelscheibe, Kasten-Präp. Nr. 18 (Formol, Hämalaun)

Faserknorpel

Faserknorpel kann als Übergangsform zwischen straffem Bindegewebe und hyalinem Knorpel angesehen werden. Seine Interzellulärsubstanz enthält dicht gelagerte Kollagenfaserbündel. Faserknorpel baut die Zwischenwirbelscheiben und die Symphyse auf und ist häufig am Übergang von Sehnen in Knochen zu finden. Er besitzt kein Perichondrium, sondern geht direkt in die angrenzende Struktur über (straffes Bindegewebe, Knochen).

Mittlere Vergrößerung: Die kollagenen Fasern sind im Gegensatz zu dem Trachealknorpel hier nicht maskiert, sondern deutlich sichtbar. Stellenweise zeigen die Fasern eine fischgrätenmusterähnliche Anordnung. Die Anzahl der Chondrone ist gegenüber dem hyalinen und elastischen Knorpel reduziert. Die Chondrone des Faserknorpels enthalten meist nur ein bis zwei Chondrozyten. In manchen Präparaten bilden die Chondrozyten längere Säulen. Der Knorpelhof ist deutlich gefärbt und relativ schmal.

Zeichnen: Bei mittlerer Vergrößerung mehrere Chondrone mit Interterritorialsubstanz und Struktur der kollagenen Faseranordnung.

Präparat 19: Ohrmuschel (Schwein), Kasten-Präp. Nr. 19 (Formol, Resorcinfuchsin)
Elastischer Knorpel

Elastischer Knorpel bildet die Grundlage für die Stütze und Form der Ohrmuschel. Die Grundsubstanz des elastischen Knorpels enthält maskierte Kollagenfasern und ein Netzwerk von elastischen Fasern in der Interterritorialsubstanz, das in das Perichondrium übergeht. Die elastischen Fasern verleihen dem Knorpel eine gelbliche Farbe.

Mittlere und starke Vergrößerung: In diesem Präparat sind vor allem die elastischen Fasern kräftig angefärbt. Das dichte Flechtwerk der elastischen Fasern in der Interterritorialsubstanz ist schon bei schwacher Vergrößerung zu erkennen. Besonders dicht liegen die elastischen Fasern um die Chondrone herum. Zu beachten ist die verschiedene Dicke der Fasern. Das Zytoplasma der Knorpelzellen ist ungefärbt, z. T. geschrumpft und deshalb kaum sichtbar. Die Chondrone weisen im 10 µm dicken Schnitt meist nur einen Zellanschnitt auf (typisch für elastischen Knorpel).

Hinweis: Bei den dunklen Querleisten, die bei einigen Präparaten mehrfach zu sehen sind, handelt es sich um Falten (Artefakte).

Zeichnen: Ausschnitt bei starker Vergrößerung.

Knochengewebe

Präparat 20: juveniler Kopf (1 Woche alt), Maus, Kasten-Präp. Nr.20 (Formol, Azan)
Desmale Ossifikation

Betrachtung mit bloßem Auge und schwache Vergrößerung: Beim neonatalen Mauskopf liegen Paramedianschnitte vor. Hier ist die Hirnkapsel mit dem darin gelegenen Gehirn als große blasse Struktur erkennbar. Weiterhin erkennt man die Mundhöhle mit Unterkiefer- und Oberkieferanlagen, sowie die Nasenhöhle mit den Nasenmuscheln. Sowohl in UK- wie in OK-Anlagen frühe Stadien der Zahnentwicklung zu erkennen. Das Studium der Knochenbälkchen kann sowohl an UK- und OK-Anlagen als auch am Gaumen oder Schädeldach erfolgen.

Mittlere und starke Vergrößerung: Studium der desmalen Ossifikation anhand der UK- bzw. OK-Anlage. Der bereits vorliegende Bindegewebeknochen bildet blau und rot gefärbte Bälkchen. Einige Präparate haben ausschließlich blau gefärbte Knochenbälkchen (bes. bei Rattenembryonen und bei den Paramedianschnitten ohne Schädelkalotte). Bei den blau gefärbten Abschnitten handelt es sich um Osteoid (unverkalkt), bei den rot gefärbten um bereits verkalktes Osteoid. Den Knochenbälkchen sind Osteoblasten angelagert, deren Zellkerne bei den meisten Präparaten kräftig rot gefärbt sind. Osteoblasten differenzieren sich aus Mesenchymzellen des embryonalen Bindegewebes und bilden Osteoid (appositionelles Knochenwachstum). Stellenweise sind mehrkernige Riesenzellen zu beobachten (Osteoklasten), die Knochen abbauen. Typischerweise liegen Osteoklasten in muldenförmigen Einsenkungen der Knochenbälkchen (*Howship*-Lakunen), die jedoch im vorliegenden Präparat nur selten vorkommen. Innerhalb der Knochenbälkchen liegende ausdifferenzierte Osteoblasten werden als Osteozyten bezeichnet.

Zeichnen: Bei starker Vergrößerung Knochenbälkchen (verkalktes und unverkalktes Osteoid) mit Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten.

Präparat 21: embryonale Extremität vom Menschen, Kasten-Präp. Nr. 21 (Susa, Azan)
Chondrale Ossifikation, Ersatzknochenbildung

Die chondrale Ossifikation der Diaphyse eines Röhrenknochens erfolgt in zwei Schritten. Zuerst wird perichondral eine Knochenmanschette angelegt, dann erfolgt enchondral der Ersatz des knorpeligen Primordiums durch Knorpelsubstanz. Der neugebildete enchondrale Knochen besteht zuerst aus Geflechtknochen und wird später durch Lamellenknochen ersetzt.

Betrachtung mit bloßem Auge und schwacher Vergrößerung: Der Schnitt weist je nach Präparat eine bis mehrere knorpelige, z. T. ossifizierte Knochenanlagen auf, die gegebenenfalls durch Gelenkspalten getrennt sind.

Mittlere und starke Vergrößerung: Aufsuchen der perichondralen Knochenmanschette. Liegt die Schnittebene nahe der Längsachse des Knochens, sind von der zylindrischen Knochenmanschette im Schnitt zwei schmale Knochenleisten sichtbar, die die primäre Markhöhle (in der noch keine Blutbildung erfolgt) oder die sekundäre Markhöhle (die blutbildendes Knochenmark enthält) seitlich begrenzen. In zahlreichen Präparaten liegen jedoch Tangential- oder Schrägschnitte der Diaphyse vor; die flachgeschnittene Knochenmanschette erscheint dann als ein breites Band, und die Markhöhle ist im Schnitt nicht sichtbar.

Die enchondrale Knochenbildung erfolgt jeweils an der Grenze zwischen den knorpeligen Epiphysen zur Markhöhle und dem bereits verknöcherten Diaphysenabschnitt. In der Längsachse des Knochens sind im Epiphysenknorpel vom Gelenkspalt zur Markhöhle hin folgende Schichten zu unterscheiden:

- Reservezone aus typischem hyalinem Knorpel mit gleichmäßig verteilten Chondrozyten (Zona reservata),
- Proliferationszone mit säulenartig angeordneten Chondrozyten (Säulenknorpel, Zona proliferativa),
- Resorptionszone mit vergrößerten Chondrozyten in blasig erweiterten Knorpelhöhlen (Blasenknorpel, Zona hypertrophica),
- Zone des Knorpelabbaus (Eröffnungszone, Zona resorbens), in der die Knorpelhöhlen durch Chondroblasten eröffnet werden und Verbindung zur Markhöhle gewinnen (diese Zone ist sehr schmal und kann als ein Teil der Zona ossificationis betrachtet werden),
- Zone der enchondralen Knochenbildung (Zona ossificationis).

In der Verknöcherungszone entstehen primäre Knochenbälkchen (rot gefärbt), die in ihrem Innern noch Reste von verkalkter Knorpelgrundsubstanz enthalten (blau bzw. schwächer gefärbt). Bei einer größeren Anzahl von Präparaten sind noch keine rot gefärbten Knochenbälkchen ausgebildet. Die Oberfläche aller Knochenbälkchen und der verknöcherten Diaphysenmanschette wird von einer Tapete aus einkernigen Osteoblasten bedeckt. Dazwischen liegen einzelne Osteoklasten, die größer sind und mehrere Zellkerne in einer Zelle enthalten (lange suchen, nicht in allen Präparaten sichtbar).

Zeichnen: Bei mittlerer Vergrößerung Übersicht.
Bei starker Vergrößerung Ausschnitte aus dem Bereich von peri- und enchondraler Knochenbildung, Osteoblasten und gegebenenfalls Osteoklasten.

Präparat 22: Knochenschliff, Kasten-Präp. Nr. 22 (ungefärbt)

Ein Osteon besteht aus Speziallamellen (*Havers-Lamellen*), die konzentrisch um ein Gefäßkanälchen (*Havers-Kanal*) angeordnet sind. Der Raum zwischen den Speziallamellen wird von Schaltlamellen ausgefüllt. *Volkmann-Kanäle* führen Blutgefäße in den Knochen hinein; sie verlaufen vom Periost aus senkrecht zu den *Havers-Kanälen* hin und kreuzen dabei die Lamellen.

Schwache Vergrößerung: Das Präparat ist ungefärbt. Dunklere Abschnitte ergeben sich durch die unterschiedliche Dicke der Schiffe. Zu erkennen ist die Kompakta mit den konzentrischen *Havers-Lamellen* und den meist etwas helleren Schaltlamellen.

Bei einigen Präparaten sind äußere Generallamellen zu erkennen. Sie umgeben den Knochen peripher und zeichnen sich durch einen oberflächenparallelen Schichtenverlauf aus. Man kann stellenweise bis zu 10 Schichten erkennen.

Starke Vergrößerung: Knochenzellen (Osteozyten) liegen jeweils in kleinen Lakunen zwischen den Lamellen. Die Höhlen sind in diesem Präparat leer. Von ihnen gehen feine Kanälchen aus, die die Osteozytenfortsätze enthalten. Die Knochenzellen nehmen auch beim lebenden Gewebe die Lakunen nicht vollständig ein, es bleibt ein extrazellulärer Spalt zwischen mineralisiertem Osteoid und Osteozyt.

Zeichnen: *Havers-Lamellen* und Schaltlamellen bei starker Vergrößerung.

Muskelgewebe

Die charakteristische Eigenschaft von Muskelgewebe ist die Kontraktilität. Sie beruht auf der Anwesenheit von fibrillären Proteinen, die in bestimmter Weise im Zelleib bzw. Synzytium angeordnet sind. Bei der Kontraktion wird chemische Energie in mechanische Energie umgewandelt. Die Struktur des Muskelgewebes ist den jeweiligen physiologischen Aufgaben angepaßt, so daß man glatte Muskulatur, Skelett- und Herzmuskulatur unterscheiden kann.

Präparat 23: Ileum (Ratte), quer, Kasten-Präp. Nr. 2 (PFA, H.-E.)

Glatte Muskulatur in kompakter Schichtung

Glatte Muskulatur besteht aus spindelförmigen, teilweise verzweigten Zellen, die eine Länge bis zu 300 µm erreichen können. Im Extremfall können sie bis zu 800 µm lang sein (schwangerer Uterus), relativ kurz (15-20 µm) sind sie in der Blutgefäßwand. Das Sarkoplasma hat eine feine parallele Längsstreifung von zusammengelagerten Myofibrillen, die aber im Lichtmikroskop nicht zu erkennen ist. Die Fähigkeit zur Kontraktion ist auch bei der glatten Muskulatur an Aktin- und Myosinfilamente gebunden, sie sind jedoch unregelmäßig angeordnet, so daß sich keine Streifung ausbildet. Glatte Muskulatur wird vom vegetativen (autonomen) Nervensystem versorgt. Die Regenerationsfähigkeit ist sehr gering, die Verheilung eines Defektes erfolgt durch bindegewebige Vernarbung.

Betrachtung mit bloßem Auge: Der rohrförmige Dünndarmquerschnitt besteht aus zwei breiten konzentrischen Ringen, die durch einen Schrumpfungsspalt (Artefakt) voneinander getrennt sind. Der innere Ring wird von Tunica mucosa und Tela submucosa gebildet, der äußere von der Tunica muscularis. In der Tela submucosa sind halbseitig große, runde, bläulich gefärbte Lymphaggregate eingelagert.

Schwache und mittlere Vergrößerung: Einstellen der Tunica muscularis, die aus einer inneren Ringmuskulatur (Stratum circulare, im Präparat längs geschnitten) und einer äußeren Längsmuskelschicht (Stratum longitudinale, im Präparat quer geschnitten) besteht. Genau an der Grenze zwischen Ring- und Längsmuskelschicht liegt der Plexus myentericus (Nervengewebe der Darmwand). Er besteht aus Komplexen großer, heller, z. T. blasig wirkender Zellen mit großen runden, blaß gefärbten Zellkernen, die einen deutlichen Nucleolus enthalten.

Starke Vergrößerung: Im Längsschnitt (Stratum circulare) erscheinen die Kerne der glatten Muskelzellen zigarrenförmig, die Grenzen der spindelförmigen Zellen sind nur schwer auszumachen. Im Querschnitt (Stratum longitudinale) erscheinen Kerne und Zellen rund, die Kerne liegen zentral in den Zellen. Wegen der Spindelform der Zellen variiert der Durchmesser der Zellanschnitte stark, der Kern ist nur in wenigen Zellen angeschnitten. Die Zellgrenzen sind gut zu erkennen, das dichte Endomysium zwischen den einzelnen Muskelzellen erscheint hell als ungefärbter Spaltraum.

Zeichnen: Bei starker Vergrößerung Ausschnitte aus quer- und längsgetroffener glatter Muskulatur.

Präparat 24: Skelettmuskulatur, längs, Kasten-Präp. Nr. 23 (Formol, H.-E.)

Skelettmuskelfasern bilden vielkernige Zellschläuche, die einem Synzytium entsprechen und deren Sarkoplasma vorwiegend aus Myofibrillen besteht. Die Zellkerne liegen randständig unter dem Sarkolemm. Die Myofibrillen sind aus dicken Myosin- und dünneren Aktinfilamenten zusammengesetzt. Ihre Anordnung erlaubt über Querbrücken Kontakte zwischen den Filamenten, so daß die Muskelkontraktion mit einem Filamentgleit-Mechanismus erklärt werden kann. Die kleinste Untereinheit einer Myofibrille (von Z- zu Z-Streifen) wird als Sarkomer bezeichnet. Die Länge der quergestreiften Muskelfasern kann, je nach dem Bau des Muskels, sehr unterschiedlich sein und beträgt beim Menschen bis zu mehreren Zentimetern. Sie sind beim Menschen mit Ausnahme der Zungenmuskulatur nicht verzweigt. Den Skelettmuskelfasern sind langgestreckte Satellitenzellen aufgelagert; sie liegen in der gleichen Basalmembran wie die Muskelfasern und sind lichtmikroskopisch nicht differenzierbar. Sie sind Myoblasten, die die Regenerationsfähigkeit des Skelettmuskels bedingen.

Starke Vergrößerung: Das Präparat besteht aus einzelnen unverzweigten Muskelfasern mit charakteristischer Querstreifung aus abwechselnd hellen, isotropen I-Streifen und dunklen, anisotropen A-Streifen. Die Z-Linie in der Mitte des I-Streifens (Sarkomergrenze) ist nicht zu erkennen. Deutlich ist dagegen der hellere H-Streifen in der Mitte des dunkleren A-Streifens. Zum Erkennen der Streifen ist meist das Spielen mit der Mikrometerschraube erforderlich. Die Zellkerne liegen am Rande der Muskelfasern (wichtig zur Unterscheidung von Skelett- und Herzmuskulatur). Das Endomysium zwischen den Muskelfasern ist deutlich zu erkennen als ungefärbter Spaltraum.

Zeichnen: Bei starker Vergrößerung einige Muskelfasern mit Querstreifung und Zellkernen.

Ergänzung zu Präparat 24: quergestreifte Muskulatur, Herz (elektronenmikroskopische Aufnahme, Vergr. ca. 15 000: 1)

Angeschnitten sind mehrere quergestreifte Myofibrillen. Im Sarkoplasma der Muskelfasern ist

zwischen den Myofibrillen Glykogen (schwarze Partikel) zu erkennen. Die Myofibrillen sind in Sarkomere unterteilt (im vorliegenden Bild beträgt der Abstand zwischen den Z-Streifen ca. 40 nm). Der isotrope I- und der anisotrope A-Streifen, die H-Zone und das Mesophragma (M-Streifen) sind klar abgegrenzt. Besonders in der rechten Bildhälfte sind zahlreiche Anschnitte des sarkoplasmatischen Retikulums (longitudinales System) als weiße, längliche, unregelmäßig begrenzte Vakuolen zwischen den Myofibrillen sichtbar. In Höhe der Z-Linie wird das sarkoplasmatische Retikulum unterbrochen durch querverlaufende Membransysteme (T-System).

- I - I-Streifen
Breite des I-Streifens (langer schwarzer Doppelpfeil)
- A - A-Streifen
Breite des A-Streifens (kurzer weißer Doppelpfeil)
- H - H-Streifen
Breite des H-Streifens (kurzer schwarzer Doppelpfeil)
- Z - Z-Streifen
- M - M-Streifen
- SR - Sarkoplasmatisches Retikulum
- TS - T-System
- * - Kontraktile Fibrillen

Zeichnen: Ausschnitt mit mehreren Myofibrillen.

Präparat 24: Skelettmuskulatur (Maus), quer, Kasten-Präp. Nr. 25 (Formol, H.-E.)

Schwache Vergrößerung: Das Präparat ist gefeldert. Ein Feld entspricht einer Muskelfaser, die z. T. quer, z. T. aber auch schräg (mit Mikrometerschraube spielen) getroffen ist. Zwischen den einzelnen Muskelfasern befindet sich Endomysium aus stellenweise schwach gelblich gefärbtem Bindegewebe, z. T. mit Kapillaren und Fibrozytenkernen. Das Endomysium ermöglicht die Verschieblichkeit der Muskelfasern gegeneinander. Die stellenweise weiten Zwischenräume zwischen den einzelnen Muskelfasern beruhen auf Schrumpfungsvorgängen. Mehrere Muskelfasern mit ihrem Endomysium werden durch Perimysium internum, eine etwas kräftiger ausgebildete Bindegewebsschicht, zu Primärbündeln zusammengefaßt. Einem Schachtelsystem vergleichbar folgt eine übergeordnete Bündelbildung durch Perimysium externum (z. T. sichtbar), Epimysium und Muskelfaszie (im Präparat nicht sichtbar).

Starke Vergrößerung: Einstellen einer quergeschnittenen Muskelfaser. Die Zellkerne liegen am Rande der Muskelfaser, manche Fasern (selten) lassen in einer Schnittebene zwei Kerne erkennen. Das Innere der Muskelfasern ist in kleinste, im Präparat gerade noch sichtbare Felder gegliedert (*Cohnheim-Feldung*) und zeigt die Bündelung einzelner Myofibrillen innerhalb des Sarkoplasmas einer Muskelfaser.

Zeichnen: Schematische Übersicht mit Benennung der Bindegewebsanteile.
Bei starker Vergrößerung Muskelfaser im Detail.

Präparat 26: Herzmuskulatur, längs, Kasten-Präp. Nr. 25 (Formol, Goldner)

Herzmuskulatur besteht aus quergestreiften Herzmuskelzellen, die mit ihren spitzwinkligen Verzweigungen ein Maschenwerk bilden. Sie sind untereinander durch Glanzstreifen verbunden, die stets in Höhe des Z-Streifens liegen. Der Herzmuskel besitzt keine Regenerationsfähigkeit. Gewebedefekte werden durch Bindegewebe ersetzt.

Starke Vergrößerung: Herzmuskulatur ist genauso quergestreift wie Skelettmuskulatur; es gibt aber drei wichtige Unterschiede: Die Herzmuskelzellen laufen nicht streng parallel, sondern sind verzweigt. Die Kerne liegen zentral in den Herzmuskelzellen und drängen dadurch die Myofibrillen spindelförmig auseinander. Senkrecht zum Faserverlauf (d. h. parallel zur Querstreifung) werden die Herzmuskelzellen durch Disci intercalares (Glanzstreifen) miteinander verbunden. Sie stellen die Grenzlinie zwischen benachbarten Herzmuskelzellen dar. Wählen Sie zum Aufsuchen der Glanzstreifen eine Stelle im Präparat, an der die Herzmuskelzellen eindeutig in Längsrichtung liegen. Bei diagonalen Anschnitten lassen sich Glanzstreifen kaum erkennen. Sie erscheinen als dunkler gefärbte rot-violette Querbänder, manchmal treppenförmig abgestuft. In den myofibrillenfreien Bereichen um die Zellkerne kommen leuchtend rot gefärbte Lipofuszingranula vor. Zwischen den Muskelfasern liegen Bindegewebe und Blutgefäße.

Hinweis: Manche Präparate zeigen besonders im Randgebiet quer oder diagonal angeschnittene Herzmuskulatur.

Zeichnen: Ausschnitt bei starker Vergrößerung.

Ergänzung zu Präparat 26: Herzmuskulatur, (Glanzstreifen)

(elektronenmikroskopische Aufnahme, Vergr. ca. 20 000 : 1)

Bei Glanzstreifen handelt es sich um die fingerförmige Verzahnung der Zellmembranen benachbarter Herzmuskelzellen quer zur Verlaufsrichtung der Muskelzellen. Sie stellen Zellgrenzen dar (der Herzmuskel ist morphologisch kein Synzytium). Bei der hier vorliegenden starken Vergrößerung lassen sich im Bereich des Glanzstreifens unterscheiden:

- zur mechanischen Kopplung: Fasciae adhaerentes, an denen die Aktinfilamente der Myofibrillen ansetzen, und Desmosomen (D) sowie
- zur elektrischen Kopplung der Herzmuskelzellen: gap junction (G)

Weitere bezeichnete Strukturen:

- Z = Z-Streifen
- M = M-Streifen

Hinweis: Bei den schwarzen Partikeln zwischen den Myofilamenten handelt es sich um Glykogen.

Zeichnen: Region des Glanzstreifens.

Nervengewebe

Nervenzellen empfangen Reize aus der inneren und äußeren Umwelt, transformieren sie und übertragen die Erregungen. Als Leitungsbahnen dienen Nerven, sie entsprechen gebündelten Nervenzellfortsätzen. Zum Nervengewebe zählen auch Gliazellen, die Stütz- und Versorgungsfunktionen wahrnehmen bzw. die Nervenzellfortsätze in den Leitungsbahnen und periphere Nervenzellen in den Spinalganglien umhüllen.

Präparat 27: Rückenmark (Ratte), Kasten-Präp. Nr. 26 (PFA, Kresylechtviolett)
Multipolare Nervenzelle

Bei einer *Nissl*-Färbung mit Darstellung der Perikarya der Nervenzellen und der Kerne von Gliazellen erscheint das gesamte Präparat fast farblos, wenn man es mit bloßem Auge betrachtet.

Starke Vergrößerung: Stellen Sie sich im motorischen Vorderhorn einige größere Nervenzellen ein. Beachten Sie die Tigroidsubstanz, die in den Perikarya in groben Schollen vorliegt. Versuchen Sie, den Abgang von Neuriten zu erkennen (keine Tigroidschollen an der Abgangsstelle = Axonabgangskegel). Die Perikarya sind etwas geschrumpft.

Zeichnen: Bei starker Vergrößerung Nervenzellen des motorischen Vorderhorns mit *Nissl*-Schollen und Neuritenabgang.

Präparat 28: Spinalganglion, Kaninchen, Kasten-Präp. Nr. 27 (Formol, H.-E. bzw. Azan)

Die Perikarya eines Spinalganglions haben einen T-förmigen Fortsatz, dessen zentraler Ast zum Rückenmark zieht (Axon) und dessen peripherer Fortsatz zu einem peripheren Nerven gehört (Dendrit, dendritisches Axon). Entsprechend sind die Spinalganglienzellen "pseudounipolar".

Mittlere Vergrößerung: Zwischen Bündeln von längs verlaufenden Nervenfasern liegen unterschiedlich große Gruppen von auffälligen, großen runden Zellen; dies sind die Perikarya der pseudounipolaren Ganglienzellen des Spinalganglions.

Der Durchmesser des Zelleibs ist verschieden groß, das Zytoplasma der Nervenzellen z. T. dunkler (stärker eosinophil, B-Zellen), z. T. heller (A-Zellen) gefärbt. An der Außenfläche ist das Spinalganglion von einem Kapselgewebe umgeben.

Starke Vergrößerung: Einstellen einiger pseudounipolarer Ganglienzellen. Der Zellkern (nicht immer im Schnitt getroffen) ist auffallend groß, chromatinarm (wasserhell gefärbt) und besitzt einen großen, kräftig gefärbten Nucleolus. Im Zytoplasma liegt stäubchenfein verteilte *Nissl*-Substanz. Zellen mit *Nissl*-substanzfreiem Ursprungskegel sind selten sichtbar und fehlen in vielen Schnitten. Der sich T-förmig teilende Fortsatz der pseudounipolaren Nervenzellen ist nach H.-E.-Färbung nicht sichtbar. Die Nervenfasernstränge sind dicht mit den ovallänglichen Zellkernen der *Schwann*-Zellen belegt. Jede Nervenzelle wird von einem Kranz aus Mantelzellen (Amphizyten) umgeben, von denen meistens nur der kleine chromatindichte Kern sichtbar ist. Häufig kann man keine Zellgrenze zwischen den Mantelzellen erkennen. Die Ganglienzellen sind meist geschrumpft, so daß zwischen ihnen und dem jeweils umgebenden Mantelzellkranz ein artefizieller Spalt besteht. Sowohl zwischen den Nervenfasernsträngen als auch zwischen den von Mantelzellen umgebenen Ganglienzellen liegt lockeres Bindegewebe mit zahlreichen kleinen Gefäßen. Dieses Bindegewebe hebt sich bei den Präparaten mit einer Azanfärbung durch seine blaue Farbe besonders deutlich hervor.

Zeichnen: Bei starker Vergrößerung einige pseudounipolare Ganglienzellen mit Mantelzellen.

Präparat 29: Nerv (Schwein), quer, Kasten-Präp. Nr. 28 (Susa, Azan)

Periphere Nervenfasern bestehen aus Axonen und Dendriten, die von *Schwann*-Zellen (= Lemnozyten) umhüllt werden. Je nach Anzahl der Umwicklungen eines Axons werden markarme und markreiche Nervenfasern unterschieden. Marklose Nervenfasern sind solche, die nur einfach vom Zelleib der *Schwann*-Zelle umhüllt werden.

Okular und schwache Mikroskopvergrößerung: Das Präparat besteht aus mehreren runden, im Präparat rötlich oder zart bläulich gefärbten Nervenfaserbündeln, die von einem hellblau gefärbten Bindegewebe, dem Perineurium, umgeben sind. Ein gemeinsames Epineurium ist nicht bei allen Präparateserien vorhanden.

Mittlere Vergrößerung: Im Perineurium liegen vereinzelt Blutgefäße unterschiedlicher Größe, außerhalb des Perineuriums bei einigen Präparateserien auch Fettgewebe.

Starke Vergrößerung: Einstellen des Perineuriums. Es besteht aus zwei Teilen. Ein straffes, kollagenfaseriges Bindegewebe (Stratum fibrosum) umgibt ein Stratum epitheliale. Das Stratum epith. besteht aus epithelartig in konzentrischen Lagen angeordneten Fibrozyten, die eine zusammenhängende Schicht rund um das Nervenfaserbündel bilden. Die Fibrozytenzellkerne sind leuchtend rot gefärbt. Im Inneren liegen zahlreiche Axone mit ihren Markscheiden. Aufsuchen von Axonen. An guten Präparatstellen sind Axon und Markscheide als konzentrischer, rötlich-weiß gefärbter Doppelkreis sichtbar. Zwischen den Axonen befinden sich zahlreiche Zellkerne von *Schwann*-Zellen. Der Raum zwischen den *Schwann*-Zellen wird von einem lockeren, im Präparat schwach bläulich gefärbten Bindegewebe, dem Endoneurium, ausgefüllt. Das Endoneurium und die Basalmembran der *Schwann*-Zellen bilden gemeinsam die Endoneuralscheide. Durch Schrumpfungsprozesse und Artefakte besteht meist zwischen den Nervenfaserbündeln und dem Perineurium ein Leerraum, z. T. klaffen auch Spalten zwischen dem Endoneurium. Das Epineurium (soweit es vorhanden ist) geht in lockeres Binde- bzw. in Fettgewebe über.

Zeichnen: Bei mittlerer Vergrößerung typischen Aufbau eines peripheren Nerven mit Epi-, Peri- und Endoneurium.
Bei starker Vergrößerung mehrere Axone mit Markscheide und Endoneuralscheide.

Präparate 30 und 31: Peripherer Nerv, quer (30) und längs (31), Kasten-Präp. Nr. 29, 30 (Osmiumsäure, Zinkjodid)

Durch Osmierung werden die ungesättigten Lipide in den Mark- oder Myelinscheiden der Nervenfasern schwarz gefärbt und zugleich fixiert, so daß sie bei der Entwässerung und Einbettung nicht mehr aus dem Gewebe herausgelöst werden.

Nerv, quer; schwache Vergrößerung: Der Nerv besteht aus mehreren Nervenfaserbündeln. Aufsuchen von Epineurium und Perineurium. Beide sind nur schwach gefärbt.

Starke Vergrößerung: Die Axone in den Nervenfaserbündeln sind quer, z. T. aber auch schräg geschnitten. Im Querschnitt umgibt die Myelinscheide ringförmig das ungefärbte Axon, so daß der Durchmesser des Axons und die Dicke der Myelinscheide direkt gemessen werden können. Das Präparat zeigt deutlich, daß in einem Nervenfaserbündel Axondurchmesser und Dicke der Myelinscheide Unterschiede aufweisen. Dicke Axone haben dicke Markscheiden.

Zeichnen: Bei starker Vergrößerung quer geschnittene Axone mit Markscheiden unterschiedlichen Kalibers.

Nerv, längs; mittlere und starke Vergrößerung: Die Markscheiden erscheinen als Rohre mit relativ dicker, schwarz gefärbter Wand. Im Inneren jedes Rohres liegt das ungefärbte Axon. Zytoplasma und Zellkerne der *Schwann*-Zellen sind ungefärbt und in diesem Präparat nicht sichtbar. Die Markscheiden zeigen in ihrem Längsverlauf typische Unterbrechungen, die *Ranvier*-Schnürringe. Die Nervenfasern verlaufen etwas wellenförmig, z.T. sind sie quer angeschnitten, weil ihre Verlaufebene mit der Schnittebene nicht vollkommen übereinstimmt. In Nachbarschaft des Nerven ist der Inhalt großer rundlicher Fettzellen tiefschwarz angefärbt.

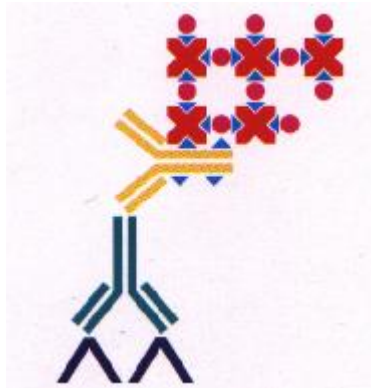
Hinweis: In einzelnen Präparaten sind auch *Schmidt-Lantermann*-Einkerbungen sichtbar (selten). Es sind mit Zytoplasma angereicherte Erweiterungen zwischen den Zellmembranen der Myelinscheide.

Zeichnen: Bei starker Vergrößerung einige Markscheiden mit *Ranvier*-Schnürringen.

Präparate Nr. 31 – 33: Immunhistochemische Darstellung von Neuronen, Astrozyten und Mikrogliazellen im Zentralnervensystem

Immunhistochemische Markierungen

Die selektive Darstellung bestimmter Zellen, bzw. von Subpopulationen, kann mittels spezifischer Antikörpermarkierungen erfolgen. Hierbei verwendet man Antikörper, die gegen Epitope gerichtet sind, die für einen jeweiligen Zelltyp charakteristisch sind. Hierbei kommt oftmals die indirekte Methode mit anschließender Verstärkung zum Einsatz (siehe Abbildung).



Ablauf einer immunhistochemischen Markierung:

Ein Primärantikörper (grün) bindet an spezifische Epitope im untersuchten Gewebe (sogenannte Antigene, blaue/schwarze Dreiecke am Grund). Dieser Antikörper stammt aus einer bestimmten Spezies (z. Bsp. Kaninchen) und die Epitope befinden z. Bsp. in einem Hirnschnitt einer Ratte. In einem zweiten Schritt wird dann ein biotinkoppelter Sekundärantikörper (gelb) hinzugegeben. Dieser ist gegen die speziesspezifischen langen konservativen Immunglobulinketten des Primärantikörpers gerichtet (Epitop des Zweitantikörpers). Diese Ketten sind innerhalb der einzelnen Spezies sehr konservativ (unterscheiden sich nicht), wohingegen sie sich zwischen den Spezies untereinander sehr stark unterscheiden). In einem weiteren Schritt werden Avidin und Biotin hinzugegeben, die dann miteinander und mit dem Biotin des Sekundärantikörpers einen Komplex bilden (blaue Dreiecke, und rote Kreuze). Dies führt zu einer Verstärkungsreaktion, da ganz viel Avidin und Biotin nun das ursprüngliche Epitop markieren. In einem letzten Schritt gibt man ein Chromogen (z. Bsp. Diaminobenzidin) hinzu welches sich durch eine Peroxidasereaktion (Avidin enthält Peroxidasen, rote Kreise) als Farbniederschlag in den Schnitten ablagert.

Präparat 31: Nervenzeldarstellung (Ratte), Kasten-Präp. Nr. 31

NeuN-Immunhistochemie (Neuronales Nukleäres Antigen)

Anti-NeuN richtet sich gegen einen bislang unbekanntem Kernbestandteil von Nervenzellen des ZNS und PNS von Wirbeltieren (auch Mensch). Zudem färbt sich bei vielen Nervenzellen auch noch das Zytoplasma an. Das detektierte Protein hat ein Molekulargewicht von 46 – 48 kDa. Seine Funktion ist bislang noch nicht bekannt. Einige Nervenzellen werden von dem Anti-NeuN allerdings nicht erkannt, z. Bsp. Purkinje-Zellen des Kleinhirns (siehe Histokurs im Sommersemester)

Mittlere und starke Vergrößerung: Die Nervenzellen heben sich mit ihren braun gefärbten Zelleibern deutlich vom umgebenen Gewebe ab. Die Ausläufer sind nicht erkennbar. Graue und weiße Substanz lassen sich leicht voneinander abgrenzen. Bei dieser Färbung lassen sich sehr gut die verschiedenen Kortexbereiche (Iso- und Allokokortex) voneinander unterscheiden. Die außen liegende Hirnrinde besteht zum größten Teil aus dem 6-schichtigen Isokortex, wohingegen in der Hippocampusformation (V- und C-förmige Hirnbereiche unter der Hirnrinde) ein dreischichtiger Allokokortex vorliegt. In der Hippocampusformation sind die kleinen Körnerzellen des Gyrus dentatus gut von den großen Pyramidenzellen des Ammonshorns zu unterscheiden.

Zeichnen: Einige benachbarte Nervenzellen bei starker Vergrößerung.

Präparat 32: Astrozyten Großhirn (Ratte), Kasten-Präp. Nr. 32

GFAP-Immunhistochemie (Glial-Fibrillary-Acidic-Protein = Gliales-Saures-Faserprotein)

Astrozyten sind die größten Gliazellen. Durch ihre langen, sich verästelnden Fortsätze anastomosieren sie miteinander, so dass sie ein dreidimensionales Netzwerk bilden. Damit entwickeln sie ein Stützgerüst des Nervengewebes. Sie haben aber auch durch ihre Kontakte zwischen Kapillaren und Nervenzellen eine große Bedeutung für den Stoffaustausch innerhalb des ZNS. Die GFAP-Immunhistochemie bietet die Möglichkeit, Teile des Zytoskeletts von Astrozyten selektiv darzustellen. GFAP ist ein Intermediärfilamentprotein mit einem Molekulargewicht von ca. 51 kDa.

Starke Vergrößerung: Die Astrozyten heben sich mit ihren dunklen, stark verzweigten Fortsätzen deutlich vom Untergrund ab. An günstigen Stellen kann man erkennen, daß die Fortsätze Kontakte zu Kapillaren haben. Bedenken, Sie, dass nicht der gesamte Astrozyt mit Zytoplasma und Kern dargestellt sind, sondern nur Teile des Zytoskeletts (GFAP). An geeigneten Zellen kann man daher z. Bsp. Die Kernaussparung erkennen. Die Astrozyten füllen mit ihren weiten Verzweigungen die Räume zwischen den Nervenzellen in der grauen Substanz aus. Sie finden sich aber auch in der weißen Substanz. Bei Hirnschäden bilden Sie später das Narbengewebe aus.

Zeichnen: Astrozyten mit Fortsätzen und Kontakt zu Kapillaren bei starker Vergrößerung.

Präparat 33: Mikrogliazellen Hirn (Ratte), Kasten-Präp. Nr. 33

OX42-Immunhistochemie (OX42 = CD-11b-Oberflächenprotein)

Mikrogliazellen sind ortsständige Makrophagen des Gehirns. Sie stammen von Monozyten ab und gehören somit zum mononukleären Phagozytensystem (siehe Kurs-Präparat Nr. 11). Der Antikörper gegen OX42 richtet sich gegen ein Oberflächenprotein (CD-11), welches auf der Oberfläche der meisten Makrophagen lokalisiert ist.

Mikrogliazellen können in 2 verschiedenen Zuständen vorliegen. Zum einen als ruhende Mikroglia, bei der die Zellen feine lange Ausläufer besitzen („zertretener Weberknecht“) oder als aktivierte Mikrogliazellen, die eine amöboide Morphe aufweisen. Diese aktivierten Mikrogliazellen sind dann die Zellen, die abgestorbene Zellen und Debris abräumen. Das degenerierte Gewebe wird dann durch eine Glianarbe, die aus Astrozyten besteht, ersetzt.

Starke Vergrößerung: Die Mikrogliazellen lassen sich am besten in den Bereichen der weißen Substanz mikroskopieren, da dort die Hintergrundfärbung geringer ist.

Zeichnen: Einige Mikrogliazellen mit Ausläufern.