

3. Material und Methode

3.1 Histologische Schnittserien

Diese Studie beruht auf der Untersuchung neun menschlicher Embryonen und Feten unterschiedlicher Entwicklungsstadien. Die Embryonen sind Teil der histologischen Sammlung von Prof. Dr. R. J. Radlanski, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, Abteilung für Experimentelle Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde. Sie sind äußerlich unversehrt, ohne Anzeichen von Missbildungen und stammen von legalen oder spontanen Schwangerschaftsabbrüchen.

Alle Embryonen liegen als Schnittserien unterschiedlicher Ebenen vor. Die Scheitel-Steiß-Länge (SSL) der untersuchten Embryonen beträgt zwischen 19 mm und 250 mm. Dies entspricht etwa dem Alter der 7. – 26. Woche. Die SSL wird vom Scheitel bis zum Mittelpunkt zwischen beiden Gesäßerhebungen gemessen (LANGMANN 1989).

Katalog- nummer	SSL (mm)	Schnitt- Richtung	Geschätztes Alter (Wo.)	3D-Re- konstruktion
CHR 220687	19,0	SAG	7	x
DID 110686	22,0	HOR	7	
JOS 080289	25,0	HOR	8	x
HAN 040389	53,0	SAG	9	
SIM 280489	54,0	SAG	9	
HUL 110589	117,0	FRO	14	x
PIT 180494	116,0	HOR	18	
AMA 16294	225,0	HOR	23	
LUI 010293	250,0	SAG	26	x

Tabelle 1: Auflistung aller untersuchter Embryonen nach Größe, Alter, Schnitttrichtung und 3D-Rekonstruktion.

Die Präparate wurden nach standardisierter histologischer Methode in Bouin`scher Lösung fixiert und durch Alkohol mit steigenden Konzentration bis zu 100% dehydriert (ROMEIS 1989). Abhängig von Größe und Grobpräparation der Präparate erfolgte die Entkalkung mittels RDO-Schnellentkalker (Eurbio, Paris, France) und EDTA für 2-30 Tage. Anschließend wurden die Präparate nach Standardverfahren in Paraffin eingebettet und in horizontale, frontale und sagittale Serien von 10 µm Dicke geschnitten (Leica, Reichert-Jung RM 2065).

Die Standardfärbung erfolgte mit Hämatoxylin-Eosin (H. E.). Einige ausgesuchte Schnitte wurden zusätzlich mit der modifizierten Masson-Goldner Färbung versehen (PRESNELL et al.1997).

3.2 3D Rekonstruktion

Bei vier der Schnittserien wurden die zu rekonstruierenden anatomischen Strukturen mit dem Lichtmikroskop (Zeiss Universal, Oberkochen, Deutschland) differenziert und mit 25- bis 40facher Vergrößerung dargestellt. Die verschiedenen Gewebkonturen der einzelnen Schnitte wurden mittels eines integrierten Zeichenspiegels auf Transparentpapier übertragen und anschließend auf einem Lichtkasten anhand charakteristischer anatomischer Merkmale (Ektoderm, Augen, Strukturen der Schädelbasis) wieder zusammengesetzt (GAUNT und GAUNT 1978, RADLANSKI und JÄGER 1992). Voraussetzung für die möglichst fehlerfreie Rekonstruktion der Schnitte war die Anlage eines Referenzblattes mit mindestens drei Markierungen (Kreuze), die von Zeichnung zu Zeichnung übertragen wurden.

Danach wurden die auf Transparentpapier übertragenen histologischen Schnitte eingescannt und unter Verwendung der Software Analysis© (SIS, Münster, Deutschland) in dreidimensionaler Gestalt wiedergegeben. In Abhängigkeit von Rekonstruktionsgröße, Gesamtschnittzahl und daraus folgender späterer Datenmenge wurde nur jeder zweite bis sechste Schnitt gescannt.

Eine direkte Rekonstruktion durch gescannte mikroskopische Bilder war aufgrund der histologischen Komplexität und der schwierigen Differenzierung unterschiedlicher Gewebsarten nicht möglich.

Erst durch die dreidimensionalen Darstellung können morphologisch bedeutsame Wachstumsvorgänge und Wachstumsrichtungen unabhängig von der Schnittrichtung aus jeder Perspektive betrachtet und untersucht werden.