

- Institut für Anatomie der Universität Leipzig -

Die Dünnschnittplastination

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Grades eines Doktor rerum medicinalium

der

Universität Witten/Herdecke

im

Bereich Medizin

vorgelegt von

Hanno Steinke

aus Leipzig

im Jahre 2005

Promotionskomitee:

(Akademischer Titel, Vor- und
Familiennamen)

1. Mitglied (Betreuer):

Prof. Dr. med. G. Reiss

2. Mitglied:

Prof. Dr. med. N. Krüger

3. Mitglied:

Prof. Dr. med. K. Spanel-Borowski

Gutachter:

Tag der Disputation:

Inhaltsverzeichnis

1.	Einführung	1
1.1.	Stand	1
1.2.	Ziel vorliegender Arbeit	2
2.	Material und Methode	7
2.1.	Vorbehandlung	7
2.1.1.	Vorbehandlung fixierten Gewebes	7
2.1.2.	Vorbehandlung von unfixiertem Gewebe einer 64jährigen	9
2.1.3.	Beispiele weiterer unfixierter Präparate	10
2.1.4.	Farbige Injektion der Gefäße und farbige Einbettung	13
2.2.	Untersuchung der Leiche mit BV	15
2.2.1.	MRT 64 ♂	15
2.2.2.	MRT 64 ♀	16
2.2.3.	Beispiele weiterer unfixiert untersuchter Leichen	16
2.3.	Einfrieren und Sägen	18
2.3.1.	Die Einwirkung des Vorkühlens auf das Einfrieren	18
2.3.2.	Die Wirkung des Einfrierprozesses auf das Scheibenplastinat	19
2.3.3.	Das Sägen von Dünnschnitten	22
2.3.4.	Verbesserung des Sägevorganges bei weiteren Untersuchungen	25
2.4.	Entwässerung und Färbung	27
2.4.1.	Die Gewebsschrumpfung im Gefrier austausch	28
2.4.2.	Der gestaffelte Gefrier austausch	32
2.4.3.	Das Entfetten der Körperscheiben	34
2.4.4.	Einführung histologischer Färbemethoden beim Gefrier austausch	35
2.5.	Imprägnation	38
2.5.1.	Das Polymerisationsverhalten von Kunststoffplatten	38
2.5.2.	Die Gewebsschrumpfung während der Imprägnation	41
2.5.3.	Das adaptierte Imprägnieren von Körperscheiben	42
2.5.4.	Das Einbetten der imprägnierten Körperscheiben	42
2.6.	Polymerisation	44
2.6.1.	Härte und Flexibilität von DSP	44
2.6.2.	Das Tempern	44
2.6.3.	Die Farberhaltung gefärbter DSP	45
2.7.	Digitalisierung/Korrelation	46
2.7.1.	Fotografie und Scann	46
2.7.2.	Das Korrelieren von MRT und Plastinat	46
2.7.3.	Das Alignment und die dreidimensionale Visualisierung	50

3.	Ergebnisse	52
3.1.	Vorbehandlung	52
3.1.1.	Vorbehandlung fixierten und unfixierten Gewebes	52
3.1.2.	Die Vorbereitung des Gewebes zur Erzeugung optimaler MRT und CT	55
3.1.3.	Die Erzeugung von Gefrierschnitten von fixiertem und unfixiertem Gewebe	59
3.1.4.	Farbige Injektion und Einbettung	60
3.2.	Untersuchung der Leiche am MRT	61
3.2.1.	Das Befestigen des Leichnams zur Untersuchung und zum Transport in das Plastinationslabor	61
3.2.2.	Das Justieren des MRT	62
3.2.3.	Die Markierung der Bezugsebenen	63
3.3.	Einfrieren und Sägen	64
3.3.1.	Die Einwirkung des Vorkühlens auf das Einfrieren	64
3.3.2.	Die Wirkung des Einfrierprozesses auf das Scheibenplastinat	66
3.3.3.	Das Sägen von Dünnschnitten	67
3.4.	Entwässerung und Färbung	69
3.4.1.	Die Gewebsschrumpfung im Gefrieraustausch	69
3.4.2.	Der gestaffelte Gefrieraustausch	75
3.4.3.	Das Entfetten der Körperscheiben	76
3.4.4.	Die Einführung histologischer Färbemethoden während des Gefrieraustausches	77
3.5.	Imprägnation	78
3.5.1.	Das Polymerisationsverhalten von Kunststoffplatten	78
3.5.2.	Die Gewebsschrumpfung während der Kunststoffimprägnation	79
3.5.3.	Das adaptierte Imprägnieren von Körperscheiben mit E12 und FO 127	81
3.5.4.	Das Einbetten der imprägnierten Körperscheiben	81
3.6.	Polymerisation	81
3.6.1.	Härte, Flexibilität und Transparenz von Dünnschnittplastinaten	82
3.6.2.	Das Tempern	82
3.6.3.	Die Farberhaltung gefärbter Dünnschnittplastinaten	83
3.7.	Digitalisierung/Korrelation	83
3.7.1.	Fotografie und Scann	84
3.7.2.	Das Korrelieren von MRT und Plastinat	84
3.7.3.	Das Alignment und die dreidimensionale Visualisierung	85

4.	Diskussion	86
4.1.	Vorbehandlung.....	88
4.1.1.	Vorbehandlung fixierten und unfixierten Gewebes.....	88
4.1.2.	Die Vorbereitung des Gewebes zur Erzeugung optimaler MRT	91
4.1.3.	Die Auswirkung der Vorbehandlung auf die Erzeugung von Gefrierschnitten.....	94
4.1.4.	Farbige Injektionen der Gefäße und farbige Einbettung	98
4.2.	Untersuchung der Leiche am MRT	100
4.2.1.	Die Markierung der Bezugsebenen.....	100
4.2.2.	Das Justierung des MRT	101
4.2.3.	Das Befestigen des Leichnams zur Untersuchung und zum Transport in das Plastinationslabor.....	102
4.3.	Einfrieren und Sägen.....	103
4.3.1.	Die Einwirkung des Vorkühlens auf das Einfrieren	103
4.3.2.	Die Wirkung des Einfrierprozesses auf das Scheibenplastinat	104
4.3.3.	Das Sägen von Dünnschnitten.....	105
4.4.	Entwässerung und Färbung	107
4.4.1.	Die Gewebsschrumpfung im Gefrier austausch.....	107
4.4.2.	Der gestaffelte Gefrier austausch.....	110
4.4.3.	Das Entfetten der Körperscheiben	111
4.4.4.	Die Einführung histologischer Färbemethoden während des Gefrier austausches	113
4.5.	Imprägnation	116
4.5.1.	Das Polymerisationsverhalten von Kunststoffflotten	119
4.5.2.	Die Gewebsschrumpfung während der Kunststoffimprägnation ...	119
4.5.3.	Das adaptierte Imprägnieren von Körperscheiben mit Kunststoff .	120
4.5.4.	Das Einbetten der imprägnierten Körperscheiben	121
4.6.	Polymerisation.....	121
4.6.1.	Härte, Flexibilität und Transparenz von Dünnschnittplastinaten ...	123
4.6.2.	Das Tempern.....	124
4.6.3.	Die Farberhaltung gefärbter Dünnschnittplastinaten.....	125
4.7.	Digitalisierung/Korrelation	125
4.7.1.	Fotografie und Scann	126
4.7.2.	Das Korrelieren von MRT und Plastinat	127
4.7.3.	3D- Visualisierung	129
5.	Zusammenfassung.....	135

Literatur	I
URL referring.....	XIV
FTP und CD	XVI
Abbildungsverzeichnis	A
Tabellen	C
Diagramme	D
Abkürzungsverzeichnis.....	D
Anmerkungen.....	E
Anhang (Liste der Körperspender)	H

1. Einführung

1.1. Stand

Ärztliches Können setzt Wissen voraus. Vor allem in der invasiven Medizin ist anatomisches Wissen die Grundlage des besonders des Chirurgen aber auch für den praktisch tätigen Arzt (STRATE et al. 1998).

Durch bildgebende Verfahren (BV) wie die Computertomographie (CT), Magnetresonanz Interferometrie oder Magnetresonanztomografie (MRT) und Positronenemmissionstomografie (PET) oder Sonographie werden dem Arzt neue Einblicke in den menschlichen Körper gewährt. Der untersuchende Arzt muß die Anatomie am gegebenen Bild deuten. Deshalb wird wissenschaftlich viel daran gesetzt, mit Hilfe der BV anatomische Strukturen sicher diagnostizieren zu können.

Die traditionelle Anatomie mit ihren morphologischen Präparationstechniken wird selten als Forschungsmethode verwendet, um die mit den BV gewonnenen Ergebnisse zu prüfen, wahrscheinlich, weil diese Techniken selten beherrscht werden (s. Anmerkungen: Präparator).

Trotzdem scheint die moderne Medizin die klassische Morphologie weiter zu benötigen, wie beispielsweise das „*visible human project*“ [Online: NLM] verdeutlicht (SPITZER et al. 1996, SPITZER et WHITLOCK 1998), [Online: NLM].

Ähnliche Projekte gibt es in Korea (*visible human korean*, VHK; CHUNG et KIM 2000; CHUNG et PARK 2003) und in China (*chinese visible human*, CVH; ZHANG et LEE 2002), [Online: VHK; Online: CVH].

Diese Projekte erarbeiten mehrere Datensätze aus BV mit zugehörigen Bildserien von Schnittflächen eingefrorener Leichen (ACKERMAN 1999). 1400 Arbeitsgruppen in 43 Ländern verarbeiten die Daten des VHP [Stand 1995, ZHANG et al. 2003 [Online: NLM].

Der heutige Forschungsschwerpunkt im Fach Anatomie liegt weniger in der makroskopischen Darstellung vermeintlich altbekannten Wissens am Präparat oder anhand der Ergebnisse moderner BV, als vielmehr im Schaffen neuen Wissens vor allem mit molekularbiologischen Methoden.

Dabei wird insbesondere die Substruktur erforscht und die dazu nötige Technik verbessert, was sich in der Masse entsprechender Publikationen zeigt und in dem Mangel an makroskopischen Untersuchungen.

Anders als die histologischen, histochemischen, zytologischen und schließlich molekularen Techniken werden die makroskopischen Präparationstechniken zur Darstellung der Schnittanatomie derzeit wenig verbessert, sondern, wenn überhaupt, zumeist unverändert angewandt (s. Anmerkungen: Präparator).

Um beispielsweise die Topographie von zweidimensionalen Schnittpräparaten zu zeigen, stellt HYRTL Gefrierschnitte in unterschiedlichen Dicken von Leichnamen her. 1860 präsentierte dieser Autor 1 cm dicke Gefrierschnitte. In jüngerer Zeit stellt man an solcherart Schnitten umfangreiche Untersuchungen an, um MRTs und CTs zu interpretieren, etwa beim „*Visible Human Project*“ (VHP) [Online: NLM].

1.2. Ziel vorliegender Arbeit

Vorliegende Arbeit dient der Interpretation von CT und MRT anhand anatomischer Präparate anhand von Fallbeispielen, an denen das Vorgehen mit dieser vergleichend- anatomischen Technik in Schritten erläutert wird. Mit der anatomischen Technik der Schnittanatomie (HYRTL 1860) verbessern RAUSCHNING unter anderem mit BERGSTROM die vergleichende radiologisch- anatomische Technik, in dem diese und andere Autoren gefrorenes, fixiertes Leichenmaterial radiologisch untersuchen und dieses anschließend einbetten, zersägen und fotografieren (RAUSCHNING 1983; RAUSCHNING et BERGSTRÖM 1983; RAUSCHNING et al. 2003, BASSETT et al., 1991).

Der Interpretation von CT und MRT dienen auch die Projekte „VHP“ (1996), „VHK“ und „CVH“ (beide 2003) durchgeführt - also ebenfalls mit der Technik, die HYRTL (1860) und auch BRAUNE (1875, BRAUNE et ZWEIFEL 1890) mehr als hundert Jahre zuvor angewandten.

In dieser Arbeit wird gezeigt, mit welcher Technik diese Interpretation genauer erfolgen kann, indem hochauflösende, dünne Plastinate (DSP) sowohl vergleichend zu MRT und CT als auch isoliert als Präparate für Lehr- und Studienzwecke hergestellt werden können.

Die Bedeutung anatomischer Untersuchungen von MRT anhand originaler Schnitte stellen MACKENZIE et. al. (1994) fest. Der Autor betont neben dem Nutzen in der ärztlichen Weiterbildung „*the investigation of the signal characteristics of the tissues, the validation of the interpretation of images and the demonstration of the technical capabilities of an imaging sequence*“ (p.184).

Bei dem *VHP*, dem *VHK* und *CVH* fotografiert man die Schnittflächen schrittweise vom eingefrorenen, unfixierten Leichnam in Aufsicht nach der von RAUSCHNING (1983) entwickelten Hobeltechnik (SPITZER et al. 1996; CHUNG et KIM 2000; ZHANG et al. 2003). Die entstandenen digitalen Bilder sind mit denen der vorher eingesetzten BV gut korrelierbar. SPITZER et al. (1996) müssen beim *VHP* zur Kenntnis nehmen, daß die unter der Schnittfläche liegenden anatomische Strukturen durch das gefrorene Wasser des Gefrierschnittes an dessen Oberfläche hindurch scheinen, wodurch das Bild unscharf wird. Um diesen Effekt zu minimieren, sprühen diese Autoren niedrigmolekulare Alkohole auf den Schnitt.

Den dabei beobachteten Effekt eines sich verschärfenden Bildes stellt RUTH bereits 1934 bei der Einbettung in Glycerin fest, und zwar in Anwendung der SPALTEHOLZschen Erkenntnis der optischen Eigenschaften biologischen Gewebes (1911).

Gleichfalls zur Verbesserung der optischen Auflösung montiert WOLFF 1933 unter Erhaltung der Farbe von gefrorenem Gewebe geschnittene Körperscheiben in Sichtrahmen. Aber erst die Einbettung dieser Gefrierschnitte in optisch dichtere Medien verbessert die Auflösung (PIECHOCKI 1986).

Wesentlich verbessert wird die optische Auflösung erst durch das Einbetten von Schnitten in optisch dichte Medien (ROMANIAK 1946), vor allem in die durch VON HAGENS 1977 patentierte und ein Jahr darauf von dem selben Autor gemeinsam mit KNEBEL (1978) vorgestellten Plastinationskunststoffe (VON HAGENS 1977, VON HAGENS et KNEBEL 1978).

Zur Verbesserung der optischen Auflösung wird deshalb in dieser Arbeit keine Gefrierschnitttechnik entwickelt, sondern die Plastination modifiziert.

Die Plastination, eine Präparationstechnik, bei der das Gewebswasser durch Kunststoff ersetzt wird, ist durch einen Bereich dieser Technik bekannt geworden: die Silikonplastination (BOHANNON 2003). Für Körperscheiben führt VON HAGENS mit KNEBEL (1978) einen weiteren Kunststoff ein, das Epoxidharz, das einen dem menschlichen Gewebe ähnlichen Lichtbrechungsindex wie das Gewebe aufweist. Plastinierte Körperscheiben werden dadurch transparent und somit optisch höher auflösend als Gefrierschnitte oder Scheiben formalinfixierter oder unfixierter Präparate. Transparente Plastinationsscheiben können entweder durch Plastination von gefriergeschnittenen Köperscheiben erzeugt werden („Scheibenplastination“) oder sie werden von im Voraus plastinierten Proben mit einer Feinsäge abgeschnitten („Block-“ oder „Stückplastination“).

Von Blöcken kann sehr dünn abgeschnitten werden (0,2 mm, MATSUMURA et SAITO 1997; HOCH et al. 1999). Da die Haut eine Diffusionsbarriere für Kunststoff darstellt (STEINMANN 1982, PIECHOCKI 1986), kann diese Technik an intakten Leichen oder großen Leichenteilen nicht angewendet werden. Zwar sind die Schnitte von Blockplastinaten anfärbbar. Der Vorgang ist insgesamt aufwendig, denn jeder Schnitt muß einzeln geschliffen und poliert werden (FRITSCH 1988). Damit die vom Block abgesägten Körperscheiben transparent werden, gießt REIZ (2002) sie noch einmal in Kunststoff ein, wie auch HOCH et al. (2004a, 2004b).

Trotz des Aufwandes wird die Blockplastination häufiger angewendet als die Scheibenplastination, denn die optische Auflösung ist, bedingt durch die geringe Schnittdicke von etwa 0,2 mm, sehr hoch.

Die Scheibenplastination (BRIZZI et al. 1994, JONES 2002) wird in Korrelation zu BV bisher in der Stärke von ca. 3 mm Dicke eingesetzt (BEYERSDORFF et al. 2001). ZHANG.M und LEE erzeugen 2,5 mm dünne Plastinate mit der Scheibenplastination, allerdings ohne BV (2002), weswegen keine Korrelation möglich ist.

Wenn in dieser Arbeit gezeigt werden kann, daß man sehr dünne Scheibenplastinate mit radiologischen Abbildungen vergleichen kann, und diese Plastinate eine höhere optische Auflösung als die CTs und MRTs erreichen, ist gewährleistet, daß die radiologischen Schnittbilder mit den Scheibenplastinaten eindeutig diagnostizierbar sind.

Für den Kliniker ist die Anwendung der Plastination in Zusammenhang mit den üblichen Untersuchungsmethoden interessant, besonders mit MRT (z.B. ZHANG et al. 2002, THOMAS et al. 2001, 2004), aber auch mit CT (z.B. QIU et al. 2004a; SORA et al. 2002a) oder mit Sonographie (z.B. BRÖKELMANN 1989, ECKSTEIN 1994). Dabei sind diese Untersuchungen entweder korrelierend (dasselbe, identische Plastinat wird vergleichend radiologisch untersucht), oder korrespondierend (ein gleiches, ähnliches Plastinat wird vergleichend untersucht), wobei diese Begriffe unscharf verwendet werden.

Da durch den medizintechnischen Fortschritt in den radiologischen BV die Abbildungen in immer höherer Qualität vorliegen, sollte es möglich sein, eine korrelierende Körperscheibe so dünn herzustellen, daß qualitativ gleichwertige oder hochwertigere Plastinationsbilder dem klinisch korrelierendem Bild zugeordnet werden können.

Ist der Schnitt sehr dünn, sollte das Gewebe gefärbt werden, weil die körpereigenen Pigmente zur Differenzierung an einem dünnen Schnitt unzureichend sind (STEINKE 2001, STEINKE et al. 2002).

Färbungen sind in dieser Technik nicht beschrieben (11/2004). Nachfragen in den Laboratorien von VON HAGENS ergaben, daß –zunächst ergebnislos- an Körperscheibenfärbungen geforscht worden ist (SCHILL 2003).

Die vorliegende Arbeit beschreibt die Methode der Dünnschnittplastination (DSP), mit welcher 0,8 mm dünne, plastinierte, Körperscheiben hergestellt werden. Die Zuordnung der Strukturen wird beispielhaft an entsprechenden Bildern aus BV gezeigt, und zwar sowohl von anderen Präparaten (korrespondierend), als auch (besonders zu MRT) von Leichenmaterial, das erst mit BV untersucht und anschließend mit der DSP untersucht wird (korrelativ). Im Mittelpunkt der Untersuchung an menschlichen Präparaten steht die Klärung folgender Problemstellungen:

Welchen Einfluss hat die Vorbehandlung (Fixierung, Pufferung, Temperatur) sowohl auf die MRTs, welche vor der Dünnschnittplastination an der Leiche gewonnen werden, als auch auf die Plastination?

Wie gewinnt man MRTs in den klinisch routinemäßig angewendeten Wichtungen T1 und T2 unter Markierung der zugrundeliegenden Schnittebenen für die nachfolgende Plastination um Korrelation zu erreichen?

Wie optimiert man das Einfrieren, um intakte Gefrierschnitte für die Dehydratation, die Gewebsfärbung und die Imprägnierung herzustellen?

Können durch die Verbesserung der Entwässerungstechnik Schrumpfrisse vermieden werden? Wie wird eine nachfolgende Färbung der Gefrierschnitte gewährleistet?

Welche ist eine optimale Technik der Vakuumdurchtränkung von Körperscheiben mit Kunststoff? Kann die Vakuumdurchtränkung von Körperscheiben mit Kunststoff optimiert werden?

Wie polymerisieren verschiedene Kunststoffe *in situ* und mit welcher Haltbarkeit der Färbung und des Schnittes polymerisieren sie?

Wie korrelieren digitalisierte Abbilder der polymerisierten Körperscheiben mit denen ihrer MRTs?

Im Ergebnis sind makroskopische Schnittpräparate von hoher Qualität hergestellt worden, welche die zugehörigen MRTs in der Qualität der optischen Auflösung übertreffen. Mit der DSP werden hochauflösende digitale Bilder von Plastinaten akquiriert und mit dem zugehörigen Bild aus BV (CT, MRT) für ausgewählte topografische Gebiete korreliert.

Das Bilderpaar ist als Referenzbild am Lebenden anwendbar, wodurch die Darstellung und Diagnose sehr feiner und variabler anatomischer Strukturen der Bilder aus BV im Vergleich mit dem DSP möglich wird.

Bei den Beschreibungen der Untersuchung verschiedener Leichname steht die Technik im Vordergrund. Zur Verdeutlichung der Vorgehensweise der angewendeten Techniken wurde eine Auswahl aus der Vielzahl der untersuchten Präparate getroffen.

Sämtliche Körperspender für die Plastination sind mit ihren Projekten im Anhang aufgeführt (s.u., Anmerkungen).

Die medizinischen Fragestellungen, deren Beantwortung die DSP diene, stehen nicht im Vordergrund, sondern die zu diesem Zwecke eingesetzte Methode. Weil die Technik auf Grund des Interesses von Klinikern an den „*regions of interest*“ entstand, waren inhaltlich die topographische Sachverhalte zu klären, wozu die Plastination von Körperscheiben weiterentwickelt wurde. Diese Entwicklung ist der Schwerpunkt vorliegender Arbeit. Die beschriebene Methode ist auf jedes andere morphologische Untersuchungsgebiet anwendbar, bedarf der hier beschriebenen technischen Voraussetzungen.

Neben beispielhaften Bildpaaren und einzelnen repräsentativen DSP als Ergebnis der Untersuchung wird die exakte Arbeitsanleitung beschrieben, wie diese anatomischen Großschnitte hergestellt werden und wie die DSP zu vorher aus BV gewonnenen Bildern korrelieren. Darüber hinaus wird gezeigt, wie mit DSP und entsprechenden Injektionen sehr feine Gefäße dargestellt werden können, die eine 3D - Rekonstruktion erlauben. Auf die digitale Auswertung wird gesondert eingegangen.

Pathologisch-anatomische Strukturen begegnen dem klinisch tätigen Arzt in seiner Praxis durch BV (MRT, CT, Sonografie, Röntgen, PET). Diese Arbeit soll ein methodischer Beitrag sein, dem Kliniker zu helfen, detaillierte Aussagen über die anatomischen Strukturen zu treffen. Davon ausgehend kann die Diagnose von pathologisch-anatomischen Strukturen erleichtert werden.

2. Material und Methode

Jeder Schritt zum Herstellen von DSP baute auf den vorhergehenden auf. Über mehrere Jahre untersuchten wir die Wirkungen jedes Arbeitsschrittes auf menschliches Gewebe mit dem Zweck, eine Methode zu entwickeln, mit der dünne, gefärbte DSP erzeugt werden konnten. Die Methode gliederte sich in sieben Schritte. Die Untersuchung jedes Schrittes (Schritt 2.1.- Schritt 2.7.) wurde an Geweben von Körperspendern durchgeführt, die ihren Körper zu Lebzeiten dem Institut für Anatomie der Universität Leipzig zur Verfügung gestellt hatten (s.u.: Anhang: Liste der Körperspender).

2.1. Vorbehandlung

Das MRT und das CT einer Leiche sollte dem eines Lebenden möglichst entsprechen, und anschließend selbiges Gewebe gut zu DSP verarbeitbar bleiben. Deshalb waren für eine korrelative Untersuchungstechnik MRT/ DSP die Vorbehandlung des anatomischen Materials zu optimieren.

Von 27 mit Plastination untersuchten Leichen sollten einige vorher mit MRT und CT untersucht werden.

2.1.1. Vorbehandlung fixierten Gewebes

Der erste untersuchte Körperspender (64 ♂) war 1993 gestorben. Der Leichnam dieses Körperspenders wurde im Anatomischen Institut in Fribourg mit Formalin/Alkohol fixiert (PIECHOCKI 1986) und für die morphologische Untersuchungen der Anatomie in Dresden überlassen. Im März 1996 wurde dieser Leichnam zu Zwecken der Forschung und der Lehre in Kooperation der Institute für Anatomie Dresden und Leipzig in das Institut für Anatomie in Leipzig zur Plastination überführt.

Formaldehyd, so stellten AUH et al. (1994) für den Magen fest, hätte keinen starken Einfluss auf ein MRT. Die entstehende Gewebshärtung korrelierte nicht mit der Signalintensität. Auch das kindliche Gehirn erschien LAMONT et al. (1994) formalinfixiert eine hinreichende Qualität zur Untersuchung mit MRT zu haben und ebenso das Gehirn Erwachsener (TOVI und ERICSON 1992).

Weil PUTZ und ZUR NEDDEN (1983) mittels MRT an formalinfixiertem Material morphologische Fragestellungen erfolgreich beantworten konnten, und ECKSTEIN et al. (1994) von Formalin- alkoholfixierten Präparaten gute MRTs der Kniegelenke erzeugten, entschlossen wir uns, den Leichnam in dem formalinfixiertem Zustand mit MRT zu untersuchen.

Ellenbogen- und Kniegelenke von 64 ♂

Zu diesem Zwecke wurden im November des Jahres 1996 die Ellenbogen- und Kniegelenke des Verstorbenen 64 ♂ mit Messer und Knochensäge jeweils eine handbreit proximal und distal des Gelenkspaltes zirkulär in der Horizontalebene abgesetzt. Dabei wurde offensichtlich, daß das geronnene Blut, welches zumeist in den Venen anzutreffen war (HYRTL 1860), die Untersuchung zumindest bei der Herstellung der Körperscheiben stören würde, denn die Blutreste verschmutzten beim Sägen den Schnitt (VON HAGENS 1985). STEINMANN (1982) und PIECHOCKI (1986) empfahlen, geronnenes Blut mit isotonischer Kochsalzlösung aus den Präparaten auszuwaschen. Erfahrungen mit isotonisch perfundierten Ratten zeigten, daß von derartig behandeltem Material auch gute MRTs erzeugt werden können. Deshalb perfundierten wir eine Lösung folgender Bestandteile:

Natriumchlorid	62,60 g
Kaliumchlorid	4,48 g
Kalziumchlorid	4,38 g
Magnesiumchlorid	3,05 g
Natriumacetat	44,88 g (alles SIGMA)
gelöst in 1 l A.d.	

Diese Lösung wurde mit einem Irrigatorsystem, das 5 l Flüssigkeit auf 2,5 m Höhe zur Schwerkraftinjektion hieven kann, mittels eines Silikonschlauches über eingebundene Kanülen in die Hauptarterien der vier von 64 ♂ stammenden Präparate appliziert, wozu der zuführende Schlauch über T-Stückverbindungen geteilt wurde. Die dazu eingestellte Injektionshöhe des Irrigators (IH) betrug 2 m. Weil wir die Nebenarterien abgeklemmten, mußte die Perfusionslösung aus den Venen und aus dem Gewebe austreten. Wir spülten einen Tag, bis die Lösung klar erschien (STEINMANN 1982), was nach der Applikation von etwa 5 l Lösung pro Präparat der Fall war, bevor wir die Präparate mit MRT untersuchten.

Becken und Schultern von 64 ♂

Gleichfalls wurde das Becken dieses Leichnams durch einen Schnitt mit der einer Plastinationsbandsäge (WEBER 1994) kranial etwa in Höhe des Beckenkammes und kaudal unterhalb des Scrotums horizontal herausgeschnitten. Dieses Präparat sowie die ebenfalls untersuchten Schultern, die mitsamt des Schultergürtels dorsal stumpf unter den Mm. rhomboidei vom Thorax nach ventral abgelöst und dort nach Durchtrennung der Mm. pectorales aus dem Sternoclaviculargelenken exartikuliert worden waren, konnten nicht genügend mit o.g. Lösung perfundiert werden, weil die großen Gefäße nicht hinreichend aufgesucht und abgeklemmt werden konnten. Sie wurden lediglich mit Wasser abgespült. Größeren Aufwand hierzu betrieben wir nicht.

Weitere Untersuchungen an fixiertem Material

Ein vergleichbarer Versuch wurde 1999 am Kopf einer 84-jährigen, männlichen Leiche (84 ♂) und 2000 am Kopf einer 76-jährigen Frau durchgeführt (Anhang, Liste der Körperspender). Wir injizierten diese Präparate einen Tag lang mit Alkohol, und untersuchten sie zuvor und nachher mit MRT. Dann wurde plastiniert. Nicht perfundiert wurden außerdem die alkoholfixierten Köpfe von 77 ♀ a (1998) und 75 ♀ a und 84 ♂ (1999). 76 ♂ wurde aus organisatorisch-administrativen Gründen bei -20°C eingefroren und eine Woche später mit Alkohol fixiert. Nach 6 Monaten perfundierten wir den Kopf für DSP. Von dem bei -20°C eingefrorenen, später alkoholfixierten Leichnam, dessen Kopf zur Plastination perfundiert wurde, konnte wenig Perfusionslösung appliziert werden, auch nicht bei einer IH von 2m. Von diesem Material konnten keine DSP erzeugt werden.

2.1.2. Vorbehandlung von unfixiertem Gewebe einer 64-jährigen

Mit Blick auf die Qualität der DSP unter dem Einfluss der Fixierung während des Versuches (s.o., 2.1.1.) wurde 1997 ein weiterer Versuch durchgeführt, der ermöglichen sollte, den Einfluss der Vorbereitung auf das entstehende MRT vergleichen zu können. Deshalb wurde eine unfixierte Leiche untersucht.

Der Leichnam einer mit 64 Jahren Verstorbenen (64 ♀) wurde im Sommer 1997 zwei Tage nach Todeseintritt in das Institut für Anatomie Leipzig eingeliefert. Wie STEINMANN (1982) und PIECHOCKI (1986) zusammenfassend feststellten, sind zur Fixierung des Gewebeszustandes morphologischer Präparate mehrere Techniken einsetzbar: neben dem (für BV nicht anwendbaren) Einfrieren kann man die Sekundärstruktur der Eiweiße fixieren, wie das bei 64 ♂ durch Formaldehyd geschah (Formiatbindung), oder durch eine Tertiärstrukturänderung des Eiweißes mittels Entwässerung (Ethyl-, Propylalkohol usw.). Weiterhin können auch Salze genutzt werden, um den Gewebszerfall wenigstens temporär aufzuhalten (POOLEY et. al. 1970).

Da wir aus technischen, ethischen und hygienischen Gründen zwei Tage nach der Anlieferung der Leiche am MRT in der Nacht untersuchen konnten, entschlossen wir uns, den an der Leiche feststellbaren Gewebsverfall (grüner Bauch) durch die an 64 ♂ erprobte Perfusionslösung aufzuhalten. Zur Untersuchung kamen, der klinischen Fragestellung entsprechend, die vom Leichnam abgesetzten Knie. Eine handbreit oberhalb derselben wurde das Bein horizontal abgesetzt und die Perfusionslösung mit einem Irrigatorsystem nach der unter (2.1.1.) beschriebenen Methode durch die A. femoralis in das Bein perfundiert. Dazu war etwas weniger Druck nötig (IH ca. 1 m) aber durch die Perfusion des kompletten Beines mehr Lösung (etwa 15 l pro Präparat) notwendig. Nachdem die Kollateralen der A. femoralis abgeklemmt waren, trat nach einem Tag Spülen die Lösung klar aus den Venen und dem Gewebe aus. Weiterhin wurden die Unterschenkel dieser Leiche für Einfrierversuche genutzt (s.u., 2.3.2.).

2.1.3. Beispiele weiterer unfixierter Präparate

Das Leichenmaterial späterer Versuche gelangte unfixiert zur Untersuchung. Nach dem Jahre 2002 wurden diese Präparate erstens mit Seifenlauge abgewaschen. Zweitens wurden diese Präparate in gekühltem Zustand bei ca. 10°C von der Leiche seziiert, weil die Konsistenz des Gewebes bei dieser Temperatur fester ist als unter Raumtemperatur und die Arbeit dadurch einfacher vonstatten geht.

Die weiteren Angaben sind stichpunktartige Wiedergaben von sieben ausgewählten Arbeitsprotokollen.

Leiche einer 91jährigen (91 ♀)

Vorbereitung am 23.07. 1999. Ellenbogengelenke rechts horizontal, links sagittal; Untersuchung mit MRT und korrelierender DSP. Beide Gelenke wurden handbreit oberhalb der Art. cubiti von dem Leichnam seziiert und mit je drei Litern der beschriebenen Pufferlösung perfundiert. Anschließend wurde die Art. cubiti vom Unterarm eine handbreit unterhalb des Gelenkes abgesetzt. Von 91 ♀ kam gleichfalls die rechte Hand zur DSP, o. BV. Ein Liter wurde zusätzlich injiziert, weil nach Absetzen der Hand noch Blut in den Venen sichtbar war.

Leiche einer 77jährigen (77 ♀ a)

Vorbereitung am 5.10.1998, drei Tage nach Todeseintritt. Neben der Untersuchung des alkoholfixierten (s.o., 2.1.2.) wurde unfixiert perfundiert, ebenso 84 ♂ (Anhang: Liste der Körperspender).

Leichen zweien 85jährigen (85 ♀ a und 85 ♀ b)

Vorbereitung am 18.2.2000 (85 ♀ a) bzw. am 28.2.2000 (85 ♀ b); jeweils ein Tag nach Todeseintritt, beide Schultern über die freipräparierte A. brachialis mit je 8 l Lösung unter 1,5 m IH perfundiert. Nach der Perfusion wurde die Leiche in Bauchlage gebracht und beide Arme nach ventral- kranial mobilisiert.

Dazu wurde auf jeder Seite der *M. trapezius* und die *Mm. rhomboidei medial* der *Margo medialis scapulae* durchtrennt, nach oben durch den *M. levator scapulae* nach ventral durch den Gefäß-Nerven-Strang des Armes geschnitten, wodurch anschließend die Leiche in Bauchlage gebracht und die mittleren Schlüsselbeingelenke exartikuliert wurden, wodurch der Arm leicht nach ventral abgesetzt werden konnte.

Bei 85 ♀ a wurde dabei auf der *Scapula* entlang geschnitten, wodurch versehentlich Teile der Rotatorenmanschette im deren Ursprungsgebiet verloren gingen. Anhand der freiliegenden *Scapula* konnten die Schulterpräparate beider Leichen unterscheiden werden.

Nun wurden die Arme eine Handbreit über der *Art. cubiti* zirkulär durchschnitten und -gesägt. Die vier isolierten Schulterpräparate wurden erneut perfundiert (je 2 l, 2 m IH) und kamen zur vergleichenden Untersuchung MRT/DSP. Der Kopf des Leichnams 85 ♀ a wurde rot, der von 85 ♀ b rot und blau injiziert (s.u., 2.1.4.).

Leiche einer 75jährigen (75 ♀ b)

Vorbereitung am 28.09.2000, dem Sterbetag; für Kopf- Hals- Untersuchung, Untersuchung der Schultern sowie der re. u. li. Hand.

Zur Untersuchung des Kopf- Hals- Paketes mit MRT und DSP wurde am Leichnam ventral nach dem zirkulären Aufschneiden der Haut eine Handbreit unterhalb der *Clavikula* und der Entfernung der *Mm. pectorales* und *Mm. serrati anteriores* vom Thorax die mittleren Schlüsselbeingelenke mitsamt der *Clavikula* sagittal durchgesägt, dort die *Pars descendens* des *M. trapezius* aufgesucht und nach hinten durchschnitten, wodurch die *Mm. scaleni* in deren Ansätzen sichtbar wurden. Danach wurde das Sternum freipräpariert, welches wir in Höhe des 3. Interkostalraumes (ICR) horizontal durchtrennten. Das hatte zur Konsequenz, daß von dort aus im 3. ICR quer durch den *M. scalenus anterior* nach hinten bis zur vorderen Axillarlinie durch die Haut geschnitten werden konnte. Nach dem Drehen der Leiche auf den Bauch nahmen wir zuerst von dorsal den Schnitt durch die *Pars descendens* des *M. trapezius* wieder auf und verlängerten diesen durch die Haut und den Muskel in Richtung des Zählwirbels, wonach wir nach lateral im 3. ICR bis zur vorderen Axillarlinie schnitten. Dort durchtrennten wir die 3. und die 2. Rippe nach aufwärts, um auf den Gefäß- Nervenstrang des Armes zu stoßen, den wir dort durchtrennten. Nachdem der Rest des *M. serratus anterior*, die *Scapula* bedeckend, von derselben mitsamt des von hinten zur *Crista tuberculi minoris* ziehenden *M. latissimus dorsi* abgesetzt worden war, konnte der Arm zur weiteren Verwendung vom Thorax abgenommen werden. Dies ermöglichte uns, daß dieser vom Rumpf durch horizontales Durchsägen der Wirbelsäule in Höhe des 1. ICR getrennt und das Kopf- Hals- Paket entnommen werden konnte.

Dadurch lag das Herz frei und wurde gemeinsam mit der Lunge mit einem Schnitt quer durch das obere Mediastinum zur Stückplastination entnommen (= Plastination mit Silikon, nicht weiter beschrieben, s. Kapitel 1.).

Das entstandene Kopf-Hals-Paket konnte nun perfundiert werden. Dazu präparierten wir die *A. carotis communis dexter et sinister* frei und schlossen diese an das Irrigatorsystem an (15 l, 1 m IH). Nachdem wir die durchtrennten kleinen Arterien abgeklemmt hatten, mußte das Blut aus dem Gewebe und den Venen austreten. Als sich nach 7 h die Farbe der Haut auf hellweißlich geändert hatte, wurde diese Paket farbig injiziert (LUNDVALL 1927, s.u., 2.1.4.). Das Herz wurde zur farbigen Stückplastination alkoholfixiert [Online: 3D- STÜCKPLASTINATION].

Von den beiden durch die Präparation isolierten Armen wurden die *Aa. subclaviae* freipräpariert und wie oben beschrieben perfundiert (je etwa 5 l, 1,5 m IH). Anschließend wurden die Oberarme in der Mitte durchtrennt, wodurch zwei Schulterpräparate entstanden. Von den abgesetzten Armen wurden die Hände eine handbreit über dem proximalen Handgelenk zirkulär durchschnitten und Elle samt Speiche durchgesägt. An den entstandenen Handpräparaten wurden die *Aa. ulnares* und *radiales* aufgesucht und in dieselben erneut wie beschrieben perfundiert, weil beim Absetzen in den Venen noch geronnenes Blut vorgefunden wurde (je 1 l, 2 m IH).

Leiche einer 79jährigen (79 ♀)

Vorbereitung am 13.11.2000, einen Tag nach Todeseintritt, Untersuchung des Halses horizontal und des Kopfes wie bei 75 ♀ b, 85 ♀ a und 85 ♀ b, der Knie wie 64 ♀ sowie der Ellenbogen wie 85 ♀ a und 91 ♀, s.o., Entnahme des Herzens für Silikonplastination wie bei 75 ♀ b, Perfusion des Leichnams vor Plastination nach THIEL (1992) zur Entfernung des Blutes, des Magen- und Darminhaltes, anschließend Alkoholfixation.

Leiche einer 94jährigen (94 ♀ a)

Vorbereitung am 21.11.2000, dem Sterbetag; für DSP- Untersuchungen am Kopf in sagittaler Orientierung. Der Kopf wurde horizontal auf Höhe des 6. Halswirbels abgesetzt, weswegen nur über beide Aa. carotis communes perfundiert werden konnte (7 l, IH 1,5 m.) Am 22.11. injizierten wir über das Irrigatorsystem roten Farbstoff (s.u., 2.1.4.). Keine Untersuchung mit BV.

Leiche einer 76jährigen (76 ♀ a)

Vorbereitung am 21.9.2001, zwei Tage nach Todeseintritt. DSP- Untersuchungen am Kopf in frontaler Orientierung mit neuem Kunststoffgemisch (s.u., 2.5.2.). Der Tod von 76 ♀ a trat am 19.9.2001 ein. Die Leiche war postmortal nicht ausreichend kühl gelagert worden und wies Zeichen der beginnenden Autolyse auf. Der Kopf wurde horizontal mit Messer und Säge oberhalb des Zählwirbels abgesetzt und gemeinsam mit der rechten Schulter, die über ein T-Stück im Schlauch verbunden war und die mit der unter (85 ♀ a und 85 ♀ b) beschriebenen Technik abgesetzt wurde, entsprechend perfundiert (Kopf 10 l, Schulter 5 l, 1,5 m IH).

Leiche einer 76jährigen (76 ♀ b)

Untersuchung der Schulter in „apprehension- position“ analog 85 ♀ a und 85 ♀ b am 18.09.2001, einen Tag nach Todeseintritt (MRT).

Leiche eines 87- jährigen (87 ♂)

Vorbereitung am 14.12.2002, dem Sterbetag; Kopf- Hals horizontal analog zu 75 ♀ b sezirt und präpariert; DSP/CT/MRT, Kopf-Hals-Paket perfundiert (15 l, 1,5 m IH) zusätzlich blau und rot injiziert (s.u., 2.1.4., Abb. 24).

Leiche einer 77jährigen (77 ♀ b)

am 21.2.2003, einen Tag nach Todeseintritt; Kopf-Hals horizontal erst nach MRT sezirt und präpariert wie oben beschrieben (analog zu 75 ♀ b); anschließend zusätzlich farbige Einbettung des Kopf-Hals-Paketes (s.u., 2.1.4.), dabei Totalperfusion der Leiche mit 25 l erwärmter Perfusionslösung (1,5 m IH) unter Eröffnung der Vv. femorales, und anschließendem horizontalen Absetzen des Beckens kranial auf der Höhe des Beckenkammes und kaudal unterhalb der Labien entsprechend in diesem Falle erst nach MRT-Untersuchung des Kopf-Hals-Präparates unter Erwärmung des Präparates auf 38°C (DALAGER-PEDERSEN et al.2000). Entnahme des Herzens für Silikonplastination wie bei 75 ♀ b.

Es wurden weitere Leichen zur Untersuchung mit DSP vorbereitet, was nicht näher beschrieben wird, weil die angewandte Technik von der bisher beschriebenen nicht weiter abweicht. Die Ergebnisse dieser weiteren Untersuchungen sollten LEDIGLICH zur Illustration mit in Betracht gezogen werden. Die Herkunft und die Verwendung der von den Körperspendern für die Plastination entnommenen Organe und Präparate erläutert der Anhang. Wir untersuchten insgesamt 27 Leichen, davon waren 18 weiblichen Geschlechts.

2.1.4. Farbige Injektion der Gefäße und farbige Einbettung

Darstellung der Arterien und Venen

Nach Erfahrungen mit der BIODUR®- Injektionsmasse (VON HAGENS 1985), die wir am 19.02.2000 in den Kopf der Leichen 85 ♀ a applizierten (Arterien rot, horizontale Ebene), wurde als Schritt der Vorbereitung zur DSP farbige die Injektion nach LUNDVALL (1927) eingeführt, um die Blutgefäßversorgung darzustellen, und zwar am 28.2.2000 der Kopf von 85 ♀ b (zweifarbige: Arterien rot und Venen blau); das Kopf- Hals- Präparat von 75 ♀ b 2000 zweifarbig injiziert, beide canthomeatal) ; am 28.09.2000 der Kopf von 75 ♀ b (rote Injektion, horizontal). Nach dieser Technik wurde zur horizontalen Untersuchung der Kopf von 92 ♀ rot injiziert.

Ebenso wurden zweifarbig die Köpfe folgender Leichen injiziert: am 21.11.2000: 94 ♀ a (Arterien rot, sagittale Ebene); am 14.12.2002: 87 ♂ (canthomeatale Untersuchung); am 21.2.2003: 77 ♀ b (zusätzlich Einbettung in Gelatine, s.u. 2.1.4.).

Die dazu notwendige Gelatinelösung wurde von ZHANG et al. (2003) zur Gefäßdarstellung beim CVH 20%ig benutzt. Die von uns benutzte rote Injektionsmasse zur arteriellen Injektion bestand aus 5 % HgS in 10 %iger Gelatinelösung (SPALTEHOLZ 1911, LUNDVALL 1927)), die blaue für die Venen aus 5% Natrium-Aluminiumpigment ‚Ultramarinblau hell‘ (KREMER- Pigmente, D-88317 Aichstetten, Germany), gelöst in Gelatine gleicher Konzentration. Die Gelatinelösungen wurden nach eintägiger Quellung auf 45°C erwärmt und vor der Injektion durch eine Damenfeinstrumpfhose gegossen, um eventuell vorhandene Klumpen von Farbe und Gelatine auszuseihen, worauf die Injektion der farbigen Massen an den nach (2.1.1.-2.1.3.) vorbereiteten Präparaten erfolgte. Dazu wurden diese in einem Wasserbad auf 40°C erwärmt, damit die Gelatine auch während des Injizierens flüssig blieb und sich fein verteilen konnte. Für die Injektion wurde das Irrigatorsystem benutzt (s.o., 2.1.1., IH 2 m, Schlauchklemme am Schlauch). Der Irrigatorbehälter und die Injektionsschläuche wurden zuvor mit heißem Wasser gespült und dadurch angewärmt, was verhindern sollte, daß die Injektionsmasse vorzeitig geliert. Zur Aushärtung der injizierten Lösung mußten die injizierten Präparate für mindestens eine Stunde in kaltem Leitungswasser gekühlt werden.

Farbige Einbettung zur Verbesserung des *Alignments* (77 ♀ b)

Bei einigen Untersuchungen mit DSP (Kopf 85 ♀ a) ergab sich das Problem, daß die fertigen Plastinate bei der digitalen Auswertung nicht übereinander passten (s.u., 2.7.3.). Dieses Problem ist bekannt vom „*visible human project*“ (SPITZER et al. 1996). Diese Arbeitsgruppe goss die gefrorenen Gewebeblöcke

in 3%ige Gelatine ein, um das schichtweise Abhobeln der Oberfläche zu ermöglichen. Beim VHC wurde 5%ige Gelatine benutzt (ZHANG et al. 2003). RAUSCHNING (1983) benutzte Methylzellulose. Erste Versuche, nach dieser Methode gefrorenen Material in Methylzellulose oder Gelatine einzugießen, schlugen fehl, weil die Präparate trotz des von SPITZER et al. (1996) beschriebenen schnellen Einfrierens (bei -85°C) auftauten und sich das Einbettmedium nicht mit der Haut verband. ZHANG et al. froren deshalb bei nur -30°C ein (ZHANG et al. 2003). Wir versuchten das Problem des Alignments (s.u., 3.7.3. und 4.7.3.) zu lösen, indem wir bei der Leiche 77 ♀ b vor der Untersuchung mit BV mit roter und blauer Farblösung injizierten und nun zusätzlich vor dem Einfrieren das Präparat in farbige Gelatine eingossen. Die dazu hergestellte Gelatinelösung wurde 12%ig (12T Gelatine in 88 T A.d.) angesetzt und mit dem mineralischen Echtfarbstoff ‚Ultramarinblau hell‘ 5%ig versetzt, eine Gussform aus Glasscheiben in den Maßen 18 x 18 x 36 cm zusammengeklebt, die Form mit Silikonöl innen dünn eingefettet, in diese etwa 3 cm hoch die 40°C warme Gelatinelösung eingegossen und gewartet, bis sie diese begann zu gelieren.

Auf diese Schicht wurde das Kopf-Hals-Präparat von 77 ♀ b aufgelegt, und zwar unter Beachtung der Lage des Präparates, die sich aus den Untersuchungen mit MRT und CT ergab (s.u., 2.2.3.). Danach wurde die Gussform mit dem Kopf-Hals-Paket von 77 ♀ b mit der blauen Gelatinelösung innen bis zu den Nasenlöchern und außen bis zu den Wangenknochen aufgefüllt. Das Ergebnis zeigt Abbildung 6. Wir taten dies sowohl zur Gewährleistung paralleler Sägeschnitte beim Sägen (s.u., 2.3.3.) als auch, um die während des Sägens hergestellten Gefrierschnitte frisch fotografieren zu können, was uns später die Orientierung für die 3D- Rekonstruktion geben sollten (s.u., 2.7.2.), denn die fertigen Plastinate sollten anhand der Schnittländer des mit eingefrorenen, geschnittenen und plastinierten Gelatineblockes ausgerichtet werden, um Orientierungspunkte für das *Alignment* und die 3D-Rekonstruktion der Daten aus BV und Plastination zu erhalten (s.u., 2.7.3.). Dies entsprach der Technik, die RAUSCHNING et al. zur korrelierenden Darstellung der CT von unfixiertem Leichenmaterial zu Auflichtfotografien desselben Gewebes benutzte (= Korrelation; RAUSCHNING 1983, RAUSCHNING et BERGSTRÖM 1983, RAUSCHNING et al. 2003, STRÄUBLI et al., 2002).

Da wir nicht wie STRÄUBLI (et al. 2003) nach der Erfahrung von RAUSCHNING (1983) im Auflicht untersuchten, sondern zur Plastination dünne Schnitte als Korrelate herstellten, bezogen wir uns beim Aufziehen der Dünnschnitte zur Fotografie auf die Erfahrungen von ALBRECHT (1954). Zum Halten der in Gelatine eingebetteten Gefrierschnitte benutzten wir bei der Untersuchung von 71 ♀ aber Gelatine, sondern wie RAUSCHNING (1983) oder STRÄUBLI (2003) Karboxyl- Methyl- Zellulose- Gel.

2.2. Untersuchung der Leiche mit BV

2.2.1. MRT 64 ♂

Die formalinfixierten Ellenbogen- und Kniegelenke des Körperspenders 64 ♂ wurden am 27.1.1997 in Plastikfolie in die „Klinik und Poliklinik für Diagnostische Radiologie am Universitätsklinikum Leipzig, ab 1.7.1999 Anstalt öffentlichen Rechts“ (Radiologie) transportiert und dort auf Folien in den MRT gelegt und in die Untersuchungsröhre eingefahren. Zum Einsatz kam der MRT „SIEMENS-Magnetom Vision“. Dieses Gerät hatte eine Feldstärke von 1,5 Tesla. Dort wurden auf der Haut der Präparate entsprechend der am MRT verfügbaren zirkulären Lichtmarkierung einige Untersuchungsebenen mit wasserfesten Folienschreibern von oben farbig markiert.

Dorsal konnte wegen des fehlenden Lichtpfeils nicht markiert werden. Während das linke Ellenbogen- und Kniegelenk in der Längsachse in den Schacht des MRT gelegt wurde, demzufolge die Untersuchungsebene mitsamt den aufgemalten Linien horizontal war, wurde das rechte Ellenbogengelenk und das rechte Kniegelenk quer in den MRT gelegt, so daß die Untersuchungsebene der sagittalen Orientierung am Präparat entsprach.

Zur Untersuchung wählten wir die T1- und die T2-Wichtung.

T1: repetition time (TR) = 600 ms, echo time (TE) = 20, Schichtdicke (slice thickness, SL) = 5 mm, Field of view (FoV) = 130 x 130, Matrix = 512 x 512 Pixel;

T2: TR = 4500, TE = 96, TA = 10'18", SL = 5 mm, FoV = 150 x 150, Matrix = 512 x 512 Pixel ; [Online: MRT].

Nach der Untersuchung lagen die Datensätze als 2-dimensionale Dateien im DICOM-Format vor und mußten deshalb auf Grund der damals noch unzureichenden Netzwerkverbindung einzeln an einer UNIX-Workstation als TIF-Dateien umgewandelt werden. In das Netz der Universität transferiert waren sie anschließend zur weiteren Verwendung bereit und wurden auf CD geschrieben.

Das Präparat 77 ♀ a war ebenfalls fixiert und wurde am 25.4.2000 mit MRT untersucht. Zum Einsatz kam das offene MRT der Firma GENERAL ELECTRICS, Medical Systems, Typ SIGNA SP/i, 0,5 Tesla, mit mehreren Spinecho- und Gradientenechotypen (SYSTEMS 1993). Die zwei hauptsächlichen Einstellungen waren: SL 3,0, TR 24,9, TE 10,6; SL 4,0 TR 2500,0, TE 104,0.

Das Präparat war kurzzeitig mit Alkohol fixiert. Die Untersuchung mit MRT erfolgte vor und nach der Fixierung, um die Einwirkung der Fixation auf MRT und Plastination bestimmen zu können. DSP konnte hier nicht erfolgen.

2.2.2. MRT 64 ♀

Zur Untersuchung der unfixierten Knie dieser Leiche wurden dieselben Einstellungen des MRT wie bei 64 ♂ und benutzt (s.o., 2.2.1.). Die Knie wurden mit Gips getränktem Zellstoff auf einer Acrylplatte unterfüttert, um bei der Lagerung der Präparate eine Verformung zu verhindern, was topografisch zumindest subkutan veränderte MRTs zur Folge hätte. Diese Lagerung ergab sich auch aus Schwierigkeiten bei der eindeutigen Zuordnung der MRTs von 64 ♂ zu den entstandenen Plastinaten, welche auf Grund der Lagerungsart im MRT einige Veränderungen zeigten.

Wir benutzten zur Markierung der Ebenen nicht mehr Folienschreiber, sondern verschieden getönte Acrylfarben, die wir mit Pinseln entsprechend der gegebenen Markierung des Lichtpfeils, das am MRT zur Verfügung steht, an der Vorderseite der Knie anbrachten. Nach der Untersuchung war der mit Gips getränkte Zellstoff gehärtet und ein Verrutschen oder Verdrehen der Präparate beim Rücktransport in die Anatomie verhindert.

2.2.3. Beispiele weiterer unfixiert untersuchter Leichen

Die weiteren Angaben sind stichpunktartige Wiedergaben von sieben ausgewählten Arbeitsprotokollen. Die MRT- Einstellungen zur Untersuchung entsprach den allgemeinen Empfehlungen von ARMSTRON et WASTIE (1987) und RINCK et al. (1990).

MRT 91 ♀

Zur Untersuchung kamen beide unfixierte Ellenbogengelenke. Sie wurden rechts in horizontaler, links in sagittaler Ebene untersucht und die Untersuchungsebenen mit Acrylfarbe vom Lichtpfeil auf die entsprechend längs bzw. quer auf den Untersuchungstisch des MRT liegenden Präparate aufgetragen. Diese waren analog auf einer Unterlage aus OP-Stoff und Fliespapier gelagert, die leicht mit Gipsbinden (Moulage) verstärkt waren. Die Moulagen zur Untersuchung waren vorher im Plastinationslabor hergerichtet, damit die Feuchtigkeit und der Gips weniger stören würde, als wir das bei 64 ♀ beobachten mußten (2.2.2.).

MRT 75 ♀ b

Von dieser Leiche wurde das Kopf-Hals-Paket sowie beide Schultern mit MRT und DSP untersucht; die Hände hingegen nur mit DSP. Zum Einsatz kam das offene MRT der Firma General Electrics, Medical Systems, Typ SIGNA SP/i mit einer Feldstärke von 0,5 Tesla. Untersucht wurde mit T1 und der T2- gewichteten Sequenzen (s.o., 2.2.). Die Einstellungen wurden nach der Voransicht gewählt (SYSTEMS 1993). Dazu klebten wir das Präparat auf einer Kunststoffplatte mit Paketklebeband oberhalb der Folie fest. Das Kopf-Hals-Paket wurde in Folie verpackt und ein Verrutschen durch Fliespapier, Folien und dünne Gipsmoulagen vor der Untersuchung verhindert. Nach dem Transport in die Radiologie wurde das verpackte Präparat zur horizontaler Untersuchungsrichtung längs in die Röhre eingelegt, die Folien vorn aufgeschnitten und die Ebenen ventral im Gesicht und am Hals markiert, wie unter (2.2.2.) beschrieben.

MRT 85 ♀ a und 85 ♀ b

Aus den Ergebnissen der vorhergehenden Untersuchungen schlossen wir, daß ein Verlagern des Untersuchungsgutes nicht nur während der Untersuchung, sondern auch während des Transportes und des darauf folgenden Einfrierens sehr gewissenhaft vermieden werden muß. Wir konstruierten deshalb ein Untergestell aus Kunststoff, das ein Verwackeln oder Verdrehen der in Außenrotations-Abduktionsstellung gebrachten Schultern verhinderte (orthopädische Untersuchungsstellung zum „Apprehension-Test“ in „apprehension position“, THOMAS et STEINKE 2002).

Dazu wurden die vier Schultern in auf einer Phenolharzplatte in apprehension position gebracht, wobei der Angulus inferior scapulae nach unten zeigte, weswegen wir wie bei 75 ♀ b und 91 ♀ erneut Gipsmoulagagen einsetzten (Abb. 1: rechte Schulter von 85 ♀ a).

Die Schulterblätter von 85 ♀ a war durch das Vorgehen während der Vorbereitung (2.1.3.) von Muskulatur im Bereiche des Angulus inferior et Margo medialis scapulae frei.

Auf der Platte markierten wir die Ränder der Präparate. Dort bohrten wir Löcher und steckten in diese PVC-Bolzen, um daran mit Fäden das Schultergelenk zu befestigen, das dazu mit Löchern in Humerus und Scapula versehen war.

Dadurch war das Gelenk gegen Bewegung gesichert. Jeweils eine fertig vorgerichtete Platte mit Schulter in apprehension position jeder Leiche brachten wir quer und längs in das MRT und markierten analog zu 75 ♀ b die frontalen und horizontalen Untersuchungsebenen (s. Abb. 1).

Wegen der Außenrotations- Abduktionsstellung der Schulter kam das offene MRT mit 0,5 Tesla mit T1- und T2-Sequenzen zum Einsatz (GENERAL ELECTRICS, Medical Systems, Typ SIGNA SP/i). Die Untersuchung von 85 ♀ a erfolgte am 19.02.2000, von 85 ♀ b am 28.02.2000.

MRT 94 ♀ a

Diese Leiche wurde nicht BV untersucht, sondern es erfolgte ein indirekter Vergleich der Körperscheiben dieser Leiche mit MRTs des Kopfes in sagittaler Orientierung, welche aus dem Fundus der Radiologie stammten. Es handelte sich deshalb bei der Untersuchung von MRT 94 ♀ a um keine korrelative, sondern um eine korrespondierende Technik.

MRT 76 ♀ a

Wegen Zeichen beginnender Zersetzung wurde bei dieser Leiche analog zu MRT 94 ♀ a korrespondierend, die Ellenbogengelenke und das Acromioclaviculargelenk aber erneut korrelierend untersucht.

CT/MRT 87 ♂

Das zweifarbig injizierte Kopf- Hals-Paket wurde analog zu 85 ♀ a und 85 ♀ b untersucht, wobei die Unterlage nun nicht mehr eine Phenolharzplatte, sondern ein Holzkreuz bildete, in deren Schenkel vier Löcher gebohrt wurden, durch die wir in die in Rückenlage befindliche Leiche von wiederum Löcher anbrachten, welche sich kranial in der Hinterhauptschuppe, lateral in Bohrungen der Spinae scapulae und kaudal in der Nähe des Zählwirbels befanden (Abb.2). In diese Bohrungen steckten wir von unten her genau in die Bohrungen passende PVC- Bolzen ein, welche verhinderten, daß das Kopf-Hals-Paket während des Transportes und der Untersuchung verrutschen konnte. Die überstehenden Teile des Bolzens wurden von unten abgeschnitten. Damit das Leichenteil auch ventral nicht verrutschen konnte, klebten wir ihn mit Paketband auf dem Kreuz fest und packten alles in Folie mitsamt einer Holzbahre ein. Nach der Untersuchung am MRT wurde das Präparat auf der montierten Unterlage am CT mit folgenden Einstellungen untersucht: (14.12.2002).

CT/MRT 77 ♀ b

Zur Untersuchung des Kopf-Hals-Paketes befestigten wir die ganze, bereits perfundierte Leiche zur Untersuchung im MRT (2.1.3.). Dazu wurde das bei dem Körperspender 87 ♂ erprobte Holzkreuz benutzt. Wir befestigten den entsprechend vorbereiteten Leichnam auf nach der beschriebenen Methode auf dem Holzkreuz, dieses mit dem Leichnam auf eine Holzbahre, worauf wir alles festzurten und zum Transport in zum MRT verpackten (Abb. 3). Die Leiche wurde bis zur Untersuchung in einem warmen Raum gelagert (38°C) um zu überprüfen, inwieweit dadurch realitätsnähere MRTs erzeugt werden können (DALAGER-PEDERSEN et al. 2000).

Wir untersuchten die Leiche am 1,5 T MR- Tomograph MAGNETOM VISION, Fa. Siemens in der T1- und T2- Wichtung (s.o., 2.2.1., MRT 64 ♂). Dabei akquirierten wir von dem Körperspender 77 ♀ b erstmalig 3D-Dicom-MRTs, was uns ermöglichte, die Ebenen während der MRT in größeren Abständen am Leichnam zu markieren, weil nach der Herstellung der Schnittplastinate der vorher gewonnenen 3D-Dicom- Datensatz an die Plastinationsschnitte durch Verkippen leicht angepasst werden konnte. Die erreichte optische Auflösung solcher gekippter MRTs war dabei geringer. Die Schnittdicke war 4mm, die Matrix 512x512 Pixel.

Nach der Untersuchung mit MRT untersuchten wir dasselbe Präparat mit CT. Dazu verbrachten wir das Präparat vom Untersuchungstisch des MRT direkt zur CT.

Außerdem versuchten wir eine Untersuchung des erwärmten Leichnams mit PET, was aber ergebnislos abgebrochen wurde, denn auch nach Erwärmung des Präparates konnten keine aussagekräftigen PET- Abbildungen akquiriert werden.

Daraufhin brachten wir das Präparat zurück in das Plastinationslabor und lösten dieses gemeinsam mit dem haltenden Holzkreuz von der Bahre ab, montierten es auf eine Gipsmoulage, seziierten und präparierten den Leichnam wie oben beschrieben (s.o., 2.1.3., 75 ♀ b). Nach Beendigung der Untersuchung wurde das Präparat in farbige Gelatine eingegossen (s.o., 2.1.4.), um das Alignment zu erleichtern (s.u., 2.7.3.). Das Präparat sollte dabei auf den während der Vorbereitung angebrachten Bohrungen zu liegen kommen, entsprechend der vorhergehenden Untersuchungen mit BV. Wir taten dies, damit das Präparat in seiner Lage blieb, um zu gewährleisten, daß die Korrelation der Plastinate zu den Bildern aus den BV gewährleistet blieb. Die Abstände prüften wir beim Einlegen des Präparates auf das Gelatinebett und kühlten den Leichnam zum Einfrieren vor (s.u., 2.3.).

Einige andere, hier nicht näher beschriebenen, farbig injizierte Präparate konnten nicht in ausreichender Qualität mit BV untersucht werden, vermutlich auch wegen der Metallhaltigkeit der vorher injizierten Injektionsmassen. Diese Präparate dienten der Untersuchung der Dünnschnitt- Plastinationstechnik sowie der Erzeugung von Serien dünner Plastinaten, die zwar nicht korrelierend, gelegentlich korrespondierend an MRTs von Patienten erzeugt wurden, wie beispielsweise die Präparate von 76 ♀ a (Kopf frontal) zur Erprobung des Kunststoffes FO127 (STEINKE et al. 2002) oder von der 94 ♀ a (Kopf sagittal) zur Untersuchung neuer Injektions- und Kunststoffkombinationen (s.u. 2.5.3.).

Das Leichenmaterial, welches uns zum Experimentieren mit histologischen Färbungen zur Verfügung stand (s.u., 2.4.4.), wurde ebenfalls nicht mit MRT untersucht. Die Körperspender für Plastination sind im Anhang aufgeführt.

2.3. Einfrieren und Sägen

2.3.1. Die Einwirkung des Vorkühlens auf das Einfrieren

Zum Beginn unserer Untersuchungen zu DSP froren wir nur ein Präparat ohne Vorkühlung ein. Es handelt sich hierbei um den Leichnam 77 ♀ a. Der Körperspender verstarb am 2.10.1998, wurde am 5.10 eingeliefert und umgehend nach MRT- Untersuchung nicht perfundiert, sondern anfixiert (s.o., 2.1.3.).

ZHANG und LEE (2002) kühlten nicht vor und erreichten trotzdem eine Schnittdicke von 2,5 mm zur E12- Plastination. Entsprechend wurde das Präparat nach vergleichenden Untersuchungen zur Wirkung der Alkoholfixation auf die Befunderhebung am MRT (SCHMIDT et al. 2001) nicht vorgekühlt, sondern mit Alkohol anfixiert. Nach der MRT- Untersuchung bei Raumtemperatur (etwa 20°C) wurde das Präparat in einer Tiefkühltruhe bei - 80°C für 24 h eingefroren.

Bei der Sektion der Präparate von 76 ♀ a (Kopf und Schulter, s.o., 2.2.3.) bemerkten wir die Anzeichen der Gewebszersetzung (Geruch) und froren zur Beschleunigung des Prozesses ohne Vorkühlung zum Sägen ein. Das geschah sofort, weil wir meinten, dem weiteren merklichen Gewebszerfall auch durch Einfrieren zuvorkommen zu müssen.

Schnitte von weniger als 3 mm Dicke konnten weder von 77 ♀ a (alkoholfixiert, unperfundiert) noch von 76 ♀ a (ohne Vorkühlung) in der von ZHANG M und LEE (2002) beschriebenen Qualität akquiriert werden.

Zur Verbesserung des Arbeitsschrittes betrachteten wir die physikalischen Eigenschaften des Gewebswassers, aus dem die Präparate zum größten Teil bestanden.

LÖFFLER gab 2003 die Schmelzpunkte von Gewebsbestandteilen an. Bei - 0,558°C friert Blut ein, welches nach RAUEN 8% der Körpermasse ausmacht (1964). Hinzu kommt die Anomalie des Wasser (SCHALLREUTER 1959). Daher kühlten wir alle anderen oben erwähnten Präparate vor dem Einfrieren nach den Vorbereitungen (2.1.) oder nach deren Untersuchungen mit BV (2.2.) stets auf $\pm 0 - + 4^{\circ}\text{C}$ ab. Diese Abkühlung erfolgte bei ganzen Leichen über mindestens 36 h, bei isolierten Präparaten mindestens 12 h, bevor die nächsten Schritte der DSP erfolgten. Bei allen weiteren Versuchen kühlten wir stets und ohne Rücksicht auf postmortale Veränderung des Gewebes entsprechend lange vor.

2.3.2. Die Wirkung des Einfrierprozesses auf das Scheibenplastinat

Durch rasches Einfrieren erzielt man eine Fixierung ohne Denaturierung (ROMEIS 1989). PIECHOCKI beschrieb 1986, daß im Gewebe Eiskristalle entstünden, wenn langsam eingefroren wird. Nach NEUMANN (1955) entstünden durch dessen hohen Wasseranteil während des langsamen Einfrierprozesses, die sogenannten „Eisnadeln“ durch die Ausdehnung des Wassers (s.u., Tabelle 1).

Dieser Vorgang wurde auch beim einfachen Einfrieren in einer Tiefkühltruhe beobachtet (STEINMANN 1982) schien radiologischen Untersuchungen bei Einfriertemperaturen von -50°C nicht zu schaden (HODLER et al. 1992 a, b und c). HODLER et al. weisen darauf hin, daß die Untersuchung am MRT möglichst rasch nach Todeseintritt zu erfolgen hat, um zu verhindern, daß die Autolyse und die Diffusion der Gewebsflüssigkeiten die Ergebnisse beeinflussen, die sonst von MRTs Lebender abweichen (HODLER et al., 1992a). HODLER et al. beginnen die Untersuchungen 12- 24 h nach Todeseintritt (HODLER et al., 1992 a, b und c).

Nach der von HODLER'schen Methode eingefrorene Blöcken lassen sich nach eigenen Erfahrungen nicht in 0,8 mm dünne Scheiben zerschneiden (77 ♀ a, s.o., 2.3.1.), vielleicht weil Eisnadeln den Gewebezusammenhalt zerstörten (STEINKE 2001). Erfahrungsgemäß zerstört man das Gewebe bei zu schnellem Einfrieren, beispielsweise beim ungeschützten Einfrieren in Stickstoff. TAMMANN (1898) vermutete, daß es zur Kristallisation von Wasser nur in der Nähe des Gefrierpunktes kommt.

Um die Flüssigkeiten des Gewebes, aus dem Scheibenplastinate gewonnen werden sollten, in amorpher Form, d.h. frei von „Eisnadeln“, erstarren zu lassen, mußte daher das Einfrieren außerordentlich schnell erfolgen, aber nicht zu schnell. Der Hauptbestandteil des einzufrierenden Gewebes, das Wasser, würde nach NEUMANN (1955) die Volumen- respektive die Dichteänderungen des Gewebes entscheidend beeinflussen (Tabelle 1).

T [$^{\circ}\text{C}$]	+35	+20	+ 4	± 0 (flüssig)	± 0 (fest)	-30	-189
Dichte ρ [g/cm ³]	0,9940	0,9982	1	0,998	0,917	0,921	0,93

Tabelle 1: Dichte reinen Wassers bei verschiedenen Temperaturen (NEUMANN 1955)

Beim Einfrieren von Kinderleichen erreichte RUTH (1934) mit Trockeneis eine hinreichende Beschleunigung des Einfrierens, was auch LUFKIN et al. beschrieben (1987). Diese Autoren begannen schon während des arteriellen Injizierens, den Leichnam mit Trockeneis abzukühlen. Bei dieser Methode stellen wir wie NEUMANN (1955) an größeren Proben fest, daß, scheinbar durch die Anomalie des Wassers und durch den hohen Wärmestrom (s. u.: Anmerkungen), das Präparat bei zu schnellem Einfrieren auseinander platzte („Gefrierbruch“).

Die Gasentwicklung des Trockeneises isoliere darüber hinaus, ähnlich wie beim kurzen Eintauchen eines warmen Körpers in Stickstoff (NEUMANN 1955). SPITZER et al. versuchten (1996), dieses Problem mit einer Abdeckung des Leichnams aus Plastik, auf die das Trockeneis gelegt wurde, zu umgehen. Diese Autoren kühlten den Leichnam beim *VHP* nicht vor (1996), ebenso wenig wie beim *VHK* (CHUNG et KIM 2000; CHUNG et PARK 2003) oder beim *CVH* (ZHANG et LEE 2002).

Reines, kaltes Azeton hat sich zum Einfrieren bereits bewährt (QUESTER et al. 2002). Wasser mit einer fast doppelt so großen Wärmekapazität (c) als Azeton, welches VON HAGENS et KNEBEL (1978) für die Entwässerung zur Plastination eingeführt und SCHWAB in Zusammenarbeit mit VON HAGENS (1981) sowie durch VON HAGENS (1981) geprüft wurde, blieb in Mischung mit Azeton auch in der Kälte flüssig und hatte entsprechend des Mischungsverhältnisses beider Bestandteile immer noch eine hohe Wärmekapazität (c Wasser = 4,182, c Azeton = 2,16 [kJ/kgK]), [Online: SEILNACHT]. Allgemein haben Flüssigkeiten als Einfriermittel eine größere Kontaktfläche als beispielsweise Kühlakkus. Aus diesem Grunde benutzten wir für die weitere Einfrierversuche Mischungen aus Wasser und Azeton. Mangels Erfahrung versuchten wir nun jenes Mischungsverhältnis samt der Temperatur herauszufinden, bei welchem menschliches Gewebe weder zu langsam („Eisnadeln“) noch zu schnell („Gefrierbruch“) in Azeton- Wasser- Gemischen eingefroren werden konnte. Die Mischungsverhältnisse probierten wir an frischem menschlichen Gewebe aus, welches wir am 9.8.1998 von der Leiche 64 ♀ akquirierten. Wir benutzen Teile beider Unterschenkel dieser Leiche, die nach (2.1.2.) vorbereitet waren, aber nicht wie die Kniegelenke zur Untersuchung kommen sollten (2.2.2.) und deshalb für diese Experimente zur Verfügung standen. Wir durchschnitten die Haut und die Muskeln beider Unterschenkel horizontal mit dem Messer in einer Dicke von 2 cm bis auf Fibula und Tibia und sägten an den Schnitten durch. Die entstehenden 12 Scheiben kühlten wir vor (2.3.1.) und bildeten daraus 2 x 3 Gruppen, die wir einfroren, wie in Tabelle 2 beschrieben.

	Azeton/Wasser = 1/1	Azeton/Wasser = 15/85 = „AWL“
-70°C	2 Scheiben	2 Scheiben
-85°C	2 Scheiben	2 Scheiben
-100°C	2 Scheiben	2 Scheiben

Tabelle 2: Kombination der Präparate zum Einfrieren unter verschiedenen Bedingungen

An plastinierten Scheiben, geschnitten von in Azeton-Wasser-Gemischen eingefrorenen Kopfpräparaten wurde sichtbar, daß trotzdem Eisnadeln auftraten und das Hirn in situ zerbrach. Da wir daraus auf unzureichend schnelles Einfrieren des Hirnes im Schädelinneren schließen konnten, entfernten wir bei der Plastination von 87 ♂ und 77 ♀ b die Galea aponeurotica mit der Kalotte, wodurch beim Einfrieren das Hirn frei lag (s. Abbildung 6). Diese Methode wurde seit 2002 für alle zu plastinierenden Köpfe angewandt.

2.3.3. Das Sägen von Dünnschnitten

Nach dem Transport der mit BV untersuchten Präparate in das Plastinationslabor der Anatomie Leipzig ergab sich das Problem, daß die ventralen Markierungen, die an den Präparaten während der Untersuchung mit BV angebracht wurden (s.o., 2.2.) nun nach dorsal verlängert werden mußten, damit eine vollständige, zirkuläre Markierung der mit MRT untersuchten Ebenen erfolgen konnte, was als Sägevorlage wichtig erschien.

Ziel war, die Anschnitte und alle folgenden Schnitte in den Ebenen zu führen, die vorher am MRT markiert wurden waren. Dies wurde mit einer dazu konstruierten Vorrichtung ermöglicht, in welche die nach 2.3.2. eingefrorenen Präparate so eingespannt wurden, daß sich die Schnittebenen, die ventral mit den zirkulären Markierungen gegeben waren, genau senkrecht zu einem Spiegel befanden, der unterhalb der Schnittebene angebracht wurde (Abb. 4). Nun konnte mit einem Laserpointer, der über der Schnittebene drehbar gelagert war, von oben die ventrale Markierung abgefahren werden. Wenn sich der Pointer genau über der Schnittebene befand und man diesen um seine Drehachse bewegte, und dieser dadurch mit seinem Lichtpunkt die ventrale genau abtasten konnte.

Somit war es möglich, den Pointer über das Präparat hinaus auf den dahinter befindlichen Spiegel zu drehen, welcher den Lichtpfeil nach dorsal auf das Präparat projizierte. Diese Projektion des Lichtpfeils wurde mit den entsprechenden Farben (s.o., 2.2.) auf das Präparat übertragen und so die Markierung vervollständigt. Mit dieser Methode markierten wir die Ebenen vor dem Einfrieren an 91 ♀ a.

Nach dem Einfrieren (s.o. 2.3.2.) war es gelegentlich notwendig, den Block zurechtzuschneiden. Dies geschah ähnlich der Technik von SPITZER et al. (1996), welche Autoren den Leichnam zum *Visible Human Project (VHP)* mit einer Spezialbandsäge mit einem 1,3 mm dicken Band in vier Teile zerlegten.

Wir benutzten für diese Zwecke die Plastinationsbandsäge mit einem 0,6 mm dicken Band (BIODUR®, HL 30), die nach WEBER (1994) umgebaut war (Abb. 5).

Ziel der Untersuchungen des Sägeprozesses war, mit der Plastinationsbandsäge möglichst dünne Schnitte erzeugen zu können, sowohl in Korrelation zu den Bildern aus BV, als auch in Korrespondenz vergleichbarer Daten.

Das Gewebe

- durfte nicht zu spröde und sollte leicht schneidbar sein,
- durfte beim Sägen nicht auftauen,
- sollte Schnitte mit einem hohen Gewebzusammenhalt ergeben, damit diese nicht nach dem Abschneiden oder beim Manipulieren mit denselben zerfallen.

Die Säge

- durfte keine Gefahr für die daran Arbeitenden darstellen,
- mußte zu den Daten aus BV planparallele Schnitte erzeugen,
- sollte das Sägemehl von der Schnittfläche mitnehmen, um späteres Abkratzen der Späne von den Schnitten zu vermeiden,
- sollte während des Sägens das gefrorenen Material kühlen.

Darüber hinaus mußte der Raum gut beleuchtet, belüftet und zu reinigen sein.

Die Bedingungen für die Schneidbarkeit des Gewebes wurden durch die bisherigen Versuche optimiert. Zum Sägen benutzten wir die Plastinationsbandsäge HL 30 der Firma BIODUR®, die wir entsprechend den Sicherheitsbestimmungen in einem gefliesten Raum aufstellten.

Sie war ausgestattet mit einem kühlbaren Anschlag, welcher auf einem Gleittisch aufgeschraubt und mit diesem über Rollen parallel des Sägebandes leicht beweglich war. Die Säge neigte sich um 10° nach hinten, um das Präparat beim Sägen leicht an den Anschlag zu drücken, und war mit einem gehärteten Bandsägeblatt ausgestattet, das mit 30 m/s durch einen Schlitz durch den Gleittisch parallel zum Anschlag lief (Blattlänge 3150, -breite 16, -dicke 0,5 mm, 6 Zähne/cm, Abb. 5). ZHANG und AN (2000) sowie ZHANG und LEE (2002) benutzen zum Sägen ihrer 2,5 mm dicken Körperscheiben ein Bandsägeblatt von 2 mm Dicke (ZHANG und LEE 2002). Diese Autoren verringerten den Verlust auf 0,3 mm und erreichten eine Schnittdicke von 1 mm (2002), gleichwohl ohne weiter auf Details einzugehen, wie diese Schnittdicke erreicht werden konnte.

In Vorversuchen gewannen wir die Erkenntnis, daß der Raum Minusgrade haben muß, weil ansonsten die Schnitte auftauten, wenn sie 1 mm und dünner waren, und zweitens, daß die Füllung des kühlbaren Anschlages nicht wie empfohlen mit Eis, sondern besser mit in den Kühlbehälter passenden Ziegelsteinen vorgenommen werden sollte, die leichter als Eis gewechselt werden konnten und die wir in Glykol als Kältevermittler lagerten.

Herstellung von Gefrierschnitten des Körperspenders 64 ♂

1985 benutzte HOLLIDAY eine Bandsäge zum Herstellen gefrorener Leichen in Korrelation zu deren MRTs. ENTIUS gelang es 1997, mit dieser Technik die Schnittdicke des formalinfixierten Präparates an auf 2 mm zu verringern. Er benutzte das Bandsägeblatt AEW 600 mit 5 Zähnen pro Inch (ENTIUS 1997). BEYERSDORFF erreichte an formalinfixiertem Material 2001 eine Schnittdicke von durchschnittlich 4,6 mm. Auch der Leichnam 64 ♂ war formalinfixiert.

Wir warteten mit den Sägearbeiten bis zum Jahre 1996 auf kalte Winternächte, welche zum 3. Advent eintraten, bereiteten den gefliesten Sägeraum auf Kälte vor, indem wir die Wasserhähne und die Abflüsse gegen Frost schützten, öffneten das Fenster und saugten mittels eines im Nachbarraum befindlichen Abzug die -8°C kalte Luft in den Sägeraum, wodurch dieser und die darin befindliche Plastinationssäge nach etwa 10 h auf -5°C abkühlte. Von der Plastinationssäge wurde der Anschlag abmontiert, in einer Tiefkühltruhe bei -25°C eingefroren.

Die vorbereiteten und eingefrorenen, formalinfixierten Knie- und Ellenbogenpräparate sowie das Becken mit nach dorsal vervollständigten Schnittebenen waren in einer Tiefkühltruhe entsprechend der Angaben von MACKENZIE et. al. (1994) bei -40°C gelagert. Wir schnitten jedes der vier Präparate an der am weitesten mittig liegende Ebene mit der Bandsäge an, montierten den -25°C kalten Anschlag an die Säge und kühlten diesen mit -35°C kalten Ziegeln, die wir in den Kühlbehälter des Sägeanschlages einlegten, sowie als Kältevermittler -35°C kaltes Glykol hinzugaben. Auf Abbildung 4 ist rechts im Bild der benutzte Sägeansschlag zu sehen, dessen Neigung auf der Säge Abbildung 5 abgebildet ist.

Nun schnitten wir Schnitt für Schnitt mit dem Standard- Bandsägeblatt der Plastinationssäge wechselnd jeweils von einem der acht entstandenen Blöcken, währenddessen die anderen erneut in der Tiefkühltruhe nachgekühlt wurden. Die erreichte Schnittdicke betrug 1 – 3 mm beim Ellenbogen- und 1,5 - 3 mm beim Kniegelenk, sowie 3 – 5 mm von dem Becken und der Schulter, welche beide nicht perfundiert waren.

Die Änderung der Schnittdicke konnten wir an einem Mikrometer ablesen, das am Gleittisch festgeschraubt und mit dem Anschlag verbunden war. Wir eichten das Mikrometer nach der Dicke der entstandenen Schnitte, die wir mittels eines gekühlten Messschiebers feststellten.

Die fertigen Gefrierschnitte wurden von einem Mitarbeiter mit Thermohandschuhen vorsichtig von der Säge (HL 30, BIODUR[®]) abgenommen, auf Fliespapier gelegt, beides auf ein Separiergitter (HD 16, BIODUR[®]) gebracht, mit Fliespapier abgedeckt und in einen Drahtkorb (HD 08, BIODUR[®]) übereinander eingestapelt. Dieser wurden in Folie eingepackt und in einer Tiefkühltruhe zur weiteren Verwendung bei -30°C gelagert.

2.3.4. Verbesserung des Sägevorganges bei weiteren Untersuchungen

Ebenso wurden alle anderen untersuchten und hier beschriebenen Leichenteile nach der beschriebenen Methode in dünne Scheiben geschnitten:

- 64 ♀, Knie sagittal und horizontal; Unterschenkel Einfrierversuchen (s.o., 2.3.2.),
- 91 ♀, Ellenbogen sagittal und horizontal,
- 75 ♀ b, Kopf-Hals canthomeatal (*REID'S baseline*, MAGIROS et al. 1997), Schulter in *apprehension position* frontal u. horizontal; Hand sagittal,
- 85 ♀ a und 85 ♀ b; *apprehension position* frontal und horizontal,
- 94 ♀ a, Kopf sagittal (o. BV),
- 76 ♀ a, Kopf frontal und Schulter horizontal (o. BV),
- 87 ♀, Kopf Hals horizontal,
- 77 ♀ b. Kopf Hals horizontal, Becken horizontal (o. BV),
- 84 ♂, Kopf frontal, kurzzeitfixiert.

Seit 1999 verfügten wir über eine Kühlzelle, in die wir die nach WEBER (1994) umgebaute Säge einbauten. Diese modifizierten wir weiter, indem wir

1.) eine Düse in der Nähe des Sägeblattes anbrachten, durch die im Inneren der Säge unterhalb des Sägestandes, auf dem der Gleittisch befestigt war, zuerst CO_2 aus einer Gasflasche und später (im Jahr 2000) kalte Luft, durch einen Kompressor erzeugt und durch ein Fußpedal geleitet, auf die Zähne des Sägeblattes geblasen wurde, um dieses zu kühlen und von anhaftenden Sägespänen zu befreien, damit die Schnitte sauberer und besser würden. (s. Abb. 5).

2.) das Sägegetriebe veränderten und dadurch die Bandgeschwindigkeit auf 35 m/s erhöhten,

3.) die Gleitführung des Sägeblattes durch eine PANHANS- Präzisions-Bandsägeführung ersetzen (Ant. Panhans GmbH * D- 72488 Sigmaringen; <http://www.panhans.de/>), welche ein Abweichen des Sägeblattes verhindern sollte, und

4.) die auf einen schrägen Untersatz montierte Säge zur leichteren Beweglichkeit in der Kühlzelle auf einen rollbaren Sägestand montierten. (s. Abb. 5)

Die Abnahme der Schnitte vom Sägeanschlag erfolgte beim Sägen o.g. Präparate nicht mehr mit der Hand, sondern wir benutzten handfeuchtes Fliespapier, das wir auf den fertigen Schnitt auflegten, der am kühlbaren Anschlag nach dem Wegnehmen des zu zersägenden Blockes mit einem gekühlten Hirnmesser gehalten wurde, wodurch der Schnitt am Fliespapier schnell festfro. An dessen freiem Rand konnte der Schnitt mitsamt des ihn haltenden Fliespapiers ohne Mühe von der Säge genommen werden.

Die Kühlzelle ermöglichte ein Arbeiten bei Temperaturen bis zu -25°C (ZHANG et al. 2003). Wir arbeiteten zumeist bei -15°C . Dabei mußten wir die handfeuchten Fliespapiere in einer Polystyrolkiste lagern, damit dieselben nicht zusammenfrozen. Weiterhin wurde entsprechende Arbeitsschutzbekleidung angeschafft (Abb. 6 a).

Beim Schneiden dünner Scheiben waren wir durch die Kühlzelle nicht mehr auf kaltes Wetter angewiesen, weswegen im Sommer das Sägen eine willkommene Abkühlung bot. Darüber hinaus entfiel die Arbeit, nach jedem Sägegang die auf den Fußboden und die Wände gespritzten und bald aufgetauten Sägereste frischen organischen Materials entfernen und den Raum anschließend desinfizieren müssen. Nun konnten die gefrorenen Späne in der Kühlkammer zusammengekehrt werden. Nach dem Ende eines Sägezyklus wurde diese abgeschaltet und der Raum desinfiziert. Die Hygienemaßnahmen wurden zusätzlich durch die Montage der Säge mitsamt des Untersatzes auf einen rollbaren Sägestand vereinfacht.

Der Kühlbehälter am Sägeanschlag wurde beim Sägen mit -85°C kalten Ziegelsteinen gekühlt. Die Temperatur des Schnittgutes lag um -30°C . Wenn beim Sägen durch menschliche Zähne oder durch das Keilbein viel Wärme entstand, oder wenn viel Fett im Präparat war, wurde das Präparat auf -35°C bis -40°C gekühlt. War dieses weniger optimal eingefroren und damit härter und spröder oder war es sehr wasserreich, dann wurde wärmer gesägt, allerdings nie über -15°C .

Nach einigen Versuchen mit verschiedenen Bimetallsägeblättern benutzten wir seit 2001 nicht mehr die vom Hersteller der Plastinationssäge empfohlenen 16 mm- Bandsägeblätter der Firma BIODUR[®] (15 mm breites Blatt, 0,5 mm dick, 5 Zähne/cm, Verschnitt ca. 0,8 mm), sondern die einfacheren 15er Fleischerbandsägeblätter „Anker“ der Firma Eberle mit 6 Zähnen pro cm, normaler Schränkung und 0,45 mm Dicke (Verschnitt ca. 0,6 mm). Neben der erzielten Verringerung des Verschnittes waren diese billiger. Die Länge des Bandsägeblattes von 3150 mm blieb dabei gleich. Das Blatt war zu wechseln, wenn es beim Sägen nicht mehr parallel zum Anschlag lief (WEBER 1994). Den Umbau zeigt schematisch Abbildung 5.

Das Kopf- Hals- Präparat von 77 ♀ b wurde mitsamt des eingefrorenen Gelatineblockes geschnitten (Abb. 6). Während des Schneidens wurden die Scheiben in höchster Auflösung (2 Megapixel) mit einer auf einem Grafikstativ montierten CANON- Digitalkamera (Canon Deutschland GmbH, Europark Fichtenhain A10, D-47807 Krefeld) von oben und unten fotografiert, um später die Plastinate genauer digital ausrichten zu können (s.u., 2.7.3.).

2.4. Entwässerung und Färbung

Zur Entwässerung benutzten wir das durch VON HAGENS und KNEBEL eingeführte Gefriersublimation. Mit dieser makroskopische Präparationstechnik zur Plastination wird ähnlich wie zur ultramikroskopischen Untersuchung in einem Intermedium, z.B. Azeton, das gefrorenen Wasser aus dem Gewebe verdampft, sublimiert (VON HAGENS et KNEBEL 1978). SCHWAB stellte diese Technik („*freeze substitution*“) gemeinsam mit VON HAGENS auf dem 6. Europäischen Anatomenkongress eingehender als makroskopische Präparationstechnik vor (SCHWAB et VON HAGENS 1981).

„*Freeze substitution*“ wurde neben der Einführung in der Elektronenmikroskopie (HUMBEL 1984) in der gleichen Form für alle Arten der Plastination angewandt, beispielsweise für die Entwässerung von Präparaten zur Blockplastination (PESCHERS et al. 1997), für die Silikonplastination neben den bekannten „Körperwelten- Präparaten“ (BOHANNON 2003) gelegentlich auch für Hirngewebe (WADOOD et al. 1991), und zwar sowohl für die Schnittplastination mit Epoxidharz (z.B. ECKEL et al. 1993) als auch für die Plastination mit polymerisierbarer Emulsion („PEM“, BIODUR[®], (MAGIROS et al. 1997).

Gefrier austausch wird zur Entwässerung für (sub-) mikroskopische und makroskopische Präparationstechniken angewendet, etwa mit Azeton (ROMEIS 1989, PIECHOKI 1986, QUESTER et al. 2002) oder mit CO₂ („critical point drying“, RUSTOM et al. 2004), [Online: RUSTOM].

Azeton (=Propanon) gehört zu den leichtentzündlichen Stoffen und hat eine Zündtemperatur von 540°C und einen Flammpunkt von –20°C. Es ist nach §20 der Gefahrstoffverordnung (GefStoffV, Auszüge s.u.: Anmerkungen) in die Gefahrengruppe R 11 eingeordnet, leichtentzündlich, nicht hochentzündlich, mit einer maximal zulässigen Arbeitsplatzkonzentration (MAK) von 500 ml/m³ (ppm), unter Explosionsgrenzen von 2,5 - 13 Vol.-%, und der Entsorgungsgruppe G [Online: SEILNACHT].

Wir entschieden uns für dieses probate, relativ ungefährliche Lösungsmittel, weil wir in den vorhergehenden Einfrierversuchen die Wirkung von Azeton gemischt mit Wasser beobachten konnten (s.o., 2.3.2.).

Alternativ bot sich Methanol an, das zwar weniger explosionsgefährlich ist, aber giftiger als Azeton (Methanol: R 11, R 23/24/25 „giftig beim Einatmen und Verschlucken“; R 39/23/24/25, S 7-16-36/37-45: „sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen und Verschlucken“ MAK: 200 ml/m³ (ppm), Explosionsgrenzen 6 - 36,5 Vol.-%), [Online: SEILNACHT].

2.4.1. Die Gewebsschrumpfung im Gefrier austausch

Anfänglich übernahmen wir das von SCHWAB und VON HAGENS (1981) beschriebene Verfahren der Entwässerung mit „freeze substitution“, dem Ausfrieren des Wassers in reinem, kaltem Azeton. Zwar konnten wir diese Methode bei den dickeren Schnitten von 77 ♀ a anwenden. Weil dabei allerdings einige dünnere Schnitte sowie histologische Großflächenschnitte vom Hirn zerbrachen, vermuteten wir, daß die hohe Zerbrechlichkeit der dünnen Scheiben auf Grund der Schrumpfung des Gewebes während des Gefrier austausch in reinem Azeton eintritt.

Die Schrumpfung von Hirngewebe mit der 1978 (VON HAGENS et KNEBEL) eingeführten Methode bestimmten SCHWAB und VON HAGENS mit 10%, was eine Verbesserung zur Entwässerung in aufsteigender Alkoholreihe von 53%, 54% und 44% in jedem Schritt war (SCHWAB et VON HAGENS 1981). Zur Verminderung der Schrumpfung im Gefrier austausch planten wir einige Versuche, um an Hirnscheiben, die vom Hirnkurs des Institutes für Anatomie Leipzig stammten und uns die auf Grund ihres hohen und homogenen Wassergehaltes von ca. 90% gut geeignet schienen, die bei der Entwässerung auftretenden Schrumpfungen zu messen.

Wir benutzten dazu insgesamt 1071,3 g formolgehärtetes Hirngewebe, das in mehreren Ebenen geschnitten und formolgehärtet die in drei ähnlichen Gruppen sortiert war:

- (α) Hirnschnitte des Frontallappens
- (β) cerebellare und
- (γ) frontale Schnitten des Stirnhirnes, sowie
- (δ) große frontale Hirnschnitte,

Diese Schnitte wurden einzeln gewogen (Masse M), vermessen (Breite x, Länge y) und wie folgt verteilt (Tab. 3):

α : Hirnschnitte vom Lobus occipitale , frontale Schnittebene					
Nr.	Gruppe	x [mm]	y [mm]	M [g]	Präparatebeschreibung
$\alpha 1$	A	77,1	45,0	17,5	Lobus occipitalis frontal
$\alpha 2$	B	71,4	37,9	10,0	Lobus occipitalis frontal
$\alpha 3$	C	57,4	33,9	8,0	Lobus occipitalis frontal
$\alpha 4$	C	65,0	30,3	7,0	Lobus occipitalis frontal
	Σ	270,9	147,1	42,5	
β : Kleinhirnschnitte, horizontal					
$\beta 1$	A	95,5	63,5	23,0	Cerebellum, pedunculus
$\beta 2$	B	84,2	21,0	21,0	Cerebellum
$\beta 3$	C	69,0	65,5	11,0	Cerebellum, Hemisphäre mit Lingula
$\beta 4$	C	88,4	19,5	19,5	Cerebellum, beide Hemisphären
$\beta 5$	A	85,0	55,2	16,0	Cerebellum III. Ventr. Canalis centralis
$\beta 6$	B	95,3	58,1	22,0	Cerebellum, beide Hemisphären
$\beta 7$	C	70,5	50,0	13,0	Cerebellum, Medulla oblongata, Pons
	Σ	580,9	332,8	125,5	
χ : Hirnschnitte vom Lobus frontalis, frontale Schnittebene					
$\gamma 1$	B	7,8	66,2	26,0	Ammonshorn
$\gamma 2$	C	2,0	61,6	23,0	gerade noch Vorderhorn
$\gamma 3$	C	1,6	61,9	19,9	Dicke(d) = 5,2)
$\gamma 4$	A	3,7	52,9	19,0	d = 6,5
$\gamma 5$	A	7,9	52,8	16,0	d = 6,0
$\gamma 6$	A	4,0	48,1	12,5	d = 5,5
	Σ	497,0	343,5	116,4	

δ: große Horizontalschnitte					
Nr.	Gruppe	x [mm]	y [mm]	M [g]	Präparatebeschreibung
δ1	A	148,2	96,6	70,0	Chiasma opticum und Sehhügel
δ3	B	44,5	99,7	71,0	Teilung A. basilaris, Corp. Pineale, Ncl. caudatus
δ4	C	145,0	101,7	69,0	Septum pellucidum
δ5	A	148,5	97,2	70,0	Teilung Chiasma opticum, Capsula interna
δ6	B	145,0	88,3	62,0	Links Plexus chorioideus
δ7	C	142,7	87,7	59,5	Balken gebrochen
δ8	C	146,3	87,8	65,5	Corpus amygdaloideum
δ9	B	148,2	95,8	68,0	Zipfel an langer Seite, Corpora mamillaria
δ10	A	137,5	85,2	60,0	2 x quere Fissur, A. cerebri
δ11	C	134,6	91,2	62,5	kurz hinter Septum pell., Kommissuren
δ12	A	127,7	90,0	56,9	breite Kommissur
δ13	B	117,8	89,5	49,0	schmale Kommissur
δ14	B	87,3	60,0	23,5	halber Frontallappen
	Σ	1773,3	1170,7	786,9	

Tabelle 3: Zur Ermittlung der Schrumpfung während des Gefrier austausches verwendete Präparate

Um zu vermeiden, daß sich das Gewebswasser der Hirnschnitte, welches sich während des Versuches im Entwässerungsmedium verteilte, störend auf den Prozess der Schrumpfung auswirkt, waren die Massen der Versuchsgruppen (A,B und C) ähnlich groß gewählt:

- A** (360,9 g),
- B** (352,5 g) und
- C** (357,9 g).

Alle Hirnscheiben wurden nach einer kurzen Beschreibung, die dazu dienen sollte, sie voneinander zu unterscheiden, vorgekühlt (s.o., 2.3.1.), schockgefroren (s.o., 2.3.2.) und anschließend zum Gefrier austausch nach HUMBEL (1984) auf folgende Versuchsgruppen verteilt (Tabelle 4):

- A** in 75%iges Azeton mit 15% Aqua bidestillata,
- B** in 85%iges Azeton und
- C** in reines Azeton.

Zu **A** (70% Azeton):

Nr.	x [mm]	y [mm]	M [g]
$\beta 1$	95,5	63,50	23,0
$\beta 5$	85,0	55,20	16,0
$\alpha 1$	77,1	45,00	17,5
$\gamma 4$	83,7	52,90	19,0
$\gamma 5$	77,9	52,80	16,0
$\gamma 6$	74,0	48,10	12,5
$\delta 1$	148,2	96,60	70,0
$\delta 5$	148,5	97,20	70,0
$\delta 10$	137,5	85,00	60,0
$\delta 12$	127,7	90,00	56,9
Σ	1055,1	686,30	360,9

zu **B** (85% Azeton):

Nr.	x [mm]	y [mm]	M [g]
$\beta 2$	84,0	61,0	21,0
$\beta 6$	95,3	58,1	22,0
$\alpha 2$	61,4	37,9	10,0
$\delta 3$	144,5	99,7	71,0
$\delta 6$	145,0	88,3	62,0
$\delta 9$	148,2	95,8	68,0

Nr.	X [mm]	y [mm]	M [g]
$\delta 13$	117,8	89,5	49,0
$\delta 14$	87,3	60,0	23,5
$\gamma 1$	97,8	66,2	26,0
Σ	981,3	656,5	352,5

zu **C** (100% Azeton):

Nr.	X [mm]	y [mm]	M [g]
$\beta 3$	69,0	65,5	11,0
$\beta 4$	88,4	59,5	19,5
$\beta 7$	70,5	60,0	13,0
$\alpha 3$	57,4	33,9	8,0
$\alpha 4$	65,0	30,3	7,0
$\gamma 2$	92,0	61,6	23,0
$\delta 11$	81,6	61,9	21,0
$\gamma 3$	145,0	101,7	19,9
$\delta 4$	142,7	87,7	69,0
$\delta 7$	146,3	97,8	59,5
$\delta 8$	134,6	91,2	65,5
Σ	1092,5	751,1	357,9

Tabelle 4: Versuchsgruppen zur Bestimmung der Schrumpfung im Gefrier austausch

Mit einer Schiebelehre maßen wir die Hirnscheiben in Breite (x) und Länge (y) bis zum Ende des Versuches (Tabelle 5):

Versuchstag	Messung	Azeton	Versuchstag	Messung	Azeton
1. (13.9.)	m1	Ac I: A: 70,0% B: 85,0% C: 100,0%	15. (27.9)		A: 96,0% B: 98,0% C: 98,5% Ac IV
7. (19.9.)	m2	Ac II (100%)	17. (29.9.)		A: 99,9% B: 99,9% C: 99,9%
8. (20.9.)	m3		22. (4.10.)	m5	
10. (22.9.)	m4	Ac III	Tabelle 5: Messungen der Schrumpfung von Hirnscheiben während des Gefrier-austauschs		

Aus den gemessenen Werten konnten die aufgetretenen Schrumpfung des Hirngewebes berechnet werden (SCHMIDT et STEINKE 1996).

2.4.2. Der gestaffelte Gefrier-austausch

Nach den Untersuchungen an formalinfixiertem Hirnmaterial (2.4.1.) schlossen wir analog auf andere Gewebearten. Wir postulierten, daß die Schrumpfungseffekte an hirnfremem Gewebe (ca. 70% Wasser) weniger stark sein würden als an Hirngewebe (ca. 90% Wasser).

Es war in Betracht zu ziehen, daß die Herstellung dünner Körperscheiben zur DSP zumeist an unfixiertem Material erfolgte, außer 64 ♂ (s.o., 2.1.1.), die formalinfixiert war, und nach der VON HAGENSSchen Methode entwässert wurden (VON HAGENS 1981).

Alle weiteren, von unfixiertem Gewebe akquirierten Gefrierschnitte wurden mitsamt des Gitterdrahtkastens auf -85°C abgekühlt und alles in -85°C kalte AWL eingebracht, welche unter mehrfachen Rühren hergestellt worden war, was die Bildung von Eiskristallen verhindern sollte. Das Einfriergemisch hatte bei dieser Temperatur die Konsistenz von auftauendem Milchshake.

Vorsichtig wurde der Gitterdrahtkasten in der kalten AWL bewegt, worauf wir anschließend die Tiefkühltruhe auf -25°C einstellten.

Diese erreichte nach 1 – 2 Tagen die optimale Temperatur von -25°C . Nun begannen die Gefrierschnitte in dem Gefriergemisch zu sublimieren, bis der Restwassergehalt der Schnitte dem des Gefriergemisches gleich war. Nach diesem ersten Entwässerungsschritt stellte sich der Restwassergehalt, abhängig von der Menge der eingebrachten Schnitte, bei etwa 17% ein (Schmidt et Steinke 1996).

Nach der Erprobung dieser Methode ließen wir passend zu den Gitterdrahtkästen („*wire frame chest*“) der Firma BIODUR® von der Firma TAUSCHEK (Leipzig) Chromstahlbehälter anfertigen, in die jeweils 2 Gitterdrahtkästen übereinander hineinpassten. Das verminderte den Azetonverbrauch gegenüber des vorher verwendeten, runden Entwässerungscontainers der Firma BIODUR®, erhöhte aber den Restwassergehalt (19% bei durchschnittlichem Wassergehalt). Abbildung 7 zeigt den Vorgang des Gefrieraustausches sagittaler Schnitte des Knies des Körperspenders 79 ♀.

Der Entwässerungsprozess wurde mit einer Dichtespindel kontrolliert. Als nach zwei bis drei Wochen keine Dichteänderung mehr festzustellen war, überführten wir die Schnitte in reines Azeton, beließen diese dort erneut für zwei Wochen, worauf wir den Entwässerungscontainer mitsamt der Gitterdrahtkästen und den darin befindlichen Körperscheiben aus der Tiefkühltruhe herausnahmen, wonach entweder ohne Färbung entfettet (2.4.3.) oder gefärbt werden konnten (2.4.4.). Trat nach einer Woche unter Raumtemperatur keine Braunfärbung mehr auf, betrachteten wir die Schnitte als fettfrei. In diesem Falle entfiel auch eine weitere Entfettung (2.4.3.).

Seit 1996 wurden Präparate von insgesamt 26 Leichen nach dieser Methode entwässert (Verzeichnis der Körperspender im Anhang).

Das Innere von Leichen wurde nach den Erfahrungen des Anatomen als in verschiedenem Maße dunkel gefärbt beschrieben (HYRTL 1860, PLATZER et al. 1987). Einige Körperscheiben waren daher hell, andere sehr stark pigmentiert. Letztere bleichten bei der Entwässerung nicht nach, wie gelegentlich beobachtet (VON HAGENS 1985). In diesen Fällen führten wir eine Aufhellung während des Entwässerns ein (STEINKE et al. 2002).

MAGIROS et al. 1997) benutzten dazu 3%iges Wasserstoffperoxyd. H_2O_2 ist ab pH 5 wirksam und von pH 6,8 bis 8,2 optimal (PIECHOCKI 1986). Wir bleichten mit H_2O_2 3%ig in AWL (bis 2001). Später gaben wir der AWL 8‰ Peressigsäure zum Aufhellen der Gewebsfarbe bei (pers. Mitteilung VON HAGENS 1999). Ein Enteisen des Wassers erschien durch die Verwendung destillierten Wassers nicht von Nöten (PLATZER et al. 1987).

2.4.3. Das Entfetten der Körperscheiben

Da VON HAGENS (1979) darauf hinwies, daß während des Entwässerns auch Fette und Wachse aus dem Präparat gelöst werden, und 1985 zusätzlich eine Entfettung in Dichlormethan (Methylenchlorid) empfahl, Dichlormethan aber im Verdacht steht, Krebs zu erzeugen und der Gefährgruppe R 40 zugeordnet ist (s.u., Anmerkungen: GefStoffV), untersuchten wir anfänglich eine Reihe anderer Kohlenwasserstoffe zum Entfetten.

MINKWITZ gab 1991 eine Reihe von Ersatzstoffen für Kohlenwasserstoffe an, unter anderem Azeton. Neben Azeton und Methylenchlorid (VON HAGENS 1984) testeten wir Benzin und Methanol zum Entfetten entwässerter Körperscheiben an dem in Gelatine eingebetteten Leichnam 71 ♀ (Abb. 25). Auf Grund der Vorversuche entschlossen wir uns, die entwässerten bzw. gefärbten Schnitte (s. 2.4.2. u. 2.4.4.) in reinem technischen Azeton zu entfetteten (BRIZZI et al. 1994). Zur Färbung überführten die Schnitte über AWE in die Färbeflotte (s.u., 2.4.4.). Später beließen wir die Schnitte bis zu 2 Monaten in Azeton, da das Gewebe besser die Färbungen annahm. Da VON HAGENS für Hirnschnitte von längerer Entfettung abriet (VON HAGENS 1985), entfetteten wir hirnhaltige Körperscheiben für den Kunststoff FO127 (s.u., 2.5.3.) nur für 2 Wochen (STEINKE 2001, STEINKE et al. 2002).

Die Knie- und Ellenbogenschnitte von 79 ♀ verblieben am längsten in reinem Azeton, nämlich über drei Monate. Das Azeton wurde wegen der starken Gelbfärbung vor der Imprägnation gewechselt. Die Schulterpräparate von 75 ♀ b wurden mit Ether entfettet (SEIBIOLD et al. 1991). Die Präparate wurden bei Raumtemperatur in die Medien eingebracht, die sich nach tagen oder Wochen gelblich- bräunlich verfärbten, wonach die Lösung zu wechseln war.

2.4.4. Einführung histologischer Färbemethoden beim Gefrier austausch

Korrelative und korrespondierende Untersuchungen an Schnittplastinaten kommen ohne Färbung aus. Da die Schnittdicke der Plastinate nicht unter 2,5 mm reduziert werden konnte, erlaubten die Pigmente des Präparates eine leichte Diagnose. GARDETTO stellte 2003 sowohl 3 mm dicke Scheibenplastinate her als auch im Vergleich dazu „plastinationshistologische Präparate“ nach der Technik von FRITSCH gesägt von Blockplastinaten in ein Dicke von 300 µm (1989).

ADAM und CZIHAK beschrieben 1964, daß sich elektronenmikroskopische Polyesterschnitte lichtmikroskopisch färben lassen. FRITSCH et HÖTZINGER (1993) und FRITSCH et EGGERS (1999) nutzte diese Möglichkeit, um an 300µm dünnen Schnitten, die sie mit einer Diamantdrahtsäge von Block- oder Stückplastinaten abschnitt und mit Azur II/ Methylenblau färbte und mit basischem Fuchsin gegenfärbte (FRITSCH 1988). Die Eindringtiefe der Farbstoffe war hinreichend. Auf Grund der Größe der DSP, in die durch den ungleichmäßigen Kunststoffüberzug (Sandwich- Technik, s.u., 2.5.4.) der Farbstoff nicht gleichmäßig eindringen kann, war unser Ziel, Schnittplastinate vor der Imprägnation zu färben. (Zu den Unterschieden beider Methoden s.o., Kapitel 1).

Durch die Verminderung der Schnittdicke von Scheibenplastinaten auf 0,8 mm durch STEINKE (2001, STEINKE et al. 2002) waren diese zwar optisch sehr hochauflösend (1200 dpi), aber durch die verringerte Menge von Eigenpigment schlechter zu differenzieren. STEINKE behalf sich durch ein künstliches Altern der Schnitte im Wärmeschrank, was die Schnitte und den Kunststoff insgesamt bräunlich- gelblich nachfärbte (STEINKE 2001). Eine Differenzierung von Gewebearten konnte damit aber nicht erreicht werden; das erforderte histologische Färbungen. Diese konnten nur am wasserfreien, azetonhaltigen Präparat oder mittels eines geringen Wassergehaltes von 15% erfolgen (s.u., 2.4.2.), weil rein wässrige Färbung der dünnen Scheiben deren Zusammenhalt zerstören mußte.

Erfahrungen zu Färbungen in Azeton-Wasser-Lösungen bestanden unserer Einsicht nach nicht. Die theoretischen Voraussetzungen beschrieb HARMS (1965).

Bei unseren Untersuchungen lag wegen einiger Fragestellungen zum menschlichen Becken ein besonderes Augenmerk auf der Unterscheidung von Bindegewebe und Muskulatur. Zu diesem Zwecke führten wir bei der Plastination von Kopfscheiben die Aufhellung während der Entwässerung mit Peressigsäure ein (STEINKE et al. 2002, s.o., 2.4.2.).

Ein sicherer Nachweis von Bindegewebe oder Muskulatur mittels einer Anfärbung derselben gelang dadurch allerdings nicht.

Zur Untersuchung der Resistenz der Färbungen wurden Gewebeschnitte, die während des Sägens als Reste anfielen (Anschnitte, Brüche), an denen wir die unter 2.1.- 2.4.2. beschriebenen Arbeitsschritte ausführten, jeweils in Azeton und AWL gefärbt, und zwar zuerst mit:

- Lichtgrün: 10 x Haut mit Unterhautfettgewebe und Muskulatur (M. obliquus externus), 13 x Finger längs mit Knochen (0,1 %ig), 21 x Abschnitte von Sehnen (0,01%ig).

Im Jahre 2000 wurde eine zweite Serie zu Experimenten zusammengestellt und gefärbt mit:

- van Gieson: 10 x Haut mit Unterhautgewebe und Muskulatur (M. obliquus externus) 1%ig, 10 x selbiges 0,1%ig.
- Crossmon: 10 x Haut mit Unterhautgewebe und Muskulatur (M. obliquus externus) (1%ig), 10 x selbiges 0,1%ig, 5 x selbiges 0,01%ig.
- Säurefuchsin: 5 x Finger mit Nagelbett (1%ig), 5 x Knochen mit Knorpel (0,1%ig),
5 x Haut mit Bindegewebe (0,01%ig).

Auf Grund der Erfahrungen mit dem Säurefuchsin als saurem Bestandteil der Trichromfärbungen (ROMEIS 1989) experimentierten wir mit Eisenhämatoxilin als saurem sowie Molybdänhämatoxilin (CLARA 1933).

Darüber experimentierten wir mit Azokarmin und Anilinblau als basischen Farbstoff und einige Indifferenten Farbstoffe wie Azofarben (Ölgelb, -braun, -rot B und -O) und Azinen (Indulin, Nigrosin, Solvent blue, Indulin schwarz).

Auf weitere Experimente mit dem neutralen Lichtgrün verzichteten wir auf Grund der vorherigen Versuche.

Wir färbten weiter mit Masson- Goldner nach PRESCHER (2001, persönliche Mitteilung):

Dazu wurde nach gleicher Vorbereitung ähnlicher Schnittreste von DSP zuerst 5 Tage in Molybdänhämatoxin gefärbt (CLARA 1933), die aus 1% Lösung und 99% AWL bestand. Die Schnitte wurden in AWL gespült, mit Ponceau-Säurefuchsin- Azophloxin 1% in AWD 2 Tage gefärbt. Anschließend erfolgte eine Differenzierung mit Phosphormolybdänsäure - Orange- G 1% in AWD für 1 Tag. Die von PRESCHER (2001) angegebene Färbung in Lichtgrün mußte nach den gesammelten Erfahrungen entfallen, weswegen zum Abschluss eine Spülung mit AWL und die Entwässerung in reinem Azeton für jeweils 1 Tag erfolgte.

In Anlehnung an die Erfahrung der Leipziger Anatomen Carl Werner SPALTEHOLZ (1911) und Max CLARA (1933), denen es gelang, auch größere Präparate in sehr starker Verdünnung selektiv zu färben, arbeiteten wir bei allen weiteren Experimenten nur noch in sehr großen Verdünnungen.

Wir stellten dazu 0,1 %ige Lösungen aus basischen Farbstoffen her und färbten darin zuerst kleinere Proben, schließlich große horizontale Kopfscheiben des Körperspenders 71 ♀ (Abb. 27 d und e) mit

Methylenblau (FERAK, nach DEREWITZ 1899 und nach FRITSCH 1989),
Toluidinblau (MERCK), basisches Fuchsin (SERVA),

Azur II (Methylen- Azur, SERVA) $C_{14}H_{14}N_3S \times Cl_2$ in Na_2CO_3 nach FRITSCH 1989 (Azur A, HUMPHREY et PITTMANN 1974),

basisches Fuchsin in AWL, verändert nach FRITSCH (1989), sowie mit

Luxol fast blue neutral MBSN [Online: HISTO],

und pipetierten anschließend in 100 ml AWL einige Milliliter dieser Lösungen unter Beobachtung der Färbung. Die Färbedauer betrug Tage bis vier Wochen. Wir wendeten die Stammlösungen zehnfach verdünnt in AWL bei Raumtemperatur an (SPALTEHOLZ 1911), wonach die Schnitte ohne saures Differenzieren in Azeton gebracht wurden. Sowohl die Erwärmung auf 90°C als auch das Spülen in Na_2CO_3 nach FRITSCH (1989) mußte durch den Einsatz verdünnten Azetons entfallen.

2.5. Imprägnation

Das leichtflüssige Azeton, daß während Entwässerung/Entfettung und Färbung (2.4.) das Wasser als Intermedium ersetzt, mußte im Vakuum aus dem Schnitt extrahiert (evakuiert) und durch den entstehenden Unterdruck in das Gewebe eindringenden Kunststoff ausgetauscht werden. Damit konnte das Gewebe nach der Polymerisation des Kunststoffes seine physikalischen Eigenschaften ändern. So wird das Gewebe weniger fragil, und, durch ein Medium, welches ähnliche optische Brechkraft besitzt, auch transparent (SPALTEHOLZ 1911, EITEL et al. 1986).

Bei der Anwendung der 1981 durch VON HAGENS beschriebenen Imprägnation von Körperscheiben mit E12 (VON HAGENS 1981), die bisher nicht dünner als 2,5 mm waren (ZHANG et LEE 2002), zerbrachen einige der Schnitte, die nach der Methode, die unter 2.1.- 2.4. beschrieben wurde, mit einer Dicke unter 1 mm hergestellt waren. Wir untersuchten, warum das geschah und vermuteten, daß die auftretende Gewebs- bzw. Kunststoffschrumpfung während der Plastination einen Einfluss auf dieses Phänomen hat. Wir benutzten dazu die Standardausrüstung zur Imprägnation von Körperscheiben. Die entwässerten und entfetteten, mit Azeton oder, bei stark fettendem Gewebe, mit Methylenchlorid getränkten Körperscheiben wurden bei 10^{-3} Torr in einer Vakuumkammer, die entsprechend der Größe der Scheiben gewählt wurde, in einer Tiefkühltruhe nach der von VON HAGENS (1985) beschriebenen Technik mit E 12 imprägniert. Diesen Vorgang illustriert Abbildung 8.

Zur Imprägnation benutzten wir wegen der optischen Eigenschaften Epoxidharz (COOPER 1982) und zwar das Epoxidharz E12 der Fa. BIODUR ® in Kombination mit E1 und E15 (VON HAGENS 1985).

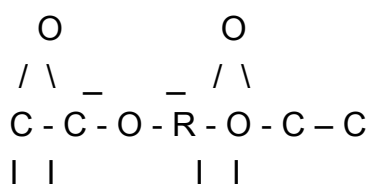
2.5.1. Das Polymerisationsverhalten von Kunststoffloten

VON HAGENS benutzte (1985) zum Imprägnieren und zum Einbetten (s.u., 2.5.4.) bereits verwendete Kunststoffloten und gab diesen neuen Mischungen hinzu, wenn die Viskosität noch honigartig war. Benutzte Mischungen können eingefroren werden. VON HAGENS beschrieb die Gesamtvolumenschwindung des Polyesters bei der Polymerisation mit bis zu 10% (1985, pers. Mitteilung (SCHILL 2003)). Da der Kunststoff während der Schritte (2.1. – 2.5.2.) das Gewebswasser ersetzt hatte und dieses im Gewebe in unterschiedlicher Menge vorhanden war (s.o., 2.3.1.), lag nahe, daß die Gewebe in den Körperscheiben in verschiedenem Maße schrumpften.

Dadurch war anzunehmen, daß im Präparat Spannungen entstehen, was sich bei der Anwendung der unveränderten VON HAGENSSchen Methode an Verwerfungen und Rissen von Körperscheiben zeigte. VON HAGENS führt das auf den Restwassergehalt zurück (1985, pers. Mitteilung 1999).

Die auftretende Gesamtvolumenschwindung von Reaktionsharzen verschlechtert die mechanischen Eigenschaften und die Haltbarkeit des ausgehärteten Netzwerkes (BRADY 1992).

BOENIG versuchte deshalb, durch Reduzieren der Reaktionsschwindung und die Abkühlgeschwindigkeit die Gesamtvolumenschwindung zu verringern (1988). Die Einführung von Hilfs- und Füllstoffen zur Verringerung der Reaktionsschwindung entfiel (HOLST 2001), weswegen wir bei allen weiteren Versuchen mit anpolymerisierten Kunststoffloten arbeiteten, in die wir die Schnitte einfach einlegten, warteten, bis ein dünnhönigvisköser Zustand eintrat, auf 10°C abkühlten und nach einer halben Stunde weiterarbeiteten.



Epoxidharzketten
(BLÜMELHUBER 2002).

BLÜMELHUBER (2002) wies auf den Einfluss der Fette auf das Polymerisationsverhalten hin.

Durch die Fettsäuren würde die Kettenbildung über die Radikale der Polyester gehemmt. Die lange Verweildauer in Azeton sollte diesen Einfluss ausschließen. Wir entfetteten deshalb die Körperscheiben sehr gründlich (s.o., 2.4.4.).

Eine weiterer Versuch der Verringerung der Gesamtvolumenschwindung (HOLST 2001)

bestand darin, die Mischungsverhältnisse der Kunststoffloten zu verändern, besonders den Weichmacheranteil. VON HAGENS gab 1985 folgende Mischung an: 100 T E12 (Monomer), 25 T E1 (Säureamidhärtergemisch), 5 T E10 (Weichmacher).

Um die Scheiben flexibler zu polymerisieren, erhöhten wir den Weichmacheranteil sukzessive auf 5,5 T. Über die Chemie des Weichmachers E10 ist leider nichts bekannt. Vermutlich handelte es sich um einen Phthalsäureester. Versuche mit Ansätzen von reinem Dimethylphthalat anstatt des E10 ergaben zwar befriedigende Ergebnisse, jedoch auf Grund des relativ geringen Anteils an der Kunststofflotte keine wesentliche Kostenersparnis. Deshalb wurden die Versuche dazu eingestellt.

Die Polymerisation verlief gemäß einer alternierenden Kopolymerisation, bei der ein vernetztes Polyester entsteht (KLAUS et KNOWLES 1966, BRADY 1992). Freie Ester können durch freies Säureanhydrid gebunden werden, weswegen wir in einem nächsten Schritt des Versuches den Anteil des Säureanhydrid-Härters E1 von 25 T auf 28 T erhöhten.

Die Schrumpfung von plastinierten Körperscheiben mit der neuen Mischung (100 T E12, 28 T E1, 5,5 T E 10) zu messen erschien uns nicht sinnvoll, weil ein Restwassergehalt von über 97% weißliche Niederschläge im Präparat verursacht (VON HAGENS 1985, PIECHOCKI 1986). Der erwähnte Restwasseranteil (SCHWAB et VON HAGENS 1981) oder auch Reste des Intermediums (Azeton s.o., 2.4.2., Methylenchlorid, s.o., 2.4.3.) konnte daher nicht näher betrachtet werden. Um Schrumpfungen ggf. zu quantifizieren und Aussagen treffen zu können, inwieweit das zu plastinierende Gewebe selbst auf das Epoxid und die Polymerisation Einfluss hat, gossen wir

1. Kunststoff ohne Körperscheiben in vorgefertigte flache Glaskammern (*filling*- Methode, JOHNSON et ZHANG 2002; s.u., 2.5.4.),

2. Kunststoff mit imprägnierten Körperscheiben,

und zwar jeweils mit VON HAGENS Mischung E12 (1985) und mit FO127 (STEINKE 2001). In einem zweiten Untersuchungsschritt wurde der Einfluss des Weichmacheranteils auf die Polymerisation von E12 und dem Kunststoffgemisch FO127 (TROLLER AG, Fülenbach, CH 4629) untersucht. Diese Kunststoffflotte stand als Alternative zu E12 zur Verfügung (STEINKE et al. 2002). Die Kosten waren etwas geringer. Die Mischung bestand aus 2 T Harz und 1 T Härter. Der nötige Weichmacher war bereits beiden Anteile hinzugegeben. Es wurde keine weiteren Zusätze verwendet.

Wiederum wurden die Schrumpfungen ermittelt durch (1) Messung der Glaskammern und (2) Messung der polymerisierten Blöcke mit und ohne Präparat.

Weiterhin wurde die Schrumpfung der Injektionsmassen und der Einbettmedien (s.o., 2.1.4.) verifiziert. Dazu betteten wir nach der *Sandwich*- Technik ein (s.u., 2.5.4.). Wir zeichneten dazu die Umrisse der unpolymerisierten Präparate auf der Einbettfolie auf und versuchten nach der Polymerisation die Schrumpfungen von E12 und FO127 zu messen.

2.5.2. Die Gewebsschrumpfung während der Imprägnation

Nr.	x[m1] [mm]	x[m5] [mm]	y[m1] [mm]	y[m5] [mm]
β2	84,0	83,0	61,0	59,0
β6	95,3	92,0	58,1	56,0
α2	61,4	59,4	37,9	37,0
α 3	144,5	139,0	99,7	97,0
δ6	145,0	140,5	88,3	86,3
δ9	148,2	142,0	95,8	91,0
δ13	117,8	113,5	89,5	85,5
δ14	87,3	84,5	60,0	57,5
γ1	97,8	94,5	66,2	65,0

Zur Untersuchung der Schrumpfungsveränderungen dienten uns die entwässerten Schnitte aus Tabelle 4 (s.2.4.1.), aufgeführt in Tabelle 6: Hirnscheiben zur Untersuchung der Schrumpfung während der Imprägnation mit E12.

Die Länge x und die Breite y hatten sich vom Wert [m1] auf den Wert [m5] verändert. Nach der Imprägnation wurden die Scheiben erneut in Länge und Breite vermessen [m6].

Eine erste Gruppe der nach Methode B entwässerten Hirnscheiben (β_2 , β_6 , α_2 und δ_3) wurde 3 d bei 5°C in der Kunststoffflotte aufbewahrt und anschließend forciert imprägniert (SEIBOLD et al. 1991). Dann maßen wir die Schnitte 4 h nach der vollständigen Imprägnation in Kunststoff (P 40 für Hirnscheiben; VON HAGENS 1985) mit einer Schiebelehre in Länge und Breite.

2.5.3. Das adaptierte Imprägnieren von Körperscheiben

Aus histologischen Untersuchungen durchsichtiger Präparate gewannen wir die Erfahrung, daß während des Imprägnierens hochbrechender Flüssigkeiten zum Durchsichtigmachen (SPALTEHOLZ 1911) z.T. erhebliche Schrumpfungartefakte auftreten, abhängig von den Gewebearten. Es erschien uns, als ob der Luftdruck solche Präparate zusammendrücke, wenn der Exsikkator nach Beendigung der Evakuierung geöffnet wird (STEINKE et WOLFF 2001). Besonders bei unvollständiger Imprägnation wurde eine Bewegung in den Plastinaten deutlich.

Um diesen Vorgang an DSP zu prüfen, wurde nach der Immersion einer weiteren Serie von Präparaten (β_2 , χ_1 , δ_6 , δ_{13} , s. Tabelle 6) bei 5°C für 3 d in einen in P 40 - Kunststoffansatz im Exsikkator evakuiert, wobei das Vakuum bis zum Sieden des Azetons erneut sukzessiv erhöht wurde (VON HAGENS 1985, SEIBOLD et al. 1991). Nach Beendigung der Imprägnation wurde der Luftdruck über 2 h sehr langsam erniedrigt, indem wir langsam Luft durch ein Bypassventil in den Vakuumcontainer einströmen ließen, sodass die Präparate aus dem Vakuum an den Luftdruck „adaptiert“ wurden. Dann wurde die zweite Gruppe vermessen.

2.5.4. Das Einbetten der imprägnierten Körperscheiben

Einbetten von Präparaten bedeutet, das selbe mit einem Medium zu umschließen. ZEHLIN beschrieb 1968 ausführlich die Einbettung in Polyestergießharz. Die ersten Anwendungen von Kunstharz beschrieb SPANNER (1926) und experimentierte mit Celluloid (= Zelloidin oder Celodal). Die Technik des Einbettens von im Vakuum kunststoffdurchtränktem Gewebe entwickelten VON HAGENS und KNEBEL 1978 in Anlehnung an mikroskopische und elektronenmikroskopische Techniken (ADAM und CZIHAK 1964). 1946 beschrieb ROMANIAK erstmalig eine Einbettechnik, die 1978 die Autoren VON HAGENS und KNEBEL „Plastination“ taufte. Alle durch angegebenen Arbeitsschritte zur Plastination wurden von bereits von ROMANIAK detailliert beschrieben, auch die Vakuumimprägnation (ROMANIAK 1946).

In Anwendung der SPALTEHOLZschen Erkenntnis, daß Gewebe durchsichtig wird, wenn die Imprägnation mit einem Medium gleicher optischer Brechkraft geschieht (1911), verbesserte VON HAGENS die Einbettechnik für Körperscheiben, damit diese in den von ihm modulierten Kunststoffen transparent wurden (1985, 1999).

VON HAGENS beschrieb dazu zwei Einbettmethoden:

1.- die Flachkammermethode, bei der die imprägnierte Körperscheibe in Kunststoff zwischen zwei Glasplatten eingeschlossen wurde, welche mit Schlauch verschlossen und mit Rückfaltklammern zusammengepresst wurden, was das Auslaufen verhindert (VON HAGENS 1985, COOK 1997), sowie

2.- die Sandwich- Methode, bei der die Körperscheiben zwischen zwei mit Glasseparator (BIODUR © AE 10 oder Silikonöl) benetzten Polyesterfolien ausgelegt und beides zwischen Glasplatten gepresst wurde, die nicht mehr verschlossen werden mußten, wodurch der überflüssige Kunststoff aus mehreren solcher übereinandergelegten „sandwiches“ aus dem zwischen Folie und Glasplatten befindlichen Schnitt auslaufen konnte (VON HAGENS 1985).

Die Herstellung der „sandwiches“ zeigt Abbildung 9. Im Hintergrund ist ein „sandwich“ zu sehen.

Die „sandwich“- Technik bot sich für dünne Schnitte an. Nur dicke Scheiben, etwa die Schulter- und Beckenscheiben (von 64 ♂) oder Hirnscheiben der Schrumpfungsversuchen (2.5.2.), im allgemeinen Scheiben über 2,5 mm Dicke, wurden in Flachkammern von 5 mm Dicke gebracht und eingegossen (Flachkammertechnik, VON HAGENS 1985).

Zur Sandwich- Technik beschrieb VON HAGENS 1985 das dabei auftretende Problem der Luftblasen, die er mit Nadeln während des Einbettens absaugte. Wir besprühten vor dem Abdecken des Schnittes mit der Einbettfolie die Schnitte mit Methanol aus einem Handsprüher (Abb. 9 rechts im Bild).

2.6. Polymerisation

Das Polymerisieren der Mischung von Epoxidharz E12, Härter E1 und Weichmacher E10 (oder E12) erfolgte durch die Vernetzung mit einem Amidhärter (E6). Die Anwendung von UV-Licht (P35 oder P40 für Hirscheiben) oder von Gas (S10, Stückplastination) war nicht erforderlich. Bei der Polymerisation wurde Wärme frei. Zu starke Erhitzung führte zur Zerstörung des Schnittes (ZECHLIN 1968). Um die Polymerisationshitze abzuleiten, wenn die Raumtemperatur im Sommer über 20°C anstieg, stapelten wir die „sandwiches“ in einen Kühlschrank. Bei normalen Raumtemperaturen beließen wir die Stapel für einen Tag zum Aushärten auf dem Arbeitstisch.

2.6.1 Härte und Flexibilität von DSP

Aus den Versuchen erhielten wir polymerisierte DSP, die nach drei Arten imprägniert waren:

1. mit VON HAGENS's Mischung (1985),
2. mit der veränderten Mischung (STEINKE 2001),
3. mit FO127 (STEINKE et al. 2002).

Die Flexibilität und Kratzfestigkeit der Serien aus Schnitten von 27 Körperspendern wurden nach der Polymerisation eingeschätzt, indem einige Scheiben vorsichtig gebogen und an deren Rand mit einer Präpariernadel geritzt wurden. Die Einschätzung erfolgte subjektiv. Aufgrund der Auswertung der Präparate für die morphologischen Untersuchung und deren Aufbewahrung als Sammlungspräparate konnte keine objektiven Messungen, wie Bruch- oder Biegeversuche erfolgen.

2.6.2. Das Tempern

Unter dem Nachhärten versteht man die Zuführung von Wärme, wodurch aus dem Polymersystem erneut Wärme freigesetzt wird. Der Endumsatz P_{end} des isotherm gehärteten Epoxidharz-Systems wurde aus der gesamten Reaktionswärme Q_{ges} des Systems und der Reaktionswärme des Nachhärtens Q_{R} des zuvor isotherm gehärteten Systems bestimmt.

$$P_{\text{end}} = \frac{Q_{\text{ges}} - Q_{\text{R}}}{Q_{\text{ges}}}$$

(MONTERRAT et al. 1995)

Das Nachhärten der Plastinate geschah, nachdem freigesetzte Reaktionswärme Q_{ges} nicht mehr zu bemerken war, sich die Körperscheiben also kühl anfassten. Zu diesem Zwecke wurden die „sandwiches“ durch das gelegentlich schwierige Abhebeln der Glasplatten geöffnet, die Polyesterfolien von den polymerisierten Scheiben abgezogen, die überflüssigen Ränder mit einer Schere oder bei einer sehr dünnen Kunststoffschicht mit einem Skalpell von Schnitten entfernt und diese zwischen saubere Glasplatten einsortiert und alles gestapelt. Nach anfänglichen Schwierigkeiten beim Öffnen der „sandwiches“ wurden beim Einbetten die Glasplatten dünn mit Glasseparator eingerieben (BIODUR © AE 10, s.o., 2.5.4.). Die Stapel mit den Schnitten wurden in einen Wärmeschrank eingelegt, dieser auf 50°C eingestellt und angeschaltet. Das Tempern geschah anfänglich über ein Wochenende. Die aufgenommene Reaktionswärme des Nachhärtens Q_R konnte dabei nicht gemessen werden (MONTERRAT et al. 1995). Am Montag wurde der Wärmeschrank ausgeschaltet. Nach dessen Abkühlung auf Raumtemperatur entnahmen wir die Schnitte und entfernten diese aus den *sandwiches*.

Dabei stellten wir fest, daß die Pigmentierung vor allem der sehr dünnen Schnitte für eine optimale Darstellung beispielsweise der Züge des Unterhautfettgewebes nicht ausreichte, und daß der Kunststoff sowie das Gewebe etwas vergilbte. Wir erhöhten daraufhin die Zeit des Temperns auf über eine Woche. Auch über zwei oder drei Wochen wurden die Schnitte bei 50°C im Wärmeschrank belassen, je nach dem Grad der gewünschten „Kontraste“.

2.6.3. Die Farberhaltung gefärbter DSP

Da einige der gefärbten Präparate aus den Vorversuchen (s.o., 2.4.4.) ihre Farbe in den Kunststoffgemischen E12 und FO127 verloren, konnten aus diesen Versuchen nur die . Fuchsin-Schnitte und die van Gieson- Plastinate auf Lichtecktheit geprüft werden. Dazu und wurden diese über zwei Wochen in die UV-Lichthärteeinrichtung von BIODUR® mit UV-Licht mit 12 OSRAM UV-Röhrenlampen in der BIODUR® Lichthärtungseinheit Firma bestrahlt. Die späteren Proben der Serie 2.4.4.kannten alle in dieser Anlage auf Lichtecktheit geprüft werden. Darüber hinaus prüften wir Scheiben, die mit Methylenblau, Toluidinblau, Azur II und basischem Fuchsin gefärbt waren (s.o., 2.4.4.).

2.7. Digitalisierung/Korrelation

Die aus den Arbeitsschritten 2.1.- 2.6. entstanden Serien plastinierter Dünnschnitte, die großteils in korrelativen und korrespondierenden Untersuchungen zu MRT und CT hergestellt wurden, sollten digital ausgewertet und vervielfältigt und ggf. den MRT- und CT- Daten zugeordnet werden. Dazu kamen die Betriebssysteme Windows[®], UNIX und IRIX an verschiedenen Rechnern zum Einsatz (Risc-, Pentium- und AMD-Systeme).

2.7.1 Fotografie und Scann

Für anatomische Atlanten wurden Schnittplastinaten fotografiert (ROMRELL 1996). Auch DSP ließen sich fotografieren. Dazu wurde die Camera ZEISS-NIKON auf einem Stativ mit Auflicht montiert, Auf einen Lichtkasten legten wir die Schnitte legten und fotografierten von oben, wie ZHANG et al. (2003). Es zeigte sich, daß diese Methode aufwendig war, weswegen wir versuchten, die dünnen Scheiben wie Folien einzuscannen.

Die Fotos dieser Schnitte, die während des Sägens mit der ZEISS-NIKON-Digitalkamera mit 2,4 MB Auflösung auf einem Auflichtfotostativ akquiriert worden waren (2.3.3.), dienten später zur der Alignierung der Plastinate (2.7.3.). Ab 2000 scanneten wir auf Anregung durch die Fa. IVS Solutions Chemnitz, Annaberger Straße 240, 09125 Chemnitz, Deutschland, alle weiteren digitalen Bilder von DSP als PNG- komprimierte Dateien ein (85 ♀ a, 85 ♀ b, 87 ♀ und 77 ♀ b).

Wir benutzten zum Scannen der DSP mehrere verschiedene Scanner der Fa. EPSON.

2.7.2. Das Korrelieren von MRT und Plastinat

Auf Grund der Datenmenge der einzeln aufgeführten Projekte und der Anforderungen bei der Auswertung war eine Zusammenarbeit mit anderen Einrichtungen notwendig.

Die MRTs lagen als DICOM- Dateien vor. Um das Format in ein am PC leichter zu lesendes Format umzuschreiben, mußten die Dateien im Universitätsnetz der Medizinischen Fakultät und des Klinikum Leipzig übertragen und vom Hauptspeicher in eine lokale Arbeitsstation abgelegt werden.

Bei dieser Arbeitsstation handelte es sich in der Radiologie des Klinikums Leipzig um eine Silikon- Graphics (Image- Vision) und im Institut für Anatomie anfänglich um eine Silikon Graphics SGI mit dem IRIX Betriebssystem, später um einen Pentium 3 mit viel Arbeits- und Festplattenspeicher. Die Zuordnung der Dateien aus den gescannten Präparaten geschah anfänglich zu den MRTs, anhand derer auch die Benennung der Dateien erfolgte. Die ersten zwei Ziffern des Dateinamens der zur Korrelation herangezogenen Plastinate beschrieben das Präparat anhand von Buchstaben („kh“ z.B. „Knie horizontal“; „es“= Ellenbogen sagittal), die letzten vier Ziffern als Zahlen den dreistelligen Vorschub des Schlittens im MRT, auf dem das Präparat während der Untersuchung von der 0-Ebene (+000) vor oder zurück bewegt wurde (z.B. „kh-135“ = „Knie horizontal, 135 mm vor der 0-Ebene“, „kh+010“ = 1 cm dahinter). Hinter dem Namen gab eine weitere Ziffer nach einem Fußstrich an, ob es sich um ein Platinat („_p“), ein T1- („_1“) oder ein T2- MRT („_2“) handelte. Das Suffix des Dateinamens war bestimmt durch das benutzte Dateiformat (z.B. kh-135_p.tif; es+002_1.jpg; ks-135_2.dcm).

Korrelation der MRTs und der Plastinate des Körperspenders 64 ♂

Die DICOM- Daten der am MRT untersuchten Knie und Ellenbogengelenke waren 1996 einzeln an dem MRT- Arbeitsplatz der Radiologie generiert und mit umgewandelten TIF- Dateien auf CDs geschrieben worden. Dieses Format war auf PC (unter Windows 95- Betriebssystem)- bzw. SGI (IRIX) lesbar. Neben den 2D- oder 3D- Daten gingen dabei auch die Fallbeschreibungen, das Datum, die Patienten- (Leichen-) Nummern sowie die Einstellungen des MRT verloren, was im DICOM- Format des MRT abgespeichert war, sodass wir auf den an der SGI der Radiologie generierten TIF- Dateien die wichtigsten Angaben mit einblendeten und diese Informationen mit auf dem TIF- Bild zu sehen waren. Die Plastinate speicherten wir wie oben beschrieben anfänglich als komprimierte JPEG- Dateien, später als TIF- Dateien nach dem Scannen. Jedem MRT konnte 1-2 Plastinate zugeordnet werden. Anhand der Betrachtung der Strukturen entschieden wir uns für zusammengehörige Paare von MRTs und Platinaten. Anschließend lagen Serien von MRTs in der Wichtung T1 und T2 mit der optischen Auflösung von 72 dpi und einer Bildgröße von 512x512 Pixel als Grauwertebilder vor, geordnet zu Platinaten mit 300 dpi gleicher Bildgröße als 24Bit Farbbild.

Körperspender 84 ♂

Die Plastinate des kurzzeitfixierten Präparates wurden kurzzeitfixiert und in verschiedenen Phasen der Fixation korreliert (SCHMIDT et al. 2001).

Körperspenderin 64 ♀

Die Übertragung der DICOM 1- Daten des sagittal untersuchten Knies konnte im Herbst 1997 über das bereits eingerichtete Universitätsnetz erfolgen. Per FTP (*file transport protocol*) wurden die Daten in der Radiologie für uns auf einen dafür benutzten Universitätsserver abgelegt (rzaix.leipzig.de) und per FTP von dort in die Anatomie geholt. Das FTP- Programm kürzte zu lange Namen auf 8 Stellen ein, weswegen wir die *scans* gleich achtstellig benannten (2.7.2.). Nach der Plastination wurden die Präparate nicht mehr im JPEG-, sondern im TIF-Format in 300 dpi auf 512x512 dpi eingescannt und zu den MRTs anhand der sichtbaren Strukturen zugeordnet.

Körperspenderin 91 ♀

Die Daten der untersuchten Ellenbogengelenke konnten 1999 direkt vom MRT auf den Server des Institutes für Anatomie in kleineren Portionen abgelegt und von dort an Rechnern, die im Universitätsnetz dazu freigegeben waren, auch wieder abgeholt werden. Die Daten wurden mit dem Befundungssystem „Magic View“ der Firma SIEMENS ausgewertet. Eine UNIX- Arbeitsstation stand dazu in der Radiologie zur Verfügung. Der Altdatenbestand war über das „Magic Web“ aufrufbar.

Die MRTs der untersuchten Hand mußten wir verwerfen, weil diese nicht mit den Plastinaten korrelierten. Die DICOM 1 - Daten konnten wir im Institut für Anatomie mit einer 14-Tage Probeversion des Programms „HIPAX“ der Firma STEINHART EDV (Wissereckstrasse 4, D-79286 Glottertal) betrachten. Aus dem Programm schrieben wir den Text der zugehörigen MRTs in eine Tabellenkalkulation (MS Excel). Aus dem Programm „HIPAX“ konnten wir die MRTs auch als TIF- Dateien abspeichern. Das Programm wurde dazu hintereinander an mehreren Rechnern installiert. Die Korrelation der Ellenbogenpräparate erfolgte im Institut für Anatomie an der SGI (IRIX), (STEINKE et THOMAS 2002).

Weiterhin erfolgte die Untersuchung des Acromioclaviculargelenkes. Es konnte nur korrespondierend untersucht werden.

Körperspenderin 75 ♀ b

Die Übertragung der MRTs des Kopf- Hals- Paketes, beider Schultern sowie der Hände erfolgte über das Uninetz als DICOM 2- Dateien (neueres, skalierbares Datenformat für MRT, 3D- fähig). Wir sichteten die Daten mit dem Programm „DICOMVIEWER“ der Firma OMNIS GROUP LTD, das frei im Internet verfügbar war.

Die Arbeit mit dem DICOM- Daten vereinfachte sich außerdem durch den Einbau des DICOMVIEWER- Plugins in den Browser OPERA (Vers. 4.02, Opera Software, Waldemar Thranesgt. 86B, 0175 Oslo, Norwegen). Auf diese Art und Weise konnten wir die DICOM 1 UND 2 - Dateien im normalen Netzbrowser betrachten und gleichzeitig mit dem „DICOMVIEWER“ auswerten.

Die Korrelation zu den mit 300 dpi gescannten Plastinaten erfolgte an zwei Rechnern (PC und SGI, s.o.), die im Netzwerk des Institutes für Anatomie zu diesem Zwecke zusammenarbeiteten. Die aufgenommenen MRTs der Hände wurden verworfen, da erneut keine Korrelation eintrat.

Die Schulterplastinate wurden zu den vorher akquirierten MRTs korreliert (THOMAS et al. 2001).

Die korrelierten Daten des Kopf- Hals- Paketes von 75 ♀ b wurden an den Kooperationspartner „DR. BALDEWEG AG“ , Prof. Dr. Frank Baldeweg, Hans-Grundig-Straße 28, D-01307 Dresden, in kleinen Abteilungen von 3-4 Bildern von jeweils insgesamt etwa 30 – 40 MB per FTP auf deren Server verschickt.

Körperspenderinnen 85 ♀ a und 85 ♀ b

Die Korrelation von vier Schultern erfolgte nach gleicher Methode (s.o., 2.7.2.. 75 ♀ b). Die Korrelate wurden auf den Hauptserver der Universität abgelegt und zur Verarbeitung mit den Kollegen der Orthopädischen Klinik und Poliklinik der Universität Leipzig auf CD gesichert.

Körperspender 87 ♂ und Körperspenderin 77 ♀ b

Die DICOM- Datensätze aus BV des Kopf- Hals- Pakete dieser Leichen lagen nun vom MRT als DICOM 3 vor (MAGNETOM SIGNA mit neuer Software SYMPHONY). Dieses Format schloss neben den Angaben der DICOM 2- Dateien die z- Ordinate mit ein. Statt zweidimensionaler Angaben (Pixel), die in der z-Achse manuell zugeordnet werden mußten, lag diese Ordinate nun automatisch mit vor (Voxel). Weder mit den Programmen HIPAX, DICOMVIEWER noch mit dem Plugin für OPERA konnte dieses Dateiformat angezeigt werden. Die Korrelation von MRT und CT erfolgte gemeinsam mit einem Partner, der Fa. IVS SOLUTIONS Chemnitz.

Der 3D- DICOM- Datensatz konnte in allen Ebenen gekippt werden und so erfolgte die Korrelation nicht mehr nach dem MRT, dem dann ein Plastrat zugeordnet werden mußte, sondern anders herum nach dem Plastrat, dem nun frei ein MRT zugeordnet werden konnte. Dazu durchfuhren wir den MRT- Volumen- Datensatzes parallel, bis die Ebene, die einem Plastrat entspricht, erreicht war. Mit dem Programm VOXIM der Fa. IVS SOLUTIONS wurden einzelne Ebenen als den Plastraten zugehörig markiert und daraus als Referenz korrelierend zu den Plastraten abgespeichert, was anschließend auf CD gesichert wurde.

Alle weiteren unter (2.7.2.) nicht erwähnten Untersuchungen erfolgten nicht korrelierend, sondern korrespondierend oder ohne zugehörige Dateien aus BV. Zur korrespondierenden Untersuchung wurden vergleichbare MRTs und CTs aus dem Lehrfundus der Radiologie des Klinikums herausgesucht, den Plastraten gegenübergestellt und anonymisiert.

2.7.3. Das Alignment und die dreidimensionale Visualisierung

Alle Projekte außer 87 ♂ und 77 ♀ b

Die Korrelation erfolgte nach dem MRT (s.o., 2.7.2.). Damit die durch die Korrelation gefundenen, zugehörigen Abbildungen der Plastrate auf die MRTs passen, mußten die Plastrate ausgerichtet werden („aligned“ zum „alignment“). War dies nicht der Fall, luden wir die JPEG- bzw. TIF- Dateien in Adobe® Photoshop®, Version 3 – 5, und drehten sie dort nach Sicht in die passende Orientierung. Jeweils zwei zusammengehörige Schnitte (DSP und MRT) wurden koregistriert, d.h. durch gleichartige Benennung zu Paaren verbunden.

Die manuell registrierten Datenpaare wurden zur Firma BALDEWEG geschickt (2.7.2., 75 ♀ b). Da diese registrierten Dateien mit den MRTs bereits koregistriert waren, konnte damit kein 3D- Volumen erstellt werden. Zwischen den MRT- Datensatzes entstanden Lücken, was verhinderte, daß wir dreidimensional segmentieren konnten (VIERGEVER et al. 2001).

Nach den Rückschlägen bei der dreidimensionalen Visualisierung übernahm die Fa. BALDEWEG die Registrierung selber, um ein 3D- System zu erstellen, allein ohne Erfolg. Die Arbeiten wurden wegen Konkurs der Firma 2001 eingestellt. Das Alignment der Schulterplastrate von 85 ♀ a und 85 ♀ b (2.7.2.) erfolgte daher wieder nach der vorherigen Methode. Zwar konnten durch das „alignment“ wieder keine 3D- Datensätze erstellt werden, jedoch wurden die MRTs zur 3D- Darstellung der Schulter in der *apprehension position* genutzt (THOMAS et al. 2001, THOMAS et STEINKE 2002).

87 ♂ und 77 ♀ b

Durch das Programm „VoXim“ der Fa. IVS-Solutions Chemnitz wurden die zweidimensionalen Schnitte von 87 ♂ (DICOM 1 und 2) sowie die dreidimensionalen Voxel (DICOM 3) in Chemnitz registriert, semimanuell ausgerichtet („aligniert“) und bei der Untersuchung von 77 ♀ b zu einem 3D-Datensatz in ein 3D- MRT- System zusammengefasst. Mit VoXim wurden gleichartige Datensätze von den Bildern der CTs erstellt. Nach dieser Methode versuchten wir, anhand der Bilder der frisch gesägten Schnitte, welche wir von 77 ♀ b während des Sägens fotografiert hatten (s.o., 2.7.1.), die Plastinate mit „VoXim“ an der Schnittkante des Gelatineblockes (s.o., 2.1.4.) parallel auszurichten. Diese Ausrichtung erfolgte anhand der Ränder des Blockes digital, entsprechend der Rekonstruktionstechnik des CVH (dort anhand in den Block eingegossener Stäbe, ZHANG et al. 2003) und der Erfahrung von STREICHER et al. (1997). Die gleiche Methode wandten wir bei den *scans* der fertigen Plastinate an, um diese an die 3D- MRT- und CT- Datensätze anzupassen. Die Ausführung dieser Anpassungen lag bei IVS- Solutions mit dem Zweck, ein 3D- Navigationssystem zu erstellen („*Matching*“ der entstandenen 3D- Datensätze, = zwei korrelierende Volumen).

Anhand der Voxeldatensätze von MRTs und CTs sowie der Plastinate wurden Visualisierungen von klinisch relevanten „*regions of interest*“ semiautomatisch segmentiert, wie sie aus der radiologischen Praxis aus den dort angewandten BV bekannt sind (ASHTON et al. 2003). Bei diesem Vorgang wurden an den einzelnen Schnitten relevante Strukturen mit der Maus oder einem Pen auf einem Grafiktablett der Fa., WACOM umfahren.

Dazu wurde mit „VoXim“ der 3D- Plastinatedatensatz als Voxeldatensatz am Bildschirm sichtbar gemacht („*volume rendering*“) und aus diesem einzelne Gefäße oder Knochen oder das freie Schneiden aus dem 3D- System räumlich dargestellt, indem die Transparenz einzelner Strukturen, welche frei wählbar waren, von undurchsichtig bis ganz durchsichtig geändert und so andere Strukturen aus- oder eingeblendet wurden (cd:\segm1.avi; cd:\segm2.avi).

Durch die gemeinsame 2- oder 3-dimensionale Darstellung konnten Mängel und Übereinstimmungen der Datensätze BV und Plastinate gezeigt werden („*image fusion*“, cd:\plastimr.avi).

3. Ergebnisse

Es war uns möglich, durch Abfolge aufeinander abgestimmter Maßnahmen DSP zu erstellen, die in zwei- und dreidimensionaler Korrelation zu BV standen. An verschiedenen topographischen Gebieten von 27 Leichen wurden Untersuchungen angestellt, um klinische Fragestellungen zu beantworten (s.u.: Anhang, Liste der Körperspender). Die DSP waren anschließend als Lehrmittel zur Anschauung der Schnittanatomie jederzeit als Präparat nutzbar. Die Präparation wurde in sieben Schritten vorgenommen, die wir im weiteren abhandeln.

3.1. Vorbehandlung

3.1.1. Vorbehandlung fixierten und unfixierten Gewebes

Formalinfixierte Präparate

Beim Absetzen der Schulterpräparate, der Knie- und Ellenbogengelenke und des Beckens des Leichnams 64 ♂, mit Formalin fixiert, stellten wir fest, daß das Blut schwarz koaguliert war und beim Arbeiten ausschmierte. Während des Perfundierens der Ellenbogenpräparate und der Kniegelenke mit der benutzten Perfusionslösung traten aus den Venen dunkle Koagel aus. Während anfänglich die Lösung bräunlich aus dem Gewebe wieder ausfloss, klärte sich diese im Verlauf der Perfusion über einen Tag deutlich auf. Dabei wurde das Gewebe etwas heller. Es verblieben einige große Blutgerinnsel fest in den Venen, welche sich auch mit Pinzetten nicht entfernen ließen. So waren Niederschläge an T1-MRTs und den Plastinaten des Leichnams 64 ♂ sowohl in den Venen (V. cephalica, Abbildung 12 a, Pfeil) als auch in den Arterien (A. brachialis, Aufteilung in A. ulnaris und A. radialis, Abb. 13 oben, Pfeil) zu finden.

Das Becken sowie die Schultern dieses formalinfixierten Leichnams wurden nicht perfundiert, sondern nur mit Wasser abgespült. Der Farbton des Gewebes dieser Präparate war dunkelbraun, im Gegensatz zu dem helleren Farbton der Ellenbogen- und Kniegelenke. Dieser Farbtonunterschied war zu beobachten bis zur Plastination (Abb. 13). Bei einer Injektionshöhe (IH) von 2 m war der Gewebzusammenhalt im Gewebe gestört, erkennbar an den erkennbar geweiteten Septen der MRTs dieser Präparate (s.u., 3.2.1.; Abb. 10 und Abb. 11, dicker Pfeil).

Alkoholfixierte Präparate

Der Kopf der alkoholfixierten Leiche 84 ♂ wurde nicht perfundiert. Die daraus entstandenen Silikonplastinate (zwei Kopfhälften zur Stückplastination, hier nicht näher beschrieben) wurden dunkelbraun. Das Hirn war unansehnlich geschrumpft. Die nicht perfundierten Präparate von 77 ♀ a und 75 ♀ a konnten zu DSP ebenfalls nicht herangezogen werden (Stückplastination: Kopf frontal). Das selbe Problem trat bei der Bearbeitung des Leichnams 72 ♂ zu Tage. Während von dem alkoholfixierten Kniegelenk keine DSP schneidbar waren, wurde im Gegensatz dazu an dem unfixierten, perfundierten Kopf das Schneiden unter 1 mm möglich (Kopf sagittal, Abb. 22). Im Verlauf der Perfusion des isolierten Kopfes von 76 ♀ a traten kaum optisch sichtbare Veränderungen an der Farbe des Präparates auf. Dieser Leichnam war postmortal ungeeignet gelagert.

Unfixierte Präparate

Das Blut des unfixiert perfundierten Leichnams 64 ♀ (s.o., 2.1.2.) war galertig geronnen. Die Sektion war auf Grund der weichen Konsistenz des Gewebes erschwert. Mit der eingesetzten Perfusionslösung konnte es größtenteils entfernt werden. Das Blut trat langsam aus den Gefäßen aus und konnte dort mit einer Pinzette entfernt werden und war dabei von tiefroter Farbe. Beim Perfundieren des Präparates aus 1 m Höhe beobachteten wir ein leichtes Aufquellen und ein Aufhellen des Gewebes. Der Bauch der zwei Tage post mortem ungekühlt gelagerten Leiche verfärbte sich leicht grünlich. Diese Färbung verschwand während der Perfusion. Muskeln blieben rot; das Bindegewebe wurde gelblich- braun.

Nun sezieren wir alle weiteren Leichname gekühlt. Das Sezieren ging dadurch auch leichter vor sich, da die Konsistenz des Gewebes fester war und weniger Flüssigkeit austrat. Wir konnten bei dem perfundierten Gewebe von 84 ♂ (Kopf unperfundiert) beobachten, daß die Farbe des Gewebes anfänglich rot bis rotbraun war und sich nach dem Perfundieren auf hellrot bis gelblich änderte, außer Muskeln, die rot blieben.

Bei der folgenden Kopf- Hals- Untersuchung stellten wir fest, auch bei geringer IH von 1-1,5 m Quellungen von Hirnteilen auftraten, wodurch diese bei der Plastination zerbrachen (IH 1,5 m, 75 ♀ b, IH 1 m 72 ♂. 72 ♂: Abb. 22, oben im Bild).

Am übrigen Gewebe traten hingegen nach der Perfusion keine Quellungen auf. Die Haut der Präparat wurde fahl. Je höher die IH war, desto mehr traten Quellungen auf.

Von unfixiert perfundierten Präparaten entstanden folgende DSP:

Jahr	Signatur	Beschriebene Präparate	Abbildung/ Publikation
1997	64 ♀	Knie sagittal und horizontal;	10, 11, 12 a und b, 13 oben, 17; (SCHMIDT et STEINKE 1996)
1998	72 ♂	Kopf sagittal; und 77 ♀ a Hand;	22; [cd:\KnieA600, knieB600]
1999	91 ♀	Ellenbogen horizontal, Acromioclaviculargelenk, Hand;	19; (THOMAS et al. 2001, STEINKE et THOMAS 2002)
2000	85 ♀ a	Schulter, Kopf canthomeatal	1, 20, 29; (THOMAS et STEINKE 2002)
	85 ♀ b	Schulter, Kopf horizontal;	20; (STEINKE et THOMAS 2002)
	75 ♀ b	Schultern, Kopf- Hals-Paket; Hand. Herz	[Online: 3D-STÜCKPLASTINATION]
	79 ♀	Hals horizontal, Kopf sagittal, Knie, Ellenbogen	7, 15, 23 a, b; (STEINKE 2001)
	94 ♀ a	Kopf sagittal	23 c-e, 28; (STEINKE et al. 2002)
2001	76 ♀ a	Kopf frontal	8; (STEINKE et al. 2002)
2002	89 ♂	Becken	30, [cd:\becksagi/*. *]
	87 ♂	Kopf-Hals, Acromioclaviculargelenk	2, 9, 24, [cd:\laryphary800.tif, \parotis1200]

Jahr	Signatur	Beschriebene Präparate	Abbildung/ Publikation
2003	77 ♀ b	Kopf-Hals, Becken horizontal	3, 6, 16, 25, 29, 31, 32, [cd:\parotis1200, \cut2plasti.avi, \gefroren.avi, \voxel.avi, \segm1.avi, \segm2.avi]
	92 ♀	Kopf frontal, Wirbelsäule sagittal	26

Tabelle 7: Aus unfixiert perfundiertem Gewebe hergestellte DSP

In dieser Arbeit nicht näher betrachtete Stückplastinate konnten ebenfalls durch Perfusion in heller Gewebsfarbe hergestellt werden (z.B. die Herzen von 75 ♀, 79 ♀ und 77 ♀ b; s.o., 2.1.3., weitere Präparate: s. Anhang). Das Waschen der Leichname vor der Präparation war vor allem notwendig, wenn Präparate eingebettet wurden. Andernfalls haftete keine Gelatine an der Haut (79 ♀).

Das Bleichen, das VON HAGENS (1985) als wichtig empfahl, konnte bei der Stückplastination nach ausreichender Spülung entfallen. Die beobachtete Aufhellung des Gewebes trat bei allen weiteren Präparaten ein außer bei den Untersuchungen am Kopf von 85 ♀ a (SCHMIDT et STEINKE 2000).

3.1.2. Die Vorbereitung des Gewebes zur Erzeugung optimaler MRT und CT

Die ersten mit DSP und BV untersuchten Körperteile stammten von 64 ♂ und waren formalinfixiert. Die nicht perfundierten Präparate dieses Präparates (Becken sowie Schultern, 2.1.1.) konnten mit MRT erfolgreich untersucht werden, wie das auch PUTZ und ZUR NEDDEN (1983) feststellten. Gleiches galt für den alkoholfixierten Kopf von 77 ♀ a. Sowohl die MRTs von 64 ♂ (u.a. Abb. 10, 11 u. 12) als auch die von 75 ♀ a (Abb. 14) stammen von fixiertem Gewebe. 64 ♂ war formaldehydfixiert, 75 ♀ a und 77 ♀ a waren alkoholfixiert. In der T2- Wichtung, die das freie Wasser weiß abbildete, wurde deutlich, dass bei 64 ♂ (Formalinfixierung) mehr weiße Spalten zwischen den Strukturen aufgetreten waren (Abb. 11 und 12 b) als bei 75 ♀ a (Alkoholfixation, Abb. 14). Weniger Spalten traten außerdem auf, wenn das Präparat perfundiert wurde (Abb. 10).

Die formalinfixierten Ellenbogen- und Kniegelenke des Körperspenders 64 ♂, welche mit Perfusionslösung durchspült wurden, konnten mit MRT untersucht

werden (2.1.1., Abb. 10, 11 u. 12). Dabei wurde im Gegensatz zu den Aufnahmen der unperfundierten Präparate ein gelegentliches Ausbrechen und Auseinanderdrängen von Gewebsbestandteilen beobachtet (Abb. 10 und 11, dicke Pfeile, oben im Bild). Die entstandenen Spalten wurden besonders bei den T2- gewichteten Aufnahmen weiß sichtbar (Abb. 12 b), (VANNIER et al. 1985).

Bei der üblichen TR von 500 ms erreichten wir keine rauschfreie Abbildung, weswegen wir mit 600 ms untersuchten und die Echozeit TE auf 20 ms erhöhten anstatt der bei T1 üblichen TE von 12- 15 ms. Auf Grund dieser Erfahrungen wählten wir für die T2- Sequenz TR = 4500, um befriedigendere Abbildungen zu erhalten.

Bei der Präparation des unfixierten Kopf- Hals- Paketes von 75 ♀ a und 77 ♀ a wurde untersucht, inwieweit die Fixation die MRT- Visualisierung beeinflusst (SCHMIDT et al. 2001). Die Leichen hier wurden nicht perfundiert. In der Auswertung der erstellten Bilder post mortem und 8 Wochen post fixationem wurde zunächst untersucht, welche anatomischen Strukturen im Bereich der Schädelbasis mit der gewählten Untersuchungstechnik darstellbar waren (75 ♀ a: Abbildung 14 a - f). Die MR- Visualisierung der vorhandenen anatomischen Strukturen bei kurzzeitig fixierten Präparaten zeigte sich durch Kontrastunterschieden zwischen der jeweiligen anatomischen Struktur und ihrer Umgebung. Das ließ sich vor der Fixierung in den Wichtungen T1 und T2 untersuchen. (Abb. 14 a: T1, Abb. 14 c und e: T2 des unfixierten Gewebes). Nach der Kurzzeitfixierung zeigten sich die Darstellungen in der T1- Wichtung blasser (Abb. 14 b), bei der T2- Auflösung aber kontrastreicher (Abb. 14 d und f).

Die Grauwerte der MRTs des Kopfes von 84 ♂ waren post mortem denen der MRTs von 75 ♀ a ähnlich. Acht Monate post fixationem (Alkohol) waren die MRTs von 84 ♂ sowohl bei T1 und der T2- Wichtung unbrauchbar (o. Abb.). Die Leichname 75 ♀ b und 77 ♀ a kamen nach der MRT- Untersuchung unperfundiert zur Scheibenplastination-, der Leichnam 84 ♂ zur Stückplastination (nicht näher beschrieben).

Die für rauscharme und konturreiche Darstellung gewählten MRT- Einstellungen [T1 (TR 24.9, TE 10.6); T2 (TR 2500.0, TE 104) bei 3 und 4 mm Schichtdicke] lagen bei T1 etwas unterhalb der üblichen Sequenzen von etwa TR= 250 – 300 [Online: MRT].

Neben den näher beschriebenen Fällen 64 ♂, 75 ♀ a, 84 ♂, 77 ♀ a und 64 ♀ wurden folgende Präparate post mortem perfundiert und konnten anschließend erfolgreich mit BV untersucht werden (Tabelle 8):

Präparat	MRT/CT
64 ♂	MRT Ellenbogen und Knie perfundiert, Becken unperfundiert horizontal und sagittal, Schultern unperfundiert horizontal, Abb. 10, 11, 12 und 13
64 ♀	MRT Knie sagittal, T1, T2
75 ♀ a	MRT unperfundiert post mortem et fixationem, SE, TSE, T1, T2
75 ♀ b	MRT Schulter und Hals, T1, T2
76 ♀ b	MRT Schulter in „apprehension position“, T1, T2, o. Abb.
77 ♀ a	MRT unperfundiert post mortem et fixationem, SE, TSE; T1, T2
77 ♀ b	CT, MRT des Kopf- Hals- Paketes, Abb. 16
79 ♀	MRT Schulter, Hals und Kopf, Knie und Ellenbogen, T1, SE; Abb. 15
84 ♂	MRT Kopf unperfundiert sagittal, T1, T2, 8 Monate post fixationem: √.
85 ♀ a und 85 ♀ b	MRT der Schulter in <i>apprehension position</i> , T1, T2
87 ♀	CT, MRT des Kopf- Hals- Paketes, T1, T2
91 ♀	Ellenbogengelenke, Acromioclaviculargelenk T1, T2

Tabelle 8: Mit BV untersuchte Körperspender

Nach Perfusion dieser Präparate traten keine bemerkenswerten Gewebeerirritationen mehr auf. Die an 64 ♂ und 64 ♀ beobachteten Gewebespalten verschwanden fast vollständig. Als Referenz der Qualität der Abbildungen aus diesen Untersuchungen sei Abbildung 15 angefügt. Am Beispiel des perfundierten Knies des Präparates 79 ♀ wird gezeigt, daß die Darstellung mit mehreren Sequenzen (T1 und SE) am MRT möglich ist.

Nach Perfusion konnte auch am CT erfolgreich untersucht werden. Abbildung 16 zeigt zwei Canthomeatalschnitte von 77 ♀ b. Die Injektionen sind im CT mit den gewählten Einstellungen nicht sichtbar; die Gefäße bleiben unsichtbar (a). Auch am MRT sind diese hypodens (b). Die morphologischen Strukturen sind auf beiden Schnitten der Auflösung entsprechend verifizierbar (72 dpi).

Die Abbildungsschärfe der MRTs des Leichnams 77 ♀ b, der vor der Untersuchung erwärmt wurde (DALAGER- PEDERSEN et al. 2000) war deutlich erhöht (Abb. 16 b). Bei der T1 und T2- MRT Untersuchung des unfixierten und fixierten Kopfes von 75 ♀ a war weniger Abbildungsschärfe zu erzielen (Abb. 14).

Die vorgenommenen PET- Untersuchungen erbrachten keine sinnvollen Ergebnisse.

Von dem formalinfixierten Präparat 64 ♂ hatten wir nur die Ellenbogen- und Kniegelenke perfundiert. Bei der Untersuchung am MRT stellten wir fest, daß einige Stellen der Gefäße noch Koagel enthielten, einige aber davon frei waren. In den Gefäßen der perfundierten Präparate stellte sich verschiedentlich Gefäßinhalt dar (Abb. 10, 11 u. 12, dünne Pfeile). Die nicht perfundierten Präparate zeigten homogenere Abbildungen am MRT (Becken, Schultern, o. Abbildungen). Die den perfundierten Präparaten beobachtete unregelmäßige Darstellung der Gefäße konnte hier nicht festgestellt werden.

Am Plastinat zeigten sich Niederschläge am perfundierten Gewebe nicht nur in den Lumina der Gefäße, sondern auch als einzelne, dunkelbraune Flächen, die zumeist Teile der Muskulatur betrafen (Abb. 13, obere Reihe und Abb. 17 a, dünne Pfeile). Diese braune Farbe war einheitlich an allen untersuchten Plastinaten, welche unperfundiert und formalinfixiert zur Plastination kamen. Von alkoholfixierten Präparaten konnten keine DSP erzeugt werden.

Auch die MRTs unfixierter Präparate zeigten Niederschläge in den Blutgefäßen. Abbildung 18 zeigt ein T1- MRT des perfundierten Knies von 64 ♀. Die Einstellungen des MRTs waren ähnlich wie die bei 79 ♀ gewählt (Abb. 15). Sowohl in der höheren Auflösung als auch in der Übersicht bilden sich die Lumina der Gefäße bei der T1- Wichtung schwarz ab (s.u., Anmerkungen MRT). Einige Strukturen, die auf Grund ihrer Lage an Gefäße erinnern, bildeten sich aber nicht schwarz ab (Pfeil in Abb. 15 a).

3.1.3. Die Erzeugung von Gefrierschnitten von fixiertem und unfixiertem Gewebe

Die mit DSP und BV untersuchten Körperteile stammten von 64 ♂ und waren formalinfixiert. Die nicht perfundierten Teile dieses Präparates (Becken und Schultern, 2.1.1.) konnten mit MRT erfolgreich untersucht werden (PUTZ und ZUR NEDDEN 1983). Von diesen Präparaten Dünnschnitte (<1mm) zu erzeugen war unmöglich. Statt dessen wurde in den üblichen Schnittdicken um 5 mm gesägt (VON HAGENS 1985). Gleiches galt für den alkoholfixierten Kopf von 77 ♀ a. Auch von diesem Präparat konnten keine dünnen Scheiben gewonnen werden.

Die Schnittdicke der formalinfixierten und perfundierten Präparate konnte auf einen Millimeter reduziert werden, nicht aber der unfixierten: die Schnittdicke konnte an diesen Präparaten nicht unter 3 mm verringert werden. Die nach diesen methodischen Unterschieden hergestellten Plastinate zeigt Abbildung 13. Im oberen Teil einer halbtransparenten, gerahmten Acrylplatte als Stellwand wurde das perfundierte Ellenbogengelenk als DSP aufgeklebt (1 mm dick), im unteren Teil die Schulter ohne Perfusion als 3 mm dickes Plastinat. Die Präparate der oberen Reihe erschienen transparent, die unteren braun (Abb. 13).

Auf Abbildung 6 b. ist die Ansicht der Gefrierschnittpräparate zu sehen. Die Schnitte waren nicht transparent. Feinere Strukturen ließen sich an der Oberfläche auch mit der Lupe nicht nachweisen. So war an den canthomeatalen Schnittflächen des Präparates 77 ♀ b keine Chorda tympani auffindbar. Zur Demonstration der Auflösung der Gefrierschnitte dienen einige Beispiele auf beiliegender CD [cd:\gefroren.avi, cd:\cut2plasti.avi].

Durch die Kühlzelle gestaltete sich der Sägevorgang recht einfach. Die Kühlung des Sägeblattes wurde bei Dauerbetrieb schwierig, zuerst, weil das anfänglich benutzte CO₂ ausströmte – und wer will schon bis zum Umfallen arbeiten -, und später, weil sich bei der Luftkühlung der Kompressor zu stark erwärmte. Auch die Raumtemperatur von -15°C - -20°C erschwerte ein durchgehendes Arbeiten: mit kältetauben Fingern zu sägen war uns zu gefährlich, weswegen gelegentlich eine Glühweinpause eingelegt werden mußte.

3.1.4. Farbige Injektion und Einbettung

Die angewandten Injektionen waren an den fertigen Plastinaten verifizierbar. Gelegentlich traten Ausbrüche der mit dem Präparat plastinierten Injektionen auf (Abb. 24 b). Die farbigen Injektionsmassen zeigten sich deutlich an den Schnittflächen.

85 ♀ a wurde mit den farbigen Injektionsmassen der Firma BIODUR® (Heidelberg) nicht erfolgreich injiziert. Die erhärteten Injektionsmassen fielen beim Schneiden und beim Entwässern aus den Gefäßlumina heraus. Durch die gesetzten Injektionen nach LUNDVALL (1927) waren die venösen und arteriellen Strukturen klar zu erkennen und zu unterscheiden (Abb. 9, 24, 25 und 26). An den DSP von 87 ♂ sowie von 85 ♀ b und 94 ♀ a schrumpften die Injektionen und brachen gelegentlich aus (Abb. 24 d, 87 ♂).

Beim Sägen des Kopfes von 85 ♀ b (zweifarbige: Arterien rot und Venen blau, canthomeatale Ebene) und des Kopf- Hals- Präparates von 75 ♀ b 2000 (zweifarbige injiziert, canthomeatal) und des Kopfes von 75 ♀ b (zweifarbige, canthomeatal) erkannten wir die Injektate bereits an der Schnittfläche der gefrorenen Scheibe (Abb. 6 b). Gelegentlich waren die Injektionen unvollständig oder die Gefäße waren durch die Injektion nicht genügend balloniert, wie beispielsweise an der A. carotis externa in Abb. 26 links oben zu sehen ist.

Zweifarbige konnten erfolgreich die Köpfe folgender Körperspender injiziert werden: am 21.11.2000: 94 ♀ a (Arterien rot, sagittale Ebene); am 14.12.2002: 87 ♂ (canthomeatale Untersuchung); am 21.2.2003: 77 ♀ b (Abb. 6) und 71 ♀ (Abb. 25).

Das Kopf- Hals- Paket von 77 ♀ b war zur Hälfte in Gelatine eingebettet (Abb. 6 a), der Hals von 71 ♀ zusätzlich noch mit Gelatine ausgefüllt (Abb. 25). Es zeigten sich Ablösungen und Risse in den Gefrierschnitten (Abb. 6 b) [cd:\gefroren.avi], welche auch im DSP auffindbar waren [cd:\cut2plasti.avi]. Die Serie ließ sich anhand der vorhandenen Schnittränder zum Alignment der fertigen Präparate und so zur 3D- Visualisierung nutzen (s.u., 3.7.3.). Risse in der Einbettungsmasse traten bei 77 ♀ b im Subduralraum auf (Abb. 25, Pfeil).

3.2. Untersuchung der Leiche am MRT

Ziel der Untersuchung am MRT war, den dort erzeugten Bildern anatomische Präparate gegenüberzustellen, die in derselben Schnittebene lagen, und zwar nicht nur in korrespondierender, sondern in korrelativer Untersuchung (MACKENZIE et. al. 1994).

3.2.1. Das Befestigen des Leichnams auf einem Untergestell zur Untersuchung und zum Transport in das Plastinationslabor

Anfänglich wurden aus dem Institut für Anatomie komplette Leichname zur Untersuchung am MRT von einem Bestattungsunternehmen in die Radiologie transportiert. Zu diesem Zweck verpackten wir den Leichnam 64 ♂ am 27.1.1997 in Plastikfolie. Das Unternehmen transportierte ihn, worauf wir ihn auf Folien in den MRT verbrachten. Der Leichnam war, typisch für eine formalinhaltige Anatomieleiche, puppenartig steif. Auswertbar waren die MRTs und die Plastinate der Ellenbogengelenke (z.B. Abb. 11, 12 u. 13) und der Knie (o. Abb.). Auf diese einfache Methode wurde bei der Untersuchung von 84 ♂ am 26.03.1999 und von 75 ♀ a am 17.11.1999 zurückgegriffen. Hier war es nicht möglich, korrelierende Plastinate zu erzeugen. Von 84 ♂ konnten nach 8 Monaten Fixierungszeit keine relevanten MRTs erzeugt werden, nach welchen hätten Kopfscheiben gesägt hätten werden können.

Da es sich bei der Untersuchung von 64 ♂ zeigte, daß das Auffinden der MRT-Schnittebenen im Plastinationslabor nicht immer gelingt, wurden die vom Leichnam isolierten Schultern von 64 ♀ am 13.06.1997 auf eine Acrylplatte fixiert, auf dieser am MRT untersucht, markiert und plastiniert. Eine Korrelation der MRTs und der DSP trat hier ein [Online: MRT-DSP, p. 44].

Gipsbinden wurden weiterhin am 17.02.2000 erfolgreich bei der Untersuchung der Schultern von 85 ♀ a eingesetzt. Auch die Schultern von 85 ♀ b wurde entsprechend am 28.02.2000 zur Untersuchung fixiert (STEINKE et THOMAS 2002).

Der Leichnam 91 ♀ fixierten wir auf der Kunststoffplatte, diesmal verstärkt mit Gipsbinden. Eine Korrelation trat hier ein (STEINKE et THOMAS 2002, THOMAS et al. 2001).

Abb. 19). Es konnte eine eindeutige Zuordnung der am MRT gefundenen Strukturen am Plastinat erfolgen (Tabelle 9, Abb. 19).

1	Humerus	9	A. brachialis
2	Ulna	10	V. brachialis
3	Radius	11	A. et V. interossea anterior
4	Olecranon	12	M. brachioradialis
5	Sulcus ulnaris	13	M. brachialis
6	N. ulnaris	14	M. supinator
7	N. medianus	15	M. biceps brachii
8	N. radialis	16	M. triceps brachii
8a	R. superficialis n. radialis	17	M. anconeus
8b	R. profundus n. radialis	18	M. pronator teres

Tabelle 9: Korrelierende Strukturen von MRT/DSP der Art. cubiti des Präparates 91 ♀ (Abb. 19)

Abbildung 19 zeigt ein Beispiel korrelierender Datensätze MRT/DSP von 91 ♀. Selbst sehr feine Strukturen konnten korrelierend dargestellt werden. Am MRT ließen sich R. superficialis et profundus nervi radialis auffinden (Abb. 19 a), weil diese in hoher Auflösung am DSP zu diagnostizieren sind (Nummer 8 a und 8 b; Abb. 19 b).

3.2.2. Das Justieren des MRT

Bei der Untersuchung am MRT zeigte sich eine Reihe von Artefakten, die bei der Untersuchung Lebender nicht auftreten. Bei verschiedenen Einstellungen des MRT bei der Untersuchung des über 8 Monate mit Alkohol fixierten Kopfes von 84 ♂ im Jahre 1999 waren vor und kurz nach der Fixation verwertbare Abbildungen zu erzielen. Nach acht Monaten hingegen nicht (SCHMIDT et al. 2001).

Von guter Qualität waren die Abbildungen des mit Alkohol kurzzeitfixierten Kopfes von 77 ♀ a (1998) und 75 ♀ a (1999, Abb. 14 a, c und e vor-, sowie 14 b, d, und f nach Fixation).

Artifizielle Schatten und hyperdense Regionen traten bei dem Einsatz der Phenolharzplatte bei den Untersuchungen der Schultern von 85 ♀ a und 85 ♀ b auf (Abb. 20).

Die verwendete Schnittdicke von 3 mm bei der T1- gewichteten Untersuchung (TR = 24.9, TE = 10.6, Abb. 14 a und b) brachte ähnliche Abbildungsgenauigkeit wie bei einer Schnittdicke von 4 mm bei der T2- Untersuchung (TR = 2500.0, TE 104.0, Abb. 14 c - f). Neben Störungen bei der Darstellung der Haut (Abb. 20 a, b) traten auch Spiegelungen auf, die morphologisch nicht erklärt werden konnten (Abb. 20 b, Pfeil). In der frontalen Untersuchung beobachteten wir hohes Bildrauschen, weshalb die Darstellung unscharf wurde (Abb. 20 c). Traten derartige Artefakte auf, wurde der Datensatz nicht mit DSP korreliert. Zumeist gelangen die Darstellungen in den Wichtungen T1 und T2, SE und TSE (Abb. 10,11,12,14,15 u.16).

Unter Bezug auf die Befunde von DALAGER-PEDERSEN et al. (2000) untersuchten wir den Körperspender 77 ♀ b mit Körpertemperatur. Die Abbildungsschärfe erhöhte sich dadurch (Abb. 16).

3.2.3. Die Markierung der Bezugsebenen

Die formalinfixierten Ellenbogen- und Kniegelenke sowie die Schultern und das Becken des Körperspender 64 ♂ wurden während der Untersuchung am MRT mit wasserfesten Folienschreibern markiert. Dann gelang das Auffinden der MRT- Untersuchungsebenen während des Sägens der Körperscheiben an den Ellenbogengelenken leicht, an den Knien mit Einschränkungen (einige Schnitte konnten nicht korreliert werden), an den Schultern sowie am Becken hingegen nicht. Die Markierungen lösten sich beim Umgang mit Lösungsmitteln.

Deshalb wurde bei 64 ♀ und bei allen weiteren Untersuchungen die Ebenen mit Acrylfarbe markiert am Lichtpfeil des MRT markiert und eine Vorrichtung konstruiert, mit der die Ebenen auch auf die rückseitige, vom Lichtpfeil nicht beleuchtete Seite des Präparates verlängert werden konnte, um das Schneiden der Körperscheiben zu verbessern (Abb. 21).

Mit dieser Einrichtung konnten die MRT- Untersuchungsebenen leicht am Präparat aufgefunden und korrelierende Schnitte erzeugt werden (Abb. 10, 11 und 17; 19, 23).

3.3. Einfrieren und Sägen

3.3.1. Die Einwirkung des Vorkühlens auf das Einfrieren

Wenn Gewebe langsam eingefroren wird finden sich im Präparat sogenannte „Eiskristalle“ (PIECHOCKI 1986). Bei dem alkoholfixierten Kopf von 77 ♀ a waren Eisnadeln auf der Anschnittfläche mit bloßem Auge zu sehen, so daß während des Sägens dünner Scheiben diese zerfielen. Dadurch wurde die Plastination unmöglich. Bei dem unperfundierten Kopf von 76 ♀ a war die Schnittdicke in der Frontalebene auf 3 mm begrenzt. Dieses Präparat wurde nicht vorgekühlt. Nach ersten Erfahrungen mit dem erfolgreichen Schneiden dünner Körperscheiben von 64 ♀ (1997) begannen wir im Jahre 2000 konsequent vorzukühlen (NEUMANN 1955). Wir konnten ohne besondere Vorkühlung die Hand- und Ellenbogenpräparate des Körperspenders von 91 ♀ mit DSP zu plastinieren (1999, Abb. 19), allerdings nicht die Kniee.

Im Jahre 2000 konnte mit der verbesserten Vorkühlung in hoher optischer Auflösung DSP plastiniert werden, etwa die Schädelbasis von 72 ♂ (Abb. 22) oder die Knie von 79 ♀ (Abb. 23 a, b) und von 94 ♀ a (Abb. 23 c - e), und zwar zumeist in Korrelation zu MRT (STEINKE et THOMAS 2002).

Feinste Strukturen am MRT sicher zu diagnostizieren war durch optisch hoch auflösende DSP möglich (Abb. 22, 23 e und 24 b - d). So ist in Abbildung 23 der Faseraufbau des HUMPHREYSchen Band (8) im Kniegelenkspalt des Präparates 94 ♀ a zu diagnostizieren und dessen Darstellung am MRT korrelierbar (STEINKE et THOMAS 2002).

Weitere an Abbildung 23 erkennbare korrelierbare, von Gefrierschäden freie Strukturen der Untersuchung von 79 ♀ und 94 ♀ a werden in Tabelle 10 aufgeführt:

1 – Femur	1a – Condylus lateralis	1b - Condylus medialis
2 – Patella	3 –Tibia	4 - Eminentia intercondylaris
5 – Lig. cruciatum anterius	6 - Lig. cruciatum posterius	7 - Lig. meniscofemorale
8 – vorderes meniskofemorales Band (HUMPHREY`sches Band)		9 – Lig. patellae
10 – Tendo m. quadriceps femoris	11 – hintere Gelenkkapsel	12 – Plicae alares
13 – N. tibialis	14 – N. peronaeus communis	15 – N. suralis
16 – N. saphenus	17 – A. poplitea, Vv. popliteae	18 – V. saphena magna
19 – Tractus iliotibialis, M. biceps femoris	20 – Caput laterale m. gastrocnemii, M. soleus, M. popliteus (von außen nach innen)	
21 – M. plantaris	22 – Caput mediale m. gastrocnemii	23 – M. semimembranosus
24 – M. semitendinosus	25 – M. gracilis	26 – M. sartorius

Tabelle 10: Beschriftung der Abbildung 23 (Knie horizontal 79 ♀; c - e: Knie sagittal 94 ♀ a)

Die Einfrierversuche am Unterschenkel von 64 ♀ zeigten, daß sich bei der Einfriertemperatur von -70°C die Muskelsepten nach dem Einfrieren an den Schnittflächen abzeichneten, wo sie vorher nicht zu sehen waren. Besonders trat das auf bei Entwässerung in AWL. Die Mischung Azeton/Wasser 1/1 begann bei -70°C zu gefrieren, was durch kontinuierliche Bewegung der Lösung verhindert werden konnte.

Die 1/1-Mischung hatte bei -85°C die Konsistenz von Speiseeis, AWL von Milchshake. Die Präparate wiesen nun keine makroskopisch sichtbaren Schrumpfungen mehr auf.

Bei -100°C war die 1/1- Mischung aus Azeton und Wasser zwar unter kontinuierlichem Rühren noch pastös aufzutragen, jedoch entstanden große Eissplitter. AWL wurde zähviskös. Keine sichtbaren Schrumpfungen traten auf Verformungen des Gewebes durch die mechanische Einwirkung des Gefriermediums beim Auftragen.

3.3.2. Die Wirkung des Einfrierprozesses auf das Scheibenplastinat

Das Einfrieren in Stickstoff war gänzlich ungeeignet (NEUMANN 1955). Gewebeblöcke barsten, auch wenn sie vorgekühlt waren. Mit der von RUTH (1934) entwickelten und von LUFKIN et al. (1987) verbesserten Methode des Einfrierens mit Trockeneis traten einige Gefrierbrandartefakte auf der Oberfläche der Haut auf (nach RUTH 1934). Die Einfriereschwindigkeit war gering, was sich nach Anbohren durch vorsichtiges Einführen langer Kanülen in tiefer liegende Gewebsschichten prüfen ließ. Nachdem wir acht Stunden mit Trockeneis kühlten, war der Bauchsitus von 76 ♂ noch nicht durchgefroren. Beim Zuschneiden derartig eingefrorener Blöcke zeigte sich an der Schnittfläche eine ringförmige Struktur, die Schicht für Schicht topografische nicht zusammengehörige Gebiete durchbrachen.

Beim Einfrieren von vorgekühlten Präparaten (3.3.1.) des Leichnams 64 ♀ (2.3.2.) in Gefrieremischungen aus Azeton und Wasser, die wir in verschiedenen Anteilen ausprobierten um herauszufinden, bei welcher Temperatur und bei welcher Mischung weder Eisnadeln entstehen (PIECHOKI 1986) noch das Bersten der Gewebeblöcke (NEUMANN 1955) auftreten, zeigten sich, daß bei einem Anteil von 85 T Azeton und 15 T destilliertem Wasser (AWL) bei -85°C keine nachweisbaren Gefrierartefakte auftraten, wenn die Präparate gelegentlich bewegt und nach einer Stunde dem Gefriergemisch entnommen wurden.

64 ♂ (fixiert) und 64 ♀ (unfixiert) wurden erstmalig mit dieser Methode schockgefroren (SCHMIDT et STEINKE 1996). Alle weiteren Präparate wurden nach verbesserter Vorkühlung in das Gefriergemisch gebracht. So konnte erfolgreich plastiniert werden (Abb. 9, 13 oben, 17, 19, 22, 23, 24, 25, 26, 27 a u. b, 28, 29, 30, 31 u. 32).

Obwohl wir den Einfluss des Vorkühlens und Einfrierens untersucht hatten, gelang es uns nicht, die Präparate nach dem Einfrieren ganz von Eisnadeln frei zu halten. Je größer das Präparat, desto wahrscheinlicher war, daß Eisnadeln auftraten.

Insbesondere im Knochenmark großer Präparate traten diese auf, beispielsweise in den Wirbelkörpern von 87 ♂ (Abb. 24 b) oder 91 ♀ (Abb. 25).

Wurde mit dem angegebenen Gefriergemisch AWL eingefroren, ergaben sich bei der Plastination der Kopfscheiben Brüche des Gehirnes in situ (Abb. 22, 24 d). Abbildung 29 c zeigt solche Gefrierartefakte am Hirn des Körperspender 85 ♀ a (Eisnadeln, Pfeil).

Zur Herstellung der Kopfplastinate von 77 ♀ b und 92 ♀ entfernten wir die Galea aponeurotica mit der Kalotte, wodurch beim Einfrieren das Hirn frei lag (s. Abbildung 6, Kopf- Hals- Paket von 77 ♀ b perfundiert, im Gelatineblock, vorgekühlt, schockgefroren).

Dadurch konnte der Kopf von 77 ♀ b ohne nennenswerte Gefrierbrüche plastiniert werden (Abb. 32). Gefrierartefakte traten an der Gelatine auf, welche zum Einbetten des Blockes benutzt wurde (91 ♀, Abb. 25, Pfeil). Jüngere Versuche ergaben in Anlehnung an die Ergebnisse mit 77 ♀ b befriedigende Ergebnisse, als wir auch bei der Untersuchung von 92 ♀ die das Hirn bedeckende Schichten entfernten, den Kopf mit dem offen liegenden Gehirn vorkühlten und anschließend dann den Kopf samt des Gehirnes einfroren (entsprechend Abb. 6).

Auch wenn gelegentlich Frakturen des Hirngewebes auftraten oder im Knochengewebe Eiskristalle zu beobachten waren, konnte bei der DSP die Schnittdicke unter 1 mm gehalten werden.

3.3.3. Das Sägen von Dünnschnitten

Da durch die erreichten minimalen Gewebsschrumpfungen wenig Gewebsspannungen auftraten, die den Zusammenhalt der fertigen Gefrierschnitte stören könnten, war in den meisten Fällen unter den beschriebenen Voraussetzungen wie sehr kalte Raumluft und eine umgebaute Plastinationssäge ein Sägen von Dünnschnitten leicht möglich. Die Schnitte waren nicht spröde, brachen selten aus und hatten bei der entsprechenden Temperatur des Schneidgutes einen guten Gewebezusammenhalt, so daß sie leicht in die Entwässerungscontainer eingelegt werden konnten.

Das planparallele Abschneiden entsprechend der markierten Ebenen anhand der in der Kühlzelle hängenden MRTs gestaltete sich schwierig, wenn das Präparat durch die Säge geführt wurde. Kleinste Abweichungen des Sägerisches oder des Sägeblattes von der exakten Ebene addierten sich von Schnitt zu Schnitt, so daß wir das Präparat nach jedem Abschnitt um 90° rotierten, damit sich alle nicht abwägbaren, justierbaren Abweichungen der Säge nach vier Schnitten ausgleichen mußten.

Das Entfernen des Sägemehles vom Sägeblatt mit der Druckluft bereitete Schwierigkeiten, wenn sich die Druckluft bei längerem Betrieb erwärmte. Die Düse verschmierte und das Sägemehl gelangte auf die Schnitte. Da der Kompressor regelmäßig abkühlen mußte, konnten wir Arbeitspausen einlegen. Da bei einer Raumtemperatur von unter -15°C gearbeitet werden mußte, war heißer Tee ohne Zusatz vergällten Alkohols zur Erhöhung der Körperkerntemperatur nötig.

Das Sägen unter 1 mm war bei perfundierten, unfixierten Präparaten möglich. Bei formalinfixierten, perfundierten Präparaten erreichten wir 1 - 2 mm (Knie und Ellenbogen 64 ♂, z.B. Abb.10, 11 u. 17). Bei der Herstellung der Kopf- Hals-Schnitte von 87 ♂ und 77 ♀ b fotografierten wir während des Sägens die frischen Sägeschnitte auf Vor- und Rückseite, und zwar um die 3D-Rekonstruktion zu vereinfachen (s.u., 3.7.3.). Das Fotografieren mit einer normalen Digitalkamera gestaltete sich schwierig, denn diese war für die tiefen Raumtemperaturen nicht geeignet und setzte oft aus. Die Fotografien der frischen Sägeschnitte waren von hinreichender Qualität (Abb. 26).

Die optische Auflösung entsprach den bekannten Plastinaten, etwa der 4,6 mm Körperscheiben von BEYERSDORFF et al. (2001).

Das Präparat war von 85 ♀ a nach (3.2.1. und 3.3.2.) nach dem Vorkühlen schockgefroren und nach der Plastination artefaktfrei (Abb. 1). Bei der Plastination konnte erstmalig die Schnittdicke kontinuierlich unter 1 mm gehalten werden (THOMAS und STEINKE 2002), [Online: SCHULTERPLASTINATION]. Wir konnten während des Schneidens die Scheiben in höchster Auflösung fotografierten (2 Megapixel), um die Plastinate genauer ausrichten zu können (s.u., 3.7.3.), [cd:\frost/*.jpg]. Dabei wurde deutlich, daß mit einer Digitalkamera bei einer Raumtemperatur von -15°C keine gleichbleibend guten Fotos akquiriert werden konnten. Während sich die zuletzt fotografierten kranialen Schnitte in normalen Farben abbildeten (Abb. 6b) wurden die zuerst fotografierten Abbildungen der weiter kaudal gelegenen Schnitte gelbstichig [cd:\frost/*.jpg].

3.4. Entwässerung und Färbung

Die gefrorenen Körperscheiben mußten wasserfrei sein, weil die zu Plastination eingesetzten Kunststoffe nicht wasserlöslich waren und vollständig in das Gewebe imprägniert werden sollten, um Transparenz zu erreichen (ROMANIAK 1946, VON HAGENS et KNEBEL 1978). Die Entwässerungstechnik von HUMBEL (1984) in Anwendung zur Plastination durch VON HAGENS (1985) erwies sich als ungeeignet, weil die dünnen, gefrorenen Körperscheiben im Gefrier austausch gelegentlich brachen. Das traf besonders für Hirnscheiben zu. Der Großteil der eingesetzten Farbstoffe benötigte Wasser als Vermittler, weswegen wir zur Färbung AWL einsetzten.

Wird zu schnell entwässert, treten weiße Niederschläge auf [cd:\becksagi/bs_090px.jpg], (VON HAGENS 1985).

3.4.1. Die Gewebsschrumpfung im Gefrier austausch

Es fand während des Gefrier austauschs eine schrittweise Schrumpfung S statt, die in den Tabellen (1 – 13) in Prozent [%] angegeben wird, ausgehend vom Wert, der zu Beginn der Untersuchungen (m1) gemessenen wurde (SCHWAB et VON HAGENS 1981). Die wegen ihrer besonderen Empfindlichkeit zum Versuch herangezogenen gefrorenen Hirnschnitte schrumpften während des Gefrier austausches in System A (70%Azeton, 30% A.d., Tabelle 11), System B (85%/15%, Tab. 12) und System C (100%, SCHWAB et VON HAGENS 1981, Tab. 13) von m1 auf m2, im zweiten Azeton auf m3 und m4 und nach völliger Wasserfreiheit auf m5 in folgendem Maße:

System A (70% Azeton, 30% A.d., -25°C),									
Länge x									
n	m1	m2	S	m3	S	m4	S	m5	S
β1	95,50	94,80	-0,73	93,00	-2,62	94,00	-1,57	91,00	-4,71
β5	85,00	84,50	-0,59	83,00	-2,35	84,00	-1,18	82,00	-3,53
α1	77,10	73,40	-4,80	75,50	-2,08	76,50	-0,78	74,50	-3,37
χ4	83,70	82,00	-2,03	81,50	-2,63	81,50	-2,63	80,00	-4,42
χ5	77,90	78,80	1,16	78,00	0,13	77,00	-1,16	75,50	-3,08
χ6	74,00	72,30	-2,30	72,20	-2,43	73,00	-1,35	70,00	-5,41

System A (70% Azeton, 30% A.d., -25°C),									
Länge x									
n	m1	m2	S	m3	S	m4	S	m5	S
δ_1	148,20	144,70	-2,36	144,00	-2,83	145,00	-2,16	142,00	-4,18
δ_5	148,50	149,10	0,40	148,80	0,20	148,00	-0,34	142,50	-4,04
δ_{10}	137,50	137,70	0,15	136,40	-0,80	135,00	-1,82	136,50	-0,73
δ_{12}	127,70	125,60	-1,64	125,90	-1,41	124,00	-2,90	125,00	-2,11
$\Sigma(x)$	1055,10	1042,90		103,83		1038,00		1019,00	
STABWN			1,64		1,09		0,76		1,28
S(Σx)		-1,16		-1,59		-1,62		-3,42	
System A, Breite y									
n	m1	m2	S	m3	S	m4	S	m5	S
β_1	63,50	62,60	-1,42	61,00	-3,94	61,00	-3,94	61,00	-3,94
β_5	55,20	54,00	-2,17	53,00	-3,99	52,00	-5,80	52,50	-4,89
α_1	45,00	44,70	-0,67	45,00	0,00	43,50	-3,33	43,50	-3,33
χ_4	52,90	52,90	0,00	53,50	1,13	52,00	-1,70	50,00	-5,48
χ_5	52,80	51,50	-2,46	51,00	-3,41	51,00	-3,41	51,00	-3,41
χ_6	48,10	47,70	-0,83	48,00	-0,21	47,50	-1,25	46,50	-3,33
δ_1	96,60	98,10	1,55	97,50	0,93	96,50	-0,10	95,50	-1,14
δ_5	97,20	96,50	-0,72	98,00	0,82	97,50	0,31	95,50	-1,75
δ_{10}	85,00	84,40	-0,71	83,60	-1,65	84,50	-0,59	84,50	-0,59
δ_{12}	90,00	90,00	0,00	92,90	3,22	92,40	2,67	89,00	-1,11
$\Sigma(y)$	686,30	682,40		683,50		677,90		669,00	
STABWN			1,09		2,32		2,33		1,59
S(Σy)		-0,57		-0,41		-1,22		-2,52	
S($\Sigma x + \Sigma y$)		-0,92		-1,13		-1,46		-3,07	

Tabelle 11: Schrumpfung des System A, entwässert in 75% Azeton und 25% A.d. bei -25°C

System B (85% Azeton, 15% A.d., -25°C)									
Länge x									
n	m1	m2	S	m3	S	m4	S	m5	S
β 2	84,00	84,00	0,00	83,00	-1,19	83,50	-0,60	83,0	-1,19
β 6	95,30	94,60	-0,73	94,40	-0,94	94,50	-0,84	92,0	-3,46
α2	61,40	60,60	-1,30	61,20	-0,33	60,00	-2,28	59,5	-3,09
δ3	144,50	144,00	-0,35	144,20	-0,21	142,00	-1,73	139,0	-3,81
δ6	145,00	140,00	-3,45	141,00	-2,76	142,00	-2,07	140,5	-3,10
δ9	148,20	147,30	-0,61	145,00	-2,16	143,50	-3,17	142,0	-4,18
δ13	117,80	113,70	-3,48	115,30	-2,12	112,50	-4,50	113,5	-3,65
δ14	87,30	86,90	-0,46	86,70	-0,69	83,50	-4,35	84,5	-3,21
χ1	97,80	97,50	-0,31	96,20	-1,64	95,50	-2,35	93,5	-4,40
Σ(x)	981,30	968,60		967,00		957,00		947,5	
STABWN			1,26		0,84		1,29		0,88
S(Σx)		-1,29		-1,46		-2,48		-3,44	
System B, Breite y									
n	m1	m2	S	m3	S	m4	S	m5	S
β 2	61,00	59,00	-3,28	61,70	1,15	60,00	-1,64	59,0	-3,28
β 6	58,10	58,00	-0,17	57,00	-1,89	57,50	-1,03	56,0	-3,61
α2	37,90	37,70	-0,53	37,00	-2,37	37,00	-2,37	37,0	-2,37
δ3	99,70	99,00	-0,70	98,60	-1,10	99,00	-0,70	97,0	-2,71
δ6	88,30	85,50	-3,17	86,70	-1,81	87,00	-1,47	86,3	-2,27
δ9	95,80	93,10	-2,82	92,20	-3,76	92,00	-3,97	91,0	-5,01
δ13	89,50	88,80	-0,78	87,40	-2,35	87,00	-2,79	85,5	-4,47
δ14	60,00	59,90	-0,17	58,30	-2,83	57,00	-5,00	57,5	-4,17
χ1	66,20	65,30	-1,36	65,40	-1,21	65,00	-1,81	65,0	-1,81
S(y)	656,50	646,30		644,30		641,50		634,3	
STABWN			1,22		1,29		1,33		1,03
S(Σx)		-1,55		-1,86		-2,28		-3,38	
S(Σx+Σy)		-1,40		-1,62		-2,40		-3,42	

Tabelle 12: Schrumpfung des System B, entwässert in 85% Azeton und 15% A.d. bei -25°C

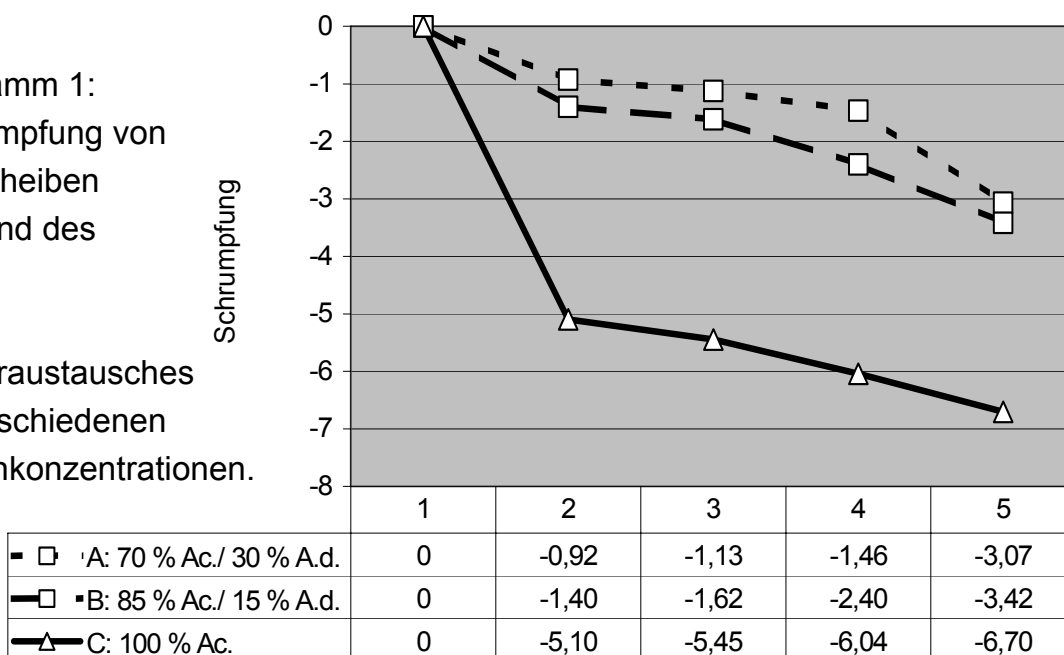
System C (100% Azeton, SCHWAB und VON HAGENS 1981), Länge x									
N	m1	m2	S	m3	S	m4	S	m5	S
β3	69,00	65,00	-5,80	64,00	-7,25	64,00	-7,25	64,5	-6,52
β 4	88,40	84,50	-4,41	82,50	-6,67	83,00	-6,11	83,5	-5,54
β 7	70,50	66,00	-6,38	67,50	-4,26	66,00	-6,38	66,0	-6,38
α3	57,40	54,00	-5,92	54,00	-5,92	53,50	-6,79	53,5	-6,79
α4	65,00	58,00	- 10,77	59,00	-9,23	60,50	-6,92	59,5	-8,46
χ2	92,00	89,00	-3,26	89,50	-2,72	88,00	-4,35	86,0	-6,52
χ3	81,60	79,50	-2,57	78,00	-4,41	78,00	-4,41	77,0	-5,64
δ4	145,00	142,50	-1,72	142,50	-1,72	138,00	-4,83	137,0	-5,52
δ7	142,70	138,00	-3,29	140,50	-1,54	135,00	-5,40	133,0	-6,80
δ8	146,30	140,00	-4,31	139,00	-4,99	138,70	-5,19	135,5	-7,38
δ11	134,60	130,00	-3,42	128,00	-4,90	128,00	-4,90	127,5	-5,27
Σ(x)	1092,50	1046,50		1044,50		1032,70		1023,0	
STABWN			2,37		2,24		1,00		0,90
S(Σx)		-4,21		-4,39		-5,47		-6,36	
System C, Breite y									
β 3	65,50	53,10	- 18,93	52,30	- 20,15	53,10	- 18,93	60,5	-7,63
β 4	59,50	57,80	-2,86	57,00	-4,20	57,80	-2,86	55,5	-6,72
β 7	60,00	57,90	-3,50	55,70	-7,17	54,00	- 10,00	55,00	-8,33
α3	33,90	30,70	-9,44	31,20	-7,96	31,20	-7,96	32,00	-5,60
α4	30,30	28,80	-4,95	31,80	4,95	29,00	-4,29	28,00	-7,59
χ2	61,60	59,20	-3,90	57,60	-6,49	57,30	-6,98	57,00	-7,47
χ3	61,90	57,70	-6,79	57,70	-6,79	57,40	-7,27	58,00	-6,30
δ4	101,70	87,40	- 14,06	92,80	-8,75	93,70	-7,87	94,00	-7,57
δ7	87,70	83,70	-4,56	80,70	-7,98	83,00	-5,36	82,00	-6,50
δ8	97,80	94,60	-3,27	92,30	-5,62	92,30	-5,62	90,50	-7,46
δ11	91,20	92,20	1,10	89,60	-1,75	90,70	-0,55	84,50	-7,35
	m1	m2	S	M3	S	m4	S	m5	S
Σ(y)	751,10	703,10		698,70		699,50		697,00	
STABWN			5,43		5,69		4,51		0,74
S(Σx)		-6,39		-6,98		-6,87		-7,20	
S(Σx+Σy)		-5,10		-5,45		-6,04		-6,70	

Tabelle 13: Schrumpfung des System C, entwässert in reinem Azeton (VON HAGENS 1985)

Die Hirnscheiben schrumpften bei einer Temperatur von -25°C im Mittelwert bei 70%igem Azeton- Wasser- Gemisch um 3,07%, bei 85%igem um 3,42% und in reinem Azeton um 6,7% (SCHMIDT et STEINKE 1996). Die Schrumpfungen traten bei (A) und (B) etwa linear auf. In reinem Azeton (C) schrumpften die Hirnscheiben zu Beginn des Gefrier austausches relativ stark , gegen Ende tritt lineare Schrumpfung ein (Diagramm 1).

Diagramm 1:
Schrumpfung von
Hirnscheiben
während des
Gefrier austausches
in verschiedenen
Azetonkonzentrationen.

1-5:



Messwerte S [%], (Tabelle 5).

Wegen der Verdunstung konnte während des Gefrier austausches mit dem Messschieber nur auf $\frac{1}{2}$ mm genau gemessen werden. Wurde das 70%ige Gefrier gemisch bei -25°C nicht ständig bewegt, bildeten sich von der Oberfläche beginnend schnell kristalline Ausfällungen. Beim System B trat das weniger auf und nicht beim System C (SCHWAB et VON HAGENS 1981). Beim Einlegen der Präparate in (A) entstand auf deren Oberfläche eine Kruste aus solchen Ausfällungen. Im Gegensatz zu (B) und (C) war nach Ende der Entwässerung die Präparate (A) gewellt und uneben. Versuche, in (A) zu entwässern, schlugen fehl, weil einige dünne Körperscheiben durch die Eiskristalle zerbrachen. Das trat in System B (85% Ac./15% A.d.) nicht auf.

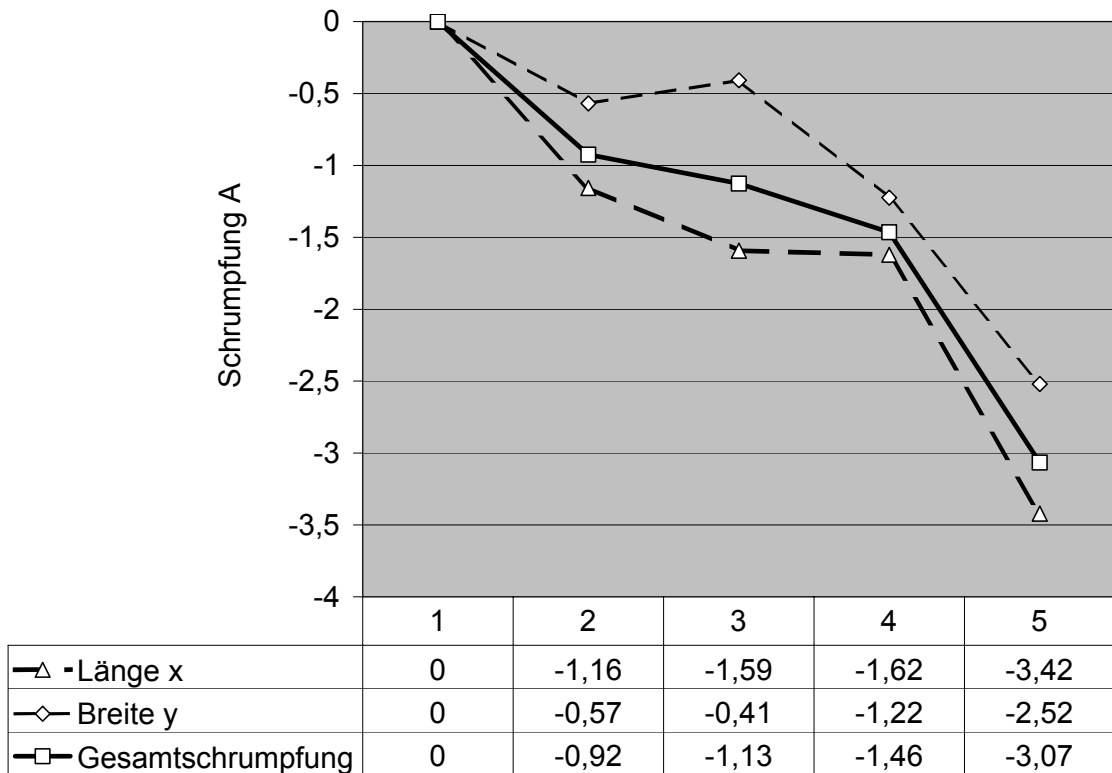


Diagramm 2: Schrumpfung in 70%igem Azeton (System A, s. Tabelle 5).

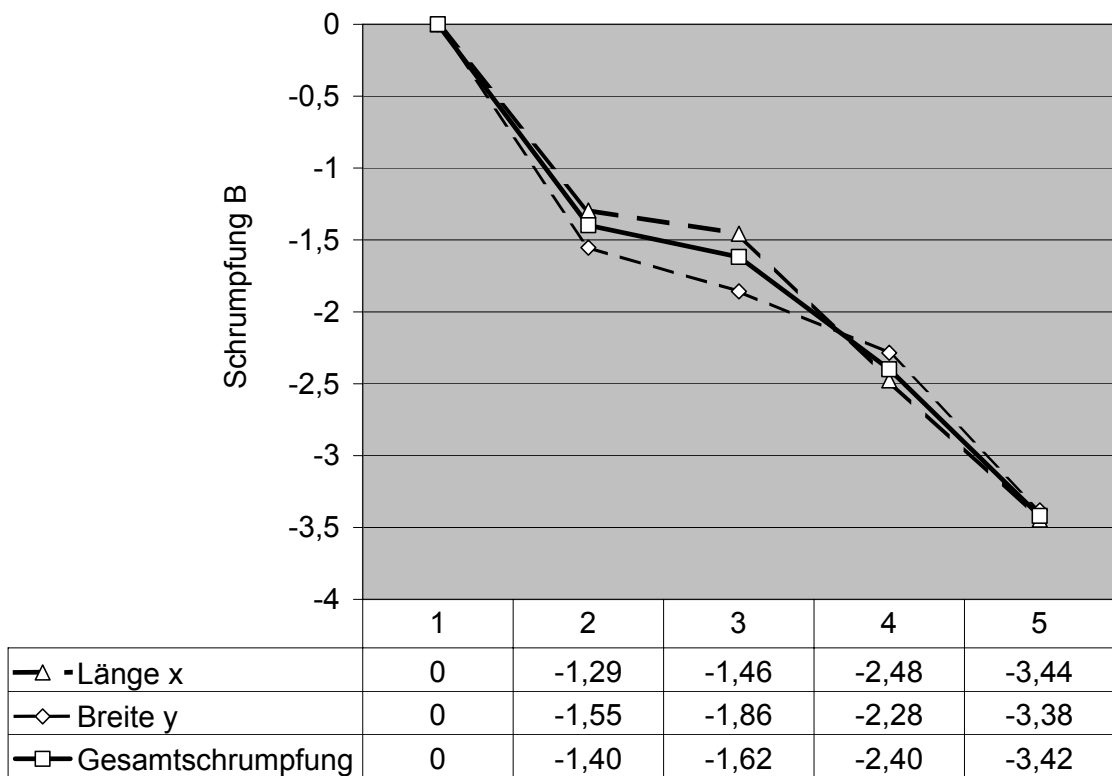
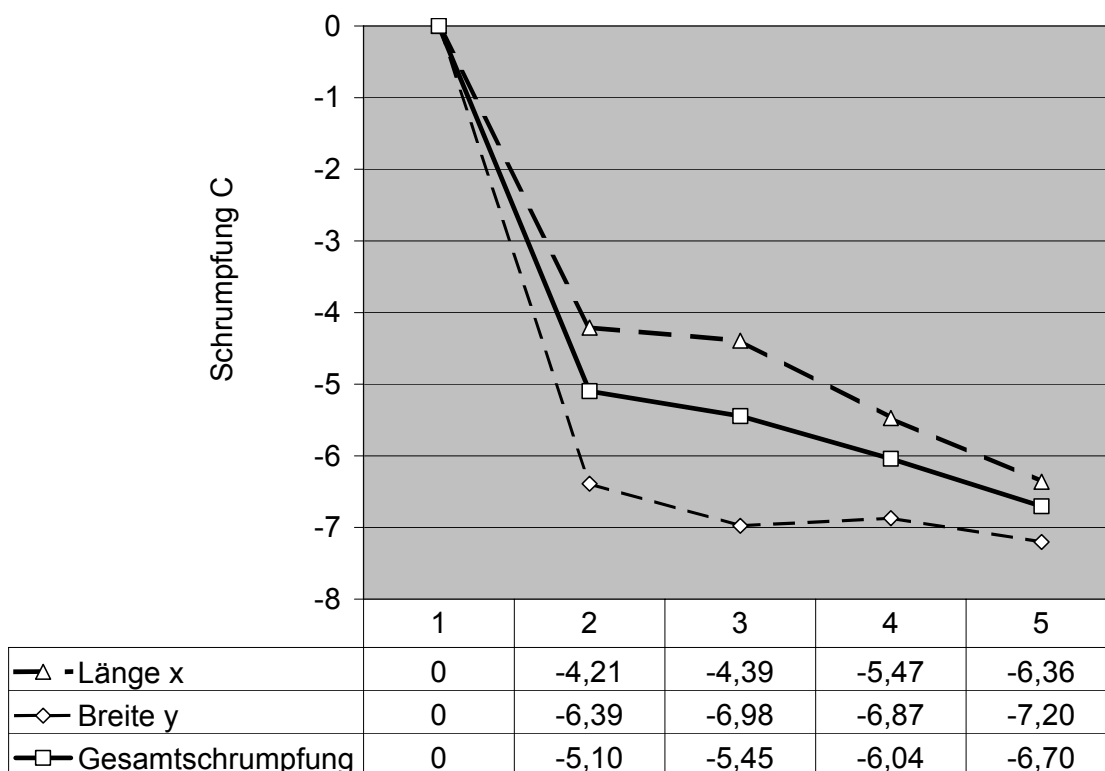


Diagramm 3: Schrumpfung in 85%igem Azeton (System B, s. Tab. 5).

Die Schrumpfungen des Hirngewebes in Länge und Breite waren unterschiedlich bei System A (Diagramm 2) und C (Diagramm 4), relativ proportional bei System B (Diagramm 3).

Diagramm 4: Schrumpfung in reinem Azeton (System C, s. Tabelle 5)

Die schnelle Schrumpfung der Hirnscheiben in reinem Azeton (System C) an den ersten sechs Tage (Diagramm 1) treten zuerst in der Breite (y), dann in der Länge (x) auf (Diagramm 4). Bei Wasserfreiheit haben sich beide Schrumpfungen angenähert (Diagramm 4, Messung 5).



3.4.2. Der gestaffelte Gefrier austausch

Die Schnitte zur DSP hatten einen maximalen Restwassergehalt von 2,5%, gemessen im letzten Azetonbad. Je höher der Restwassergehalt, desto größer waren die späteren Verwerfungen des DSP. So konnte in den späteren Serien der Restwassergehalt auf 1% abgesenkt werden. Dazu wurden die Schnitte bei -85° in AWL unter ständiger Bewegung eingefroren (s.o., 2.3.2.). Anschließend wurde die Kühltruhe auf -25°C eingestellt. Bei dieser Temperatur begann das Wasser der Schnitte zu sublimieren, wodurch sich ein Gleichgewicht zu der AWL einstellt. Wurde dieses festgestellt, was bei dünnen Scheiben nach zwei, bei dickeren nach drei Wochen eintrat, konnte die AWL gegen reines Azeton ausgetauscht werden (SCHWAB et VON HAGENS 1981).

Tritt das Gleichgewicht ein (3-5% Restwasser), wurde das Azeton erneut gewechselt. Nachdem wir die Entwässerungscontainer der Tiefkühltruhe entnahmen, glich sich die Temperatur der Schnitte der Raumtemperatur an, worauf anschließend das Azeton bei Raumtemperatur gewechselt werden konnte, wodurch die Entfettung der Schnitte begann (s.u., 3.4.3.). Dieser gestaffelte Gefrier austausch wurde erfolgreich an allen DSP angewendet.

Bei -25°C bleichte Peroxyessigsäure 8‰ die Körperscheiben.

H_2O_2 konnte bei Raumtemperatur nur in (A) und (B) erfolgreich 3%ig eingesetzt werden (MAGIROS et al. 1997), Peroxyessigsäure in allen drei Gemischen.

In reinem Azeton (C) trat mit H_2O_2 keine Bleichung auf.

3.4.3. Das Entfetten der Körperscheiben

Es waren keine Unterschiede bei der Verwendung von Methylenchlorid oder Azeton bei der Entfettung bei -25°C festzustellen. An den fertigen Plastinaten war optisch kein Unterschied trotz verschiedener Entfettungsmittel festzustellen (MINKWITZ 1991). Abbildung 7 zeigt Körperscheiben von 79 ♀ in „*wire frame chests*“ in entwässertem Zustand. Die Methylenchloridlösung blieb klar (LUTTER 1990). Erst unter Raumtemperatur setzte die Entfettung ein: bei Methylenchlorid sehr schnell (bräunliche Verfärbung), bei Azeton langsamer.

Wurde bei Raumtemperatur entfettet, wie etwa die Körperscheiben vom 85 ♀ a und vom 85 ♀ b, von denen wir einige Schnitte für längere Zeit in reinem, technischen und raumwarmen Azeton beließen, und anderer Schnitte, die wir neben Azeton und dem Ersatzstoff Methylenchlorid (VON HAGENS 1984) auch mit Benzin und Methanol entfetteten (MINKWITZ 1991), trat schnell eine Braunfärbung des Entfettungsmedium ein: zuerst beim Entfetten in Benzin, darauf in Methanol, anschließend in Methylenchlorid und schließlich war auch Azeton gelblich- braun. Nach dem Abschluss der Entfettung war kein Farbunterschied des Entfettungsmediums mehr zu sehen. Entfettete Scheiben nahmen sehr gut die Farbstoffe an (s.u., 3.4.4.). Auch bei dreimonatigem Belassen der Schnitte in raumtemperiertem Azeton (Knie- und Ellenbogenschnitte von 79 ♀, Abb. 23 b) traten keine Verwerfungen auf. Die Schnitte blieben lange Zeit hell und vergilbten nicht. Wenn Hirngewebe im Präparat vorhanden war, zerbrach dieses oft beim Entnehmen aus der Entfettung, und zwar unabhängig davon, ob wir mit Methylenchlorid (72 ♂, Abb. 22) oder mit Azeton entfetteten, auch bei der Verkürzung der Entfettungszeit bis auf zwei Wochen (87 ♂, Abb. 24). Ether entfettete die Schulterpräparate von 75 ♀ b sehr schnell. Dabei brachen im Humerus Teile des Knochenmark aus (THOMAS et al. 2004), [online: SCHULTERPLASTINATION].

3.4.4. Die Einführung histologischer Färbemethoden während des Gefrier austausches

Vorversuche

Mit Lichtgrün zu färben war weder in Aceton noch in AWL unmöglich. Die Schnitte verblichen während der Entwässerung im Azeton. Pikrinsäurehaltige Farbstoffe (van Gieson) blieben zwar ebenfalls aus dem gefärbten Gewebe im Azeton aus, jedoch verblieb genügend Restfarbe, die aber dann in die Kunststoffe übertrat (Abb. 27 a). Die erwartete Differenzierung von Bindegewebe (rot) und Muskulatur (gelb) beobachteten wir nicht. Statt dessen trat gelber Farbstoff aus dem Präparat in den Kunststoff (Abb. 27 a links unten), was bei der Färbung mit der (pikrinsäurefreien) Crossmonfärbung nicht auftrat (Abb. 27 b). Hier war die Muskulatur gefärbt und von dem ungefärbten Bindegewebe gut zu differenzieren, aber eigenartigerweise nicht in der Nähe von Muskeln (Abb. 27 b, links oben), weil Bindegewebe dort mitgefärbt wurde. Es erschien sinnvoll, im nächsten Schritt nur mit dem sauren Säurefuchsin zu färben, was aber neben der Muskulatur auch das Bindegewebe mitfärbte (Abb. 27 c). Das Eisenhämatoxilin des van Gieson- Gemisches verwendeten wir bei der Masson-Goldner- Färbung.

Es trat keine bessere Differenzierung auf, auch nicht bei Molybdänhämatoxilin färbung (beides o. Abb.).

DSP- Färbungen

Nachdem in den Vorversuchen die modifizierten Färbungen nach FRITSCH (1989) erfolgversprechend verliefen, konnten in den verdünnten AWL- Lösungen Großschnitte gefärbt werden. Die stark verdünnten Lösungen verloren ihre Farbe (Abb. 27 d). Nach einem Tag war keine Entfärbung der Färbeflotten zu beobachten (Abb. 27 d unten, hier basisches Fuchsin). Nach einer Woche waren die Lösungen wasserklar (Abb. 27 d oben, entfärbte Methylenblaulösung).

Hatten die DSP nach 1 – 3 Wochen genügend Farbe angenommen, entfärbte sich die Lösung nicht mehr oder blieb klar, überführten wir die Schnitte in reines Azeton.

Besonders an Azur A- Schnitten trat dann Metachromasie als grünliche Verfärbung der Muskeln auf (ADAM et CZIHAK 1964, BURCK 1982, Abb. 27 links oben). Bei Methylenblau färbte sich eigenartigerweise Kleinhirn blau und Großhirn grün (Abb. 27 e rechts unten). Keine Metachromasie trat sowohl bei basischem Fuchsin (Abb. 27 rechts oben) als auch bei auf Toluidin auf (Abb. 27 e links unten). Die Differenzierung zwischen Muskulatur und Bindegewebe war dadurch nur quantitativ feststellbar. Luxol fast blue MBSN färbte metachromatisch, war in Epoxidharz nicht stabil (o. Abb.).

3.5. Imprägnation

Zur Durchtränkung der entwässerten und entfetteten Körperscheiben mit Kunststoff imprägnierten wir erfolgreich die Kunststoffe E12 (VON HAGENS 1984) in Modifikation (STEINKE 2001) und FO 127 (STEINKE et al. 2002; Abb. 8). Wir imprägnierten im Gegensatz zu VON HAGENS (1985) statt bei -25°C bei $+10^{\circ}\text{C}$. Dem Ansatz wurde durch das verdampfende Azeton soviel Wärme entzogen, daß das polymerisierende Gemisch abkühlte. Während des Imprägnierens dunkelten die Scheiben nach. Das war mehr bei unperfundierten Präparaten der Fall als bei perfundierten (s.o., 3.1.1.). Auch die Färbungen schienen erst bei der Imprägnation an Intensität zu gewinnen.

3.5.1 Das Polymerisationsverhalten von Kunststoffloten

Die Polymerisation des Kunststoffs begann mit dem Mischen der Komponenten, erkennbar an zunehmender Viskosität (BRADY 1992). Die zum Imprägnieren benutzten Chargen waren von honigvisköser Konsistenz, wenn die Polymerisation bei 5°C nach dem Mischen der Komponenten begonnen hatte und wir die Scheiben in die honigvisköse Flotte brachten. Die Temperatur stieg beim Polymerisieren leicht an. Ohne wesentliche Polymerisation läßt sich die Flotte mit den Präparaten bei 5°C für drei Tage aufbewahren.

Nachdem wir anfänglich nach der Imprägnation die gebrauchten Chargen einfroren und durch Zugabe zu neuen Mischungen wieder verwandten, beschleunigte sich das Polymerisationsverhalten der neuen Flotte, weswegen wir die eingefrorenen Reste nur noch zum Einbetten verwendeten (s.u., 3.5.4.). Geringere Härterzugabe hatte keine erkennbare Verringerung der Schrumpfung zur Folge (BRADY 1992).

Nach diesen Vorbereitungen der Kunststoffflotte E 12 nahmen die anfänglich beobachteten Verwerfungen der Plastinate ab. Diese ließen sich ganz vermeiden, wenn die Scheiben eine längere Zeit im „Sandwich“ verblieben. Auch die Lagerung der DSP zwischen Glasplatten verhindert deren Verwerfen. Mit bloßem Auge sichtbare Schrumpfungen durch die Kunststoffpolymerisation traten nun nicht mehr auf.

3.5.2 Die Gewebsschrumpfung während der Kunststoffimprägnation

Während des langsamen Aufbaus des Vakuums traten keine sichtbaren Veränderungen an den DSP ein (Abb. 8). Wurde das Vakuum zu plötzlich aufgebaut, zerbrachen die dünnen Körperscheiben, sie „zerkochten“. Das traf besonders auf Hirn zu. Durch die Exsikkatorglasscheibe war dieser Vorgang zu beobachten.

Bei plötzlichem Aufbau des Luftdrucks aus dem Maximalvakuum (10^{-3} Torr) gewannen wir den Eindruck, dadurch ebenfalls Scheiben zu zerstören. Da das im Vakuum nicht nachprüfbar war und die vermutete mechanische Zerstörung auf eine erhöhte Schrumpfung der Scheiben zurückführen, maßen wir die Schrumpfungen der Präparate (Tabelle 4 und 6) bei normalem, plötzlichem Druckaufbau (VON HAGENS 1985) und nach verzögerter, „adaptierter“ Imprägnation (Tabelle 14:). Wie aus Tabelle 14: ersichtlich ist, schrumpften die Scheiben etwa um 2,5 %, als der Vakuumexsikkator sofort nach Beendigung des Evakuierens geöffnet wurde. Eine Hirnscheibe zerbrach dabei.

Bei langsamer Anpassung der Scheiben an den Luftdruck durch Öffnen eines Bypassventils, durch das der Exsikkator wieder belüftet wurde, trat eine Schrumpfung um etwa 1,5 % auf. Kein Schnitt zerbrach (Tabelle 14:).

Länge und Breite vor (x, y) sowie nach Entwässerung zu Versuchsbeginn (xm5, ym5)				
Nr.	x [mm]	xm5[mm]	y [mm]	ym5 [mm]
$\beta 2$	84,00	83,00	61,0	59,00
$\beta 6$	95,30	92,00	58,1	56,00
$\alpha 2$	61,40	59,40	37,9	37,00
$\delta 3$	144,50	139,00	99,7	97,00
$\delta 6$	145,00	140,50	88,3	86,30
$\delta 9$	148,20	142,0	95,8	91,00
$\delta 13$	117,80	113,5	89,5	85,50
$\delta 14$	87,30	84,50	60,0	57,50
$\gamma 1$	97,80	94,50	66,2	65,00

Messung m6 nach nicht adaptierter Imprägnation			
Nr.	xm5[mm]	xm6[mm]	S [%]
$\beta 2$	83,0	82,0	-1,20
$\beta 6$	92,0	90,0	-2,17
$\alpha 2$	59,5	57,0	-4,20
$\delta 3$	139,0	134,0	-3,60
Nr.	ym5[mm]	ym6[mm]	
$\beta 2$	59,0	58,0	-1,69
$\beta 6$	56,0	55,0	-1,79
$\alpha 2$	37,0	36,0	-2,70
$\delta 3$	97,0	96,0	-1,03
Σ	622,5	608,00	
		S	-2,33

Messung m6 nach adaptierter Imprägnation			
Nr.	xm5[mm]	xm6[mm]	S [%]
$\delta 6$	139,0	137,0	-1,44
$\delta 9$	142,0	140,0	-1,41
$\delta 13$	113,5	112,0	-1,32
$\delta 14$	84,5	83,0	-1,78
$\gamma 1$	93,5	92,5	-1,07
Nr.	ym5[mm]	ym6[mm]	
$\delta 6$	86,3	85,0	-1,51
$\delta 9$	91,0	90,0	-1,10
$\delta 13$	85,5	84,0	-1,75
$\delta 14$	57,5	56,0	-2,61
$\gamma 1$	65,0	63,0	-3,08
Σ	957,8	942,5	
		S	-1,60

Tabelle 14:
Schrumpfung S [%] der
entwässerten Proben während
adaptierter und nicht adaptierter
Imprägnation

3.5.3 Das adaptierte Imprägnieren von Körperscheiben mit E12 und FO 127

Nachdem nicht auszuschließen war, daß adaptierte Imprägnation die Schrumpfung der Präparate vermindert, wurden DSP ab 1997 adaptiert imprägniert und dadurch die Ausschussquote wesentlich verringert.

Zuerst wurden die Scheiben für 6 Stunden in die Kunststoffmischung eingelegt, wie das SPANNER (1926) und BENNET (1940) für Nitrozellulose vorschlugen oder BRITISH PLASTICS (1950) für Acrylate und Epoxide. Wir verminderten den Druck langsam und so konnte das Intermedium langsam extrahiert werden (ROMANIAK 1946). Wenn beim Maximalvakuum keine feinen Gasblasen mehr auftraten (= Extraktion des Intermedium) sondern große (= Kunststoff, VON HAGENS 1985), öffneten wir nach dem Ausschalten der Vakuumpumpen ein kleines Bypassventil, wodurch sich in einem Zeitraum von bis zu einer Stunde der Normdruck im Exsikkator langsam aufbaute. Abbildung 8 zeigt den Zustand der Kunststoffflotte unter Maximalvakuum. Es traten kleine, aber auch schon große Gasblasen auf. Mit dem adaptierten Imprägnieren erreichten wir ab 2000 konstante, gute Ergebnisse (Körperspender 79 ♀, Abb. 23). Es traten kaum noch Brüche von Präparaten auf.

Der Kunststoffansatz wurde während des Evakuierens erst viskös und nach dem Evakuieren wieder dünnflüssiger. Wir konnten ihn nach Einfrieren bei -25°C zum Einbetten wiederverwenden.

3.5.4. Das Einbetten der imprägnierten Körperscheiben

Wir wandten die durch VON HAGENS (1985) beschriebene „sandwich“- Technik unverändert und erfolgreich an. Die beim Einbetten gelegentlich entstehenden Blasen konnten großteils mit vaporisiertem Methanol entfernt werden (Abb. 9 rechts im Bild: Methanolsprüher). Mit der Flachkammertechnik erzielten wir zwar dicke und dadurch robuste Plastinate, jedoch erschwerte die Dicke der Scheibe das Scannen der DSP (s.u., 3.7.1.). Abbildung 9 zeigt den Vorgang des Einbettens mit der „Sandwich“- Technik. Der überflüssige Kunststoff quoll zwischen Folien und Glasplatte hervor. Je weniger wir Kunststoff auf die DSP auftrugen, desto sparsamer konnte eingebettet werden.

3.6. Polymerisation

Die Plastinate härteten als „sandwiches“ in einem kühlen Raum über drei Tage. Die Schrumpfung der Kunststoffe während der Polymerisation wurde durch das Platinat verringert. Der Versuch, die Schrumpfung genauer zu quantifizieren, wenn ein Platinat im Kunststoff enthalten war oder im Unterschied dazu Kunststoff ohne ein Platinat, scheiterte. Der Unterschied war an den aufgetragenen Folien zu erkennen.

Wenn Kunststoff, welcher kein Präparat enthielt, polymerisierte, faltete sich die aufgelegte Folie mehr als auf Kunststoff mit DSP. Eine sichtbare Verringerung der Schrumpfung durch die Verwendung der Flachkammern trat nicht auf. Eine deutliche Erwärmung war feststellbar, was MONTSERRAT et al. (1995) auf die exotherme Reaktion zurückführt

Bei einem Restwassergehalt über 1,5% traten an den DSP Verwerfungen, bei über 4 % weiße Niederschläge auf [cd:\becksagi/bs_090px.jpg].

3.6.1 Härte, Flexibilität und Transparenz von Dünnschnittplastinaten

Der erhöhte Härteranteil des Kunststoffes brachte keine Veränderung des Brechungsindex und somit keine Verbesserung der Transparenz.

Die Einführung des Kunststoffes FO 127 zur Plastination verringerte die Schrumpfung nicht. Weil dieser Kunststoff einen höheren Brechungsindex von 1,56 hat (eigene Messung), wurden die Hirnbestandteile wie auch die hirnfreien Areale gleichmäßig transparent, was diese Technik für die DSP von Kopfscheiben empfahl (STEINKE et al. 2002). Mit FO 127 plastinierte DSP waren hinreichend bruchfest.

Die Erhöhung des Weichmacheranteils verbesserte die Flexibilität der Scheiben deutlich und verhinderte die anfänglich beobachtete Fragilität der Scheiben, welche bei der Demonstration oft zum Bruch derselben führte. Die Erhöhung des Härteranteils hatte zur Folge, daß die Schnitte etwas mehr bräunten. Das störte nicht weiter, war anfänglich sogar erwünscht, damit die Strukturen des DSP kontrastreicher zur Geltung kämen.

Jene Scheiben, die wir nach der VON HAGENSschen Mischung plastinierten, waren spröde (VON HAGENS 1985, 1999).

3.6.2. Das Tempern

Durch das Tempern erhöhte sich neben der Kratzfestigkeit (VON HAGENS 1985) auch der Kontrast der DSP. Bindegewebe und besonders Sehnen traten klarer hervor (Abb. 23b). Die Plastinatefärbungen verblassten dabei etwas. Die vor Beginn des Temperns Weiche, plastisch- flexible DSP wurden durch diesen Vorgang elastisch- flexibel. Die Kratzfestigkeit der Plastinate war erhöht, was sich bei längerem Gebrauch derselben leicht zeigte: Die getemperten und nachgedunkelten Plastinate wiesen nach jahrelangem Gebrauch weniger tiefe Kratzer auf als die ungetemperten (o. Abb.).

3.6.3. Die Farberhaltung gefärbter Dünnschnittplastinaten

Mit Crossmon und van Gieson gefärbte DSP zeigten nach UV- Bestrahlung und zwei Jahren Lagerung keine Ausbleichung der Farbe (Abb. 27 a und b). Säurefuchsin bleichte aus (Abb. 27 c).

Licht schien den farbigen DSP nicht zu schaden. Wir schützen die DSP vor direkter Sonneneinstrahlung, so daß zu deren Einfluss nichts gesagt werden kann. Bei normaler Lagerung und Ausstellung sind die Färbungen seit zwei Jahren hinreichend stabil.

Azur A (und auch Azur II, s.o., 2.4.4.) zeigte sich als stabilste Färbung, obwohl die anfänglich beobachtete Metachromasie nachließ (Abb. 27).

3.7. Digitalisierung/Korrelation

Zu Beginn unserer Untersuchungen scannten wir die Schnitte als Plastinat ein. Es eignete sich zwar jeder Flachbettscanner mit einer Auflösung von 1200 dpi. Bei dieser Auflösung begannen die Strukturen des DSPs zu verschwimmen. Gescannt in einer Auflösung von 600 dpi bei 16 Bit Farbtiefe betrug die Dateigröße eines 12 x 20 cm großen DSP 153 MB. Bei der Kompression mit JPEG ließ sich zwar die Datenmenge auf etwa 50 MB reduzieren, jedoch auf Kosten der Qualität. Die anfallende Datenmenge des gleichen Plastinat war bei 600 dpi = 38 MB groß.

Wir stellten fest, daß verschiedene Typen von Scannern ein und das selbe DSP farblich verschieden wiedergibt und scannten nur noch mit einem Typ eines 1200 dpi- Scanners (EPSON). Auf Grund der Datenmenge wurde schließlich nur noch mit 500 dpi gescannt, baseline- optimierte JPEG- Dateien erzeugt, so daß beispielsweise Serien des männlichen Beckens an Rechnern mittlerer Qualität in angemessener Geschwindigkeit aufrufbar waren (Abb. 30), [cd:\becksagi/*. *], [Online: PLAST]. Mit höherer Auflösung scannten wir Vergrößerungen von DSP ein [Online: PLAST], beispielsweise mit 1200 dpi zur canthomeatalen Untersuchung der Gl. parotis (77 ♀ b) [cd:\parotis1200.tif] oder mit 800 dpi zur horizontalen Untersuchung des Larynx auf Höhe der Cartilago cricoidea (87 ♂) [cd:\laryphary800.tif]. Die dabei entstehenden Datenmengen vergrößerten sich bei höherer Auflösung und größere Präparate.

Die Balance zwischen erträglicher Bearbeitungsgeschwindigkeit und Qualität lag etwa bei 500dpi [cd:\becksagi/bs-055p.jpg]. Mit 1200 dpi zu digitalisieren war rechentechnisch unmöglich, gute Qualität liefern auch 600 dpi [cd:\becksagi/bs-055pa.jpg] und 400 dpi [cd:\becksagi/bs-055pb.jpg] oder auch 800 dpi (Schnittdicke 1,2 mm, Abb. 17).

3.7.1 Fotografie und Scann

Die wählbare Auflösung des Scanners hing von der Dicke des Plastinats ab: bei einer Dicke von 800µm waren 1200 dpi nötig, um alle Strukturen, die das Präparat auf Grund seiner Schärfe zeigen konnte, im digitalen Bild präsentiert werden konnte. Dabei wurden die Dateien recht groß (~8 MB als JPEG, ~150 MB als TIF), weswegen wir die Serien zumeist mit 300 dpi einscannen, um zum beispielsweise bei den Daten des Kopf- Hals- Paketes von 75 ♀ b, was die Größe einer solchen Datei auf ca. 10 MB zu verringerte.

Bei der Verwendung unterschiedlicher Scanner entstanden von einem Platinat zwei farblich verschiedene Bilder. Die Bilder in Serien von JPG oder JPEG-Dateien hatten durch das Kompressionsverfahren sehr unterschiedliche Größen und die von TIF ähnliche Größe. Die Dateigröße blieb dabei in einer Serie gleich, was die Weiterverarbeitung auf den Workstations erleichterte, weswegen die Bilder der Datensätze ab 2000 in PNG akquiriert wurden. Für Übersichtsaufnahmen genügte die optische Auflösung einer Digitalkamera (Abb. 13). Auf Grund der quadratischen Zunahme der Datenmenge bei Verdopplung der Genauigkeit des *scans* digitalisierten wir DSP zur Rekonstruktion mit 100 dpi (Abb. 31 und 32).

Für die Darstellung feiner Strukturen waren *scans* mit bis zu 1200 dpi möglich [Online: PLAST], [cd:\parotis1200.tif].

3.7.2. Das Korrelieren von MRT und Platinat

Zu 2D-MRTs wurden folgende Platinat erfolgreich korreliert:

64 ♂ Ellenbogen und Knie; 64 ♀ Knie; 77 ♀ a Kopf; 84 ♂ Kopf; 85 ♀ a Schultern; 75 ♀ b Kopf-Hals; 87 ♂ Hals;

Zu 3D MRTs konnten folgende Platinat erfolgreich korreliert werden:

87 ♂ und 77 ♀ b Kopf-Hals

Nicht korrelierbar waren:

64 ♂ Becken und Schultern; 64 ♀ Becken, Kopf, Ellenbogen, 91 ♀ Hand; 75 ♀ a Kopf;

Die Nomenklatur der Scheiben erwies sich bei der Verarbeitung als geeignet. Doppelte Dateinamen traten nicht auf. An allen Betriebssystemen konnte gearbeitet werden (Windows®, UNIX und IRIX). Durch die Reduzierung auf 7 Stellen konnte eine Stelle als „*spacer*“ eingesetzt werden um z.B. um mit „...x“ minderwertig platinatierte Präparate zu kennzeichnen

[z.B. „cd:\becksagi/bs_085px.jpg“ = „Becken sagittal +85 mm von Null, Platinat, ‚x‘ für Bruch der Feinstruktur“ (s.o.: 3.5.2.), oder „cd:\becksagi/bs_090px.jpg“ = „+90 mm vor Null, Platinat, ‚x‘ für weiße Niederschläge für unzureichenden Gefrier austausch“ (s.o., 3.4.).

3.7.3 Das Alignment und die dreidimensionale Visualisierung

Alle Projekte außer 87 ♂ und 77 ♀ b

Die Plastinate waren mit einer sehr hohen optischen Auflösung eingescannt worden (bis zu 1200 dpi). Um einen 3D- Raum zu erzeugen, mußten die Stapel der digitalen Bilder passend übereinander gelegt werden. Mit der Methode „von Hand“, bei der wir in „Adobe® Photoshop® die Präparate übereinander legten, gelang das beispielsweise bei 64 ♂ (Abb. 10, 11, 12, 17).

Wegen unzureichender Rechenleistung mußte die Auflösung der Bilder heruntergerechnet werden (außer bei IRIX/ SGI). Bei der Untersuchung von 91 ♀ erreichten wir hinreichend ein Ausrichten der Schnitte unter Zuhilfenahme von MRT- Bildern, die dazu ausgedruckt wurden (Abb. 19), desgleichen bei den Daten der Untersuchung von 94 ♀ a (Knie), welche wir von Hand erfolgreich korrelierten (Abb. 23). Mit der Methode, Plastinate mit 2D- MRTs zu korrelieren, konnte bei der Untersuchung des Kopfes von 72 ♂ keine Korrelation erreicht werden. Vom Innenohr lagen hier nur die Plastinate vor (Abb. 22).

87 ♂ und 77 ♀ b

Beide Präparate wurden zur Erzeugung von 3D- Volumendatensätzen des Halses und des Kopfes bis zur Schädelbasis mit DSP und MRT untersucht. Das Präparat 87 ♂ wurde einerseits von Hand (manuelle Segmentation, SEERAM 1997), andererseits digital mit VOXIM ® der Fa. IVS ausgerichtet (Abb. 31). Der Durch den Einsatz des VOXIM ®- Programms der Fa. IVS war es sehr erfolgreich und einfach möglich, die Plastinate zu alignieren. An den Plastinaten der Serie 77 ♀ b erfolgte die Ausrichtung der Präparate von Ebene zu Ebene anhand der mit dem Präparat plastinierten Gelatine (Orientierung an Wirbelkörpern und A. vertebralis) unter Benutzung der Auflichtfotografien der gefrorenen Scheiben, die während des Sägens gewonnen wurden (Abb. 6 b) [Online: PLAST], [cd:\gefroren.avi]. Nach dem Berechnen des 3D- Volumens konnte hier die Form des Originalpräparates dreidimensional rekonstruiert werden (Abb. 32). Dazu wurde semiautomatisch segmentiert (ASHTON et al. 2003), was heißt, dass erst mit dem manuellen Markieren relevanter Strukturen die automatische Segmentation beginnen kann.

Gemeinsam mit der Fa. IVS-Solutions konnten aus diesen Daten Sequenzen durch die 3D- Räume von Kopf- Hals- DSP erstellt werden. Aus den Körperscheiben in gefrorenem und im plastinierten Zustand wurden „*image fusion*“- Datensätze erzeugt und daraus Animationen vom Schneiden des 3D- Datensatzes mit einzelner Visualisierung anatomischer Strukturen in Sequenzen von Plastinat und MRT [cd:\plastimr.avi], [Online: PLAST].

Dazu wurde über die Registrierung und Koregistrierung der BV- und DSP- Schritte (VIERGEVER et al. 2001) das 3D- Volumen gebildet [cd:\voxel.avi]. Die Segmentierung erfolgte aus rechentechnischen Gründen mit einer Auflösung von 72 dpi. Die Schichten waren als „Treppen“ an den Plastinatevolumen zu sehen (Abb. 32), [cd:\segm1.avi, \segm2.avi, \voxel.avi].

4. Diskussion

Mit der DSP ist es möglich, unter 1 mm dünne Körperscheiben zu erzeugen. Die DSP ist eine Scheibenplastinationstechnik, im Gegensatz zu der Blockplastinationstechnik (FRITSCH 1988). Beide Techniken, die Scheiben- und die Blockplastination, sind durch VON HAGENS (1985) entwickelt worden. Die Blockplastination wird u.a. von FRITSCH et HÖTZINGER (1993) und mit anderen Autoren stetig verbessert und so drei mal so dünne Körperscheiben herstellt, als das mit der hier vorgestellten DSP möglich ist, auch wenn es die DSP ermöglicht, wesentlich dünner zu plastinieren als bisher (0,8 mm).

Bei der Blockplastination gelingt das, indem von Blöcken mit Epoxidharz plastinierter Präparate mittels einer Diamantsäge Scheiben abgeschnitten werden, womit durch die Feinheit des Schnittes der Scheibenplastination überlegen ist. FRITSCH und andere Autoren (1988, 1989, 1993, 1994, FRITSCH et HÖTZINGER 1993, die gleiche Autorin u.a. mit EGGERS 1999, mit GARDETTO et al. 2003, mit BRENNER et al., 2002 oder mit FRÖHLICH et al. 1997; FRITSCH et al. 2004 usw.) beschreiben auch Anwendungen der Blockplastination. Die Scheiben der Blockplastinationstechnik sind nach dem Sägen oder Schleifen sehr leicht färbbar, indem die Scheiben in konzentrierte, wässrige oder alkoholische Farblösungen gebracht werden können. Das vereinfacht die Technik und es werden viele Farbstoffe anwendbar, weil diese von der Oberfläche her das Präparat durch den Kunststoff hindurch färben, denn die Gewebefasern liegen frei. Aus diesen Gründen nennen HOCH et al. (1999) diese häufig angewendete Technik (QIU et al. 2003; GARDETTO et al. 2003 usw.) eine „*plastinations- histologische Methode*“.

Das ist eine Bezeichnung, die auch VON HAGENS für die Scheibenplastination beansprucht (VON HAGENS 1979). Seine Schnittplastinate, die 2 - 3 cm dick sind, zeichnen sich durch die Möglichkeit aus, die Topographie an Schnittpräparaten so zu zeigen, wie sie beim Lebenden vorliegt (JONES 2002). Vorherige Präparationen können bei der Scheibenplastination entfallen, was bei der Blockplastination immer notwendig ist (FRITSCH 1988), besonders, weil die Haut eine Diffusionsbarriere für Kunststoffe darstellt (VON HAGENS 1985, PIECHOCKI 1986). Aus präparierten Gewebeteilen lassen sich zwar schnittanatomische Abbildungen mit CT und MRT in sehr guter Qualität herstellen (ZHANG et LEE 2002, ZHANG et al. 2002), jedoch schrumpfen vor allem größere Präparate mit Weichteilen während der sich an die BV-Untersuchung anschließenden Blockplastination, weswegen für solche Präparationen immer wieder Variationen der VON HAGENSschen Scheibenplastination, und nicht die Blockplastination, angewendet werden (SPRINZL et al. 1995; MAGIROS et al. 1997; SITTEL et al. 1997, REIZ 2002, SORA et al. 2002a, b). Selbst für die Schädelbasis, die wenig Weichteile enthält, kommt auf Grund der Möglichkeit, das Präparat topografisch unzerstört zu untersuchen, die Scheibenplastination zur Anwendung (Xu et al. 2003).

Beide Techniken, die Block- als auch die Scheibenplastination, wenden GARDETTO et al. an (2003). Die erste wegen der Möglichkeit der Färbung, die zweite wegen der Möglichkeit, das „*superficial musculoaponeurotic system*“ (SMAS) relativ schrumpfungsfrei darstellen zu können (GARDETTO et al. 2003, p. 665). Sicher dienen die großen Scheibenplastinate (3 – 5 mm dick) zur späteren Orientierung an den kleineren, feineren Schnitten (0,3 – 0,7 mm) der Blockplastinate. Die von GARDETTO et al. (2003) angewandten Plastinationsmethoden zur Untersuchung des SMAS zeigen sehr viel detaillierter dessen Topographie als beispielsweise histologische Großschnitte (etwa GOSAIN et al. 1993). An großen Untersuchungsgebieten wenden SORA et al. (2002a) die Scheibenplastination an (3,8 mm dicke Scheiben vom Aortenbogen)- für kleine Gebiete werden von den relativ dicken Scheiben wiederum dünne Scheiben abgeschnitten und geschliffen (Schnitt 300 µm, Schliff auf 150 µm), um eine Untersuchung in höherer optischer Auflösung und auch die Färbung zu ermöglichen (SORA et al. 2002 b), so wie das FRITSCH beschreibt (FRITSCH 1988, 1989).

Die hier näher beschriebene DSP vereint die Vorteile beider Plastinationsmethoden, Scheiben- und Blocktechnik, denn einerseits ist die optische Auflösung der Scheibenplastinate ist durch die erreichten Schnittdicke von 800µm recht hoch (1200 dpi) und der üblichen Scheibenplastination überlegen, wobei teilweise gefärbte Präparate eine zusätzliche, feinere Diagnose ermöglichen. Bei der DSP ist es andererseits möglich, korrelative Untersuchungen zur radiologischen Untersuchung auszuführen, und zwar am unzerstörten Präparat (STEINKE 2001, STEINKE et al. 2002, THOMAS et al. 2004). Schließlich sind die DSP sehr groß (Schnittpräparate des Beckens etwa 35 x 25 cm; Abb. 30) und gewähren dadurch sowohl einen Überblick über größere topographische Zusammenhänge (REIZ 2002) als auch die Untersuchung von Feinstruktur.

Die DSP sind als Lehrmittel zur Aus- und Weiterbildung nutzbar, denn an Körperscheiben wird die Schnittanatomie leicht ‚begreifbar‘ (COOK 1997). Die Körperspender werden anonymisiert (TAG 1998). Ein Rückschluss auf deren Gesichtszüge, die diese zu Lebzeiten hatten, ist aus den Schnitten nicht möglich. Die Körperspende erfolgte für die Plastination zu Lebzeiten. Die fachlichen, didaktischen und ethischen Prinzipien der Anatomischen Gesellschaft scheinen eingehalten zu sein (CHRIST et al. 2004). Die Möglichkeit der 3D- Rekonstruktion dieser Körperscheiben, wie anhand von Teilen des Kopfes gezeigt wird, tastet die Würde der Körperspender nicht an (Abb. 32: 3D-Plastinatevolumen von 77 ♀ b).

Jeder einzelne Schritt der Methode bedingt ein optimales Gesamtergebnis. Die Schritte als Methode der DSP sollen deshalb einzeln diskutiert werden.

4.1. Vorbehandlung

4.1.1. Vorbehandlung fixierten und unfixierten Gewebes

Formalinfixierte Präparate

Von der formalinfixierten Leiche 64 ♂ wurden die Becken dieses Leichnams und die ebenfalls untersuchten Schultern (2.1.1.) nur mit Wasser gespült. Durch einfaches Spülens mit Wasser quillt das Gewebe (STEINMANN 1982). Diese Quellung scheint Spannungen im Gewebeverband hervorzurufen, die dazu führen, daß nach dem Einfrieren der Präparate von 64 ♂ keine Schnitte unter 2 mm abgesägt werden können (Abb. 13 u.). Dass die entstandenen Plastinate von den unperfundierten Präparaten braun wurden und die perfundierten hell und transparent, mag einerseits an der Dicke liegen (c und d ~ 3mm, a und b ~ 1 mm), allein spricht das beobachtete Austreten von Blutresten bei der Perfusion und der optisch helle Eindruck des Gewebes (s.o., 3.1.1.) für die Anwendung der Perfusion. Das Aufweiten bzw. Verschieben des Gewebes (Abb. 10 u. 11, dicker Pfeil) scheint durch die IH von 2 m verursacht zu sein. Mit 4%igem Formalin in Phosphatpuffer gelingt es PAVKOV et al. (2004), Uteruspräparate so zu behandeln, daß nach Plastination mit E12 transparente Präparate entstehen. Die Präparate sind ziemlich dunkel (PAVKOV et al. 2004), wie auch die von BRIZZI et al. (1994), was sich durch prolongiertes Entfetten vermeiden läßt (s.u., 4.4.3.).

Für Gehirn ist die Formalinfixierung einwandfrei zur DSP anwendbar. Auch die Untersuchung am MRT ist möglich (LAMONT et al. 1994, TOVI und ERICSON 1992; s.u. 4.1.2.).

Plastinate formalinfixierter Präparate erhält man in minderer Qualität, wenn nicht perfundiert wird. Die Plastination ist aber möglich (BEYERSDORFF et al. 2001). Sollen helle, optisch ansprechende Plastinate erzeugt werden, sind formalinfixierte Präparate stets zu perfundieren.

Dabei werden die Präparate nahezu frei von Blutresten (Abb. 13 oben: Blut ausperfundiert, Abb. 13 unten: blutreich; 64 ♂). Die anfänglich beobachtete Quellung des Gewebes, die TOVI und ERICSON (1992) auch an Hirn bemerkt, wird bei der von uns angewandten Perfusionslösung nicht beobachtet. Das bestätigt die Annahme PIECHOCKI's (1986), der Salzgehalt des Gewebes verursache den Effekt der Quellung. Spülen mit klarem Wasser als auch Spülen mit sehr salzigen Lösungen ist daher bei der Perfusion hirnfreien Gewebes zumindest an formalinfixierten Präparate zu vermeiden.

Alkoholfixierte Präparate

Die Versuche an 77 ♀ a (1998) und 75 ♀ a (1999) zeigen, daß unperfundierte, alkoholfixierte Präparate zur DSP ungeeignet sind. Diese Untersuchungen zeigen außerdem, daß die Sektion zur Plastination, wenn sie auf Grund der Untersuchung einzelner Körperteile nötig erscheint, in jedem Fall am gekühlten und bestenfalls unfixiertem Gewebe erfolgen sollte.

Alkoholfixation erscheint zur DSP ungeeignet, wenn auch ECKSTEIN et al. (1994) alkoholfixiertes Gewebe am MRT untersuchen und 2 mm dicke Scheiben akquirieren können. Dünner zu schneiden scheint dann unmöglich. Deshalb ist Alkoholfixation der Plastination abträglich.

Die Untersuchung mit BV ist dabei möglich (SCHMIDT et al. 2001). Auch bei der Silikonplastination (Stückplastination, nicht näher betrachtet, z.B. Kopf von 84 ♂) entstehen bräunlich verfärbte Präparate.

Deshalb ist festzustellen, daß zur Erzeugung von DSP möglichst unfixiertes Material herangezogen werden sollte.

Unfixierte Präparate

Das belegen die Schnittpräparate der perfundierten Leiche 64 ♀ (Knie horizontal, MRT Abb. 18) und 91 ♀ (Abb. 19). Auch wenn, wie im Falle von 64 ♀, erst nach zwei Tagen perfundiert werden kann, tritt bei der Perfusion Blut aus den Gefäßen, wobei dunkle Verfärbungen des Gewebes verschwinden. Das entstandenen Stückplastinat vom Kopf des Leichnams 91 ♀ (Torso mit Kopf, o. Abbildung) ist sehr viel heller als das des alkoholfixierten, unperfundierten Kopfes von 84 ♂ (o. Abbildung); wie auch die DSP unfixierter Präparate heller als die fixierten sind, beispielsweise die von 79 ♀ (unfixiert, Abb. 23 a, b: Knie horizontal 79 ♀; c-e: Knie sagittal 94 ♀ a) heller als die von 64 ♂ (fixiert, Abb. 13 o.; 17). Unfixiert untersuchen SORA et al. (2002a, b). Durch weiteres Aufschneiden von Körperscheiben (3,8 mm) in Scheiben von 300µm zeigen SORA et al., daß von unfixiertem Gewebe Plastinate hoher Qualität entstehen (2002 b).

Das Blut der unfixierten Körperspenderin 64 ♀ war galertig geronnen. Das beim Perfundieren des Präparates aus 1 m Höhe beobachtete leichte Aufquellen des Gewebes, das bei dieser Leiche und bei 84 ♂ beobachtet wurde, kann darauf zurückzuführen gewesen sein, daß die Leiche post mortem zwei Tage ungekühlt gelagert und der Bauch leicht grünlich war, wodurch die Aufquellen durch die Übersäuerung des Gewebes aufgetreten wäre.

Eine Kühlung des Leichnams ist deshalb zur Plastination in jedem Falle angezeigt (VON HAGENS 1985). Die Perfusion verursacht Quellungen des Gehirnes (Abb. 22 o.).

Die erfolgreiche Untersuchung der Körperspender (s.u., Anhang) spricht dafür, die vorgestellte Perfusion anzuwenden, wenn DSP erzeugt werden sollen. Möglicherweise tritt der von POOLEY et. al. (1970) beschriebene Fixierungseffekt auf, der mit der Zuführung von Salzlösungen verbunden ist.

Je geringer die IH des Irrigatorsystems gewählt wurde um die Salzlösung zu applizieren, desto geringer waren die topographischen Aberrationen. Allerdings braucht dieses Vorgehen einen vollen Arbeitstag, weswegen bei dieser Technik spätestens einen Tag nach Todeseintritt die Vorbereitung vorgenommen werden muß.

Beim Perfundieren ist darüber hinaus der pH- Wert des Gewebes zu beachten. Darauf weist HARMS (1965) besonders mit Blick auf die histologische Färbung von Muskulatur hin (s.o., 2.4.4.). Dies trifft besonders für die digitale Verarbeitung der Plastinate zu, im Besonderen, wenn diese ihren CT und MRT-Bildern zugeordnet werden sollen (s.u., 4.7.2.). Ob eine Messung des pH-Wertes, der post mortem absinkt, sinnvoll erscheint, kann nicht gesagt werden. Jedenfalls scheint die Perfusionslösung solche Veränderungen in einem gewissen Umfang abpuffern zu können, was unter anderem die erfolgreiche Perfusion des Beckens von 89 ♂ zeigt, was erst nach vier Tagen post mortem zur Untersuchung kam, wenngleich das Blut hier nicht vollständig entfernt werden konnte (Abb. 30). Bei diesem Präparat zeigt sich, daß zur Plastination die Faecies nicht nur während der Einbettung manuell entfernt (VON HAGENS 1985), sondern schon während der Vorbereitung ausperfundiert werden sollten, wie das THIEL (1992) für die farberhaltende Konservierung vorschlägt. Dabei hellt sich das Gewebe auf. Bleichen (VON HAGENS 1985) kann entfallen.

Die helle Schnittfarbe aller weiteren Präparate, die konsequent perfundiert worden, weisen darauf hin, daß die Perfusion zur DSP notwendig ist. Zur Vermeidung topographischer Irritationen sollte die Perfusion langsam erfolgen. Es erweist sich ein Irrigator als sehr geeignet. Mit geringer IH ist es möglich, die Lösung sehr langsam zu applizieren. Dazu ist oft ein ganzer Tag nötig. Das wäre mit einer fein einstellbaren elektrischen Pumpe wenig praktikabel (STEINMANN 1982, PIECHOCKI 1986).

4.1.2. Die Vorbereitung des Gewebes zur Erzeugung optimaler MRT

Wenn das Kopf- Hals Präparat der Leiche 77 ♀ b vor der Untersuchung von Mittag bis in den Abend in einem warmen Raum gelagert wurde, wohingegen alle anderen mit BV untersuchten Leichen zur Untersuchung nicht besonders erwärmt waren, tritt ein Unterschied in der MRT- Abbildung deutlich zu Tage. Die Abbildung 14 e und f zeigen /2- MRTs gekühlten Gewebes, Abbildung 16 b dagegen das gleiche Untersuchungsgebiet bei Raumtemperatur ebenso untersucht (T2).

Die Abbildungen unterscheiden sich, obwohl die Einstellungen des MRTs gleich waren (SL = 4,0 TR = 2500.0, Echo Time 104.0).

DALAGER- PEDERSEN et al. stellen dazu fest, daß „*temperature and preparation have profound effects on contrast [and] size*“ (2000, p. 824). Von der Untersuchung des gekühlten Leichnam bis zur Untersuchung bei Raumtemperatur gäbe es eine räumliche Ausdehnung des Gewebes (4% - 7%), und eine zur Untersuchung notwendige Verlängerung des T2- Wertes (60--> 68 msec) und eine Veränderung der Faserdarstellung in der Frequenz von 95- 110 msec.

Die Änderung des Gewebevolumens sei zwar bei Formalin geringer (2%-3%), gleichwohl ist der Einfluss auf die Bildgebung stärker als bei frisch untersuchtem Material.

Unsere Befunde von 77 ♀ b bestätigen DALAGER-PEDERSEN et al. (2000), denn die MRTs der zur Untersuchung erwärmten Leiche waren schärfer und kontrastreicher als die anderen, nicht erwärmten. Darüber hinaus bestätigt sich durch die Untersuchung des formalinfixierten Präparates 64 ♂ die Feststellung PIECHOCKIs (1986), daß Formaldehyd auf den Wasserhaushalt des Präparates einen großen Einfluss hat: vor allem die T2- gewichteten Aufnahmen zeigen eine Zunahme des freien Wassers zwischen den Geweben, z.B. zwischen Muskeln und Faszien (Abbildungen 10, 11 u. 12). Auch anfixiertes Gewebe läßt sich zwar mit MR untersuchen. Jedoch müssen die gesetzten topographischen Veränderungen beachtet werden (SPITZER et al. 1996, SCHMIDT et al. 2001).

Trotz des negativen Einflusses auf das Herstellen von DSP sind MRT-Untersuchungen an formaldehydfixierten Material möglich, wie auch AUH et al. (1994) für den Magen feststellen, wengleich diese Autoren DALAGER-PEDERSEN et al.(2000) widersprechen, daß die entstehende Gewebshärtung nicht mit der Signalintensität korreliere. Keine Abhängigkeit dieser Faktoren bemerken PUTZ und ZUR NEDDEN (1983) sowie ZUR NEDDEN und PUTZ (1989). BEYERSDORFF et al. verringern aus diesen Erfahrungen heraus die Formaldehydkonzentration bei der Fixation von Gewebe, das mit MRT untersucht wird, auf 0,4 % (2001).

77 ♀ b wurde zur Untersuchung warm gelagert (Abb. 3). Die vergleichsweise gute Qualität der MRTs dieses Experiments (Abb. 16 b) im Gegensatz zu den Ergebnissen 75 ♀ a (Abb. 14) bestätigt DALAGER-PEDERSEN et al. (2000).

Dass es keine Unterschiede zwischen CTs erwärmter und raumtemperierter Präparate gefunden wurde liegt in der Röntgentechnik begründet. Diese ist unabhängig von der Temperatur (ARMSTRONG und WASTIE 1987). PET-Untersuchungen an Leichen bringen keine Ergebnisse - deren Durchführung erscheint deshalb überflüssig (77 ♀ a, 77 ♀ b).

MRTs des kindlichen, formalinfixierten Gehirns akquiriert, weisen für LAMONT et al. (1994) eine hinreichende Qualität auf. Selbiges gilt für das Gehirn Erwachsener (TOVI und ERICSON 1992). Formaldehydfixiert untersuchen auch PUTZ und ZUR NEDDEN (1983) und erreichen Totalpräparaten gute Ergebnisse. Das scheint, dem Bild des Lebenden kommen jene MRTs nahe, die von fixierten Leichen gewonnen wurden. Das bestätigt die erfolgreiche Untersuchung von 64 ♂ (Abb. 10, 11 u. 12).

Die CTs der alkoholfixierten Kopf- Hals- Präparate der Leichen 75 ♀ a und der unfixierten 77 ♀ b konnten mit einer hinreichenden Qualität hergestellt werden (unfixiert 75 ♀ a, Abb. 16a, fixiert o. Abb.), (SCHMIDT et al. 2001). Ein Vergleich zu formaldehydfixierten Gewebe fehlt hier, weswegen dazu nichts gesagt werden kann. Mit Formaldehyd kurzzeitfixiert untersuchte SPITZER et al. (VHP, 1996). Dazu wurden drei Liter Blut der V. femoralis drainiert und 19 l 1%iges Formalin injiziert, wohl wegen der an anderen Delinquenten beobachteten „*massive deterioration*“ des Gewebes, durch die Giftspritze verursacht. Gepuffert wurde nicht (SPITZER et al. 1996).

Da dieses vor der MR- Untersuchung und dem Abheben des Leichnams zur Auflichtfotografie geschah, sind zwar topografische Veränderungen in Kauf genommen worden- dafür ist die Korrelation der Bilder sehr hoch (SPITZER et WHITLOCK 1998, s.u., 4.7.3.).

Sowohl der formalinfixierte Leiche 64 ♂ als auch die unfixierte Leiche 64 ♀ sind mit der gleichen Lösung gepuffert. Da beide in den folgenden Schritten einer vergleichbaren Untersuchung sowohl mit MRI als auch mit der DSP zugeführt wurden, können Aussagen über die Qualität der zugehörigen MRT und der entstehenden Plastinate im Zusammenhang mit der Vorbereitung getroffen werden. Abbildung 18 zeigt ein T1- MRT des horizontalen Knies, das zur Untersuchung nicht fixiert wurde. Die Vergrößerung zeigt keine geöffneten Septen oder ähnliche Störungen, die auf Gewebsschrumpfung hinweist. Die topographischen Veränderungen sind hier demzufolge sehr gering. Dazu scheint ein Irrigatorsystem nötig zu sein.

Hingegen zeigen sich an den MRTs fixierten Gewebes einige Artefakte. Die beobachteten geöffneten Logen der Faszien am Arm des formalinfixierten Leichnams 64 ♂ (Abb. 10 und 11, dicke Pfeile) treten an den Faszienlogen des unfixierten Gewebe nicht auf, so etwa am Bein von 79 ♀ (Abb. 15, horizontal) oder von 64 ♀ (Abb. 18), was auf die Notwendigkeit hinweist, den Körper des Spenders bei anatomischen Untersuchungen möglichst unfixiert zu verwenden. Beim VHP wurde fixiert (SPITZER et al. 1996), auch beim VHK (CHUNG et KIM 2000; CHUNG et PARK 2003) und beim CVH (ZHANG et LEE 2002). Fixiert wird auf Grund der nötigen Projektzeit- bei der hier vorgestellten Technik kann sofort eingefroren werde, wodurch die topografischen Veränderungen entfallen.

MACKENZIE et. al. stellen 1994 die Wichtigkeit korrelativer Untersuchungen fest, denn diese ermögliche neben dem Nutzen in der Weiterbildung der Ärzte „*the investigation of the signal characteristics of the tissues, the validation of the interpretation of images and the demonstration of the technical capabilities of an imaging sequence*“. Da diese Autoren keine Plastinate, sondern Gefrierschnitte des Knies in Korrelation zu deren MRI zeigen, können sie auf weitere Vorbehandlungen verzichten.

Nach der Einführung der Perfusion frischen Gewebes sind keine wesentlichen Gewebeveränderungen am MRT festzustellen. Die an 64 ♂ (formalinfixiert) und 64 ♀ (unfixiert) beobachteten Spalten zwischen der Muskulatur sind nicht mehr zu beobachten. In den Blutgefäßen finden sich keine störenden Koagel mehr. Die Parameter der MRT- Einstellungen variieren zwar, bleiben aber im üblichen Bereich (SYSTEMS 1993). Die jeweils optimalen Untersuchungsparameter zu finden, bleibt der Geschicklichkeit des untersuchenden Radiologen vorbehalten.

Auch unfixierte Präparate zeigten am MRT Niederschläge in den Blutgefäßen. Abbildung 18 zeigt ein T1- MRT des perfundierten Knies von 64 ♀. Die Einstellung des MRTs sind ähnlich gewichtet wie die bei 79 ♀ (Abb. 15). Sowohl in der höheren Auflösung als auch in der Übersicht wird deutlich, daß die Gefäße wassergefüllt sind, sich also in T1 schwarz abgebildet zeigen (s.u., Anmerkungen MRT). Strukturen, die sich nicht schwarz abbilden (Pfeil in Abb. 15 a) sind demzufolge keine Gefäße.

Leichenmaterial sollte zur Untersuchung am MRT stets auf Körpertemperatur erwärmt werden (DALAGER-PEDERSEN et al. 2000).

4.1.3. Die Auswirkung der Vorbehandlung auf die Erzeugung von Gefrierschnitten

Da Schultern und Becken des Körperspenders 64 ♂ bei der Vorbereitung zur Plastination nicht konsequent perfundiert wurden, konnte die Untersuchung mit MRT weniger erfolgreich sein, als die der perfundierten Knie und Ellenbogen derselben Leiche. Diese konnten erfolgreich untersucht werden konnten, was MAGIROS et al. (1997) bestätigen, wonach anatomisch vorbereitetes Gewebe der korrelativen radiologisch- anatomischen Untersuchung nicht abträglich ist. Abbildung 13 verdeutlicht den Unterschied: oben sind perfundierte, unten nicht perfundierte Präparate ein und desselben Leichnams deutlich zu unterscheiden. Die hellere Farbe der oberen Reihe scheint trotz verschiedener Schnittdicken auf die Perfusion zurückzuführen zu sein. Ursache dafür scheint das Entfernen des Blutes zu sein (s.o., 3.1.2.).

Ohne Perfusion müssen MACKENZIE et al. (1994) und MATSUMURA et SAITO (1997) die geringere optische Auflösung von Auflichtfotografien des Knies in Kauf nehmen (512x512 Pixel), die an Schärfe durch die vorgestellte DSP weit übertroffen wird. Nachteilig kann die Schärfe sein, weil nach der je nach Einstellung des Scanners sehr große Datenmengen entstehen (1200 dpi DSP Becken = 380 MB, mit JPG stark gepackt = 2,5 MB groß, Abb. 30, cd:\beckensagi/bs_015p.jpg).

Hervorzuheben ist neben der Einfachheit der Technik von MACKENZIE et al. (1994) der Preisvorteil der Gefrierschnittechnik (HODLER et al. 1992 a). Die Gefrierschnitte der perfundierten Präparate von 77 ♀ b (Abb. 6b) zeigen in der Auflichtfotografie die Qualität des VHP (SPITZER et al. 1996), [cd:\frost/*.jpg] oder des VHK (CHUNG et KIM 2000; CHUNG et PARK 2003) sowie des „chinese visible human“ (ZHANG et al. 2003). Neben der Abbildung 6 b zeigen auch die Datensätze der gefrorenen Präparate von 77 ♀ b [Online: PLAST]. Abbildungen gefrorener Präparate, wie man sie durch die bekannten Projekte von SPITZER et al. (1996), CHUNG et KIM (CHUNG ET KIM 2000), CHUNG et PARK (2003) sowie ZHANG et al. (2003) kennt.

Die Qualität der Abbildung scheint methodisch bedingt. Sie liegt begründet in der Transparenz gefrorener Präparate, denn bei den digitalen Bildern handelt es sich um Auflichtfotografien.

Durch deren Wassergehalt von 70% (HOFMAN 2001, s.a. Anmerkungen: Wassergehalt menschlichen Gewebes) erscheint die Oberfläche nie völlig scharf, weil stets die tieferliegenden Strukturen an die Oberfläche hindurchscheinen. Trotzdem reichen die erreichten Auflösungen für die Darstellung der „grogen“ anatomischen Strukturen. Die gefundenen Farbwerte der anatomischen Schnitte können sogar zur späteren Kolorierung mittels deren Korrelation zu CT benutzt werden (KERR et al. 2000, s.u., 4.7.2.).

Wenn Auflichtfotografie betrieben werden soll, scheint die hier beschriebene Vorbehandlung der Präparate nicht nötig zu sein. Die Autoren, welche die Technik des VHP, des VHK sowie des CVH beschreiben (alles modifizierte Techniken nach RAUSCHNING 1983 bzw. BRAUNE et ZWEIFEL 1890) sind durch Kurzzeitfixierung in der Lage, Auflichtfotografien zu erzeugen.

Es entstehen aus den Projekten Auflichtfotografien, die stets übereinander passen, denn diese sind als Abbild der Schnittfläche des unzerstörten Leichnams entstanden. Nach jedem Hobeln wurde erneut fotografiert; wir hingegen erzeugten separierte Schnittpräparate (Abb. 6 b), die zur Rekonstruktion nachfolgend digital wieder zusammengesetzt werden müssen. Darüber hinaus verschieben sich die Schnitte in sich geringfügig, was den Qualitätsunterschied erklärt, wenn die gefrorenen Scheiben in Auflicht fotografiert werden (s.u., 4.7.1.; Abb. 31 und 32, cd:\gefroren.avi).

Wir müssen qualitative Abstriche unserer Auflichtfotografien im Vergleich zum *VHP*, *VHK* sowie zum *CVH* feststellen. Ziel der Untersuchung aber war, die gefrorenen Scheiben zu entwässern, zu plastinieren um anschließend eine weitaus bessere optische Auflösung durch Einscannen zu erreichen, als das durch die Auflichttechnik möglich ist (s.u., 4.7. sowie als Vergleich von Gefrierschnitt und Plastinat auf CD, cd:\cut2plasti.avi).

Mit Formalin fixiertes Gewebe schrumpft um 3-6% (BURCK 1982). 1985 benutzt HOLLIDAY eine Bandsäge zum Herstellen gefrorener, formalinfixierter Leichen in Korrelation zu deren MRTs und schneidet 5 mm dick. Mit dieser Technik gelingt es ENTIUS (1997), die Dicke des Präparates zur Plastination an formalinfixiertem Material auf 2 mm zu verringern. Er benutzt das Bandsägeblatt AEW 600 mit 5 Zähnen pro Inch (ENTIUS 1997). BEYERSDORFF erreicht an formalinfixiertem Material 2001 eine Schnittdicke von durchschnittlich 4,6 mm.

Auch das mit Alkohol zur Fixierung vorbehandelte Gewebe von 84 ♂ kann nur 5 mm dick geschnitten werden. Das Gewebe des von uns untersuchten Körperspenders 64 ♂ ist formalinfixiert. Die Schnittdicke liegt bei dem fixiertem Material (Becken und Schultern), das nach der Fixation nicht perfundiert war, bei 3 mm und, dagegen bei dem perfundierten Gewebe bei 1 – 3 mm.

Die Schrumpfung durch „10% *neutral buffered formalin*“ scheint zu verhindern, daß NASH et al. (2004) dünner als 2,5 mm schneiden können, obwohl deren Probengröße nur 10 x 10 mm beträgt.

Um feiner diagnostizieren zu können wird stets die probate histologische Untersuchung notwendig sein (NASH et al. 2004).

JOHNSON et ZHANG (2002) und ZHANG et AN (2000) schneiden über 1,5 mm oder müssen auf die Blockplastination ausweichen. 1,5 mm dünn kann nur geschnitten werden, wird der Anteil des Formalins bei der Vorbehandlung verringert (etwa auf 0,3% Formaldehyd, 1,5 mm Schnittdicke: BEIERSDORF et al. 2001)

SEIBOLD et al. (1991) verzichten bei kleinen Präparaten auf die Fixierung und fixieren Größere mit 50%igem Alkohol, was nach SEIBOLD et al. weniger Schrumpfung verursache als Formalinfixierung. Die Schnittdicke kann dann nicht verringert werden, weswegen diese Autoren auf die Stückplastination ausweichen müssen (SEIBOLD et al. 1991).

VON HAGENS erreicht an perfundiertem Material 2 – 4 mm Schnittdicke (1999). Wir können die Schnittdicke nur dann auf unter 1 mm verringern, wenn unfixiertes Material, das isotonisch und neutral perfundiert wurde, zur Untersuchung kommt, was sich aus minimalen histologischen Änderungen aus dieser Vorbehandlung ergibt (alle Körperspender, außer dem formalinfixierten 64 ♂, und dem alkoholfixiertem 84 ♂), (STEINKE et WOLFF 2001, STEINKE 2001).

Zur Vernetzung von Eiweiß kommt es bei der Formalinfixierung durch das Formaldehyd, daß die fibrillären Proteine untereinander verbindet. Formaldehyd, ein farbloses Gas mit einer etwas höheren Dichte als Luft (Formaldehyd: 1,34 g/l; Luft: 1,29 g/l) und einem eigentümlichen, stechenden Geruch, ist außerordentlich reaktiv und verbindet sich besonders leicht mit Aminen, so z.B. auch mit den Aminosäuren der Eiweiße (RAUEN 1964).

Deshalb schrumpft eiweißhaltiges Gewebe mehr, als Gewebe mit wenig Eiweiß. Dem entspricht unser Beobachtung, daß während des Absägens vom Block formalinfixierten Gewebes die Scheibe zerfällt, was die Vermutung von SEIBOLD et al. (1991) bestätigt. HODLER et. al. schneiden deshalb zuerst makroskopisch und untersuchen anschließend mikroskopisch (HODLER et al. 1992 a und b). Die verschieden, durch Alkohol und noch mehr durch Formalin „verspannten“ Gewebestandteile entspannen sich beim Sägen. Wenn dabei die Schnittdicke zu gering gewählt ist, muß diese dabei zerbrechen. Wird aber dicker gesägt, hält das Gewebe.

Fixation erscheint uns deshalb als ein wichtiges Hindernis, wenn dünnen Körperscheiben von optimal geforenem Gewebe geschnitten werden soll. Unfixiertes Gewebe ist eine Voraussetzung dafür ist, Gefrierschnitte unter 1 mm erzeugen zu können.

Auch GOSAIN et al. (1993) schneiden erfolgreich unfixiertes Material 1 mm dünn, vermutlich mit einem Makrotom, plastinieren die Schnitte aber nicht.

Durch konsequentes Entfernen des Blutes während der Vorbehandlung (s.o., 4.1.1.) kann erreicht werden, daß die Farbe des Plastinats heller wird wodurch während des Sägens keine schwarzen Späne über den Schnitt verschmieren, die dann auf dem fertigen Plastinat als schwarze Punkte sichtbar werden und den Anblick stören könnten. THIEL (1992) empfiehlt, die Leibeshöhlen durch die Körperöffnungen auszuspülen- das wäre eine Lösung der gelegentlich auftretenden Verschmutzungen (Rektum, Abb. 30), [cd:\becksagi/* .jpg].

4.1.4. Farbige Injektionen der Gefäße und farbige Einbettung

Bei der Untersuchung am MRT stören Injektionen nicht, wenn man beachtet, metallfreie Massen zu verwenden. LUFKIN et al. benutzten erfolgreich Bariumlösung (1987) wie auch HOLLIDAY et al. (1986), RAUSCHNING Karbomethylzellulose (1983, RAUSCHNING et BERGSTRÖM 1983, RAUSCHNING et al. 2003). Beide Lösungen haben den Vorteil hohen radiologischen Kontrasts (ARMSTRONG und WASTIE 1987), sind allerdings wie das paramagnetische Gadopentetatdimeglumin (Gd-DTPA), [Online: MRT] nicht als farbige Injektionsmasse zur Plastination geeignet.

Bei der MR- Untersuchung der farbig injizierten Präparate von 85 ♀ a und 85 ♀ b traten Störungen auf (Abb. 20). Wir wissen nicht, ob solche Störungen von den Injektionen ausgehen können. Bei nichtinjizierten Präparaten trat dieser Effekt nie auf (10 – 12, 14, 15, 18, 19 a u. c, 23 u. c).

VON HAGENS (1985) empfiehlt zur Plastination die farbigen Injektionsmassen E 20 der Firma BIODUR® (Heidelberg). Weil die Injektionen ausbrachen, können wir damit nicht erfolgreich farbig injizierte DSP erzeugen. Mit BV wurde ebenso wenig mit E 20 experimentiert. Wird mit E 20 injiziert und mit Methylenchlorid entfettet (s.u., 4.4.3.), kommt darüber hinaus zur Quellung der Injektionsmasse (SEIBOLD et al. 1991).

Deshalb ist LUNDVALLS Methode der Injektion (1927), für durchsichtige Präparate entwickelt, eine für DSP einfach anwendbare Technik. Die farbigen Injektionen helfen bei der Orientierung am Schnittpräparat durch klare Erkennbarkeit von Arterien und Venen (Abb. 9, 24, 25 und 26).

Dass die Injektionen der Blutgefäße gelegentlich schrumpfen und ausbrechen (Abb. 24 d) ist ein Hinweis auf die beobachteten Schrumpfungen während des Gefrier austauschs (s.u., 4.4.1.).

Bei der farbigen Einbettung erreichen wir den von ALBRECHT (1954) beschriebenen Effekt der Haftung organischen Gewebes am Block, wenn dieses gefroren ist. Die Gelatine löste sich beim Einfrieren und beim Sägen vom Gewebe gelegentlich ab (Abb. 6 a: ausgebrochene Gelatine auf dem Sägetisch). Günstig erweist sich, die Haut des Präparates mit Seifenlösung zu waschen, was seit 2002 getan wurde (s.o., 2.1.3.), damit die Haut fettfrei wird und dadurch die Gelatine gut haften kann. Das empfiehlt auch THIEL (1992). An den Stellen, an denen die Entfettung unvollständig war, löst sich beim Sägen die Gelatine ab, beispielsweise am Nacken von 77 ♀ b [cd:\cut2plast.avi]. Nach dem Aufziehen gefrorener Scheiben zur Auflichtfotografie nach der Methode von ALBRECHT (1954) wurden die Präparate erfolgreich anhand der verbliebenen Einbettung fotografiert. Da die Gelatine stark schrumpft (10 %, STEINMANN 1982) treten gelegentlich Gefrierartefakte auf (Abb. 25, Pfeil). Das benutzte starre Einbettssystem (Glaskasten) erweist sich deswegen als ungünstig.

Man sollte die Gelatine entweder dicker verwenden oder das „*external marker-based automatic congruencing*“ („EMAC“) Alignment- Verfahren nach STREICHER et al. (1997) verwenden. Dazu werden in das farbige Einbettmedium Löcher eingebracht, die durch Stäbe entstehen, welche eingebettet und nach der Einbettung wieder entfernt werden.

Daran können die eingebetteten Schnitte im geschrumpften Medium ausgerichtet werden („*alignment*“, s.u., 4.7.3.). In diesem Falle werden auch ausbrechende Kanten unbedeutend- die digitale Ausrichtung erfolgt anhand der Bohrungen.

4.2. Untersuchung der Leiche am MRT

Die Arbeitsgruppen von Bloch und Purcell beschrieben 1946 unabhängig voneinander ein Phänomen, wobei sich präzedierend aufrichtende Atomkerne zur Absorption von Energie und Aussendung eines Resonanzsignals fähig sind, wenn sie sich in einem externen Magnetfeld befinden, in welches elektromagnetische Energie geeigneter Wellenlänge eingestrahlt wird (BLOCH et al. 1946, PURCELL et al. 1946).

Als „Geburtsstunde“ der MRT-Technik gilt die ortscodierte Abbildung zweier Glaskapillaren in einem mit Deuterium gefüllten Glasrohr mit Hilfe der Magnetresonanz im Jahre 1973 (LAUTERBUR 1973). Zur Technik s. Anmerkungen: MRT. Für Grundlagen s. [Online: MRT].

4.2.1. Die Markierung der Bezugsebenen

MAGIROS et al. (1997) gehen von der REID'schen Linie (s.u., Anmerkungen) aus und schneiden parallel dazu jeweils ohne spezielle Markierung. Allerdings werden Schnitte angefertigt, die nicht transparent plastiniert werden (PEM-Technik, VON HAGENS 1985).

ENTIUS et al. (1997) kleben „*oil containing sheroid capsules*“ auf die Haut, wie das in der Radiologie des Universitätsklinikums Leipzig AöR meist mit Nitrangin-Kapseln gemacht wird. Daran und an farbigen Markierungen orientieren diese Autoren sowohl den MRT- als auch den Sägeschnitt für die folgende Plastination mit in einer Schnittdicke von 2 mm.

Werden von einem Präparat am MRT zweidimensionale Abbildungen erzeugt, die anschließend als makroskopisches Präparat zur Korrelation der MRTs gebraucht werden sollen, scheint es angebracht, die verwandten Ebenen an der Oberfläche zu markieren, zumindest da, wo Haut vorhanden ist. Wenn hinreichende topografische Markierungen (*landmarks*) vorhanden sind, können die verwendeten Ebenen auch wiedergefunden werden (MAGIROS et al. 1997).

Bei Präparaten, die sich schwierig markieren lassen, wie etwa der lumbale Bereich der Wirbelsäule, müssen andere Lösungen gefunden werden, nämlich die konsequent parallele Untersuchung, was aber eine feste, wackelfreie Montage der Präparate voraussetzt (RAUSCHNING 1983). RAUSCHNING et al. schlagen vor, den Leichnam einzufrieren, das Untersuchungsgebiet (Craniospinalkanal) herauszusägen und in Karboxymethylzellulose einzubetten (RAUSCHNING et al. 2003).

Selbiger Autor untersucht andere topografische Regionen, die sich der oberflächlichen Markierung entziehen u.a. mit BASSETT et al. (1991) die Hüfte, oder mit NUNES et al. (1995) die Prostata. An diesen Gebieten kann die oberflächliche Markierung der Untersuchungsebenen nicht eingesetzt werden, weswegen anzunehmen ist, daß damit keine bessere Korrelation zwischen BV und anatomischem Präparat erreicht werden kann.

Die Anwendung der beschriebenen Markierungen an den Extremitäten, dem Kopf und dem Schultergürtel führt zu genauer Korrelation (Abb. 10, 11 und 17 sowie 19 und 23) was bestätigt, daß zumindest für diese Gebiete die beschriebene Markierungstechnik erfolgreich anwendbar erscheint (THOMAS et al. 2004). Auch an isolierten Gebieten, etwa dem Gewebebereich der abgesetzten Schulter (Abb. 1), konnten mit Gewebestift oder Acrylfarbe die auf der Haut markierten Ebenen aufgetragen werden und standen beim Schneiden der Scheibe als Orientierung zur Verfügung (STEINKE et THOMAS 2002).

4.2.2. Das Justierung des MRT

Da neben der T1 und T2- Untersuchung der Wirbelsäule von 87 ♂ sowie des Kniegelenks von 79 ♀ auch Spinechosequenzen (Abb. 15 b) und Turbospinechosequenzen (TSE, o. Abb.) erfolgreich angewendet wurden, bestätigen die Ergebnisse, daß es möglich ist, Leichenmaterial mit den Standarteinstellungen am MRT zu untersuchen (SPITZER et WHITLOCK 1998). Es scheinen folgende Parameter zuzutreffen: je mehr ein Präparat fixiert ist, desto weniger gebundenes Wasser kann mit MR abgebildet werden, was sich in dem T1- gewichteten Bild zeigt (Abb. 11; 12 a; 14 b).

Die veränderten Einstellungen bei der Untersuchung von 75 ♀ a (TR = 24.9, TE = 10.6) führt nur zu einer befriedigenden Differenzierung des MR- Bildes (Abb. 14 b, SCHMIDT et al. 2001).

Am T2- gewichteten Bild vergrößern sich die Septen durch die oben beschriebenen Fixation (s.o., 4.1.1.) was dazu führt, daß sich die Intermuskularsepten bei fixiertem Leichenmaterial in der T2- Wichtung besonders scharf abgrenzen (Abb. 10; 12 b; 14 d u. f), weswegen auch hier die beim Lebenden geltenden Einstellungen leicht verändert werden (TR = 2500.0, Echo Time 104.; 75 ♀ a, Abb. 14). Die jeweils zur Untersuchung fixierten Materials passenden Einstellungen zu finden bleibt dem versierten Radiologe überlassen (ARMSTRONG et WASTIE 1987). In einem Probedurchgang können diese Anpassungen vom versierten Radiologen leicht getroffen werden (RINCK et al. 1990, SYSTEMS 1993), [Online: MRT].

Unsere Experimente an fixiertem Material zeigen, daß zwar von fixiertem Material Bilder erzeugt werden können, jedoch mit Qualitätseinbußen und unter Veränderung der Einstellungen des MRTs, wie MACKENZIE et al. (1994) und MAGIROS et al. (1997) allgemein feststellen, daß man fixiertes Leichenmaterial erfolgreich radiologisch untersuchen kann. Es scheint aber festzustehen, daß die MRTs von unfixiertem Gewebe dem natürlichen Zustand nahe kommen (STEINKE et THOMAS 2002, ZHANG et al. 2002).

Leichenmaterial sollte am MRT unter Erwärmung wie klinisches Untersuchungsgut untersucht werden (DALAGER-PEDERSEN et al. 2000). Die Ergebnisse der Untersuchung von 77 ♀ b bestätigen das (Abb. 16 und 31). Dennoch scheinen die T1- und T2- Sequenzen auch an unangewärmten Leichenmaterial anwendbar zu sein (75 ♀ a; Abb. 14 a u. c; 79 ♀, Abb. 15).

4.2.3. Das Befestigen des Leichnams zur Untersuchung und zum Transport in das Plastinationslabor

Wenn die Korrelation der DSP zu den MRTs durch das Auffinden der am MRT untersuchten Ebenen erfolgen soll, ist es notwendig, für eine sichere, wackelfreie Lagerung des Leichnams zu sorgen, wenn der Leichnam am MRT untersucht ist und zur schnittanatomischen Untersuchung verbracht wird (ACKERMAN 1999).

Da wir die Ellenbogen- und Kniepräparate des Leichnam 64 ♂ lediglich in Folie verpackt am MRT und anschließend nach der Markierung der Bezugsebenen erfolgreich untersuchen können, allein die größeren MRT- Schnitte wie Becken und Schulter an Plastinaten nicht auffindbar blieben, kann gesagt werden, daß sichere Befestigung für kleinere Präparaten weniger wichtig zu sein scheint als für größere. Die Schulter läßt sich auf einem Kunststoffbrett fixiert am MRT untersuchen (Abb. 1). Die Angebrachten Bolzen am Ellenbogen sichern die Außenrotationswinkel in der Art. humeri („*apprehension position*“, THOMAS et al. 2004). Klinisch relevant wird diese schnittanatomische Forschung durch die Untersuchungen von Patienten am offenen MRT (THOMAS et al. 2004).

Abbildung 3 zeigt die Befestigung des Leichnams 77 ♀ b. Kopf und Hände sind sicher fixiert. Der Leichnam läßt sich beim Transport mit dem Bestattungsunternehmen auf einer Holzbahre sichern. Die Bahre ist schmal genug, die Leiche in das MRT zu verbringen. Holz ist für die Befestigung nachteilig, weil die Holzfeuchte das Bild beeinflussen kann, was auch die beschriebenen Störungen am MR- Bild erklären könnte (s. Abb. 20).

RAUSCHNINGS Methode, die Präparate komplett in Zellulose einzubetten um diese sowohl am MRT als auch schnittanatomisch zu untersuchen umgeht das Befestigen der Präparate (RAUSCHNING 1983, BASSETT et al., 1991, RAUSCHNING et al. 2003), aber es ist dadurch schwierig, die Blöcke zum Sägen einzufrieren (s.u., 4.3.), besonders bei Verwendung von Nitrozellulose (BENNET 1940). Es scheint einfacher zu sein, das Präparat in der gewünschten Position auf einer MR- neutralen Unterlage (hier PVC- Acryl- oder Phenolharzplatte) zu fixieren, dann zu untersuchen und erst nach der Untersuchung in Gelatine einzubetten, dann nach Vorkühlung einzufrieren um die Schnitte zu akquirieren (Abb. 6 a). Das gilt besonders für Präparate, an denen an der Haut sehr einfach Markierungen angebracht werden können (s.o., 4.2.1.).

4.3. Einfrieren und Sägen

Das Einfrieren wirkt sich hauptsächlich auf das Gewebswasser aus, den Hauptbestandteil des Körpers. Die Angaben des Wasseranteils schwanken allerdings von 50% – 80% (s.u., Anmerkungen). Die beim Einfrieren von Wasser nötige Energie ist dessen ungeachtet gewaltig (s.u., Anmerkungen).

4.3.1. Die Einwirkung des Vorkühlens auf das Einfrieren

Menschliches Gewebe hat durch den mehr oder weniger hohen Wasseranteil eine hohe Wärmekapazität, was bedeutet, daß beim Einfrieren viel Energie entzogen werden muß und zwar in kurzer Zeit, weil sonst Gefrierbrüche entstehen (STEINMANN 1982).

ZHANG und LEE (2002) erreichen eine hohe Qualität durch Sägen von 2,5 mm dünnen Schnitten ohne eine Vorkühlung des Gewebes vor dem Einfrieren. Nach der beschriebenen Technik können wir weder von 77 ♀ a (alkoholfixiert, unperfundiert) noch von 76 ♀ a (o. Vorkühlung) Schnitte von weniger als 3 mm Dicke akquirieren. Die Schnitte des nicht vorgekühlt eingefrorenen Leichnams 77 ♀ a entsprechen in der Dicke von 3 mm etwa der Schnittdicke 2 – 4 mm auch der Qualität der Autoren VON HAGENS und KNEBEL (1978) und den Ergebnissen ENTIUS et al. (2 mm), die alle keine Vorkühlung erwähnen (1997). Da die Sichtfläche des ohne Vorkühlung eingefrorenen Gewebes von 77 ♀ a makroskopisch sichtbare Eisnadeln zeigt (STEINMANN 1982), wie auch im Hirn des Präparates 85 ♀ a (Abb. 29 c), ganz im Gegensatz zu den makellosen, die anatomischen Strukturen eindeutig verifizierenden Schnittflächen vorgekühlter Präparate, etwa 79 ♀ und 94 ♀ a (z.B. Abb. 23), ist anzunehmen, daß die Eisnadeln beim Einfrieren entstehen, wenn nicht vorgekühlt wird.

Eisnadeln sind für das Zerfallen der Schnitte bei einer Schnittdicke unter 2 mm sicherlich mit verantwortlich. Den Effekt des „Ausfrierens“ beschreibt TAMMANN (1898).

Auch VON HAGENS rät 1985, Gewebe vor dem Einfrieren vorzukühlen. Wir schlagen deshalb vor, das Gewebe von ganzen Leichen über mindestens 36 h, bei isolierten Präparaten über mindestens 12 h in entsprechenden Kühlanlagen einer Temperatur von $\pm 0 - -1^{\circ}\text{C}$ auf $+1 - - + 4^{\circ}\text{C}$ abzukühlen, bevor eingefroren wird.

4.3.2. Die Wirkung des Einfrierprozesses auf das Scheibenplastinat

SORA et al. (2002a, b) frieren bei -85°C für eine Woche ein und machen keine näheren Angaben zu weiteren Umständen, etwa Vorkühlung oder Gefrierhilfsmittel. Der männliche Leichnam des VHP wurde mit Trockeneis eingefroren (SPITZER et al. 1996, SPITZER et WHITLOCK 1998).

Auf die Wichtigkeit des Einfrierens VON HAGENS (1999) ein. Schockfrieren verhindert Eiskristalle und sichtbare Autolyse. Er empfiehlt möglichst kaltes Azeton (VON HAGENS 1999).

Werden Präparate beispielsweise in flüssigen Stickstoff eingefroren und durch Zuckerlösung o.ä. Schutzlösungen eine Dampfschicht um das Präparat verhindert, friert eine dünne Rinde um das Präparat sehr schnell ein (HUMBEL 1984). Im Inneren dehnt sich aber das Wasser bei $+4^{\circ}\text{C}$ kurz aus, um sich beim Einfrieren wieder zusammenzuziehen (Tabelle 1), wodurch sich die tiefere Schicht ausdehnt und die obere sprengt (NEUMANN 1955). Die beobachtete „Rindenstruktur“ der eingefrorenen Gelatine weist darauf hin. Sowohl SPITZER et al. (1996) als auch SPITZER et WHITLOCK (1998) müssen zirkuläre Spalten beobachten. Trotz der beim Erstellen des „VHP“ benutzten Plastikabdeckung des Leichnams treten diese gelegentlich auf und verhindern die beim Abschneiden des Gewebes vom Block den Gewebezusammenhalt, neben festgestellten der Störung des optischen Eindrucks (Abb. 25).

Der Wärmestrom ist durch die relativ geringe Wärmeleitfähigkeit des Wassers $\lambda = 0,58$ limitiert. (Zum Vergleich: die Wärmeleitfähigkeit von Kupfer: $\lambda = 392$; Holz: $\lambda = 0,14$ [W/mK]; s.u.: Anmerkungen).

Das heißt, es gibt ein Maß der möglichen, maximalen Abkühlung, bei der keine Absprengung des Gewebes entsteht (zu schnelles Einfrieren; NEUMANN 1955), aber auch keine Eisnadeln (zu langsames Einfrieren; PIECHOCKI 1986; STEINMANN 1982).

Beim Einfrieren sollte das Einfriermedium

- 1.) bis in tiefe Temperaturen flüssig bleiben,
- 2.) eine hohe Wärmeaufnahmefähigkeit besitzen und
- 3.) die Plastination nicht beeinflussen.

Bei einem Anteil von 85 T Azeton und 15 T destilliertem Wasser (AWL) bei einer Temperatur -85°C entstehen beim Einfrieren keine nachweisbaren Gefrierartefakte, wenn die Präparate gelegentlich bewegt und nach einer Stunde dem Gefriergemisch entnommen werden. Wir halten dieses Vorgehen für optimal, konsequentes Vorkühlen vorausgesetzt. AWL bleibt flüssig, hat durch den Wasseranteil von 15% eine relativ hohe Wärmekapazität c von 2,41 [Azeton $c = 2,1$; Wasser $c = 4,19$ ($\text{kJ}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$)]. Durch die höhere Wärmekapazität ist AWL zum Einfrieren besser geeignet als reines Azeton (VON HAGENS 1999). Das zeigt sich an der Untersuchung der Unterschenkel von 64 ♀ sowie an den weiteren Serien entsprechend eingefrorener Präparate.

ADAM und CZIHAK (1964) stellen dazu fest, daß Formalin- Eis nicht hinreichend hart wird, weswegen die erreichbare Schnittdicke für histologische Gefrierschnitte nur bei $25\ \mu\text{m}$ liegt. Unfixiertes Material läßt sich gleichwohl bis zu $10\ \mu\text{m}$ dünn schneiden (ADAM und CZIHAK 1964).

Unsere Ergebnisse an makroskopischen Präparaten bestätigen dieses Prinzip. Es ist auf Fixation zu verzichten, wenn DSP akquiriert werden sollen.

Wenn Kopfpräparate eingefroren werden sollen, scheint es günstig zu sein, das Schädeldach zu entfernen. Das geschah bei den Präparaten 77 ♀ b und 92 ♀, wo nach dem Sägen weniger Gefrierbrüche am Gehirn auftraten als zuvor (bis 2003 z.B. Präparat 94 ♀; STEINKE et al. 2002).

Zur Quantifizierung der Energie, die einem Präparat beim Vorkühlen (s.o., 4.3.1.) und beim Einfrieren (s.o., 4.3.2.) entzogen werden muß, benötigt man Angaben über den Wassergehalt menschlichen Gewebes. Allerdings schwanken die Angaben dazu sehr (s.u., Anmerkungen).

4.3.3. Das Sägen von Dünnschnitten

Mikrotomie/ Makrotomie/ Auflichtfotografie

NUNES et al. (1995) können die Topographie der Prostata in 1 mm Untersuchungsabstand durch Verwendung eines „*whole body microtome*“, also eines Makrotoms (PIECHOKI 1986) eindeutig beschreiben.

MOHSIN et al. (2002) nutzen diese Technik an Schafknochen, die sie in Metacrylat einbetten, was vermuten läßt, daß NUNES et al. (1995) keine Schnitte akquiriert hat, sondern die Oberfläche fotografiert. Die Autoren machen keine genauen Angaben zur Technik und geben dazu keine Literaturhinweise. Die NUNES et al. (1995) beigefügten Fotografien lassen auf das Auflichtverfahren von BASSETT et al. (1991) schließen. Das ist jene anatomische Präparationstechnik, die von HYRTL schon 1860 beschrieben wird. Mit dem Einsatz dieser Technik wird durch die Arbeit von SPITZER et al. (1996) die Korrelation von Auflichtfotografien mit MRT ermöglicht. Diese Methode wurde durch das *VHP* sehr bekannt (SPITZER et WHITLOCK 1998). Mit dem *CVH* (ZHANG et al. 2003) und dem *VHK* (CHUNG et PARK 2003) ist SPITZERs Technik kopiert worden. Das bedeutet, um Gefrierschnitte und BV zu korrelieren, ist die Auflichtfotografie Stand der Technik. Ob je makroskopische Gefrierschnitte über 20 x 20 cm Größe unter einem Millimeter Dicke mit einem Makrotom ohne vorherige Einbettung in Serie hergestellt werden können, darf bezweifelt werden.

Gefrierschnittechnik

Wie gezeigt werden kann, ist mit einer umgebauten Plastinationssäge ein Sägen von Gefrierschnitten unter 1 mm einfach möglich, wenn dazu ein kühler Raum und eine gekühlte Säge zur Verfügung stehen. Die Arbeitsbedingungen in der Kühlzelle erschweren ein kontinuierliches Arbeiten. Unter welchen Bedingungen ZHANG et AN (2000) 1,5 mm dünn schneiden konnten, wird nicht angegeben. Die unter den gegebenen Bedingungen gesägten Schnitte sind spröde aber haben bei der entsprechenden Temperatur des Schneidgutes einen guten Gewebezusammenhalt, wahrscheinlich weil durch die erreichten minimalen Gewebsschrumpfung beim Einfrierprozess wenig Gewebsspannung auftritt, die den Zusammenhalt der fertigen Gefrierschnitte zu stören vermochte (NEUMANN 1955, s.o., Tabelle 1). Die Kombination beider Methoden, der Makrotomie und der Gefrierschnittechnik, wird von NASH et al. angewandt (2004). Da die Sägeausrüstung für die Schnittplastination nicht nur teuer ist, sondern auch der Arbeitsschritt an sich etwas heikel, wird sie teilweise kritisch bewertet (SITTEL et al. 1997), denn selbst feinste Abweichungen der Justierung der Säge verursachen das Abweichen von den gegebenen Schnittebenen.

Damit wird ein Abweichen aus der Untersuchungsebene verursacht. Das kann durch das von uns angewandte schrittweise 90°- Verdrehen des Schnittguts ausgeglichen werden.

Bei den Sägearbeiten ist der Arbeits- und Gesundheitsschutz wichtig, denn es handelt sich großteils um unfixiertes Gewebe. Die Luftdüse der umgebauten Säge entfernt zwar die Späne von Schnitt und Sägeblatt. Es läßt sich allerdings nicht vermeiden, daß feine Späne in die kalte Luft gelangen. Einen dichten Mundschutz zu tragen ist deshalb unbedingt erforderlich, ebenso das Tragen thermischer und hygienischer Schutzbekleidung (Abb. 6 a). Die Hygiene und der Arbeitsschutz wird durch die getroffenen Maßnahmen beachtet.

Die Schnittdicke beim Sägen kann durch die Modifikationen konstant unter 1 mm verringert werden (STEINKE 2001; THOMAS und STEINKE 2002). Müssen Zähne geschnitten werden, sollte man diese ziehen oder wie DONATH (1988) mit einem Diamantblatt schleifen.

Die gefrorenen Schnitte lassen sich trotz der geringen Raumtemperatur fotografieren (Abb. 6b), [cd:\gefroren.avi], freilich sollte dabei beachtet werden, daß die Kamera zum Fotografieren bei Minusgraden geeignet ist. Weil die ersten Aufnahmen eine schlechtere Qualität haben als die letzten Bilder (Gelbstich) schließen wir daraus, daß die CANON- Digitalkamera zwar geeignet ist, allerdings vor Beginn der Fotoarbeiten temperiert werden sollte.

4.4. Entwässerung und Färbung

Azeton ist sowohl zum Gefrier austausch in allen angewandten Modifikationen, als auch für die Färbung geeignet, weil es unbegrenzt mit Wasser mischbar ist. Bei der Arbeit mit Azeton muß der Brandschutz beachtet werden. Die benutzten Geräte und die Elektroinstallation müssen geerdet und explosionsgeschützt ausgeführt sein. Wegen der leicht schädlichen Wirkung von Azeton ist auf stetige Luftzirkulation zu achten (s.o., 2.4.), [Online: SEILNACHT].

4.4.1. Die Gewebsschrumpfung im Gefrier austausch

Die Hirnscheiben schrumpfen bei 70%igem Azeton- Wasser- Gemisch (System A) um 3,07%, bei 85%igem (B) um 3,42% und in reinem Azeton (C) um 6,7% bei einer Temperatur von -25°C (Schmidt et Steinke 1996). SCHWAB und VON HAGENS (1981) beziffern die Schrumpfung von Hirnscheiben im Gefrier austausch auf 10 % im Gegensatz zur aufsteigenden Entwässerung in Methanol (53 %), Ethanol (54%) und Azeton (44%). ROMEIS (1989) beziffert die Schrumpfung beim Entwässern mit Alkohol auf 20 %. Die Methode von SCHWAB und VON HAGENS (1981) entspricht in unserer Untersuchung dem System C.

Die von den Autoren SCHWAB und VON HAGENS (1981) gemessenen Schrumpfungen von 10% betragen in unseren Untersuchungen ca. 7 % [Schrumpfung Messwert m1 bis m5 (Tabelle 11, Tabelle 12 und Tabelle 13; Diagramm 1, Reihe C)].

Etwa 5/7tel der Schrumpfungen treten in reinem, kaltem Azeton sofort auf (Diagramm 2). Leider machen SCHWAB und VON HAGENS zur Ermittlung ihres Schrumpfungswert von 10% keine nähere Angabe und nichtsdestoweniger über die Probenanzahl (SCHWAB et VON HAGENS 1981).

VON HAGENS (1999) stellt zusammenfassend die Wichtigkeit des Gefrier austausches für die Mikroskopie und die Elektronenmikroskopie fest und zeigt, daß Scheibenplastinate nach der von ihm beschriebenen Technik (nicht dünner als 2,5 - 4 mm) mit dieser Technik entwässert werden. Es zeigt sich durch des Autors große praktische Erfahrung, daß alte Gefrier austauschlösungen wieder verwendet werden können (VON HAGENS 1985). Bei der Wiederverwendung erhöht sich wohl auch der Anteil des Wassers, was dann die Schrumpfung reduziert. Der damit beobachtete Qualitätsgewinn deckt sich mit unseren Befunden des Verwendens von AWL, die wir gezielt durch die Anwendung der AWL.. Zwar wird für VON HAGENS die submakroskopische Untersuchung in 100facher Vergrößerung möglich, jedoch sind die Körperscheiben über 2 mm dick (VON HAGENS (1999).

Körperscheiben unter 1 mm im Gefrier austausch zu entwässern wird aber erst möglich, wenn das Entwässerungsgemisch 15% A.d. enthält (AWL, STEINKE 2001).

Die von uns durchgeführten Messungen an Hirnscheiben in Länge und Breite ergeben keine signifikante Aussage, doch bleibt die Tendenz deutlich, daß Hirnscheiben während des Gefrier austauschs in reinem Azeton gleich zu Beginn der Entwässerung schrumpfen (SCHMIDT et STEINKE 1996, Diagramm 1). Von reinem Azeton im ersten Schritt des Gefrier austausches ist zu warnen, im Gegensatz zu HUMBEL (1984) der diese Form der Gefriersubstitution empfiehlt. Die Zuverlässigkeit unserer Untersuchung wird erschwert durch die Messungen (m2) bis (m5) in der Genauigkeit eines halben Millimeters, weil das Azeton schnell verdampft, wodurch neue Schrumpfungen hätten auftreten können.

Dass die Präparate in Länge und Breite verschieden schrumpfen, zeigt Diagramm 4. Im Präparat treten scheinbar selbst bei -24°C Spannungen auf, wenn in Azeton sublimiert wird, was wir als Ursache schnellen und ungleichmäßigen Schrumpfens ansehen, wenn nach der VON HAGENS angegebenen Methode entwässert wird (VON HAGENS et al. 1987). Die dünnen Körperscheiben zerbrechen in diesem Falle. Sehr kleinen und dünnen Objekten scheint das allerdings nicht zu schaden (HUMBEL 1984).

Untersuchungen über Entwässerungssysteme sind rar (SORA et al. 2002b).

Einige wichtige Entdeckungen wurden gemacht, weil die etablierten Techniken „versehentlich“ geändert wurden, so etwa die von RUSTOM et al. (2004) kürzlich gemachte Entdeckung der „*nanotubes*“, die den Stofftransport zwischen Zellen ermöglichen sollen, was andere Theorien ad absurdum führt. *Nanotubes* konnten vorher nicht nachgewiesen werden, möglicherweise, weil diese winzigen Interzellulären Strukturen durch die Schrumpfung während der Entwässerung zerbrachen. Durch gestaffeltes Entwässern in 1-propanol (für TEM) bzw. Alkohol mit CO_2 - Gefrieraustausch (für HR Laserscanningmikroskop und ELMI) konnten die Zellen so in Epoxidharz eingebettet werden, daß durch RUSTOM et al. (2004) die „*nanotubes*“ nachzuweisen waren [Online: RUSTOM]. Zellzählungen können repräsentativ sein, wenn die aufgetretene Schrumpfung eingerechnet wird, um die wirkliche Zellzahl des nativen Zustandes aus dem entwässerten Präparat zu extrapolieren (STEINKE et al. 1997).

Wir empfehlen dazu den gestaffelten Gefrieraustausch, der beginnend beim Einfrieren in 85%igem Azeton bei -85°C (s.o., 4.3.1.) und bei -25°C beschleunigt vonstatten geht.

Beim Entwässern in 70%igem Azeton (A) treten bei -25°C neben den beobachteten Problemen mit den hinderlichen Eiskristallen auch Verwerfungen auf, scheinbar ebenso verursacht dadurch, daß die Präparate in Länge (x) und Breite (y) ungleichmäßig schrumpfen (Diagramm 2). Weil die Schrumpfungen hier am geringsten sind (etwa 3%) zerbrechen dünne Körperscheiben nicht, trotz ungleichmäßiger Schrumpfung. Das ist an stark wasserhaltigen Hirnscheiben gut zu beobachten (SCHMIDT et STEINKE 1996).

Verschiedenartige Schrumpfungen treten kaum auf, wenn 85%iges Azeton zum Entwässern eingesetzt wird (System B, Diagramm 3). Die Kurven für Länge und Breite liegen dicht beieinander. Gleichmäßiges und lineares Schrumpfen in 85%igem Azeton (=AWD) bestätigt unsere Beobachtungen, daß Körperscheiben bei der Entwässerung in AWD am wenigsten zerbrechen (SCHMIDT et STEINKE 1996). Die Schrumpfung liegt dann bei etwa 3½%, etwa der Hälfte der von SCHWAB und VON HAGENS (1981) beobachteten Schrumpfung.

Werden helle Präparate gebraucht, kann im ersten Schritt des gestaffelten Gerieraustauschs mit 3% H₂O₂ oder mit 8‰ Peressigsäure gebleicht werden. Da diese Methode an SPALTEHOLZ- Präparaten gute Ergebnisse zeigt, bleibt die Gewebefeinstruktur an DSP vermutlich auch erhalten (STEINKE et WOLFF 2001).

4.4.2. Der gestaffelte Gefrier austausch

Zur Plastination müssen langkettige Alkohole aus dem Präparat entfernt werden (VON HAGENS 1985), weswegen MAGIROS et al. (1997) aus den Schnitten die formalinhaltige Fixationslösung „*american blend*“ mit 50%iger Alkohollösung mit ≤ 2 % H₂O₂ auswaschen, was für unsere dünnen Scheiben entfällt, weil hier nicht fixiert wird. Dass bei der Behandlung mit H₂O₂ 5%ig eine Aufhellung erreicht wird, ist klar. Die vorgeschlagene Beimengung von 8 ‰ Peressigsäure zum ersten Schritt des gestaffelten Gefrier austausches hat gleichen Effekt. Von Nachteil ist, daß diese Färbungen beeinflusst werden (s.u., 4.4.4.). Dem steht der Vorteil gegenüber, daß die Bleichung schon während des Gefrier austausches beginnt. Wichtig scheint, eisenfreies Material zu benutzen, damit die braunen Niederschläge ausbleiben, die PLATZER et al. davon in Abhängigkeit vermuteten (1987). Alkohol ist weniger gesundheitsschädlich als Azeton [Online: SEILNACHT]. Dessen ungeachtet ist Ethanol trotz des relativ niedrigen Schmelzpunktes von -117°C (Siedepunkt: 79°C, Flammpunkt: 12°C) zum Gefrier austausch ungeeignet, denn er wird in der Kälte viskös. Azeton hingegen bleibt bis -95°C flüssig und ist daher besser geeignet (Siedepunkt: 56°C. Flammpunkt: -17°C).

Wegen der beobachteten Schrumpfungen im Gefrier austausch wurde gestaffelt entwässert. Nach dem Gefrier austausch in 85%igem Azeton wird erst dann in reines Azeton überführt, wenn sich ein Gleichgewicht zwischen Wasser und Azeton eingestellt hat, was mit einer Dichtespindel leicht zu prüfen ist.

Für Körperscheiben ist dieses Verfahren probat (STEINKE et al. 2002). Durch den hohen Wassergehalt menschlichen Gewebes (wozu recht verschiedene Angaben gemacht werden, s.u.: Anmerkungen) erscheint dieses Verfahren besonders günstig an Hirnen zu sein, und wie jüngste Experimente ergaben, noch viel mehr an Augen. Das Gleichgewicht stellt sich bei Körperscheiben in Lösung nach etwa 3 Wochen ein.

Das Ende des Gefrier austauschs muß mit einer geeichten Dichtespindel geprüft werden, etwa einem Alkoholometer, daß für Azetondichtemessungen leicht zu gebrauchen ist, weil beide Medien gleich dicht sind [Online: SEILNACHT]. QIU et al. setzen dieses Verfahren ein, allerdings für Blockplastinate (QIU et al. 2003, 2004a). Auch NASH et al. entwässern mit gestaffeltem Gefrier austausch (2004). Der gestaffelte Gefrier austausch ist zur Entwässerung biologischen Materials zu empfehlen.

4.4.3. Das Entfetten der Körperscheiben

Das Entfetten wird bereits während des letzten Schrittes des Gefrier austausches eingeleitet (SEIBOLD et al. 1991). VON HAGENS (1986) empfiehlt, zur Entfettung von Körperscheiben Dichlormethan einzusetzen, das aber im Verdacht steht, Krebs zu erzeugen (s. Anmerkungen: Auszüge aus der Gefahrenverordnung) und der Gefahrgruppe R 40 zugeordnet ist. In Räumen kann es bereits bei einer Bearbeitungsfläche größer 0,5 m² zu schweren Unfällen kommen. Der Geruchssinn ist hier kein geeigneter Indikator (Dichlormethan MAK 100 ml/m³ 360 mg/m³; HENSCHLER 1994). Dichlormethan zum Entfetten einzusetzen ist vom Gesetzgeber stark eingeschränkt (LUTTER 1990). Methanol entfettet zwar schnell, ist aber feuergefährlich und gesundheitsschädlich. Benzin ist von Vorteil bei sehr fetthaltigen Präparaten (MINKWITZ 1991), wurde aber durch Verordnungen eingeschränkt (s. Anmerkungen).

Noch im Präparat verbliebenes Restwasser zeigt sich am besten bei der Entfettung mit Benzin und Dichlormethan. Es entstehen milchige Verfärbungen. Diese können mit Azeton entfernt werden. Stark feuergefährlich ist Äther, der aber sehr schnell und gut entfettet (SEIBOLD et al. 1991), wodurch allerdings stark fetthaltiges Knochenmark zerbrechen kann (THOMAS et al. 2004) (Abb. 2g), s.a. [Online: SCHULTERPLASTINATION].

Die Entfettung mit Methylenchlorid ist schneller als mit Azeton. Da bei der Entfettung unter Raumtemperatur im Ergebnis kein Unterschied zwischen Methylenchlorid- und Azeton auftritt (79 ♀, Abb. 7) erscheint es angezeigt, die Präparate im Gefrier austausch zu entwässern anschließend und für zwei bis drei Wochen bei Raumtemperatur in Azeton zu belassen, bis sich die Lösung nicht mehr verfärbt und somit Entfettung abgeschlossen scheint (COOK 1997).

Das Präparat wird völlig fettfrei, was BRIZZI et al. (1994) zur Beschreibung des subperitonealen Bindegewebes für nötig hält. Auch die Bindegewebsstrukturen werden erst durch starke Entfettung detailliert sichtbar (COOK 1997). Für diesen Zweck scheint an DSP die Entfettung weniger wesentlich zu sein, denn die DSP sind drei bis viermal so dünn wie übliche Schnittplastinate. Dennoch hat die Entfettung starken Einfluss auf die Anfärbbarkeit (s. u., 4.4.4.), was ROMEIS beschreibt (1989). Auch die an SPALTEHOLZ- Präparaten beobachtete Braunfärbungen und die damit verbundenen histologischen Eigenschaften dieser Präparate scheinen auf nicht entfernte Fette und ihre Umwandlung Fettsäuren zurückzuführen zu sein (STEINKE et WOLFF 2001). Diese Braunfärbung tritt besonders an alten, lange liegenden SPALTEHOLZ- Präparaten und nach bei Plastinaten nach dem Tempern auf (s.u., 4.6.2.), und zwar sowohl an den Präparaten als auch an den Kunststoffen auf (REIZ 2002). Die an 75 ♀ b erfolgte Entfettung und noch mehr die dreimonatige Entfettung von 79 ♀ (Abb. 23) hatte ausgezeichnete Ergebnisse: sie scheint zur Erzeugung von DSP hoher Qualität wichtig zu sein.

Unsere Untersuchungen zeigen, daß diese Braunfärbung zwar mit dem Säure-Basen- Gehalt und dem Vorhandensein von Eisen zu tun haben kann, wie das für Präparate auch PLATZER et al. (1987) beschreiben. Eine starke Entfettung löst die Fette und weniger die Mineralien aus dem Gewebe (PIECHOCKI 1986). Die stark entfetteten Präparate (79 ♀, Abb. 7, 23 b) sind sehr viel weniger dunkler geworden als die weniger entfetteten (94 ♀ a, Abb. 23 d).

Der Hauptgrund des Braunwerdens von Präparaten scheint der Fettgehalt zu sein. Auch aus dem Grund, die Braunfärbung möglichst zu verhindern, ist die starke Entfettung sehr empfehlenswert.

4.4.4. Die Einführung histologischer Färbemethoden während des Gefrier austausches

Körperscheiben werden üblicherweise histologisch gefärbt, nachdem sie vom Stück- oder Blockplastinat abgesägt wurden (u.a. FRITSCH 1988, 1989, 1993, 1994, FRITSCH et EGGERS 1999, BRENNER et al. 2002, FRITSCH et al. 2004 usw.).

Da der Kunststoff während der Imprägnation den Gewebeblock durchtränken muß, ist diese Methode begrenzt anwendbar: die Haut muß bei der Herstellung von Blockplastinaten stets entfernt werden, denn diese ist eine Diffusionsbarriere für Kunststoff (VON HAGENS 1985; s.o., Kap. 1). Von Blockplastinaten Scheiben zu akquirieren und diese zu färben ist daher auf kleinere, isolierte Präparate begrenzt (z.B. Anus: PESCHERS et al. 1997; Larynx: ECKEL et al. 1993, SITTEL et al. 1997; Becken: FRITSCH et HÖTZINGER 1993 usw., FRÖHLICH et al. 1997; Finger: HOCH et al. 1999. 2004a, 2004b; nach der Technik beschrieben von FRITSCH 1989).

Wird bei der Blockplastination die Haut nicht entfernt, beispielsweise bei der Untersuchung subcutanen Gewebes, muß trotzdem eine Gewebeprobe aus dem Gewebeverband entnommen werden, damit dieses „von unten her“ plastiniert werden kann (GARDETTO et al. 2003). Nach der Polymerisation, dem Schneiden und Schleifen können die Plastinate gefärbt werden. Bei Gefrierschnitten ist die FRITSCHsche Methode nicht durchführbar: beim Auftauen würden die Dünnschnitte zerfallen (FRITSCH 1988).

Deshalb wird die Blockplastination mit histologischer Färbung für MRT-korrelierende Untersuchung großer Untersuchungsgebiete bisher nicht angewendet, sondern stets die Scheibenplastination ohne Färbung (u.a. MAGIROS et al. 1997).

Die Färbung ist an DSP nur während des Gefrier austausches möglich, denn im plastinierten Zustand liegen am DSP die Fasern des Präparates nicht frei, im Gegensatz bei Abschnitten von Blöcken. Am Hirn ist diese Technik bereits eingeführt (BAERES et MOLLER 2001).

Vorversuche

Zur Färbung des Muskels sind trotz des Überschusses an sauren Gruppen die meisten erprobten Farbstoffe sauer. HARMS (1965) erklärt dieses Phänomen damit, daß Myosin in salzfreien Lösungen einen isoelektrischen Punkt bei pH 5,4 hat, „daß dieser aber durch ganz kleine Mengen Ca^{++} und Mg^{++} auf $pH < 9$ verschoben wird“. Möglicherweise ist diese Empfindlichkeit die Ursache dafür, daß in den benutzten geringen Farbstoffkonzentrationen saurer Lösungen (von Gieson, Pikrinsäure, Masson- Goldner- Färbung) nicht die gewünschten Ergebnisse eintraten.

Das saure Eisenmämatoxin der van Gieson- Färbung (Abb. 27 a) sowie der Masson- Goldner- Färbung blieb im Epoxidharz stabil. Der saure Farbstoff Lichtgrün erweist sich für die DSP als ungeeignet, scheinbar weil AWL zu wenig Wasser als Lösevermittler enthielt. Die in der van Gieson- Färbung vorhandene Pikrinsäure braucht zwar kein Wasser, jedoch tritt damit eine reversible Verfärbung ein, was die Ausschwemmungen belegen (Abb. 27 a). Die Muskulatur und das Bindegewebe sind gefärbt, obwohl Pikrinsäure sichtbar aus dem Präparat auszutreten. Deshalb scheinen an diesen Färbungen das Eisenhämatoxin zu wirken, wie auch bei den van Gieson und Crossmon- Gemischen (Ab. 27 b). Besonders CLARAs Molybdänhämatoxin färbt, ist allerdings teuer (CLARA 1933).

Sämtliche Farbstoffe

An plastinierten Dünnschnitten, die von Blöcken mit einer Diamantdrahtsäge abgeschnitten werden, gelingt FRITSCH (1989) die Färbung von Muskulatur und Weichteilen mit Methylenblau und Azur II 0,25%ig in einer 0,25%igen Lösung Na_2CO_3 , einer Gegenfärbung mit 0,5%igem basischen Fuchsin und einem Bad von 0,5%igem Na_2CO_3 , alles in destilliertem Wasser gelöst.

Die Anwendung von der von FRITSCH (1989) in die Plastinationstechnik eingeführten Färbungen Methylenblau (Merck) und Azur II (Merck) wirken diese in sehr dünnen Konzentrationen bei der Färbung von DSP. Bei Methylenblau und besonders bei Azur II (Substituent von Azur A, HUMPHREY et PITTMANN 1974) tritt in reinem Azeton Metachromasie auf (HARMS 1965). Die Muskeln werden grünlich (ADAM et CZIHAK 1964, BURCK 1982). In sehr dünnen Konzentrationen benutzen HUMPHREY et PITTMANN (1974) Azur II (0,02 g / l). Unsere Lösungen sind entsprechend der Erfahrung von SPALTEHOLZ (1911) mit der Stückfärbung in noch geringeren Konzentrationen wirksam. Von der 0,1%igen Stammlösung werden nur einige Tropfen in AWD pipettiert, solange, bis die Lösung farbig erscheint (Abb. 27 d unten, basisches Fuchsin).

Nach einer Woche entfärbt sich die Lösung und das Präparat nimmt Farbe an (Abb. 27 d oben, Methylenblau). Einige Körnchen des von FRITSCH (1989) vorgeschlagenen Na_2CO_3 in die Stammlösung genügen für die AZUR A-Färbung (0,5 g / l).

Die Crossmon- Färbung ist gestaffelt. Trichromfärbungen sind bekannt dafür, daß durch geschicktes Differenzieren die gefärbten Kollagenfibrillen von Epithel- und Muskelgewebe getrennt werden. Allein, je mehr Farbstoffe gleichzeitig in den Färbelösungen enthalten sind, desto weniger Differenzierungsmöglichkeiten und damit um so weniger Selektivität werden möglich (ROMEIS 1989). Für die gewählte Farbstoffkonzentration scheint zu gelten: je geringer, desto spezifischer wird gefärbt unter Verlängerung der Färbezeit auf Wochen. Eine Kombination von Methylenblau oder Azur II zu basischen Fuchsin ist zwar möglich, jedoch zur Darstellung von Bindegewebe und Muskulatur nicht notwendig.

Das saure Hämalan nach Crossmon färbt auch in geringsten Konzentrationen die Schnitte so wenig an wie das saure Lichtgrün, was bedeutet, daß nur das Säurefuchsin-Orange-Gemisch die Scheiben gefärbt hat, wohl wegen des Thymols, das diesem Gemisch zugegeben wird (BURCK 1982, ROMEIS 1998), (Abb. 27 b), [Online: HISTO]. So erscheint es sinnvoll, im nächsten Schritt nur mit dünnem Säurefuchsin zu färben, was dann neben der Muskulatur auch das Bindegewebe mitfärbt (Abb. 27 c).

Da aber weder das saure Eisenhämatoxilin, noch das Säurefuchsin allein eine Differenzierung des Bindegewebes von der Muskulatur ermöglicht, erscheinen eine basische Färbungen in geringen Konzentrationen für DSP allgemein angezeigt. Neben dem geprüften Azur II und Methylenchlorid können weitere Farbstoffe in geringen Konzentrationen ausprobiert werden (etwa Brillantgrün, Gentianaviolett).

Bei gewissenhafter Vorbereitung des Präparates (s.o., 4.1.2.) ist eine Differenzierung bei nicht notwendig. Unserer Ansicht stören die dabei entstehenden langen Färbezeiten nicht den Laborbetrieb: sind Standards gefunden, kann man die Körperscheiben in ihren Lagerbehältern auch „nebenbei“ färben, da sie ohnehin bis zur Einbettung unter Raumtemperatur lagerfähig sind und darüber hinaus noch entfetten, was die Färbbarkeit wiederum verbessert (s.o., 4.4.3.).

Azur A und Azur II sowie Methylenblau sind auf Grund ihrer metachromatischen Eigenschaften in sehr starken Verdünnungen am besten geeignet, DSP in AWL zu färben.

4.5. Imprägnation

Die Imprägnation ist das Extrahieren des Intermediums (Entwässerung oder Entfettung, z.B. Azeton/ Methylenchlorid) in einer Flüssigkeit, dem Medium, beispielsweise aromatische polyzyklische Kohlenwasserstoffe bzw. Öle (SPALTEHOLZ- Technik, SPALTEHOLZ 1911) oder Kunststoffe.

Das Medium ersetzt das Intermedium, indem das leichtflüchtige Intermedium aus dem Gewebe ausgast, und das schwerflüchtige Medium dadurch ins Gewebe gelangt. Das Intermedium hat vorher das Wasser ersetzt (s.o., 4.4.). Es befindet sich also nach der Imprägnation anstelle des Gewebswassers.

Ohne die Imprägnation wird das Gewebe nicht mit Kunststoff durchtränkt, nicht „plastiniert“. Das bloße Einlegen in einen Kunststoff (Nitrozellulose: SPANNER 1926, BENNET 1940, HARMS 1956, HARMS (1965); Acrylate, Epoxide: BRITISH PLASTICS 1950), ist daher kein Plastinieren, sondern lediglich Einbetten (PIECHOCKI 1986).

Die Technik von ROSENBAUER (1954), der das Evakuieren des Intermediums nach dem Einlegen in Kunststoff in einem Vakuumexsikkator für zweckmäßig, aber nicht unbedingt notwendig erachtet, entspricht in weiten Teilen der „Plastination“, die 1978 durch VON HAGENS und KNEBEL vorgestellt wurde: bei ROSENBAUERs Technik dringt anstelle von Ölen, fetten und Wasser ins Gewebe und wird dann polymerisiert (s.u., 4.6.).

Daher ist ROMANIAKs Imprägnationstechnik (1946) als Plastination zu bezeichnen, denn *„the specimens are... transfered into the uncatalyzed plastic and avacuated in a vacuum desiccator [i.e. Exsikkator] to draw off the ether [i.e. intermedium] and allow the plastic to impregnate the specimen“* (ROMANIAK 1946: p. 602).

Im Falle der Imprägnation mit Kunststoff („Plaste“) wird dieser Vorgang als die „Plastifikation“ bezeichnet und erfolgt durch Kunststoffgemische, die später durch VON HAGENS (1985) formuliert wurden.

Im Unterschied zu ROMANIAKs Plastifikation mit unpolymerisiertem, (*uncatalyzed*) Epoxidharz benutzt VON HAGENS (1977) polymerisierende Kunststoffe zum Imprägnieren der Präparate, also zum „plastinieren“ (ROMANIAK 1946).

Das ist der ganze Unterschied, trotz dessen es ROMANIAKs Leistung bleibt, jene Technik erstmalig zu beschreiben und auch (bescheiden) anzuwenden, welche VON HAGENS 31 Jahre später als „Plastination“ patentieren ließ (VON HAGENS 1977) und sehr vorteilhaft anwendet: 12,6 Millionen Menschen sind mit den ausgestellten „Plastinaten“ in Kontakt gekommen (BOHANNON 2003).

Durch die Auswahl der Plastinationskunststoffe werden die späteren die physikalischen Eigenschaften des Gewebes bestimmt:

Silikon: für flexible, opake Stückplastinate (z.B. BIODUR[®] S10: von Hagens 1977 – 1987), [s.a. Online: 3D- STÜCKPLASTINATION]; und für Hirn (WADOOD et al. 1991, BAERES et MOLLER 2001, WEIGLEIN 1997, 2002);

Epoxidharz: für durchtränkte Einschlusspräparate, also. „Blockplastinate“ (ROMANIAK 1946: Polymerisation des Kunststoffes nach der Imprägnation), die zu auch dünnen Scheiben zerschnitten werden können (VON HAGENS et al. 1987, u.a. FRITSCH 1988, FRITSCH et HÖTZINGER 1993, FRITSCH et al. 2004 usw.; ZHANG et al. 2002; QIU et al. 2003, 2004a, 2004b);

für transparente Körperscheiben (BIODUR[®] E12: u.a. VON HAGENS et KNEBEL 1978, VON HAGENS et al. 1987, VON HAGENS (1999); ZHANG et LEE 2002); für Kopfscheiben, die Hirngewebe enthalten (STEINKE et al. 2002), und für transparente Totalpräparate (PAVKOV et al. 2004);

Polyester: für transparente Hirnscheiben (BIODUR[®] P30 oder P40, u.a. VON HAGENS 1985, VON HAGENS et al. 1987 usw.; WEIGLEIN 1997, 2002).

VON HAGENS wendet 1979 die SPALTEHOLZsche Erkenntnis an (1911), daß die optische Brechkraft (Refraktion) von Gewebe mit dem des Mediums (Öle, Kunststoffe) übereinstimmen muß, wenn transparente Präparate entstehen sollen: 1995 ist das hochbrechende Epoxidharz E12 (BIODUR[®]) entwickelt worden. Damit wurden es möglich, Gewebe entsprechend der charakteristischen Lichtbrechkraft (n_D) mit Kunststoffen zugehöriger Refraktion zu imprägnieren und mikroangiografisch zu untersuchen (EITEL et al. 1986). An dicken Scheiben oder Totalpräparaten scheint die Methode zu versagen. So wurde der Uterus bei der Totalplastination mit Epoxid trotz glatter Oberfläche nicht völlig transparent (PAVKOV et al. (2004)). Hirngewebe hat eine noch höhere Refraktion als Körpergewebe ($n_D=1,65$, -> Polyester P40, VON HAGENS 1979, 1981, VON HAGENS et al. 1987). An Kopfscheiben mit Hirn wird also entweder die Hirnsubstanz transparent (P 40) oder das restliche Gewebe (E12).

Wir zeigen mit dem Kunststoff FO 127, dessen Brechkraft zwischen E 12 und P 40 liegt, daß beide Gewebearten zwar nicht optimal, jedoch homogen transparent imprägniert werden können (Abb. 24).

Um Durchsichtigkeit zu erzielen, werden die Refraktionen von Gewebe und Kunststoffen gemessen. Durch Anwendung von Kunststoffen mit einer Refraktion nahe des Gewebsindex kann Gewebetransparenz erreicht werden. So ist die Refraktion (n_D bei $\lambda = 1000$ nm) von Paraffin (1,467 > 1,405, COOPER 1982, flüssig gemessen) niedriger als die von Silikon (1,520 – 1,560 liegt eigene Messung). Das erklärt daß in Paraffin eingebettetes organisches Gewebe weniger „aufhellt“, d.h. durchsichtig wird als in Silikon. Epoxidharz (1,548, COOPER 1982) kommt dem Index des Gewebes am nächsten, was dadurch beginnt, transparent zu werden (SPALTEHOLZ 1911). Nun werden die in dem Gewebe verlaufenden Strukturen sichtbar. Diese können dargestellt werden, 1. durch Injektionen oder durch die Pigmentierung des verbliebenen Blutes (BRIZZI et al. 1994, EITEL et al. 1986), 2. durch Färbungen oder 3. durch die Ausnutzung der Refraktions-Unterschiede im Gewebe (MATSKO et MUELLER 2004, NASH et al. 2004), wobei sich Nervengewebe durch dessen hohe Refraktionskraft besonders klar abbildet (MATSUMURA et SAITO 1997, ZHANG et al. 2002). Nervengewebe wird wie Hirngewebe nicht mit Epoxidharz transparent, sondern vielmehr mit Polyester (VON HAGENS 1979). FO 127 liegt dazwischen (STEINKE et al. 2002).

Mit der Refraktionseinstellung nach AUGERSON et MESSINGER (1993) wird es möglich sein, Plastinate wie SPALTEHOLZ-Präparate „aufzuhellen“ (SPALTEHOLZ 1911), wie das SEIBOLD et al. (1991) oder PAVKOV et al. (2004) mit E12 in verschiedenen Mischungen mit mäßigem Erfolg versucht haben. Es entstünden dann „durchsichtige Plastinate“.

Werden die Scheiben beim Imprägnieren braun, dann sind diese entweder zu dick, zu pigmentreich, zu fetthaltig oder mehrerer dieser Fehler treten in Kombination auf. In diesem Falle dunkeln die Scheiben bei der Imprägnation durch das Sichtbarwerden der Pigmente, die in der Tiefe des Gewebes liegen. Der Vorgang des Durchsichtigmachens ist dann nicht „Aufhellen“ sondern Verdunkeln (SPALTEHOLZ 1911). Die Stärke des anstehenden Effektes am DSP zeigt sich schon an den Schnittflächen der gefrorenen Präparate (s.o., 4.1.) und zieht sich durch alle Schritte bis zur Imprägnation mit Kunststoff. Dieser Vorgang erklärt auch, warum während des Imprägnierens die Färbungen deutlicher hervortreten. Allerdings kann auch die Beimengung von Peressigsäure nicht hinreichend ausbleichen, wenn das Gewebe nicht hinreichend zur DSP vorbereitet wurde (s.o., 4.4.2.).

4.5.1 Das Polymerisationsverhalten von Kunststoffflotten

Die Immersion in Kunststoff von 5°C hat den Vorteil, daß das Präparat langsam von Kunststoff durchdrungen wird, wodurch eine vorzeitige Impermeabilität des Gewebes durch Harz vermieden wird (SEIBOLD et al. 1991). Je geringer die Reaktionstemperatur, desto geringer ist die beobachtete Eigenschumpfung des Polymers (BRADY 1992). Geringe Reaktionstemperaturen sind daher neben der Reaktionsverzögerung von Vorteil (5°C: 3 d, 10°C: 1 d). VON HAGENS schlägt -25°C vor, allerdings für die Imprägnation dickerer Scheiben (2 – 4 mm, 1999). Gegenteilig warnen SORA et al. (2002b) vor Minusgraden, weil dann Kristalle entstehen. Bei tiefen Temperaturen besteht diesem Autor folgend außerdem die Gefahr von Wasserniederschlägen im Ansatz. Dem Ansatz wird beim Evakuieren Wärme entzogen. Mit Azeton durchsetzte, ehemals stark wasserhaltige Präparate (Muskeln, Hirn) sollten deshalb in einen 10°C kühlen, stark knochenhaltige Präparate in einen 5°C kühlen Ansatz gebracht werden. Sollte sich der Ansatz auf Minusgrade abkühlen, schadet das nichts: durch das aufkochende Gas bleibt dieser in ständiger Bewegung, was die Bildung der von SORA et al. befürchteten Kristalle sicher verhindert (SORA et al. 2002b, Abb. 8).

Die Polymerisationsschrumpfung der Kunststoffflotten beginnen mit der Gelierung (BRADY 1992). Mit anpolymerisierten Flotten zu imprägnieren schlägt auch VON HAGENS vor (1985). Das hat sich bewährt. Einschränkend ist abzuraten, bei der Plastination von DSP bereits stark polymerisierte Mischungen der Flotte beizumengen, weil in diesem Falle die Polymerisation zu stark beschleunigt würde. Wir können die auftretende Schrumpfung bei E12 nicht bestimmen. Die Schrumpfungen sind von Gemisch zu Gemisch verschieden (KLAUS et KNOWLES 1966). Bei kleinen Präparaten findet die Eigenschumpfung des Polymers wenig Beachtung (MATSKO et MUELLER 2004); an großen Schnittpräparaten entstehen an deren Kunststofffränder Verwerfungen auf, die durch die Verbesserung der Technik nicht mehr eintreten (s.o., 3.5.1.). Mit der beschriebenen Polymerisationstechnik wird es möglich sein, die von SCHILL (2003) eingeschätzte Polymerisationsschrumpfung von 10 % zu minimieren.

4.5.2 Die Gewebsschrumpfung während der Kunststoffimprägnation

Mit der Imprägnation werden 70 % der Substanz des Körpers durch Kunststoff ersetzt (JONES 2002, s. Anmerkungen: Wassergehalt des Menschen). Anstelle eines Teils der Fette, die Öle und das gesamte Wasser diffundiert die polymerisierende Kunststoffflotte in das verbliebene Stützgerüst.

Das geschieht durch das Absaugen des Intermediums (Azeton, Methylenchlorid) aus diesem Stützgerüst. Unter Vakuum entsteht ein im Stützgerüst ein Unterdruck. Je größer dieser ist, desto mehr Azeton wird abgesaugt und desto mehr Kunststoff dringt ein. Die resultierenden Kräfte gleichen sich aus, wenn die Viskositäten gleich sind. Ist die Kunststoffflotte dünn honigviskös, dann ist ebenso die auftretende Schrumpfung beim Aufbau des Vakuums akzeptabel. SEIBOLD et al. stellen 1991 dazu fest, daß es bei zu starkem Anstieg des Vakuums zu einem Schließen der „Gewebe-poren“ kommen kann (SEIBOLD et al. 1991). Deswegen verlängern diese Autoren auch die Imprägnation auf 5 – 6 d. Sind die „Gewebe-poren“ erst einmal verschlossen, wird das Präparat zusammengedrückt und schrumpft. Das geschieht unserer Meinung nach besonders, wenn nach dem Öffnen des Exsikkators der Luftdruck einwirkt.

Die von BRADY an Epoxid (1992) quantifizierten Schrumpfungen sind abhängig vom zugegebenen Anhydrid und unabhängig vom Mischungsverhältnis der Reaktionspartner. Allerdings ist nicht klar, welcher Reaktionspartner bei BIODUR® E 12 verwendet wird, weswegen die Messungen von SORA et al. (2002 c) nur auf dieses eine Epoxid zutreffen können.

4.5.3 Das adaptierte Imprägnieren von Körperscheiben mit Kunststoff

Eine massive Schrumpfung von zu plastinierendem Gewebe tritt ein, wenn der Exsikkator plötzlich geöffnet wird. Es befinden sich im Gewebeverband möglicherweise im Vakuum Räume, die noch nicht mit dem Medium gefüllt sind. Das zeigen sowohl die beachtlichen Unterschiede jener Hirnscheiben, auf die der Luftdruck schlagartige einwirkte zu jenen, die adaptiert imprägniert wurden, als auch die Erfahrung, daß DSP zerbrechen, wenn der Exsikkator plötzlich geöffnet wird (STEINKE 2001). Zu starkes Evakuieren und ein zu schnelles Öffnen des Exsikkators sind beim Imprägnieren daher besonders zu vermeiden. Die von SEIBOLD et al. (1991) beschriebene Methode, bereits plastiniertes Gewebe zur histologischen Färbung zu deplastinieren (s.u., 4.6.) und anschließend erneut zu plastinieren, muß dieser Ansicht nach zu besonders starker Schrumpfung führen, wenn nicht adaptiert imprägniert wird. Je langsamer die Schnitte durch ein feines Bypassventil an den Luftdruck adaptiert werden, desto geringer scheint die Schrumpfung zu sein.

Die Temperatur sinkt während des Evakuierens, was sich an dem Kunststoffansatz zeigt, der während des Evakuierens erst viskös und nach dem Evakuieren wieder dünnflüssiger wird. Das ist weiterer Grund, schnelles Evakuieren zu vermeiden.

4.5.4. Das Einbetten der imprägnierten Körperscheiben

Schnitte mit einer glatten Oberfläche können als *Sandwich* eingebettet werden. Auf einer dünn mit Separator AE 10 eingeriebenen Folie, die auf einer Glasplatte liegt, wird eine imprägnierte Scheibe ausgelegt, mit etwas Kunststoffansatz überzogen, entstandene Blasen unter dem Abzug mit Methanolspray entfernt und darüber eine zweite Folie aufgerollt, wobei der überschüssige Kunststoff vom Schnitt entfernt wird. Nachdem man eine weitere Glasplatte und eine neue Folie aufgelegt hat, beginnt der Vorgang von neuem.

Diese Technik ist einfach, billig und schnell. Während VON HAGENS 1977 noch die Flachkammertechnik („*filling*“) beschreibt, bei der das Plastinat in Kunststoff eingegossen wird, wendet auch dieser Autor zunehmend die durch diesen 1985 beschriebene, einfache *Sandwich*- Technik an. Neben anderen wenden auch REIZ (2002) und SORA et al. (2002b) die Flachkammertechnik an. Dünne Scheiben können besser mit der *Sandwich*- als mit der „*filling*“- Technik eingebettet werden. Für dicke Scheiben (8 mm, SORA et al. 2002b, c) ist die Flachkammermethode das Mittel der Wahl.

4.6. Polymerisation

Die Polymerisation des Epoxids startet mit der Umsetzung des Säureanhydrids mit einer Hydroxy-Gruppe des Epoxidharzes zu einem Dicarbonsäuremonoester (AUGERSON et MESSINGER 1993). Die freie Carboxy-Gruppe des Monoesters setzt sich mit einer Epoxidgruppe unter Bildung eines Diesters und einer neuen Hydroxy-Gruppe um (BLÜMELHUBER 2002, ZECHLIN 1968). SEIBOLD et al. stellen die Eigenschaft der Epoxide zusammen, die VON HAGENS (1985) zur Plastination entwickelt hat (SEIBOLD et al. 1991) die wir in Tabelle 15 um den Ansatz für DSP erweitern.

Ansatz	Präparat	Bearbeitungszeit	Polymerisation	Bemerkung
E12/E1/AE15 100g/30g(=100T)/10 T	bis 5 mm	1 d	1 d	keine Deplastination möglich
E12/E6/E600 100g/50g/1Vol%	Blöcke	4 – 5 d	6 d	weich, mit Mikrotom schneidbar, gilbt
E50/E7/E700/AE15 100g/80g/0,1Gew%/ 25g	große Blöcke	6 – 8 d	1 d	Feinschliff o. AE15 möglich, wasserklar

Ansatz	Präparat	Bearbeitungszeit	Polymerisation	Bemerkung
E12/E1/AE15 100T/28T/5,5T	Schnitte < 1 mm	3 d	1 d	für DSP

Tabelle 15: Polymerisation von Ansätzen zur Plastination mit Epoxidharz

Die Angabe von Massenteilen ist einfacher als Rezepturen mit Gew% und Vol%. Die Komponenten werden nach T abgemessen und gemischt. E 7 ist bei Raumtemperatur kristallin. Bei E12/E1- Gemischen ist keine Deplastination möglich (30% Natiumethylat), die für feinhistologische Untersuchungen gelegentlich nötig ist (SPRINZL et al. 1995), was aber auch durch den Einsatz anderer Kunststoffe erreicht werden kann, etwa von Glykolmetacrylat, das zwar weniger optische Brechkraft aufweist (i.e. weniger Durchsichtigkeit) aber dafür länger verarbeitet werden kann (bei 8°C 20 – 28 d, QUESTER et al. 2002, KLAUS et KNOWLES 1966). ECKEL et al. (1993) und SITTEL et al. befinden (1997), daß Deplastination keine befriedigenden Ergebnisse bringt, weswegen hier nicht näher darauf eingegangen werden soll (zur Deplastination s. SEIBOLD et al. 1991). Verbliebene Fette verhindern eine vollständige Polymerisation (BLÜMELHUBER 2002). Sie müssen möglichst entfernt werden (s.o., 4.4.3.).

HOLST beobachtet eine Schrumpfung des Kunststoffes von 5 % (HOLST 2001). Ob die DSP mit dem Kunststoff gleichmäßig schrumpfen mag bezweifelt werden, denn es wurde ein welliges Verziehen der Scheiben beobachtet, wenn diese aus dem „Sandwich“ genommen wurden (s.o., 4.5.4.), obwohl sie noch nicht auspolymerisiert waren, was vermuten lässt, daß die Präparate weniger schrumpfen als die Kunststoffränder der Scheibe. Dieses ließ sich nicht durch Messungen quantifizieren. SORA et al. stellen fest (2002 c), daß eine Totalschrumpfung von 6.65% auftritt. Er kann allerdings auch keine Angaben machen, wie groß die Schrumpfung speziell beim Polymerisieren ist. Der klebrige Zustand der Plastinate scheint auch bei SORAs Messungen eine genaue Markierung zu verhindern (2002 c). Die Verwerfungen am Rande der Plastinate werden durch das Einbetten in einer Mischung aus einem Teil anpolymerisierte Kunststoffflotte aus vorheriger Plastination gemischt mit zwei Teilen neuem Ansatz vermindert, unter der Voraussetzung eines Restwassergehaltes unter 1,5%. Überschreitet dieser 4% treten neben den Verwerfungen auch weiße Niederschläge auf [cd:\becksagi/ bs_090px.jpg].

Eine Verringerung der Schrumpfung durch die Verwendung der Flachkammern scheint nicht wesentlich zu sein. Die Schrumpfung beträgt bei dieser Technik auch 10% (JOHNSON et ZHANG 2002).

4.6.1 Härte, Flexibilität und Transparenz von Dünnschnittplastinaten

Die Erhöhung des Weichmacheranteils verhinderte die Sprödigkeit der Präparate, die nach VON HAGENS Methode plastiniert wurden (1985). Gleichfalls wurden die Verwerfungen und die Neigung zum Zerschneiden eingeschränkt, wohl auch wegen der Verminderung der Polymerisationsrestwärme (MONTSERRAT et al. 1995). AUGERSON und MESSINGER (1993) erreichen durch Mischungen verschiedener Kunststoffe, daß der für die jeweilige Anwendung zutreffende Brechungsindex auf 1/100stel eingestellt werden kann. Die Zugabe von Härter zur Mischung E12 erreichte diesen Zweck nicht. Allerdings wurde die Flexibilität erhöht. Aus diesem Grunde wird es mit AUGERSON und MESSINGERS Methode (1993) in späteren Experimenten möglich sein, menschliches Gewebe durchsichtig zu plastinieren, wie das SPALTEHOLZ (1911) mit Flüssigkeiten erreicht. Für DSP mit Färbungen ist AUGERSON und MESSINGERS Methode ebenfalls geeignet.

Die Strukturen ungefärbter DSP zeigen sich besonders in den Kunststoffen E12 und FO127 (E 12: Abb. 10, 11, 17 u. 19; FO 127: 22 u. 24). Die Verringerung der Schnittdicke auf unter 1 mm ermöglicht die hohe optische Auflösung. Wesentliche Schrumpfungsverringerungen der Plastinate kann durch die Einführung von FO 127 nicht erreicht werden. Additive, wie chlorterminierte Polysulfone (HOLST 2001) können dem Epoxidharz nicht zugegeben werden, weil diese zu groß sind und nicht mit in das Gewebe diffundieren.

NASH et al. (2004) schneiden 10 x 10 mm kleine Scheiben in einer Dicke von 2,5 mm. Die beobachtete Transparenz der Harze hat zur Folge, daß die Strukturen im Inneren des Plastinats (hier: Fasern des subcutanen Bindegewebes) dreidimensional betrachtet werden können. Dabei entsteht ein kleines „SPALTEHOLZ- Plastinat“.

Auch PAVKOV et al. (2004) nutzen diesen Effekt zur dreidimensionalen Untersuchung des Uterus, wobei sich an diesem größeren Objekt zeigt, daß der Refraktionswert nicht völlig getroffen wurde, der notwendig gewesen wäre. PAVKOV et al. (2004) tragen Politur und einen Wachsüberzug auf. Dessen ungeachtet reicht die Transparenz nicht an ein SPALTEHOLZ- Präparat heran, an welchem man mit feiner Einstellung (1/1000stel) des zutreffenden Lichtbrechungsindex n_D das entsprechende Gewebe aufhellen kann.

Mit Kunststoff ist zwar durch die Modifizierung der Indices von Epoxiden möglich (AUGERSON et MESSINGER 1993), wurde allerdings bisher noch nicht für Präparate angewandt wurde. Wäre mit der Technik von AUGERSON et MESSINGER (1993) der Gewebsindex von Muskulatur ($n_D=1,555$, SPALTEHOLZ 1911) durch PAVKOV et al. (2004) genau eingestellt gewesen, hätte ein völlig transparentes Blockplastinat hergestellt werden können. Das ist ein weiterer Beleg dafür, dass es mit der Kenntnis der jeweiligen Gewebsindices (n_D) möglich ist, dreidimensionale, völlig transparente „SPALTEHOLZ- Plastinate“ herzustellen, was eine interessante zukünftige Anwendungsmöglichkeit der modernen makroskopischen Präparationstechnik darstellt.

Nichtsdestoweniger wird durch die beschriebene DSP- Technik die Notwendigkeit, an dicken Scheiben oder Blöcken den n_D möglichst genau einzustellen, wodurch Transparenz und somit ein dreidimensionaler Eindruck entsteht, mit den vorgestellten dünnen Scheiben aufgehoben: je dünner das Präparat, desto vernachlässigbarer sind die geringen Abweichungen der Indices (n_D). Ein DSP wird in E12 völlig transparent. Auch in anderen Kunststoffen erfolgt eine hinreichende Aufhellung (FO 127, Abb. 24). Folglich ist der Index erst bei dickeren Plastinaten von Belang.

4.6.2. Das Tempern

MATSUMURA et SAITO schneiden von 2 d getemperten Kunststoffblöcken Fingerpräparate in 200 μm dicke Scheiben (Blockplastination, 1997). Auf das Tempern („*hardening*“) weisen PAVKOV et al. hin (2004). Bei 50°C sind Totalpräparate nach einem Tag getempert (PAVKOV et al. 2004). Das Tempern scheint das Vergilben der Plastinate zu beschleunigen. Weil die Strukturen eines DSP beim Tempern ungleichmäßig bräunen, erhöhen sich deren Kontrastierung, was auch feine Bindegewebsstrukturen darstellt (STEINKE 2001).

Eine Färbung kann entfallen. Die Technik wird dadurch einfacher und schneller. Dagegen ist die Differenzierung zwischen Muskulatur und Bindegewebe nicht sicher möglich, denn beide werden durch das Tempern gleichzeitig hervorgehoben. QIU et al. tempern zwei Wochen lang (QIU et al. 2003, 2004a).

Eine Gewebsfärbung mit Methylenblau oder Azur II bleibt beim Tempern hinreichend stabil (Abb. 27).

4.6.3. Die Farberhaltung gefärbter Dünnschnittplastinaten

Die van Gieson Färbung ist an DSP sehr stabil (Abb. 27). Von der Crossmon-Färbung ist das Lichtgrün instabil. Säurefuchsin ist wie Luxol fast blue ungeeignet. Zur stabilen Differenzierung von Muskulatur und Bindegewebe empfehlen wir AZUR II und besonders Methylenblau. Je dünner die Konzentration desto länger ist zwar die Färbezeit (s.o., .4.4.4.), aber desto stabiler erhält sich die Farbe des DSP.

4.7. Digitalisierung/Korrelation

Zur Erklärung der Daten aus BV und zur Vervielfältigung der Präparate müssen diese digitalisiert werden. Gefrierschnitte müssen im Auflicht fotografiert werden. Dabei sind Standards zu finden, die eine Vergleichbarkeit der Daten ermöglichen (KERR et al. 2000), (Abb. 6 b), [cd:\gefroren.avi]. Sehr praktikabel ist die CT/Gefrierschnitttechnik von LUFKIN et al. (1987), bei der die CT- Akquisition unmittelbar am gefrorenen Präparat erfolgt, welches anschließend in Schnitte zerlegt und dabei schichtweise fotografiert wird. Das Präparat verändert sich kaum, wodurch die Korrelation, das Auffinden zusammengehöriger Bildpaare, sehr einfach wird (HOLLIDAY et al. 1986). Am MRT kann diese Technik nicht angewendet werden, weil das gefrorene Wasser die Abbildung verhindern würde (RINCK et al. 1990), was die Untersuchungen des *VHP* (SPITZER et al. 1996), des *VHK* (CHUNG et KIM 2000; CHUNG et PARK 2003) und des *CVH* (ZHANG et al. 2003) zeigen.

Um die Daten aus BV den Plastinaten zur Korrelation gegenüberstellen zu können, kann man die Präparate entweder fotografieren, etwa für vergleichende radiologisch- anatomische Atlanten (ROMRELL et al. 1996), oder einscannen (SCHMIDT et STEINKE 2000, THOMAS et al. 2004). Bedingt durch die Schnittdicke gilt: je dicker ein Plastinat, desto weniger ist ein Einscannen möglich- dann muß fotografiert werden (Abb. 13). DSP können immer gescannt werden (STEINKE 2001). Digitalisierungen sind bis auf 1200 dpi zwar möglich [cd:\parotis1200.tif], jedoch an normalen PCs schlecht praktikabel, weil die Verarbeitungsgeschwindigkeit exponentiell zur Auflösung zunimmt (XU et al. 2003).

Digitalkameras erreichen eine solche Auflösung kaum, was neben den physikalisch- optischen Begrenzungen (s.o., 4.1.3.) eine weitere Limitierung der Gefrierschnitttechnik darstellt und die DSP empfiehlt.

4.7.1 Fotografie und Scann

Die Reduktion der Datenmenge durch *Scann* oder Digitalfotografie mit 600 dpi ist vor allem bei größeren Gebieten angezeigt (Abb. 28 a, 30 a). Ein *Scann* mit 800 dpi reicht zur Darstellung von etwa 0,5 mm großen Pixeln aus (Abb. 30 b), [cd:\laryphary800.tif].

Zur sinnvollen Darstellung von Plastinate-Serien sollte immer in gleicher Auflösung digitalisiert werden. Die maximal mögliche Auflösung beträgt bei 0,8 mm dicken DSP 1200 dpi [cd:\ parotis1200.tif]. Einschränkend werden bei dieser Auflösung die Dateien für den normalen Gebrauch zu groß. 500 bis 600 dpi genügen, wobei sehr feine Strukturen, die bei 1200 dpi am DSP gut erkennbar sind, am digitalen Bild beginnen zu verschwimmen.

Ein genaues Justieren am Scanner spart Zeit und ist einfacher als eine Drehung am Rechner. Bei der gewählten Scannerauflösung von 300 – 1200 dpi sind feinste Strukturen durch einzelne Pixelgruppen dargestellt. Die optische Auflösung entspricht der Darstellungsschärfe des DSP. Es scheint zu gelten: je dicker ein Scheibenplastinat, desto weniger ist das einfache Einscannen möglich.

BEYERSDORFF et al. (2001) machen keine Angaben über die Digitalisierung der im Durchschnitt 4,6 mm dicken Scheibenplastinate, auch nicht BRÖKELMANN et al., die auch die Dicke der Plastinate nicht angeben (1989). Für das Einlesen normal dicker Scheibenplastinate sind Fotografien angebracht (ROMRELL et al. 1996). Für DSP sollte ein Scanner benutzt werden, aber, wie uns wichtig erscheint, für eine Serie von DSP ein und dasselbe Gerät. Voraussetzung zum Scannen ist die sachgemäße flache Lagerung der DSP, damit keine Verwerfungen auftreten, damit die DSP flach auf dem Scanner aufliegen können.

4.7.2. Das Korrelieren von MRT und Plastinat

Wir wenden zwei Methoden der Korrelation an: (1.) Korrelation von 2D und (2.) von 3D- Datensätzen. Wir orientierten dazu entweder die Plastinate an den markierten MRT- Ebenen (1., bis 2003), oder neuerdings die MRT an den DSP (2., ab 2003).

Zur Nomenklatur der Scheiben erwies sich die achtstellige Benennung bei der Verarbeitung als geeignet, weil kein Name doppelt vergeben werden mußte, was das Sortieren und die Verarbeitung erleichterte. Der Fußstrich wurde weggelassen was ermöglichte, einzelne Dateien im achtstelligen DOS- Bereich näher zu charakterisieren. So sind eindeutige Angaben über die Abbildungen gut sortierbar und kurz (z.B. „bs-055p.jpg“ = Becken sagittal geschnitten, - 55 mm von Null entfernt, Plastinat) [cd:\becksagi/bs_095p.jpg]. Die freie achte Stelle „*spacer*“ ermöglicht weitere Möglichkeiten. So ist etwa „bs-055pa.jpg“ mit 600 dpi gescannt, „bs-055pb.jpg“ mit 400 dpi, was sich in der Dateigröße äußert und die Verarbeitungszeit beim Korrelieren bedeutend herabsetzt (ENTIUS et al. 1997), [cd:\becksagi/bs-055pa.jpg, bs-055pb.jpg]. Die Verarbeitung der Daten auf anderen Rechnerplattformen, wie UNIX und IRIX, als auf den zumeist verwendeten „Windows“®- Betriebssystemen, sowie die Übertragung der Dateien mit FTP ist durch die achtstellige Nomenklatur problemlos möglich. Gelegentlich werden unter DOS- basierenden Systemen oder bei FTP- Datenübertragung längere Dateinamen auf 8 Zeichen gekürzt, besonders die langen DICOM-Dateien (SYSTEMS 1993), was aber durch unsere achtstellige Nomenklatur nicht vorkommen kann.

Das Korrelieren der Plastinate zu den MRTs ist nur möglich, wenn *dasselbe* Material untersucht wurde. Wird *gleiches* Material verglichen, wird korrespondiert, wenngleich die Begriffe recht unscharf gebraucht werden. BASSETT et al. (1991) oder ECKSTEIN et al. (1994) korrespondieren, wohingegen BEYERSDORFF et al. (2001) oder ENTIUS et al. (1997) korrelieren. Auch NUNES et al. (1995) untersuchen korrespondierend, geben aber eine korrelierende Untersuchung an: die MRTs stammen aber von anderen Untersuchungen als die abgebildeten Makrotomschnitte.

Wir konnten zeigen, daß die Korrelation von dem MRT auf das Platinat erfolgreich sein kann (Abb. 10, 11, 17, 19 u. 23), (STEINKE 2001, THOMAS et al. 2004), [Online: MRT-DSP], [Online: SCHULTERPLASTINATION].

Dieser Erfolg ist durch den Einsatz des Programms VOXIM® der Fa. IVS-Solutions möglich, was aber voraussetzt, dass die Plastinate in dem PNG-Format digitalisiert werden, denn die Bilder dieses Formates sind nicht nur von gleicher Größe, sondern sind optimal komprimiert, was den Rechenaufwand verringert. Dazu ist zwar der Aufwand des Markierens der Ebenen und das Auffinden dieser Ebenen beachtlich. Gleichwohl ist durch dieses Vorgehen gesichert, daß parallel untersucht wird, denn die Plastinate werden an dem parallelen MRT- Datensätzen orientiert. Die parallele Untersuchung ist unabdingbar für das räumliche Verständnis der 3d- Rekonstruktion (STREICHER et al. 1997)). Lädt man die Daten von CT, MRT und Platinaten in das „VOXEL- MAN“- Programm, ist das Korrelieren anhand von Fixpunkten vereinfacht möglich (BEYERSDORFF et al. 2001). Dieser Weg hätte die von uns angewandte manuelle Korrelation ebenfalls vereinfacht.

Einfacher ist das freie Schneiden von DSP, nachdem das Präparat mit BV untersucht wurde (ab 2003, 92 ♀, Abb. 26). Dabei ist es notwendig, die DSP planparallel zu schneiden, wozu eine Hilfseinrichtung notwendig ist, etwa die von LUFKIN et al. (1987) vorgeschlagene, oder etwa Methylzellulose, die RAUSCHNING (1983) vorschlägt. In dieser Einbettmasse können die Präparate parallel untersucht werden (RAUSCHNING et BERGSTRÖM 1983, RAUSCHNING et al. 2003). Auch die Gelatineeinbettung ermöglicht die korrelative, planparallele Untersuchung (77 ♀ b, Abb. 6 u. 32).

Wird planparallel untersucht und vorher mit CT oder MRT 3D- Datensätzen gewonnen, kann sehr leicht korreliert werden: der Datensatz wird solange durchfahren, bis die zum DSP passende Darstellung gefunden ist.

4.7.3 3D- Visualisierung

3D- Darstellungen sind häufig nur „2,5D“, wobei eine multidimensionale Information meist so extrahiert wird, daß sie auf einen 2D-Bildschirm durch „*projective imaging*“ einen Tiefeneindruck zu vermitteln (UPDATA et HERMAN 1991).

Eine echte 3D-Darstellung als „*volume imaging*“ über holographische und analygraphische Methoden oder Shuttertechniken sind selten (SEERAM 1997) und wurde von uns anfänglich mit der Fa. „BALDEWEG“ ohne Erfolg versucht.. Im Ergebnis unserer Arbeit mit der Fa. „IVS Solutions Chemnitz“ lag ein 3D-Raum als „*volume imaging*“ vor, der aus voxelorientierten 2 D Daten durch „*slice imaging*“ erzeugt wurde (Abb. 32, VIERGEVER et al. 2001), [cd:\voxel.avi].

Die Registrierung und Coregistrierung

Registrierung

Die Dimensionen eines Objektes im Raum werden in 3 Raumachsen beschrieben. Das entstehende Koordinatensystem wird in seiner Gesamtheit als 3D- oder Szeneraum beschrieben (SEERAM 1997). Der Zuordnungsvorgang zu diesem System wird als Registrierung bezeichnet (VIERGEVER et al. 2001).

Bei CT- oder MRT- Untersuchung hat jeder Bildpunkt (Pixel) im 2D-Schnittbild bereits eine Zuordnung in der z-Achse, sodass bereits beim akquirieren der Daten ein dreidimensionaler Datensatz (DICOM) entsteht. Die sichtbare Schnittfläche stellt wiederum ein dreidimensionales Volumen mit einer Tiefe dar, welcher der Schnittdicke entspricht. Somit entspricht jedes Pixel auf einem Schnittbild einem Voxel mit den Abmessungen des Pixels mal der Schnittdicke der Untersuchung.

Die maximale Auflösung der DSP beträgt 1200 dpi, also etwa 47 Bildpunkte/mm. Bei Auflichtfotografien oder *scans* von anatomischen Schnittbildern gibt es eine flächige Zuordnung der 2D- Schnitte a priori nicht. Die Ausrichtung muß in der z-Achse durch Angabe der Schnitthöhe, ausgehend von einem vorher festgelegten Nullpunkt, erfolgen. Die Pixel auf dem Schnittbild repräsentieren bei der Auflichtfotografie einer echten Fläche die Höhe einer bestimmten z-Koordinate, da hier keine Tiefenauflösung vorhanden ist (RAUSCHNING et al. 2003), während es sich bei DSP und noch mehr bei dickeren Schnittplastinaten durch die Gewebstransparenz ähnlich des radiologischen Schnittbildverfahrens um die Darstellung eines bestimmten Volumens auch auf dem anscheinend zweidimensionalen Bild handelt. Hat man jedem Foto oder Scann einen z-Wert zugeordnet, sind die Schnitte registriert.

Coregistrierung

Durch Fusion von Daten unterschiedlicher Modalitäten läßt sich eine Optimierung erreichen. Dazu ist die Coregistrierung der verschiedenen Datenmodalitäten zur räumlichen Übereinstimmung nötig (VIERGEVER et al. 2001). Diese kann nach unterschiedlichen Kriterien eingeteilt werden. So unterscheidet man nach Elastizität der Transformation *rigid* und *elastic matching* (Auflichtfotografie: meist rigide, Schnitte: meist elastisch) sowie nach dem Vorhandensein von Referenzierungsmarkern (fiducials, z.B. stereotaktischer Rahmen, STRAUSS et al. 2004) *extrinsic* und *intrinsic matching*, wobei das Intrinsische das Extrinsische immer mehr verdrängen wird (MAINTZ et VIERGEVER 1998).

Methode der Wahl ist heute voxelbasiertes matching, wobei zwei benachbarte Bilder so lange im 2D-Raum nach Signalintensität oder anderen Bildfeatures ausgerichtet werden, bis ein Maximum an Übereinstimmung gefunden ist (MAINTZ et VIERGEVER 1998, VIERGEVER et al. 2001).

Auch STRAUSS et al. (2004) stellen zur Coregistrierung eine Methode ähnlich dem voxelbasierten Matching mit zusätzlicher Hilfe sog. „*fiducials*“ dar, wobei DSP als Orientierung dienen können (SCHMIDT et STEINKE 2000).

Das Ergebnis der Fusion wird durch *anatomical landmarks* überprüft und ggf. durch Verschiebung von CT oder MRT korrigiert, wobei die Korrekturschichten möglichst weit voneinander entfernt liegen sollten (STRAUSS et al. 2004). Unfixiertes oder kurzzeitfixiertes Material ist dazu geeignet, alkoholfixiertes dagegen nicht (s.o., 2.1.1., SCHMIDT et al. 2001).

Eine Möglichkeit zur Fusion anatomischer Daten aus Gefrierschnittfotografien mit radiologischen Daten für einen 3D-Atlas (VOXEL-MAN FRAMEWORK 2000, SCHUBERT et al. 1997) wird durch SCHIEMANN et al. (2000) beschrieben. Diese Autoren legen zuerst eine grobes *mapping* über ein Set von anatomischen Landmarken [z.B. am Kopf über das bikommisurale TALAIRACH-Koordinatensystem (TALAIRACH et TOURNOUX 1988), stereotaktische Landmarken: COLLINS et al. 1994)], um dann für die Feinregistrierung Strukturen aus dem VOXEL-MAN in linearer Weise (Rotation, Verschiebung) aus den *VHP*- Bildern zu registrieren.

Diese Methode erlaubt BEYERSDORFF et al., anhand von Plastinaten den Beckenboden durch MRT-Schnittbilder zu koregistrieren, allerdings durch manuelle Coregistrierung mit Hilfe anatomischer Landmarken (BEYERSDORFF et al. 2001).

Für diese Technik bietet sich hochauflösendes anatomisches Untersuchungsmaterial an, wobei der Abgleich einerseits an korrelierenden Schnittbildern MRT/ DSP als auch andererseits zur Evaluierung zwischen rekonstruierten und koregistrierten Daten möglich ist (Abb. 32), [cd:\plastimr.avi].

Bildung des 3D- Volumens

Im Gegensatz zum voxelbasierten *slice imaging* scannt der Computer den 3D-Raum und lokalisiert alle Voxel einer Schicht, um ein Teilbild zu produzieren [Online: 3D- STÜCKPLASTINATION]. Zum voxelbasierten *slice imaging* kommt man durch die objektbasierte Darstellung (ein Modell wird produziert und zur 3D-Darstellung transformiert) über mehrere Teilschritte: *-segmentation* (Identifizierung einer Struktur), *-thresholding* (Klassifizieren von Gewebstypen), *-delineation* (Objektporträtierung durch Zeichnung), *-boundary extraction* (Definition der äußeren und inneren Grenze) bzw. *volume extraction* (Auffinden aller zugehörigen Voxel) und schließlich das *-rendering* (Transformation und Integration multidimensionaler Daten in ein simuliertes 3D-Objekt (SEERAM 1997, VIERGEVER et al. 2001)).

Durch *Shading*- und *Lightening*techniken (z.B. Phong-Schattierung, Gouraud-Schattierung) kann das Objekt dann noch realistischer, feiner gestaltet werden (SEERAM 1997), ähnlich der bekannten Rendering- Programme (Real3D usw.).

Segmentation

Der nächste wichtige Schritt zur 3D-Visualisierung von Objekten ist deren Identifizierung oder Segmentation (SEERAM 1997). Sie wird zur Hervorhebung des Objektes im Rahmen des *rendering* benötigt und stellt häufig das Schlüsselproblem bei der Visualisierung dar (VIERGEVER et al. 2001).

Durch die Segmentation werden Strukturen in den Datensätzen (meist im 2D-Bild, hier MRT/ CT oder Plastinat) markiert oder isoliert und anschließend zusammengefügt. Das ergibt nach dem Rendering wieder ein dreidimensionales Objekt, welches in die gesamte 3D-Abbildung eingefügt und so präsentiert wird. Die Zusammenführung der Schnitte „auf Kante“ ist das *Alignment*. Die Genauigkeit der Segmentation durch *refine alignment* ist deshalb so wichtig, weil sie im Rahmen der bildgebenden Diagnostik (z.B. zur Beurteilung von Größenveränderungen von Läsionen, VELTHUIZEN et al. 1999), bei der Detektion von Malignomen, bei der anatomischen Verifizierung sowie bei der chirurgischen Zugangsplanung zu vielen wichtigen klinischen Entscheidungen einen Beitrag leisten kann (SCHMIDT et STEINKE 2000, SCHMIDT et al. 2001, STRAUSS et al. 2004).

Mit Schnitten von Blockplastinaten ist die Segmentation an kleinen Gebieten bereits etabliert (QIU et al. 2004b).

Automatische Methoden beruhen auf Mustererkennungsprogrammen. Eine MRT-Sequenz enthält Informationen über Gewebeparameter, welche bei der Mustererkennung und Bildanalyse zur Gewebescharakterisierung genutzt werden. (SOLTANIAN-ZADEH et al. 1998). Die Nutzung von MR- Daten zur Mustererkennung wurde 1985 erstmals von der Gruppe um VANNIER

beschrieben (VANNIER et al. 1985).

Bei semiautomatischen Methoden werden die Kriterien durch den Benutzer vorgegeben, wonach der Algorithmus dann die Segmentation vornimmt. Solche Vorgaben bestehen z.B. im Markieren einer Läsion mittels Mausclick. Danach bezieht der Algorithmus benachbarte Voxel mit ein, wenn sie eine hohe Wahrscheinlichkeit besitzen, in die statistischen Eigenschaften der markierten Voxel zu fallen. Dadurch wird der Schnitt in sich verschoben und dabei aligniert. Algorithmen dieser Art beschreiben ASHTON et al. (2003).

Die Leipziger Arbeitsgruppe um STRAUSS zeigt eine Technik des semiautomatischen Segmentierens, das „*region growing*“ (STRAUSS et al. 2004). Die Autoren beschreiben Vorgaben beim semiautomatischen Verfahren, z.B. die manuelle Markierung der schwierig zu unterscheidenden Grenzzonen, die Nachbearbeitung bei ansonsten automatisch segmentierenden Algorithmen sowie die Kombination von Algorithmen wie Wasserscheidentransformation zu „*region growing*“, bei der am Ende dreidimensionale Objekte entstehen (STRAUSS et al. 2004). Die Sicherung anatomischer Landmarken ist dabei unbedingte Voraussetzung (SCHMIDT et STEINKE 2000).

Vollautomatische Segmentierungsverfahren „*fuzzy-c-means*“ (VELTHUIZEN et al. 1999), oder „*static region descriptors*“ und „*neural network classifiers*“ (SOLTANIAN-ZADEH et al. 1998) beruhen ähnlich wie die bei semiautomatischen Verfahren benutzten Algorithmen auf klinisch relevante Mustererkennungsprogrammen, welche unterschiedliche Gewebe unterschiedlich klassifizieren und sofort zusammenfügen.

STREICHER et al. (1997) etablieren mit dem EMAC- Konzept (*external marker-based automatic congruencing*) eine Möglichkeit, anatomische Präparate automatisch zu segmentieren und zu alignen. Nach anfänglichen Misserfolgen mit der Fa. BALDEWEG Dresden konnten wir zwar mit der Fa. IVS- Solutions Chemnitz semiautomatisch segmentieren (Abb. 31, 32); [cd:\segm1.avi, \segm2.avi], jedoch weniger erfolgreich wie STREICHERs Arbeitsgruppe.

Schnitte, die sowohl von Blockplastinaten geschnitten werden, als auch solche, die nach dem Schneiden plastiniert werden, benötigen ein Alignment, wenn daraus 3D- Volumen rekonstruiert werden sollen (QIU et al. 2003). Das EMAC- Konzept von STREICHER et al. (1997) erfolgreich zu modifizieren, indem wir der Einfachheit halber die von dieser Arbeitsgruppe vorgeschlagenen Orientierungsbohrungen durch die Kante des Gelatineblocks ersetzen, ist uns nur teilweise gelungen [cd:\cut2plasti.avi]: Die Kante des Gelatineblockes bricht gelegentlich ab oder schrumpft unverhältnismäßig, weswegen die von vorgeschlagenen Bohrungen den Block sicherer als Markierungen dienen könnten.

Je weniger sich das DSP bei der Bearbeitung verändert, desto weniger ist ein Alignment nötig, und mithin ist die Segmentierung einfacher. Der Schnitt muß im besten Fall nur gedreht werden (RAUSCHNING et al. 2003), [Online: BALDEWEG]. Durch die nahezu veränderungsfreie Gefrierhobeltechnik des *VHP* (SPITZER et al. 1996), des *VHK* (CHUNG et KIM 2000; CHUNG et PARK 2003) und des *CVH* (ZHANG et al. 2003) ist das Alignment stark vereinfacht. Werden Gefrierschnitte gewonnen, etwa durch ein Makrotom (GOSAIN et al. 1993), durch eine Plastinationssäge (WEBER 1994) oder durch beides (NASH et al. 2004) können sich die Schnitte leicht verziehen oder in sich verschieben. Das verkompliziert das Alignment unnötig. [cd:\segm1.avi, \segm2.avi], (Xu et al. 2003).

Es erweisen sich die visualisierten Schnittplastinate als ungeeignet zur automatischen Segmentation, weil das DSP durch die optischen Auflösung zwar im 2D- Volumen genug Voxel bietet, jedoch durch den dazu relativ hohen Verschnitt beim Sägevorgang (s.o., 4.3.3.) wenig gleichartige Strukturen übrig bleiben, um diese zu koregistrieren, wodurch die Segmentierung im Aussehen recht stufig erscheint, ähnlich der von IVS-Solutions rekonstruierten Plastinatevolumen aus unseren DSP (Abb. 31 und 32), [cd:\segm1.avi, \segm2.avi].

Um Plastinate dreidimensional an 3D- Bildschirmen zu demonstrieren, ist es aus diesem Grunde nicht angezeigt, auf Schnitttechniken mit DSP zurückgreifen. Besser ist zur Visualisierung die Stückplastination geeignet, dann entfällt jedes Alignment [Online: 3D- STÜCKPLASTINATION].

Die Fusion von horizontalen MRT- und Plastinatschnittbildern gelang nur bedingt (Abb. 32), [cd:\voxel.avi, \segm1.avi, \segm2.avi]. Dies wird zum einen durch postmortale Veränderungen wie beginnende Autolyse, Zellödem, Hydrostase und Kollabierung von Gefäßen verursacht, welches sich zwar prinzipiell auf beide Untersuchungen auswirkt, aber durch deutlichere Ausprägung mit zunehmender Zeit zu Unterschieden zwischen Schnittbildern gleicher Höhe führt.

Des Weiteren sind zwar geringe, aber dennoch vorhandene Schrumpfungartefakte während der Plastination für eine mangelnde Übereinstimmung verantwortlich. Bei einigen gut korrelierenden Schnitten ergab eine manuell durchgeführte Fusion der Daten trotzdem annehmbare Übereinstimmungen (Abb. 31, 32).

Die direkte 3D-Visualisierung anatomischen Materials beruht meist auf Schnittplastinaten und Auflichtfotos von Gefrierschnitten, wobei insbesondere die laterale Schädelbasis (QIU et al. 2003) aber auch andere komplexe Regionen wie Beckenboden (BEYERSDORFF et al. 2001) oder Fußgelenke (SHA et al. 2001) zum Gegenstand der Forschung geworden sind. Neben der einfachen Darstellung verborgener Strukturen kann man die Daten in den Op- oder Präpariersaal transferieren (QIU et al. 2003). Dass dadurch in der Aus- und Weiterbildung anatomische Zusammenhänge leichter hergestellt werden können, zeigt BEYERSDORFF et al. (2001) hin. DSP können deshalb bei Ausbildung zum Einsatz kommen.

Bei der Entwicklung neuer Zugangswege (QIU et al. 2003) scheinen Modelle, welche ebenso auf anatomischen Untersuchungsmaterial beruhen, durchaus ihre Berechtigung zu haben. Auflichtfotos von Gefrierschnitten wie des *VHP* (SPITZER et al. 1996), des *VHK* (CHUNG et KIM 2000; CHUNG et PARK 2003) und des *CVH* (ZHANG et LEE 2002) können zur Kolorierung patientenspezifischer CT-Daten (KERR et al. 2000), zur virtuellen Endoskopie (ROBB 2000) oder zur Herstellung anatomischer 3D-Atlanten (HÖHNE et al. 1995, ROMRELL et al. 1996) genutzt werden.

In der Zukunft werden interaktive und multimodale Segmentation zur Erhöhung der Abbildungsgenauigkeit in den Fokus der Entwicklung rücken (VIERGEVER et al. 2001). Ein Ansatz hierfür bietet sich mit der DSP oder der Auflichtfotographie von Gefrierschnitten, da für Mustererkennungsprogramme durch die Kolorierung im Vergleich zu schwellenbasierten Verfahren die Abgrenzung von Strukturen mit ähnlichen Farbwerten vereinfacht wird (SCHIEMANN et al. 2000, QIU et al. 2004b).

Ein Vorteil der 3D- Rekonstruktion aus Plastinaten ist nach QUI et al. (2003, 2004a, 2004b) der Wegfall der Knochenentkalkung. Beherrscht man die Entkalkung der Pars petrosa ossis temporalis, können aber auch sehr ansprechende Ergebnisse durch das Aufhellen nach SPALTEHOLZ- Technik mit weniger Kosten und Aufwand erreicht werden (SPALTEHOLZ 1911). Auch mikroangiografische Vermessungen sind mit dieser Methode möglich (EITEL et al. 1986).

An kleineren Präparaten, etwa Köpfe von Ratten, kann wiederum eine Plastination angezeigt sein, etwa mit Methacrylat oder Polyester (QUESTER et al. 2002).

5. Zusammenfassung

Die räumliche Vorstellung des menschlichen Körperbaus entsteht, wenn Schritt für Schritt die wesentlichen Strukturen der Anatomie begriffen werden: beim Präparieren, unterstützt durch Präparate und Modelle (PABST et al. 2001). Die Frage ist zu stellen, ob den Auszubildenden die räumliche Vorstellung umgekehrt vermittelbar ist: vom 3D-Modell hin zur geistigen Zusammenschau, was ihm Mühe des geistigen Zusammenfügens erspart.

3D-Modelle sollen die auf dem Präpariersaal sichtbaren und somit für den Studenten real begreifbaren Strukturen praxisnah als dreidimensionales Gebilde virtuell visualisieren. Dazu ist eine detaillierte zweidimensionale Vorlage notwendig.

Mit der zweidimensionalen Dünnschnittplastination (DSP) lassen sich die Feinstrukturen sehr gut darstellen, etwa Details des Innenohres, die Chorda tympani (<http://www.uni-leipzig.de/~plast/bild3.html>), feine Gefäße der Schleimhäute oder den Aufbau der Regio retropharyngicum.

2D-Schnittplastinate und insbesondere Dünnschnittplastinate (DSP) können dem Kliniker Strukturen zeigen, welche in der täglichen Praxis mit hochwertigen Apparaturen sichtbar werden. Dieser Zugang fehlte bis vor wenigen Jahren, wodurch das wissenschaftliche Interesse an der verbesserten Schnittbildanatomie durch Plastination fortbesteht, was ihren Niederschlag in umfangreicher und neuer Literatur findet.

Die Gefrierschnitttechnik kann diese Vorgabe nicht erreichen. Die Strukturen lassen sich an den Schnittflächen gefrorener Leichen nicht vollständig zeigen, denn die unter der Schnittebene liegende Strukturen zeigen sich vermittels des gefrorenen Gewebswassers neben den oberflächlichen Strukturen an der Oberfläche und verursachen eine gewisse Unschärfe im gewonnenen Bild. Dadurch bleiben bei Rekonstruktionen dieser Bilder feine, aber manchmal wichtige Strukturen verborgen, beispielsweise die Chorda tympani.

Mit der Anwendung der beschriebenen Technik wird die Topographie detaillierter darstellbar, als das zuvor möglich gewesen ist. Weiterhin zeigt ein Dünnschnittplastinat (DSP) jede Struktur eines Schnittbildes, das mit klinischen Untersuchungsmethoden vom selben Gewebe gewonnen wurde, denn die optische Auflösung des DSP übertrifft das MRT oder CT und bildet doch die selbe Struktur ab.

Trotz der hervorragenden optischen Auflösung zweidimensionaler DSP gelingt uns dennoch keine 3D - Rekonstruktion aus den DSP in vergleichbar hoher optischer Auflösung. Wir sind zwar in der Lage, überzeugende 3D - Rekonstruktionen vorzulegen. Deren Qualität entspricht gleichwohl jenen Ergebnissen, die auch mit der bekannten Gefrierschnitttechnik erreicht werden. Das heißt: mit der DSP kann zwar präziser als mit der Gefrierschnitttechnik untersucht werden, dies jedoch nur zweidimensional.

Die DSP bietet sich demzufolge als Mittel der Wahl für hochauflösende korrelative und mit klinischen Bildern korrespondierende Untersuchungen an und weniger als ein "3d- tool". Die DSP ist ein Werkzeug der topographischen Anatomie und setzt deren solide Kenntnis voraus.

In der vorliegenden Arbeit werden die methodischen Schritte der Schnittplastination verbessert.

1. Von Verstorbenen, die ihr Einverständnis zur Körperspende zu Lebzeiten gegeben haben, stellen wir 2 – 3 Tage nach Todeseintritt DSP her. Bei früher zurückliegendem Todeseintritt lassen sich nur mangelhafte DSP herstellen. Zeitig nach Todeseintritt beginnen wir mit der Perfusion einer Pufferlösung (s.o. 2.1.1.) und zwar im Falle vorheriger MRT- Untersuchung unter Erwärmung des Leichnams, um lebensnahe Aufnahmen zu erzeugen. Diese sorgfältige Vorbereitung spätestens zwei Tag nach Todeseintritt, ist für den Erhalt von hellen, blutfreien DSP sowie für Farbstoffinjektionen zur Gefäßdarstellung unentbehrlich. Die nötigen Vorbereitungen entsprechen den gewebserhaltenden Maßnahmen der modifizierten SPALTEHOLZ- Technik (STEINKE et WOLFF 2001).

2. MRT und CT als bildgebende Verfahren (BV) an unfixierten, perfundierten Leichen werden, wie in der Routine üblich, ausgeführt. Diese sind auf normale Körpertemperatur zu bringen. Es ist vorteilhaft, 3D-Datensätze zu erzeugen, um von vornherein DSP auf die BV- Daten zu korrelieren und nicht umgekehrt. Die 3D-Korrelation ist sehr aufwendig und im Verhältnis zum Ergebnis unbefriedigend. Davon ist abzuraten (THOMAS et al. 2001, STEINKE et THOMAS 2002).

3. Nach der Untersuchung mit BV soll der Leichnam über 12 Stunden in entsprechenden Kühlanlagen ($\pm 0^{\circ}\text{C}$) auf $+1 - +4^{\circ}\text{C}$ abgekühlt werden. Die folgenden Präparationsschritte dürfen die anatomischen Strukturen und deren topographische Zusammenhänge nicht ändern. Die gekühlte Präparate können in einer Mischung von Azeton: Wasser = 85: 15 (AWD) bei -85°C schockgefroren werden. So behandelte Präparate frieren schnell und artefaktfrei ein, abgesehen vom Kopf, bei dem wir zum Schockfrieren die Kalotte entfernen. Mit geeigneten Geräten können durch diese Vorbereitungen Schnitte unter 1 mm Dicke angefertigt werden (STEINKE et al. 2002).
4. Der Gefrier austausch entspricht der für DSP geeigneten Entwässerungstechnik (SCHWAB et VON HAGENS 1981). Man sollte dünne Körperscheiben allerdings nicht sofort in reinem Azeton entwässern. Ein gestaffelter Gefrier austausch ermöglicht eine schrumpfungsfreie und damit zerstörungsfreie Entwässerung der dünnen Scheiben. Nach anfänglicher Entwässerung mit AWD adaptieren die Scheiben an den Wassergehalt von AWD. Erst anschließend werden die Präparate auf höchstens 3% Restwasser substituiert (SCHMIDT et STEINKE 1996).
5. Bei der Vakuumimprägnation droht nach dem sonst üblichen schnellen Öffnen des Exsikkators der plötzlich wirkende Luftdruck das DSP zu zerstören, während dickere Präparate nur leicht zusammengedrückt werden (STEINKE et al. 1997). Wir vermeiden diese Zerstörungen, indem wir das Vakuum nicht nur langsam aufbauen, sondern die DSP nach der Imprägnation langsam an den Luftdruck adaptieren (STEINKE 2001).
6. Durch die variierenden Lichtbrechungsindizes der Gewebe sind verschiedene Kunststoffe nötig, wobei das Epoxid E12 (BIODUR[®]) der geeignete ist, wie erste Befunde für Färbungen zeigen. Diese Technik ist für Großflächenschnitte zu etablieren. Kopfscheiben mit Gehirn sollten mit FO 127 plastiniert werden (STEINKE et al. 2002).
7. Die Korrelation von DSP und Bildern aus BV, vorzugsweise MRT, kann gezeigt werden (STEINKE et THOMAS 2002). Durch die überlegenen optischen Eigenschaften der DSP besteht die Möglichkeit, alle durch BV auffindbaren Strukturen mit dem DSP zu diagnostizieren. Auch Präparationstechniken können anhand der Korrelation von MRT und DSP verglichen werden (SCHMIDT et STEINKE 2000, SCHMIDT et al. 2001).

Schlussfolgerungen und Ausblick

Wenn früher das anatomische Präparat als Untersuchungsgegenstand (relativ dicke Scheibenplastinate oder Gefrierschnitte) mit geringerer optischer Auflösung vorlag als jene, die mit moderner Bildgebung erreicht werden können, ist nun umgekehrt die Auflösung der anatomischen Untersuchungstechnik höher als die der radiologischen Methoden.

Die DSP bietet sich für korrelierende Untersuchungen zu BV an. Vor allem durch die Untersuchung frischen, unfixierten Gewebes lässt sich am DSP zeigen, welche Struktur im radiologischen Bild dargestellt ist, denn auch die kleinste Struktur findet im DSP ihr Korrelat.

Unter den standardisierten, radiologischen Untersuchungsbedingungen, die in dieser Arbeit eingesetzt wurden, lassen sich durch die Verwendung unfixierten, lebensnahen Leichenmaterials auch Rückschlüsse auf Bilder ziehen, die in der Routine von Patienten akquiriert werden.

Eine Feinstruktur (Nerv, Gefäß) sollte am klinischen Bild im gleichen Grauwert erscheinen, wie es vorliegende Methode darstellt. Kleinste Strukturen, die dem Grauwert nicht entsprechen, können von anatomischen Strukturen abgegrenzt und somit leichter als pathologisch- anatomische Strukturen diagnostiziert werden. Demzufolge kann die DSP dem Kliniker helfen, nach erfolgreicher Anwendung der hier vorgestellten Methode und dem Finden Standards, wie sich bei gegebenen Einstellungen des CT oder des MRT anatomische Feinstrukturen darstellen, eine sichere Diagnose zu treffen.

Auch für die Studentenausbildung stehen DSP als hochwertige Lehrmittel zur Verfügung.

Es ist heute möglich, anatomischen Strukturen am Bildschirm anhand der Schnittbildanatomie zu studieren, zumal die klinische und insbesondere die radiologische Diagnostik verstärkt auf die virtuelle und hier insbesondere auf die Schnittbildanatomie orientiert sind. Aus den Datensätzen des *Visible Human Project* aus den USA (VHP; SPITZER et al. 1996, SPITZER et WHITLOCK 1998), des *Visible Human Korean* aus Südkorea (VHK; CHUNG et KIM 2000; CHUNG et PARK 2003) oder des *Chinese Visible Human* aus der VR China (CVH; ZHANG et LEE 2002) wird eine „virtuelle“ Anatomie aufgebaut.

Keine dieser Arbeitsgruppen behauptet, mit den neuen Methoden die alten ersetzen zu wollen, insbesondere auch nicht das Präparieren. Überdies schneiden jene Anatomischen Institute, die sich besonders in digitaler Anatomie profilieren, im bundesweiten *Ranking* des Medizinstudiums schlecht ab, zusätzlich verbunden mit längerer Studienzeit [Online: RANKING]. Das zeigt: 3D- Anatomie ist weiterhin praktisches Begreifen.

Die praktische Anatomie tritt trotzdem in der Ausbildung der Medizinstudenten immer mehr in den Hintergrund. Man weicht auf anatomische Modelle oder auf beschriebene „virtuelle“ Anatomie aus.

Die DSP ist eine Technik der praktischen Anatomie. Um die Anatomie des Menschen begreifen zu können scheint es unerlässlich, die Strukturen zu präparieren, sie darzustellen, sie anzufassen. Nur dadurch entsteht die systematische Zusammenschau des menschlichen Leibes für den angehenden Arzt. Damit begreift er ihn in seiner Komplexität, von der makroskopisch kleinsten Struktur zur Komplexität bis zum großen Ganzen. Das gilt für das entstandene Präparat (hier DSP), als auch allgemein für die Beschäftigung mit dem Leib des Körperspenders.

Angesichts der zunehmenden Bedeutung wirtschaftlicher Faktoren, auch für medizinische Fakultäten, scheint es zudem sinnvoller zu sein, für einen Körperspender die überschaubaren Kosten für praktische, „reelle“ Anatomie zu übernehmen, als weiter auf die virtuelle Anatomie mit den viel höheren Kosten zu setzen.

Vielleicht kann die (immer praktische) Anatomie durch die DSP und andere moderne Methoden wieder die Schrittmacher- Funktion übernehmen, die sie vor hundert Jahren in der Medizin hatte. Ein Zeichen dafür sind die perspektivenreichen wissenschaftlichen Kooperationen mit Klinikern, mit der es die Dünnschnittplastination vermag, im Zusammenspiel mit verbesserten radiologischen Darstellungstechniken dem großen Fach Anatomie neue Impulse zu geben.

Abbildungen



Abb. 1: Rechte Schulter von 85 ♀ a in Außenrotations-
Abduktionsstellung eingefroren, von ventral, auf Gipsmoulage.



Abb. 2: 87 ♂ zur Untersuchung mit MRT auf einem Holzkreuz befestigt.



Abb. 3: 77 ♀ b zur Untersuchung mit MRT auf Holzkreuz und Bahre befestigt.

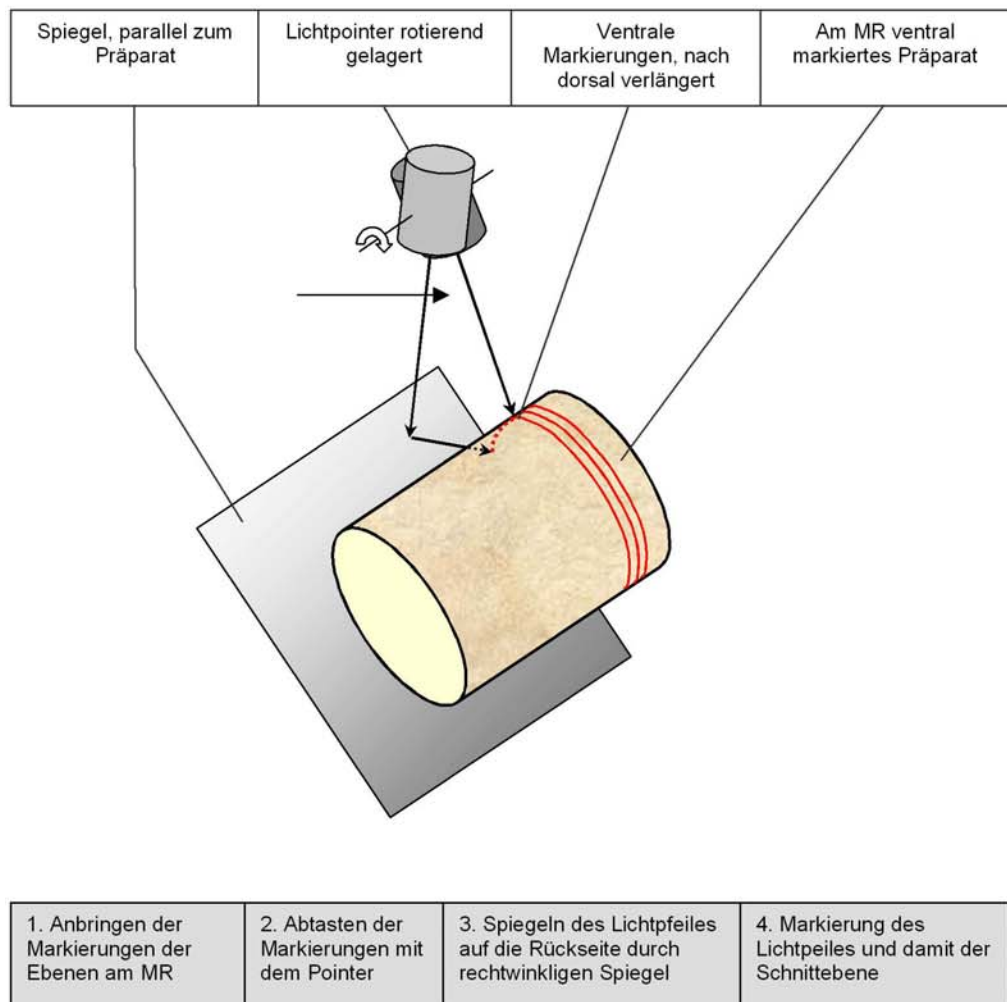


Abb. 4: Schnittebenenmarkierung.

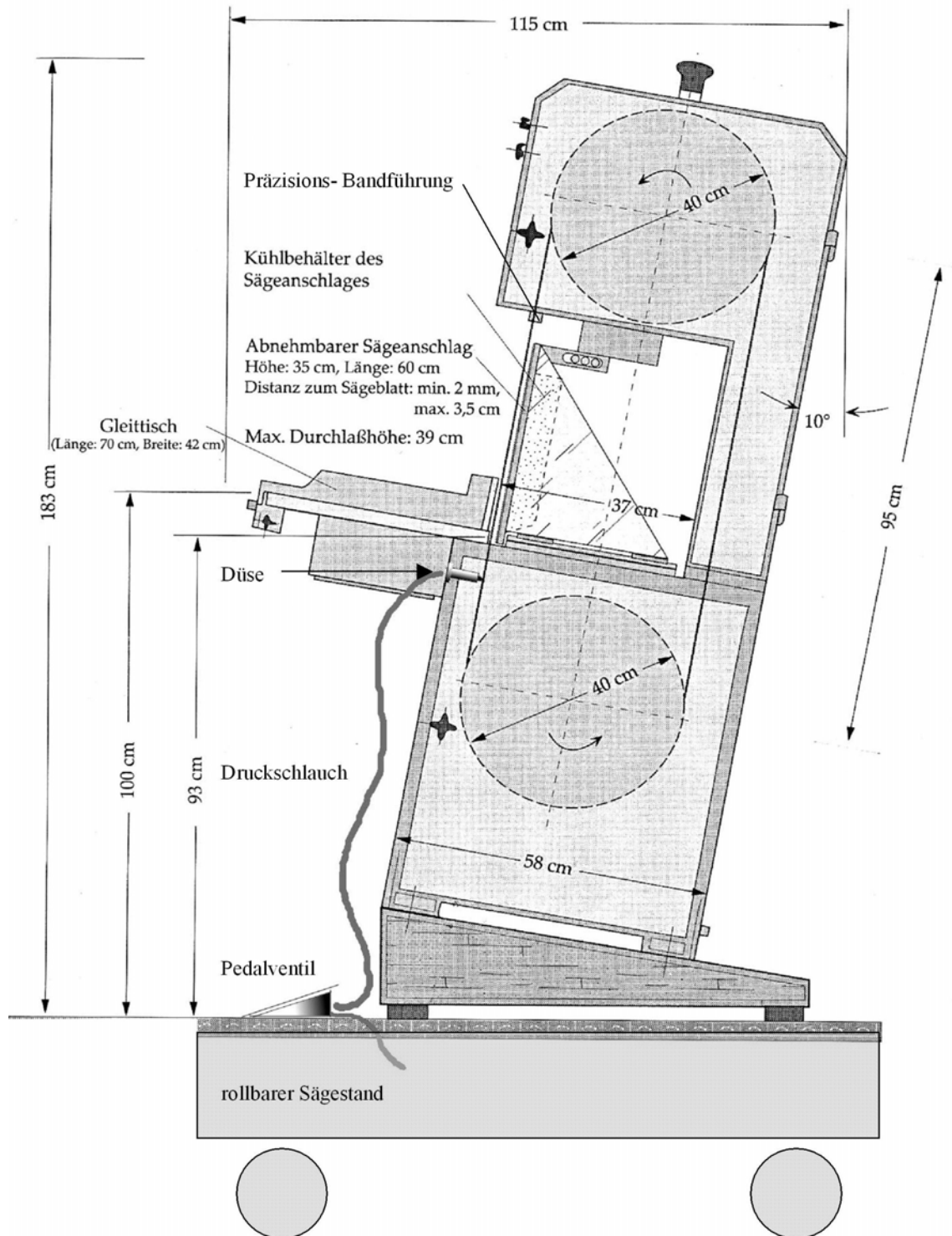


Abb. 5: Umgebaute Plastinationssäge HL 30 (BIODUR®).



Abb. 6: Kopf- Hals- Paket von 77 ♀ b perfundiert, (a) im Gelatineblock, vorgekühlt, schockgefroren. (b) Gefrierschnitt vom Block im Aufsicht, Höhe 3. Halswirbel.



Abb. 7: „Wire frame chest“ mit sagittalen Schnitten durch das rechte Kniegelenk von 79 ♀, zwischen Fliespapier auf Kunststoffgittern im Entwässerungscontainer.

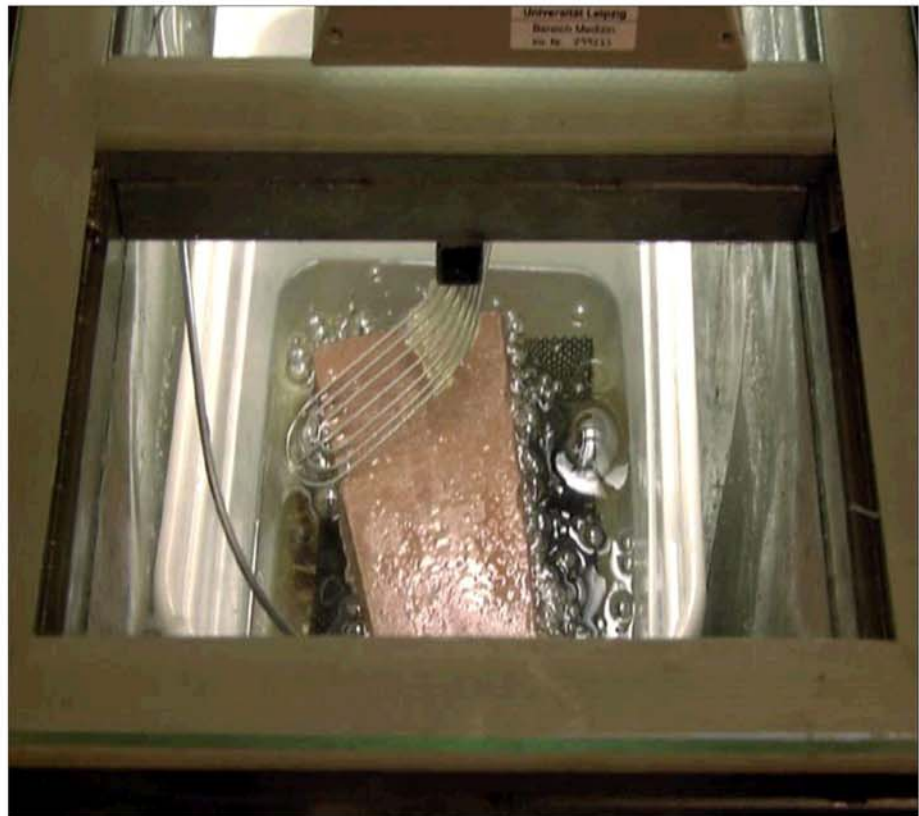


Abb. 8: Evakuierung (Kopf frontal, 76 ♀ a, Vakuumkammer in einer Tiefkühltruhe bei -5°C).



Abb. 9: Herstellung von „Sandwiches“. Kopf horizontal von 87 ♂.

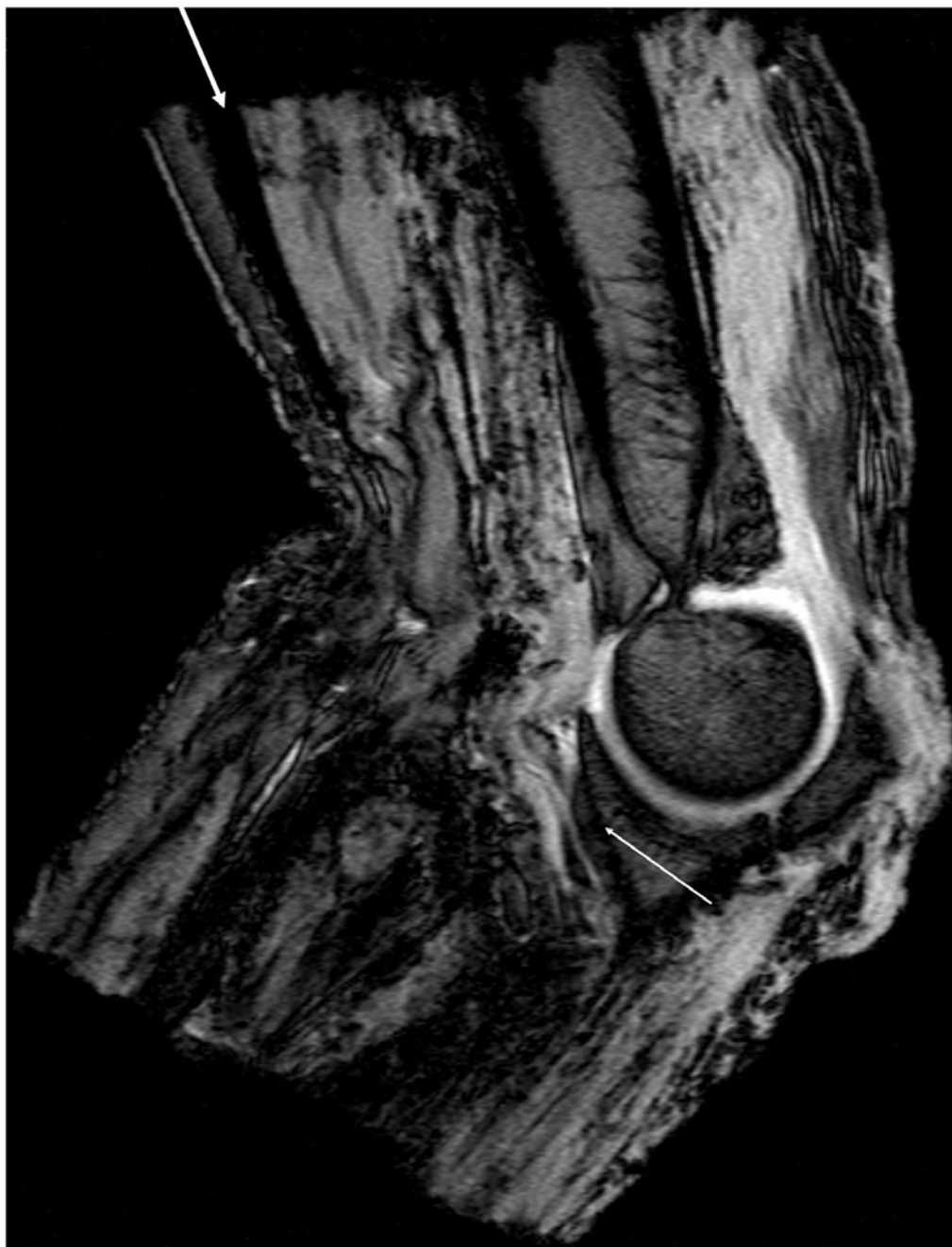


Abb. 10: Sagittales T2- MRT der rechten Art. cubiti von 64 ♂.
Dicker Pfeil: artifizielle Spalte zwischen Bizepsfascie und subcutanem
Bindegewebe; dünner Pfeil: Koagel. x 1,3.



Abb. 11: Sagittales T1- MRT der rechten Art. cubiti von 64 ♂.
Dicker Pfeil: artifizielle Spalte zwischen Bizepsfaszie und
subcutanem Bindegewebe; dünner Pfeil: Koagel. x 1,3

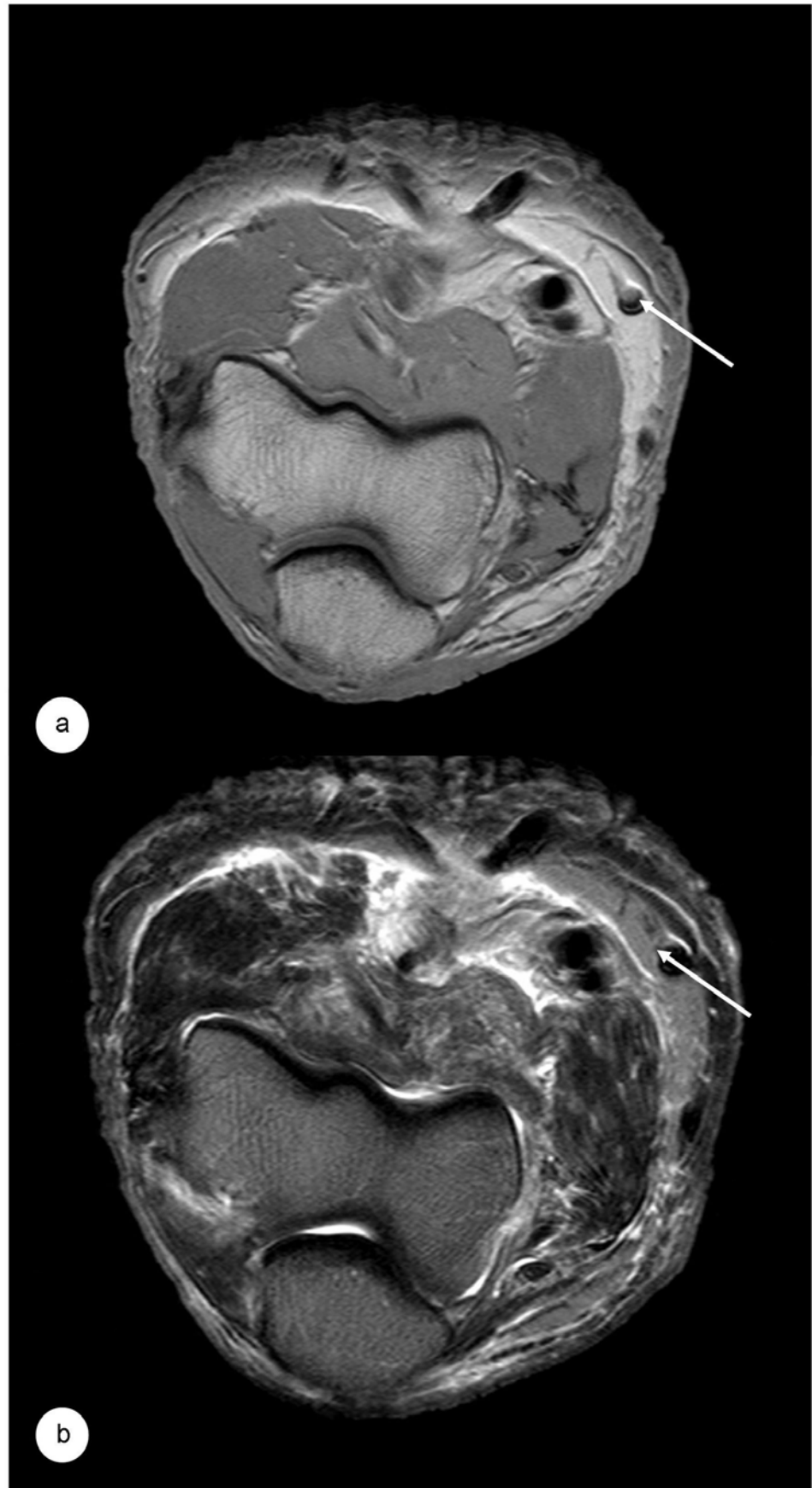


Abb. 12: Horizontale MRTs der rechten Art. cubiti von 64 ♂.
(a): T1, (b): T2. Pfeil: Koagel in der V. cephalica. x 1,3.

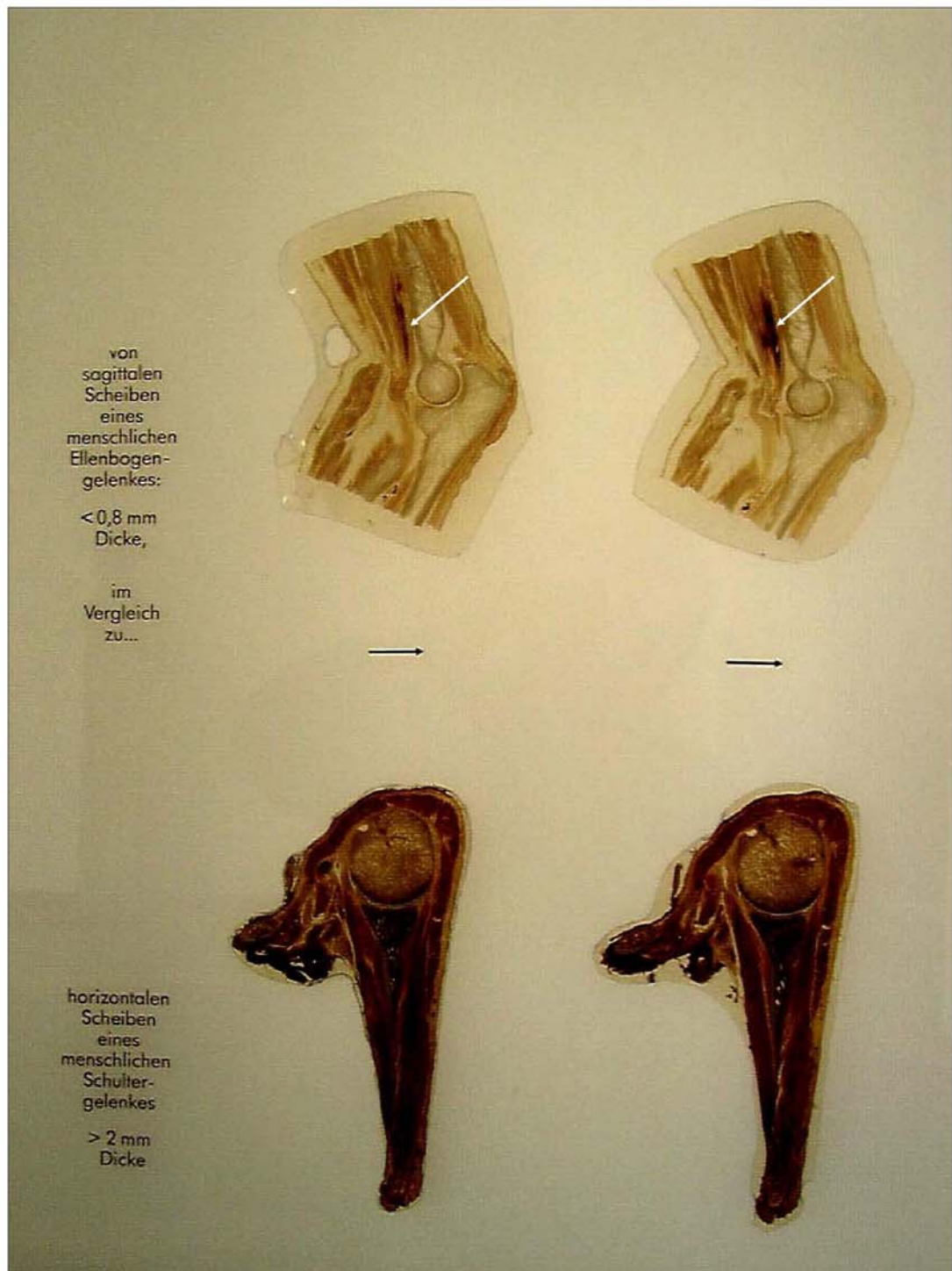


Abb. 13: Plastinate perfundierter und unperfundierter Präparate des Körperspenders 64 ♂.
Obere Reihe der Stellwand: DSP der perfundierten Art. cubiti,
unten: der Art. humeri.
Pfeile: braune Niederschläge.

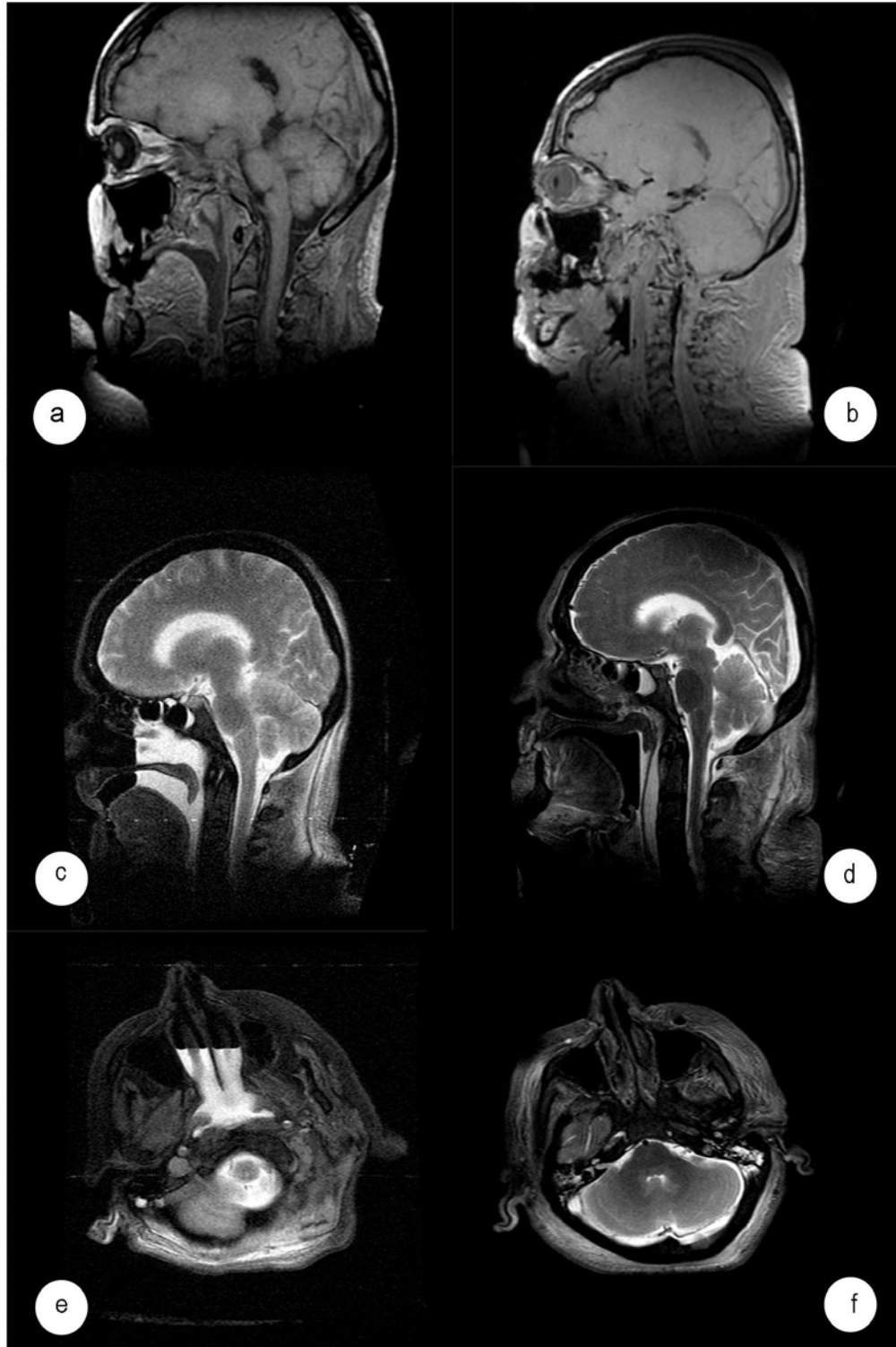


Abb. 14: T1 und T2- MRT des Kopfes von 75 ♀ a,
 vor und nach Alkoholfixation.
 links (a, c, e) vor, rechts (b, d, f) nach Fixation.
 (a - d) sagittal, (e u. f) horizontal (axial).
 (a, b): SL = 3,0, TR = 24,9, TE = 10,6 (T1);
 (c - f): SL = 4,0 TR = 2500,0, Echo Time 104,0 (T2).
 Das Anfixieren mit Alkohol läßt die T1- Darstellung verbleichen (a zu b).
 Bei der T2- Darstellung verschärfen sich die Konturen (c zu d, e zu f); x 0,3.

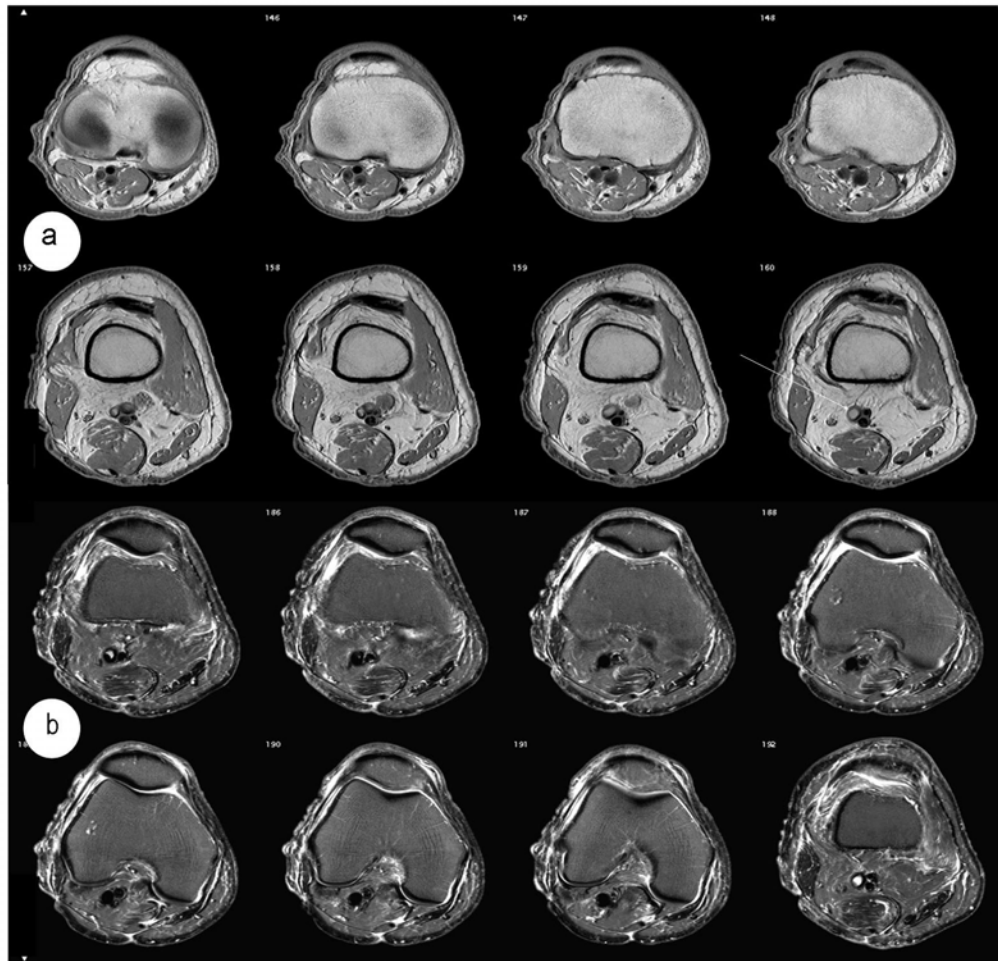


Abb. 15: Horizontale T1- und T2- MRT des unfixierten Kniegelenkes von 79 ♀.
MRT T1 (obere Reihen, a) und SE (untere Reihen, b).
SL 5 mm. (a): TR 600, TE 20; (b): TR 4500, TE 96.
Isotonisch perfundiert; Untersuchung einen Tag post mortem, x 0,22.

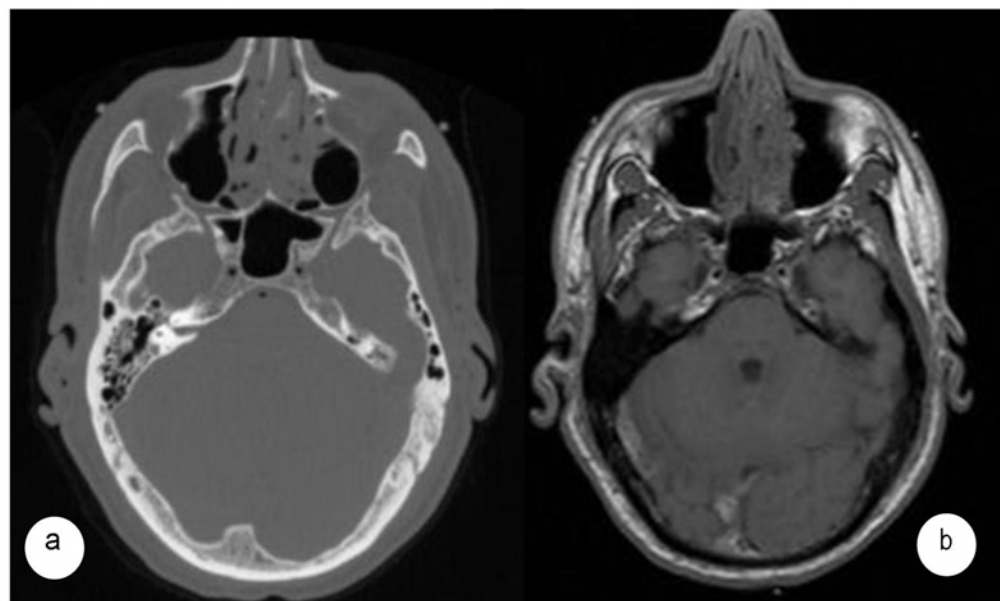
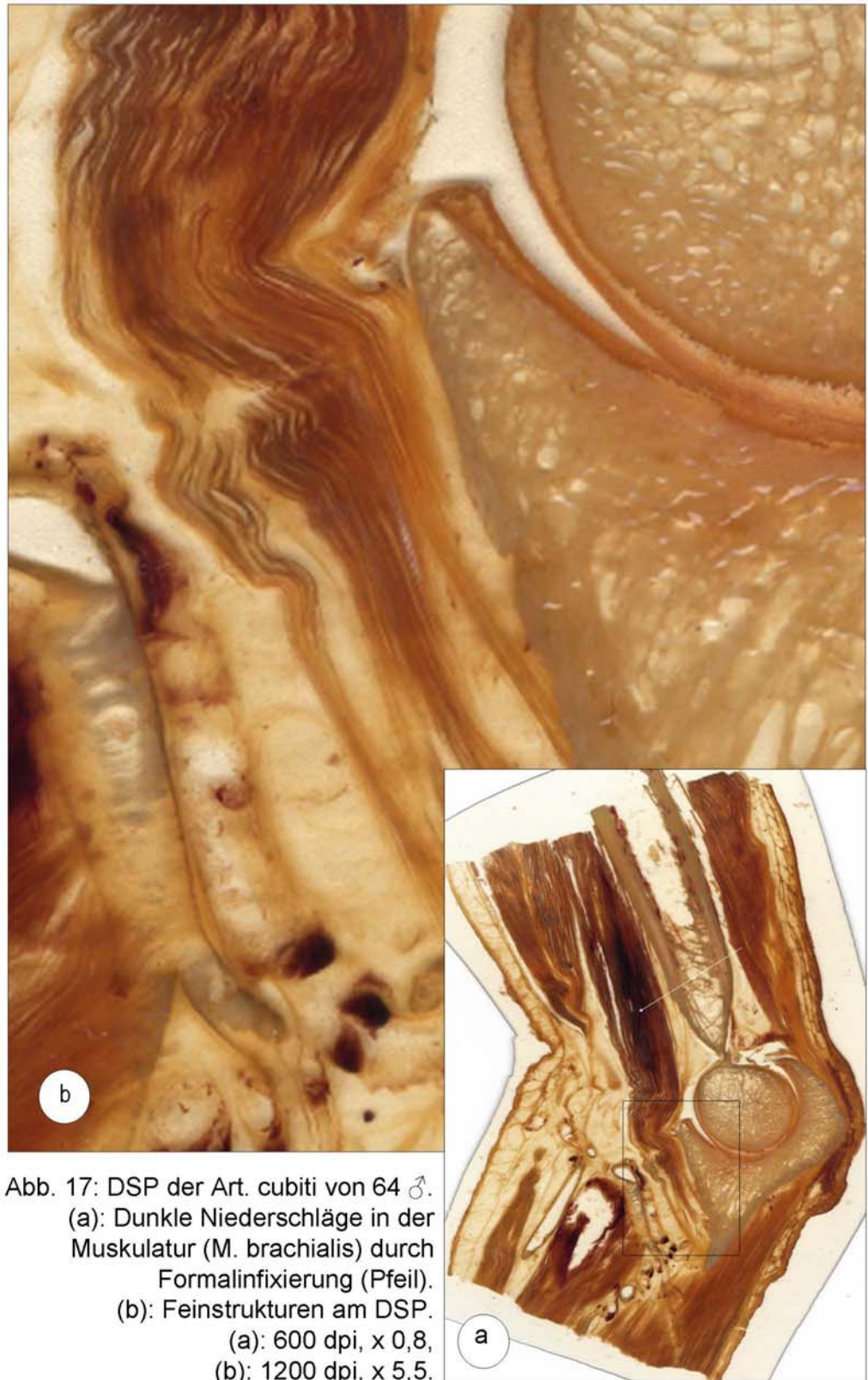


Abb. 16: Canthomeatale CT und MRT des perfundierten, unfixierten Kopfes
von 77 ♀ b.
(a): CT, (b): MRT (T1), SL = 4,0, TR = 24,9 TE = 10,6. Das Präparat wurde
isotonisch perfundiert (a u. b) und für MRT- Untersuchung erwärmt (b); x 0,4.



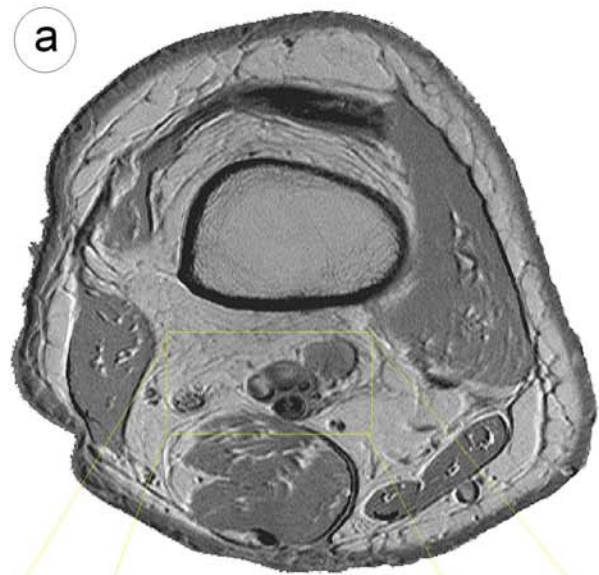


Abbildung 18:
Horizontales T1- MRT des
perfundierten Knies
von Körperspender
64 ♀.

(a) Durch die Verwendung
von unfixiertem,
perfundiertem Material
entsteht ein hoch-
auflösendes MRT, x 1.

(b) Regio poplitea
vergrößert aus (a),
x 2,2.

(c) Vergrößerung des
DSP (d), korrelierend zu
(b).

Mit Hilfe des
korrelierenden DSP
(c, d) lassen sich unklare
Strukturen am MRT (a, b)
sicher diagnostizieren.
Ein NI. popliteus (L) ist am
DSP (c) sicher von der V.
poplitea (V) zu
unterscheiden;
am MRT (b) nicht.

(N): N. tibialis,
(M): M. plantaris.

(a, b)

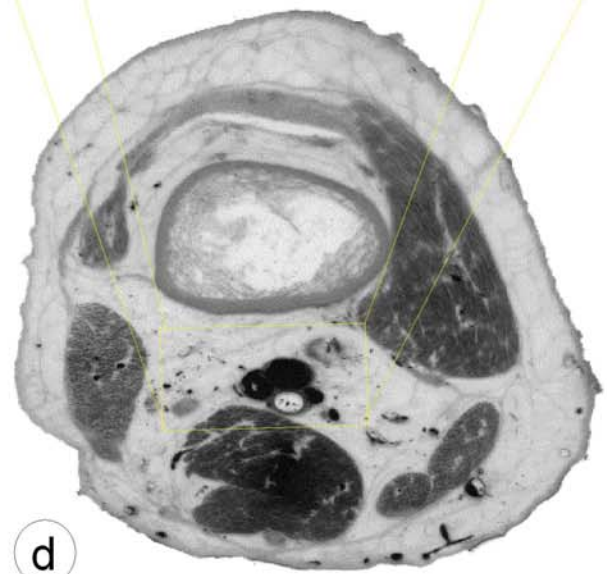
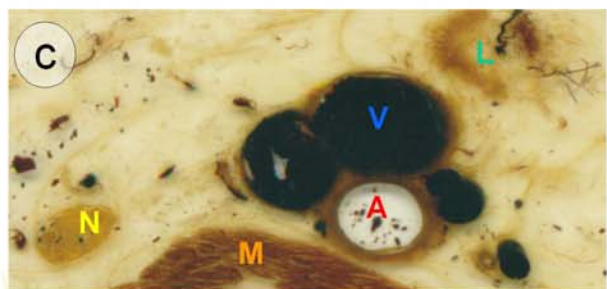
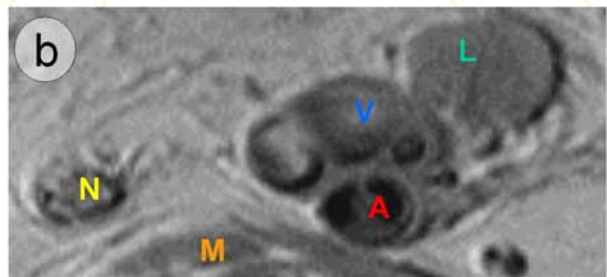
SL = 3,0,

TR = 24,9, TE = 10,6,

SL = 4,0;

(c, d)

0,8 mm, 800 dpi.



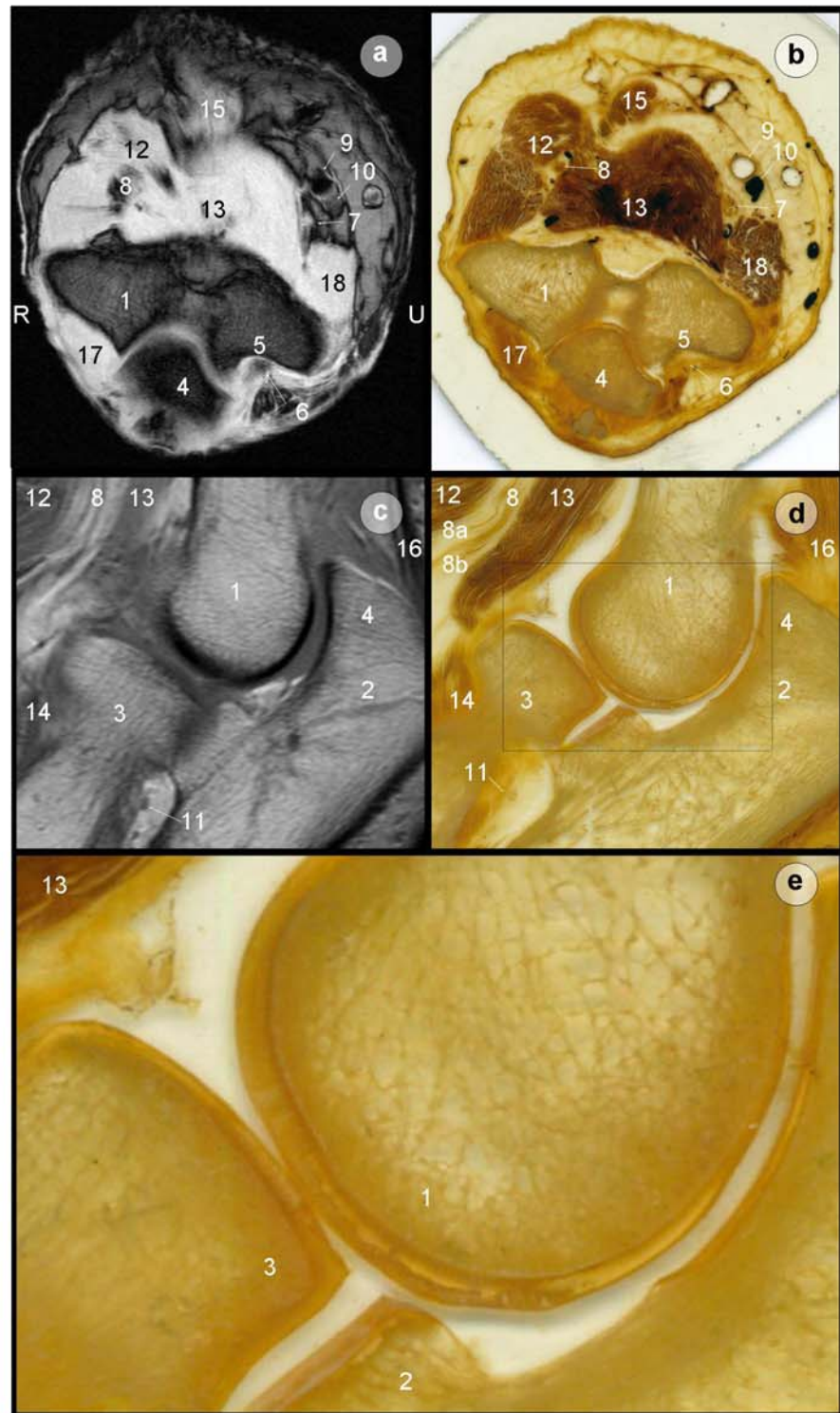


Abb. 19: Korrelierende Schnittbilder des Ellenbogengelenkes von 91 ♀.
 (a): -transversaler MR-Schnitt, T2; (b): korrelierendes DSP;
 (c): sagittaler MR-Schnitt, T1; (d): korrelierendes DSP. R– radial, U– ulnar.
 1: Humerus, 2: Ulna, 3: Radius, 4: Olecranon, 5: Sulcus ulnaris,
 6: N. ulnaris, 7: N. medianus, 8: N. radialis, 8a: R. superficialis n. radialis,
 8b: R. profundus n. radialis, 9: A. brachialis, 10: V. brachialis,
 11: A. et V. interossea anterior, 12: M. brachioradialis, 13: M. brachialis,
 14: M. supinator, 15: M. biceps brachii, 16: M. triceps brachii,
 17: M. anconeus, 18: M. pronator teres.
 (a – d): x 0,8. (e): Vergrößerung aus (d): x 2,5.
 MRT: TR 600, TE 20, FOV 150*150, Matrix 512*512, 8 Bit (256 Grauwerte).
 DSP: E12, 800µm, 600 dpi, 24 Bit.

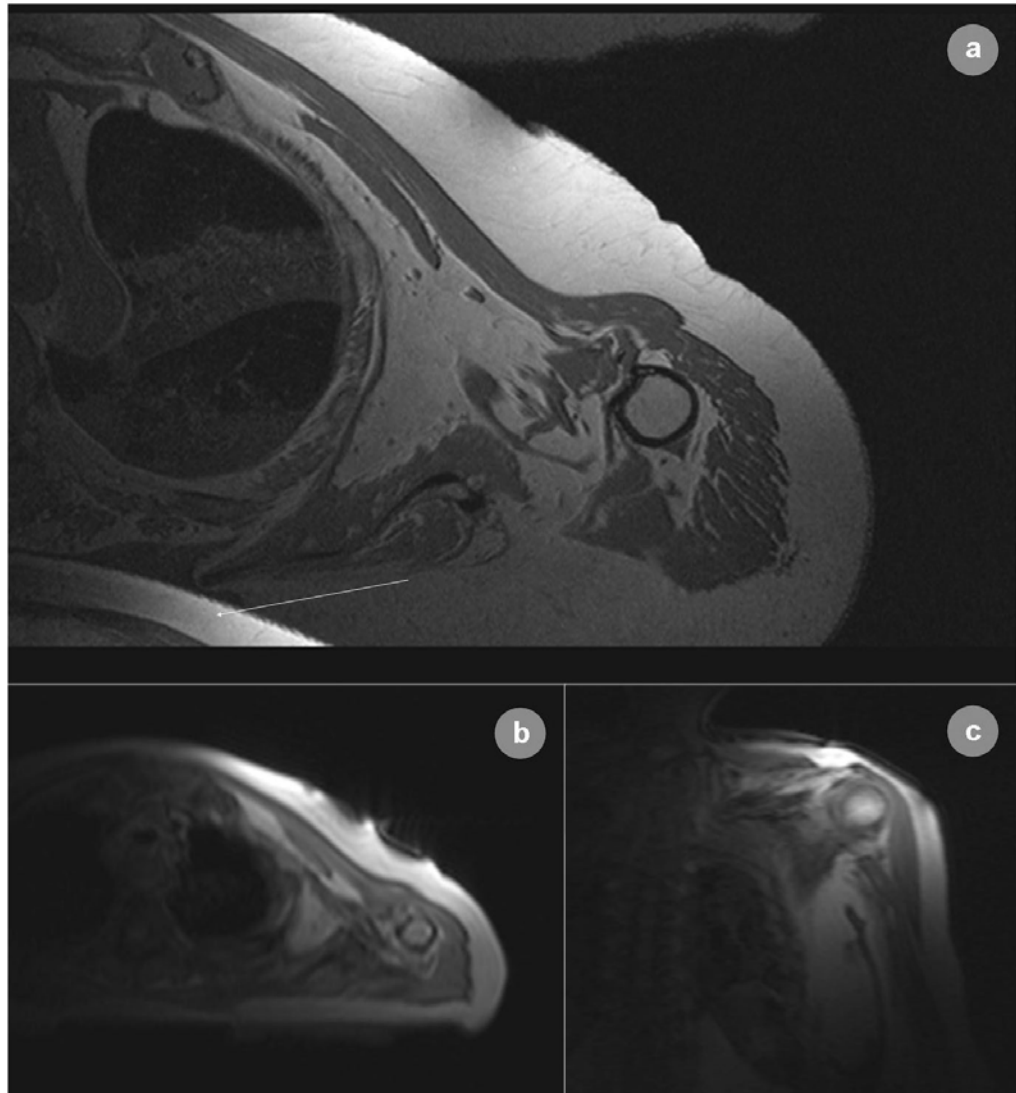


Abb. 20: MRT- Artefakte.

(a): Regio axillaris von 85 ♀ a horizontal, x 0,5;

(b): Regio axillaris von 85 ♀ a horizontal, x 0,18;

(c): Schulter von 85 ♀ b frontal, x 0,125.

(a u. b) Neben Störungen bei der Darstellung der Haut traten an injizierten Präparaten gelegentlich Spiegelungen auf (Pfeil), die morphologisch nicht erklärt werden konnten.

(c) In der frontalen Untersuchung trat erhöhtes Bildrauschen auf, weshalb die Darstellung unscharf wurde.

Bei derartigen MRT- Artefakten konnte der Datensatz nicht mit den DSP korreliert werden (s. Abb. 29, 85 ♀ a).

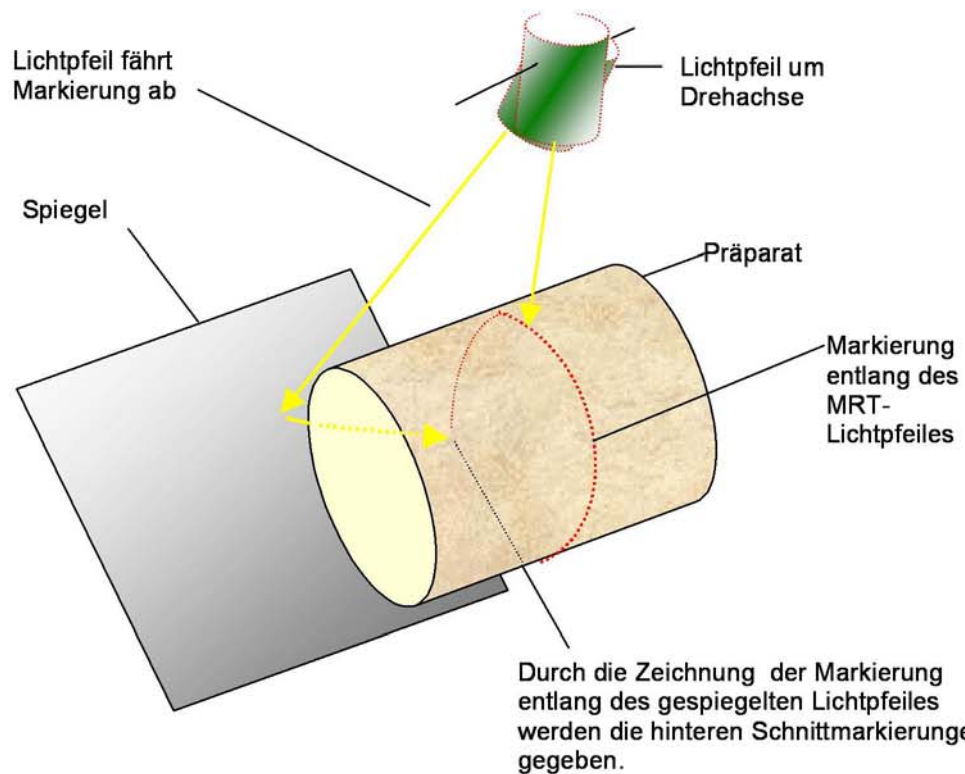


Abb. 21: Vorrichtung zum Verlängern der vorderseitig angebrachten Markierungen nach hinten.

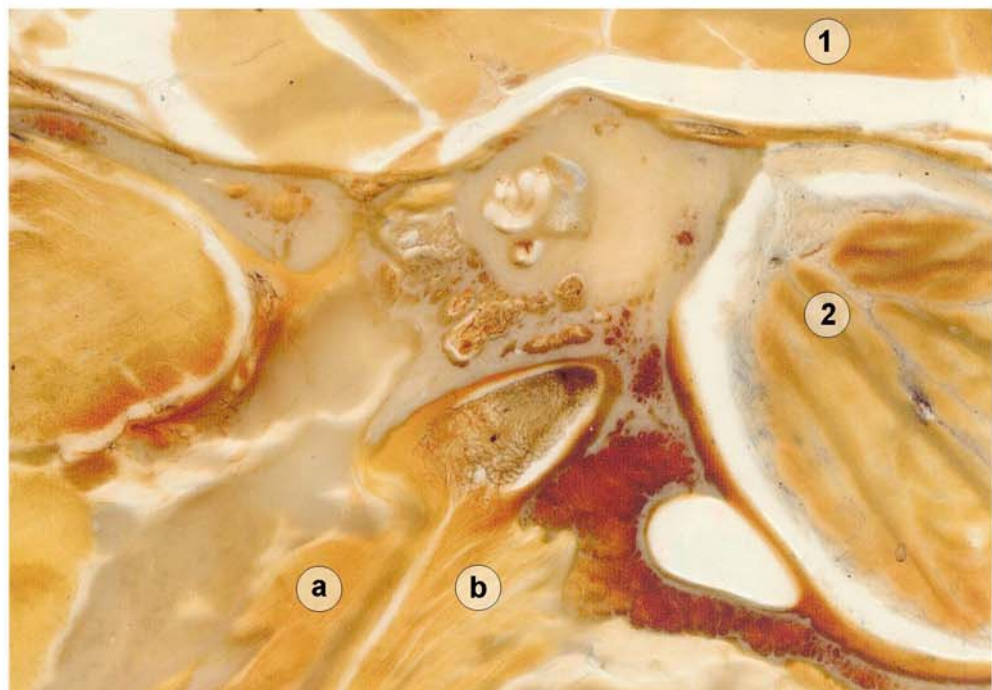


Abb. 22: Sagittales DSP des Kopfes von 72 ♂ durch die Cochlea. Die Transparenz von Großhirn (1) und Kleinhirn (2) ist etwa gleich der von Muskulatur (3a: M. tubae auditivae, 3b: M. pterygoideus lateralis). Der Schnitt durch die Cochlea zeigt das Auflösungsvermögen von gescannten DSP, die mit FO 127 plastiniert sind. 800 μm , 600 dpi, x 2,5.

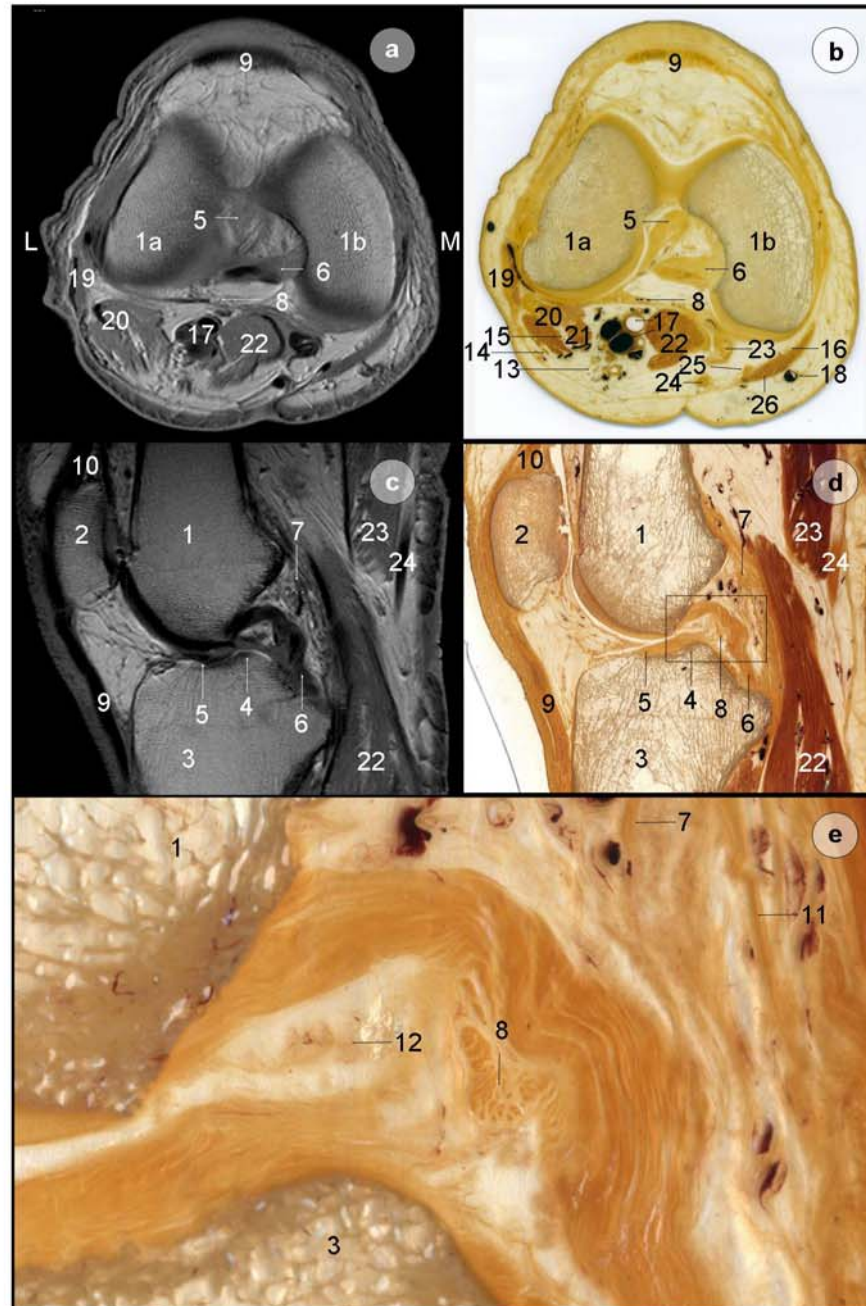


Abb. 23: Horizontale und sagittale MRT/DSP- Paare des Knies.

(a,b): Knie horizontal 79 ♀; (c-e): Knie sagittal 94 ♀ a;

1: Femur, 1a: Condylus lateralis, 1b: Condylus medialis, 2: Patella, 3: Tibia, 4: Eminentia intercondylaris, 5: Lig. cruciatum anterius, 6: Lig. cruciatum posterius, 7: Lig. meniscofemorale, 8: vorderes meniskofemorales Band (Humphrey'sches Band), 9: Lig. patellae, 10: Tendo m. quadriceps femoris, 11: hintere Gelenkkapsel, 12: Plicae alares, 13: N. tibialis, 14: N. peronaeus communis, 15: N. suralis, 16: N. saphenus, 17: A. poplitea, Vv. popliteae, 18: V. saphena magna, 19: Tractus iliotibialis, M. biceps femoris, 20: Caput laterale m. gastrocnemii, M. soleus, M. popliteus (von außen nach innen), 21: M. plantaris, 22: Caput mediale m. gastrocnemii, 23: M. semi-membranosus, 24: M. semitendinosus, 25: M. gracilis, 26: M. sartorius.

(a,c): SL 3.0, TR 600, TE 20; (a-e) x 0,3; (e): Vergrößerung von (d), x 2,5;

(b,d, e): E12 800µm, (b, d). 600 dpi, (e) 1200 dpi.



Abb. 24: Horizontales DSP des Kopfes von 87 ♂.
 (a): x 0,7; (b): ausgebrochene Injektionen im Gefäß- Nervenstrang
 des Halses, x 1,7; (c): NI. parotidus, x 13;
 (d) „Eisnadeln“ im 3. Halswirbel, Gefrierbruch im Vertebraalkanal, x 1,3.
 Das mit FO 127 plastinierte Präparat zeigt die Verteilung
 der farbig injizierter Gefäße von der Übersicht (a)
 bis hin zu den Aufzweigungen an den Lymphknoten (c).
 FO 127; 800µm; (a, b) und (d): 600 dpi, (c): 1200 dpi.

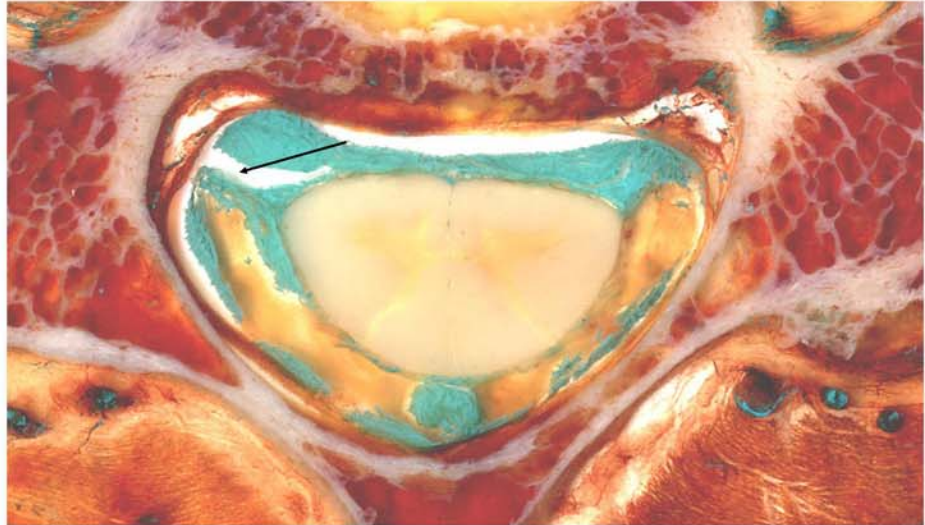


Abb. 25: Horizontales DSP des Kopfes von 71 ♀.
 Das erwärmte Präparat wurde in blauer Gelatine eingebettet und durchtränkt, vorgekühlt und schockgefroren und auf Zellulose aufgezogen, Im Inneren des Kopfes traten Gefrierartefakt auf (Pfeil).
 DSP E12, 900µm, 500 dpi, x 4.

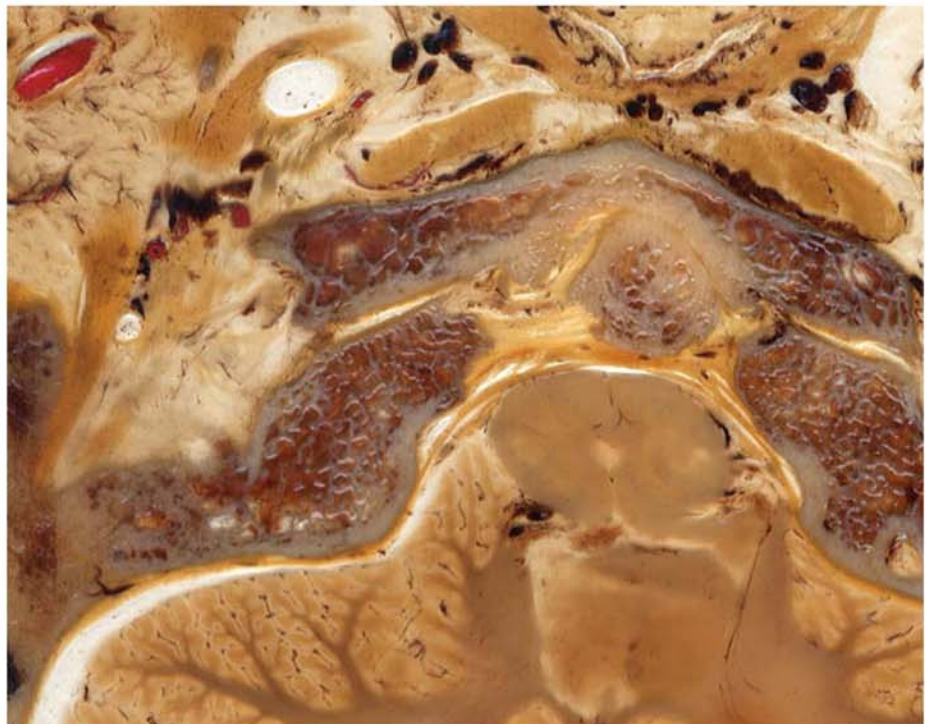


Abb. 26: Horizontales DSP des Kopfes von 92 ♀, Höhe Dens axis, rot injiziert.
 Das Freilegen des Gehirns erlaubte nach Vorkühlung des Kopfes das erfolgreiche Schockfrieren. Am Gehirn traten kaum Schrumpfungsartefakte auf.
 Schnittdicke 800µm, 500 dpi, x 3.

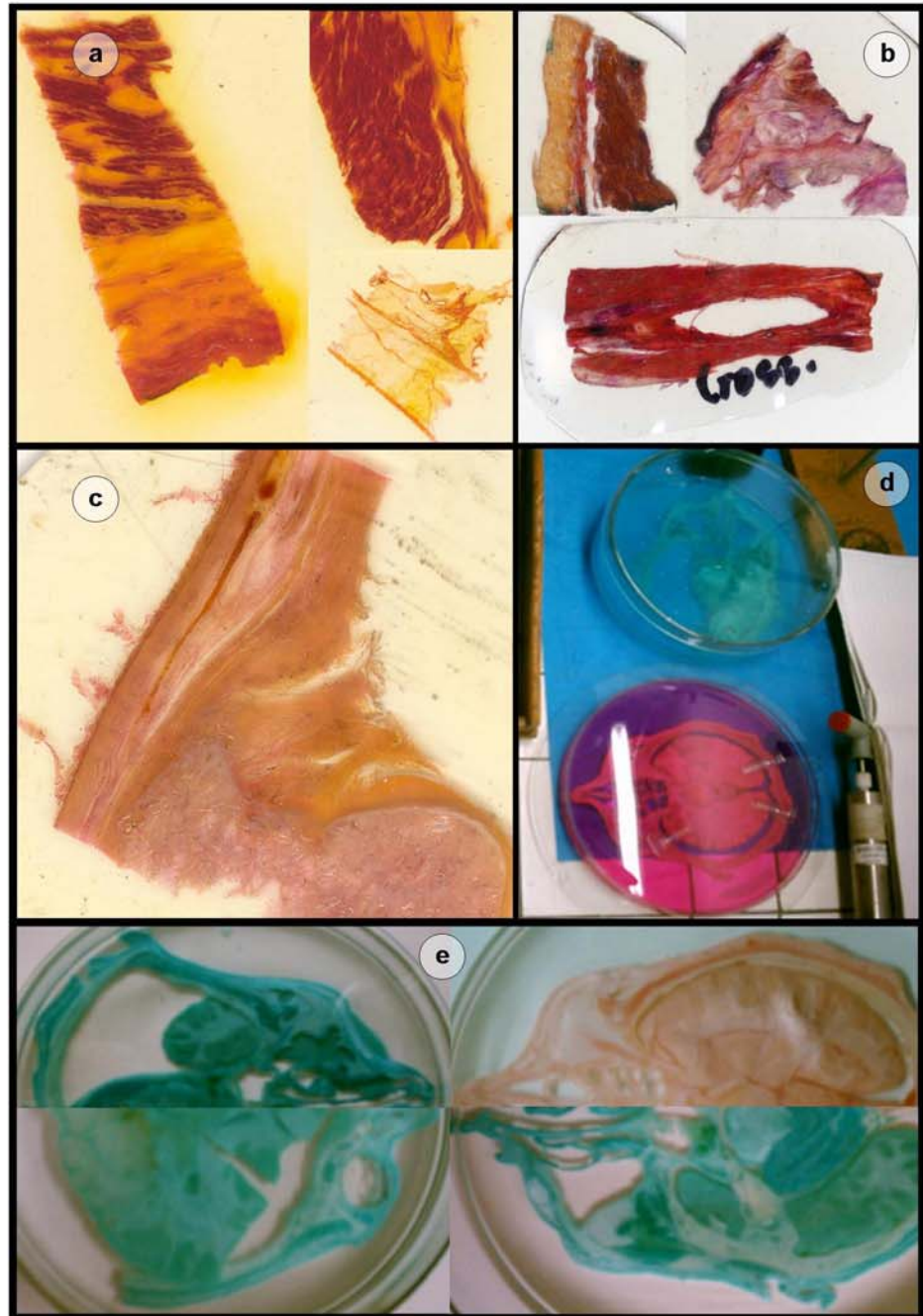


Abb. 27: DSP- Färbungen.

- (a): DSP, van Gieson; (b): DSP, Crossmon, rechts oben: DSP Molybdänhämatoxilin; (c): DSP, Säurefuchsin; (d): Färbeflotten. Oben: Methylenblau, eine Woche Färbung, unten: basisches Fuchsin, ein Tag nach Färbebeginn; (e): im Kreis von links oben im Uhrzeigersinn: Azur A, basisches Fuchsin, Methylenblau, Toloidin.
- Färben von Dünnschnitten gelingt in Azeton- Wasser- Lösung (AWL) bei geringen Farbstoffkonzentrationen. Die Färbungen sind selektiv; die Lösungen entfärben sich dabei. In Metachromasie tritt bei Azur A, Methylenblau und Toloidin auf.
- Schnittdicke 800µm, (d und e): 71 ♀ (a,b) u. (c): 500 dpi, x 1.

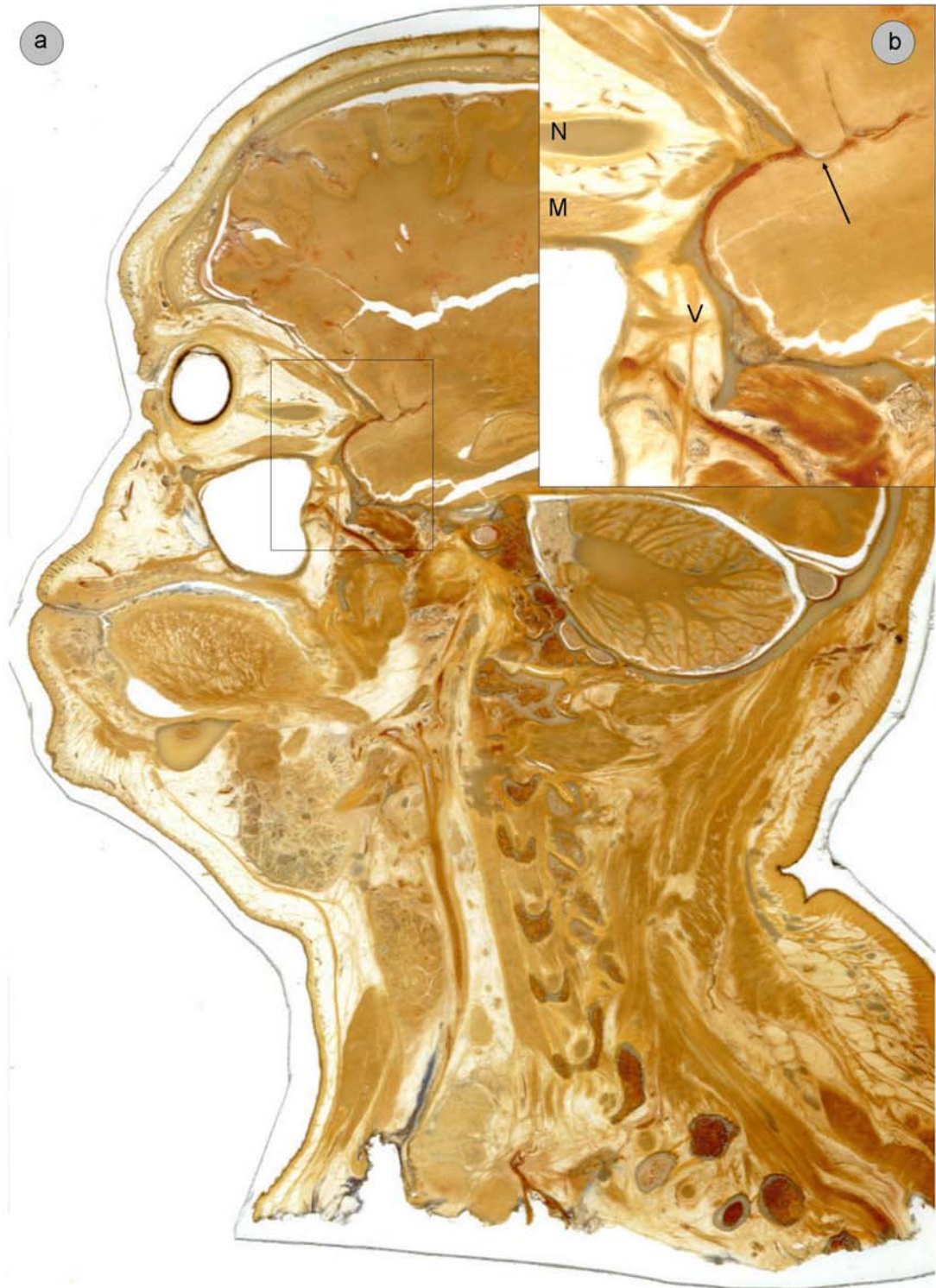


Abb. 28: Sagittales DSP des Kopfes von 94 ♀ a.
 (a): 1200 dpi, x 0,8; (b): Aufteilung des N. trigeminus (V), gleiche Transparenz von Muskel (M) und Nerv (N) durch die Verwendung von FO 127. Durch Einfrieren des Präparates, ohne vorher das Gehirn freizulegen, traten Gefrier- und Schrumpfungsartefakte auf. Rot injiziert. Pfeil: A. meningea media. 800 µm, 600 dpi, x 2,3.

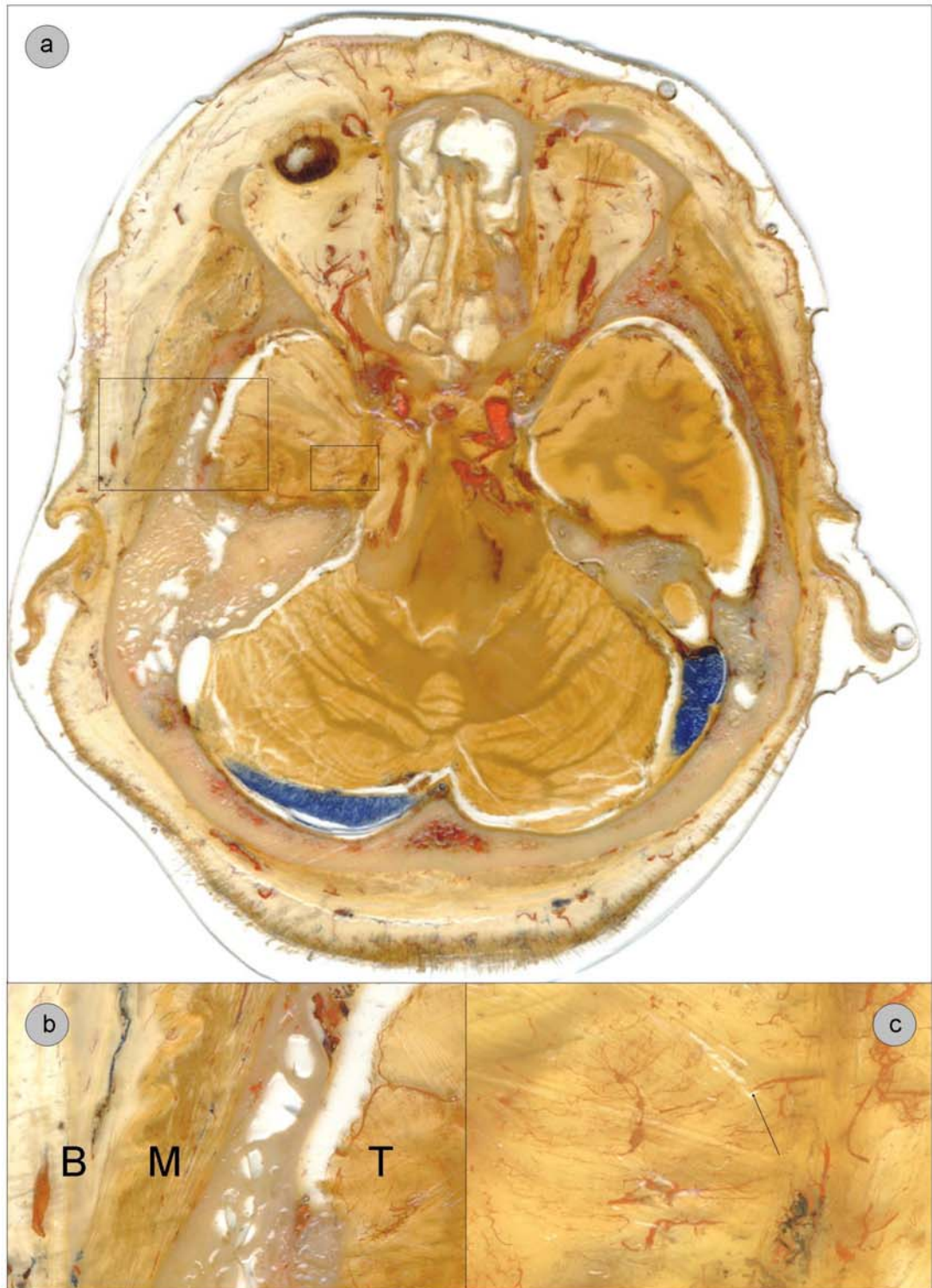


Abb. 29: Canthomeatales DSP des Kopfes von 85 ♀ a, farbig injiziert, Eisnadeln.
 (a): 500 dpi, x 1; (b): Der Temporallappen des Gehirns (T) ist so transparent wie der M. temporalis (M). Das Bindegewebe (B) ist hell transparent. 800 dpi, x 1.5.
 (c): Das Gehirn ist transparent. Pfeil: Gefrierartefakt (Eisnadeln). 1200 dpi, x 4.2.



Abb. 30: Sagittales DSP des Beckens von 89 ♂.

a: 600 dpi, x 1; b: 800 dpi, 2,3.

Neben der Möglichkeit der Färbung ist es möglich, auch durch thermische Behandlung durch Nachdunkeln eine Differenzierung der Strukturen zu erreichen.

L: M. levator ani, P: M. transversus perinei profundus,
 O: M. obturatorius, S: M. transversus perinei superficialis. 800µm
 [cd:\beckssagi/bs_450p.jpg]

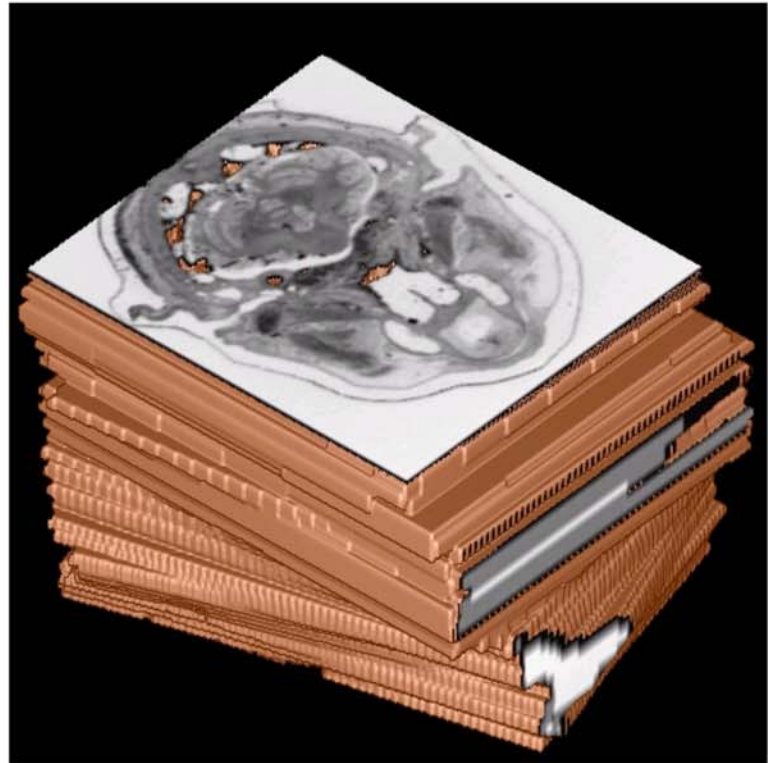


Abb 31: Alignment der gescannten DSP von 77 ♀ b.

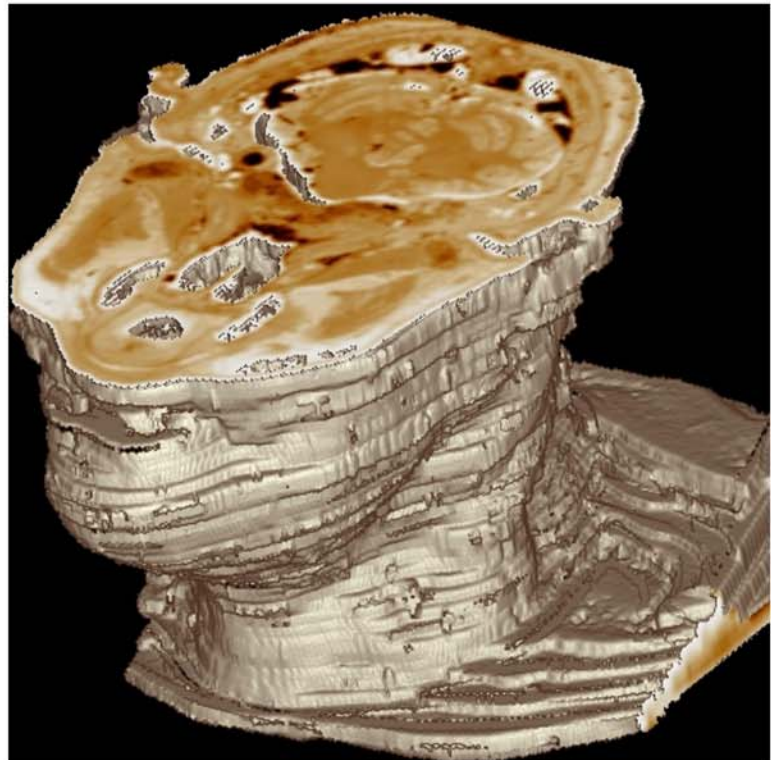


Abb. 32: 3D- Plastratevolumen von 77 ♀ b.
Rekonstruktion aus DSP [cd:\voxel.avi].

Literatur

- Ackerman MJ (1999) The Visible Human Project: a resource for education. *J Acad Med* 74: 667 - 670
- Adam H, Czihak G (1964) *Arbeitsmethoden der makroskopischen und mikroskopischen Anatomie*. Fischer, Stuttgart
- Augerson CC, Messinger JM (1993) Controlling the refractive index of epoxy adhesives with acceptable yellowing after aging. *J Am Inst Conservation* 32: 311 - 314)
- Auh YH, Lim TH, Lee DH, Kim YH, Lee MG, Cho KS, Mun CW, Lee I (1994) In vitro MR imaging of the resected stomach with a 4.7-T superconducting magnet. *Radiology* 191: 129 - 134
- Albrecht MH (1954) Mounting frozen sections with gelatin. *Stain technol.* 29: 89 - 90
- Armstrong P, Wastie ML (1987) *Diagnostic imaging*. Blackwell Scientific Publications, Melbourne.
- Ashton EA, Takahashi C, Berg MJ, Goodman A, Totterman S, Ekholm S (2003) Accuracy and reproducibility of manual and semiautomated quantification of MS lesions by MRI. *J Magn Reson Imaging* 17: 300 - 308
- Baeres FM, Moller M (2001) Plastination of dissected brain specimens and Mulligan-stained sections of the human brain. *Eur J Morphol* 39: 307 - 311
- Bassett LW, Ullis K, Seeger LL, Rauschnig W (1991) Anatomy of the hip: correlation of coronal and sagittal cadaver cryomicrosections with magnetic resonance images. *Surg Radiol Anat* 13: 301 - 306
- Bennet HS (1940) Nitrocellulose in amy- acetate as an embedding medium. *Anat Rec* 76: 233 - 239
- Betz E, Reutter K, Mecke D, Ritter H (2001) *Biologie des Menschen. Quelle und Meyer- Verlag, Wiebelsheim*
- Beyersdorff D, Schiemann T, Taupitz M, Kooijman H, Hamm B, Nicolas V (2001) Sectional depiction of the pelvic floor by CT, MR imaging and sheet plastination: computer-aided correlation and 3D model. *Eur Radiol* 11: 659 - 664

II

- Blümelhuber G (2002) Einfluß von Fettsäuren und Pflanzenölen auf die Eigenschaften eines Faser-Epoxidharz-Verbundwerkstoffs. Diss. Fak. Wissenschaftsz. Weihenstephan Techn. Univ. München
- Bloch F (1946) Nuclear induction. *Physical Review* 70: 460 - 474
- Boenig HV (1988) *Advances in Low-Temperature Plasma Chemistry. Technology Applications*, Technomic
- Bohannon J (2003) Anatomy's full monty. *Science* 301: 1172 – 1175
- Brady Jr, R.F (1992) Volume Change in the Polymerisation of Spirocyclic Monomers. *J Macromol Sci, Rev Macromol Chem Phys* 32: 135 -181
- Braune W (1875) *Topografisch- anatomischer Atlas*. 2. Aufl., Leipzig, Veit
- Braune W, Zweifel P (1890) *Gefrierschnitte in systematischer Anordnung durch den Körper einer Hochschwangeren geführt*. Leipzig, Veit
- Brenner E, Gruber H, Fritsch H (2002) Fetal development of the first metatarsophalangeal joint complex with special reference to the intersesamoidal ridge. *Ann Anat* 184: 481 - 487
- British Plastics (1950) *Acrylics for specimen preservation*. Herausgeberaufsatz, *British Plastics* 22: 281 – 285
- Brizzi E, Caro R de, Sgambati E, Todescan GC, Munari PF (1994) The organisation of subperitoneal connective tissue in the female pelvis. *Clin Exp Obst Gyn* 33: 253 - 259
- Brökelmann J, Bald R, von Hagens G, Hansmann M (1989) Sonographie und plastinierte Großschnitte des kleinen Beckens. *Arch Gyn Obst* 245: 106 - 107
- Buddecke E (1994) *Grundriss der Biochemie*. 9. Aufl., Springer, Berlin
- Burck HC (1982) *Histologische Technik*. 5. Aufl. Thieme, Stuttgart- New York
- Christ B, Drenckhahn D, Funk R, Tillmann B, Kühnel W, Korf W, Neuhuber W (2004) Statement der Anatomischen Gesellschaft. *Ann Anat* 186: 193 – 194
- Chung MS, Kim SY (2000) The three- dimensional image and virtual dissection program of the brain made of Korean cadaver. *J Yonsei Med* 41: 299 – 203
- Chung MS, Park HS (2003) Another trial for making serially sectioned images (Visible Korean Human) International workshop on visible human. *Chbongqing China*: 2 – 9

III

- Clara M (1933) Über ein neues Molybdänhämatoxilin. *Z Wiss Mikr* 50: 73 – 77
- Collins DL, Neelin P, Peters TM, Evans AC (1994) Automatic 3D intersubject registration of MR volumetric data in standardized TALAIRACH- space. *J Comput Assist Tomogr* 18: 192 - 205
- Cooper PR (1982) Refractive-index measurements of paraffin, a silicone elastomer, and an epoxy resin over the 500 – 1500-nm spectral range. *Applied Optics* 21: 3413 - 3415
- Cook P (1997) Sheet Plastination as a Clinically Based Teaching Aid at the University of Auckland. *Acta Anat* 158: 33 – 36
- Dalager-Pedersen S, Falk E, Ringgaard S, Kristensen IB, Pedersen EM (2000) Effects of temperature and histopathologic preparation on the size and morphology of atherosclerotic carotid arteries as imaged by MRI. *Ital Heart J* 12: 824 - 831
- Derewitz J (1899) Färbung von Nerven mit Methylenblau. *Anat Anz* 15: 291 - 292
- Donath K (1988) Die Trenn- Dünnschliff- Technik zur Herstellung histologischer Präparate von nicht schneidbaren Geweben und Materialien. Exact-Kulzer-Druckschrift, Norderstedt
- Dose K (1994) Biochemie, 4.Aufl., Springer, Berlin
- Eckel HE, C Sittel, M Walger, G Sprinzi, Koebeke J (1993) Plastination: a new approach to morphological research and instruction with excised larynges. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 102: 660 - 665
- Eckstein F, Sittek H, Milz S, Putz R, Reiser M (1994) The morphology of articular cartilage assessed by magnetic resonance imaging (MRI). Reproducibility and anatomical correlation. *Surg Radiol Anat* 16: 429 – 438
- Eitel F, Seibold R, Hohn B, Schweiberer L (1986) Standardisierung der mikroangiographischen Untersuchungsmethode nach Spalteholz. *Unfallchirurg* 89: 326 – 336
- Entius CAC, van Rijn RR, Holstege JC, Stoeckart R, Zwamborn AW (1997) Correlating sheet plastinated slices, computed tomography images and magnetic resonance images of the pelvic girdle: a teaching tool. *Acta Anat* 158: 44 - 47
- Fritsch H (1988) Developmental changes in the retrorectal region of the human fetus. *Anat Embryol* 177: 513 – 522

IV

- Fritsch H (1989) Staining of different tissues in thick epoxy resin – impregnated sections of human fetuses. *Stain Technol* 64: 75 – 79
- Fritsch H, Hötzing H (1993) Der Uterusbandapparat an plastinierten Scheiben im Vergleich zur Kernspintomografie. *Ann Anat Suppl* 175: 262 – 263
- Fritsch H, Eggers R (1999) Ossification of the calcaneus in the normal fetal foot and in clubfoot. *J Pediatr Orthop* 1: 22 – 26
- Fritsch H, Lienemann A, Brenner E, Ludwikowski B (2004) Clinical anatomy of the pelvic floor. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 175: 1 – 64
- Fröhlich B, Hoetzing H, Fritsch H (1997) Tomographical anatomy of the pelvis, pelvic floor, and related structures. *Clinical Anat* 10: 223 – 230
- Gardetto A, Dabernig J, Rainer C, Piegger J, Piza-Katzer H, Fritsch H (2003) Does a superficial musculoaponeurotic system exist in the face and neck? An anatomical study by the tissue plastination technique. *Plast Reconstr Surg* 111: 664 - 675
- Gebert G (1987) *Physiologie als Grundlage der Medizin*. 19. Aufl., Schattauer Verlag, Stuttgart
- Grunewald M, Bischoff G, Bade H, Koebeke J, Neuhuber WL (1998) Präparierkurs Anatomie, Version 1.0 - Berlin; Ullstein Medical. CD-ROM (ISBN 3-86126-935-X)
- Grunewald M, Bischoff G, Neuhuber WL (1999) Medizinische Ausbildung unter Aufbau und Einsatz eines institutsindividuell konzipierten, computerbasierten Trainings (CBT) durch Dozenten und Studenten. Computerunterstützte Ausbildung in der Medizin. Proceedings zum 4. Workshop der GMDS AG Computergestützte Lehr- und Lernsysteme in der Medizin, Heidelberg 09. - 10. April 1999. Shaker, Aachen. Herausg.: Alle W , Leven FJ, Riedel J, Singer R
- Gosain AK, Yousif NJ, Madiedo G, Larson DL, Matloub HS, Sanger JR (1993) Surgical anatomy of the SMAS: a reinvestigatin. *J Plast Surg* 92: 1254 - 1263
- Harms H (1956) Celodal auf dem 6. Internationalen Anatomenkongreß Paris 1955. *Der Präparator* 2: 107-108
- Harms H (1965) *Handbuch der Farbstoffe für die Mikroskopie*. Staufen- Verlag Bercker, Kamp-Lintfort

- Hoch J, Fritsch H, Frenz C (1999) Gibt es einen knöchernen Strecksehnenab- oder -ausriß? Plastinationshistologische Untersuchungen zur Insertion der Streckaponeurose und deren Bedeutung für die operative Therapie. *Chirurg* 70: 705 - 712
- Hoch J, Fritsch H, Lewejohann S (2004a) Kongenitale oder erworbene Anlage des separaten Faches für die Sehne des Musculus extensor pollicis brevis- Tendovaginitis stenosans de Quervain? Makroanatomische und fetal- plastinationshistologische Untersuchung zum 1. Strecksehnenfach. *Ann Anat* 186: 305 – 310
- Hoch J, Fritsch H, Lewejohann S (2004b) Plastinationshistologische Untersuchung zur Insertion der Sehne des Musculus extensor pollicis brevis an der Daumengrundphalanx. *Ann Anat* 186: 375 - 377
- Höhne KH, Pflesser B, Pommert A, Riemer M, Schiemann T, Schubert R, Tiede U (1995) A new representation of knowledge concerning human anatomy and function. *Nat Med* 6: 506 - 511
- Hodler J, Trudell D, Pathria MN, Resnick D (1992 a) Width of the articular cartilage of the hip: quantification by using fat- suppression spin- echo MT Imaging in Cadavers. *Am J Roentgenology* 159: 351- 355
- Hodler J, Haghghi P, Trudell D, Resnick D (1992 b) The cruciate ligaments of the knee: correlation between MR appearance and gross and histologic findings in cadaveric specimens. *Am J Roentgenology* 159: 357- 360
- Hodler J, D Trudell, HS Kang, I Kjellin, D Resnick (1992 c) Inexpensive technique for performing magnetic- resonance- pathologic correlation in cadavers. *Invest Radiol* 27: 323- 325
- Hofman E (2001) Medizinische Biochemie. 3. Aufl., Uni-Med, Bremen
- Holliday J, Saxon R, Lufkin RB, Rauschnig W, Reicher M, Bassett L, Hanafee W, Barbaric W, Sarti D, Glenn W (1985) Anatomic correlations of magnetic resonance images with cadaver cryosections. *Radiographics* 5: 887 - 921
- Holst M (2001) Reaktionsschwindung von Epoxidharz-Systemen. Diss. Chem., Techn. Univ. Darmstadt
- Humbel, BM (1984) Gefriersubstitution: ein Weg zur Verbesserung der morphologischen und zytochemischen Untersuchung biologischer Proben im Elektronenmikroskop. Eidgenössische Techn. Hochsch. Diss., Hochschulschrift. Zürich

- Humphrey CD, Pittmann FE (1974) A simple methylene blue- azure II- basic fuchsin stain for epoxy embedded tissue sections. *Stain Technol* 49: 9 - 14
- Hyrtil J (1860) *Handbuch der praktischen Zergliederungskunst*. Baumüller, Wien
- Jones DG (2002) Re- inventing anatomy: the impact of plastination body. *Clin Anat* 15: 436 – 440
- Johnson GM, Zhang H (2002) Regional differences within the human supraspinous and interspinous ligaments: a sheet plastination study. *Eur Spine J* 11: 382–388
- Kerr JP, Knapp D, Frake B, Sellberg M (2000) "True" color surface anatomy: mapping the Visible Human to patient-specific CT data. *Comput Med Imaging Graph* 24: 153 - 164
- Klaus IS, Knowles WS (1966) Reduction of shrinkage in epoxy resins. *J Appl Polym Sci* 10: 887 - 888
- Lauterbur PC (1973) Image formation by induced local interactions: examples employing nuclear magnetic resonance. *Nature* 242: 190 - 191
- Lee JS, Jani AB, Pelizzari CA, Haraf DJ, Vokes EE, Weichselbaum RR, Chen GT (1999) Volumetric visualization of head and neck CT data for treatment planning. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 44: 693 - 703
- Lamont P, Sachinwalla T, Pamphlett R (1994) Magnetic resonance imaging of postmortem infant brains. *J Child Neurol* 9: 59 - 62
- Lufkin R, Rauschning W, Seeger L, Bassett L, Hanafee W (1987) Anatomic correlation of cadaver cryomicrotomy with magnetic resonance imaging. *Surg Radiol Anat* 9: 299 - 302
- Lundvall H (1927) Die Färbung des Skelettes in durchsichtigen Weichteilen. *Anat Anz* 40: 639 - 640
- Lutter, E (1990) *Die Entfettung: Grundlagen, Theorie und Praxis*. 2., erw. Aufl., Leuze, Saalgau/Württ.
- Löffler E, Perides PE (2003) *Biochemie und Pathologische Biochemie*. 7. Aufl., Springer, Berlin
- Mackenzie R, Logan BM, Shah NJ, Keene GS, Dixon AK (1994) Direct anatomical-MRI correlation: the knee. *Surg Radiol Anat* 16: 183 -192
- Magiros M, Kekic M, Doran GA (1997) Learning relational anatomy by correlation thin plastinated sections and magnetic resonance images: preparation of specimens. *Acta Anat* 158: 37 - 43

VII

- Maintz JB, Viergever MA (1998) A survey of medical image registration. *Med Image Anal* 2:1 - 36
- Matsko N, Mueller M (2004) AFM of biological material embedded in epoxy resin. *J Struct Biol* 146: 334 - 43
- Matsumura A Saito K (1997) Distribution of muscle spindles in the extensor digitorum and hallucis brevis muscles of the macaque as determined by plastination. *Acta Anat* 158: 59 - 67
- Minkwitz D (1991) Ersatzstoffe für Halogenkohlenwasserstoffe bei der Entfettung und Reinigung in industriellen Prozessen. *Verl. f. neue Wissenschaft, Bremerhaven*
- Montserrat S, Flaque D, Pages P, Malek J (1995) Effect of crosslinking degree on curing kinetics of an epoxy-anhydride system. *J Appl Polym Sci* 56: 1413 - 1421
- Nedden zur D, Putz R (1989) Anatomy and computed tomography of the lumbar spinal canal. *Röntgenpraxis* 38: 153 – 7
- Neumann K (1955) Grundriß der Gefriertrocknung. 2. Aufl., Musterschmidt, Göttingen
- Nash LG, Phillips MN, Nicholson H, Barnett R, Zhang M (2004) Skin ligaments: regional distribution and variation in morphology. *Clin Anat* 17: 287 - 293
- Nunes LW, Schiebler MS, Rauschning W, Schnall MD, Tomaszewski JE, Pollack H, Kressel H (1995) The normal prostate and periprostatic structures: correlation between MR images made with an endorectal coil and cadaveric microtome sections. *Am J Roentgenol* 164: 923 - 927
- Pabst R, Nave H, Rothkötter H-J, Tschernig T (2001) Lehrevaluation in der Medizin. Befragungen zur Qualität der Lehre in den Hochschulen. *Dt Ärztebl* 98A: 747 – 749
- Pavkov ML, Koebeke J, Notermans HP, Brökelmann J (2004) Quantitative evaluation of the utero-ovarian venous pattern in the adult human female cadaver with plastination. *World J Surg* 28: 201 - 205
- Peschers UM, DeLancey JO, Fritsch H, Quint LE, Prince MR (1997) Cross-sectional imaging anatomy of the anal sphincters. *Obstet Gynecol* 90: 839 - 844
- Piechocki R (1986) Makroskopische Präparationstechnik. 4. Aufl., Fischer, Jena
- Platzer W, Putz R und Poisel S (1987) Ein neues Konservierungs- und Aufbewahrungssystem für anatomisches Material. *Acta Anat* 102: 60 – 67

VIII

Prescher A (2001) pers. Mitteilung

Pooley HM, Porres-Juan JM, Shockman GD (1970) Dissociation of an autolytic enzyme-cell wall complex by treatment with unusually high concentrations of salt. *Biochem Biophys Res Commun* 38: 1134 - 1140

Purcell EM, Torrey HC, Pound RV (1946) Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid, *Physical Review* 69: 37 - 38

Putz R, zur Nedden D (1983) Imaging of the spinal canal using computed tomography. *Morphol Med* 3: 143 - 149

Qiu MG, Zhang SX, Liu ZJ, Tan LW, Wang JS, Deng JH, Tang ZS (2003) Plastination and computerized 3D- reconstruction of the temporal bone. *Clin Anat* 16: 300 – 303

Qiu MG, Zhang SX, Liu ZJ, Tan LW, Wang YS, Deng JH, Tang ZS (2004a) Three-dimensional computational reconstruction of lateral skull base with plastinated slices. *Anat Rec* 278A: 437 – 442

Qiu MG, Zhang SX, Liu ZJ, Tan LW, Li QY, Li K, Wang YS, Deng JH, Tang ZS (2004b) Visualization of the temporal bone of the Chinese Visible Human. *Surg Radiol Anat* 26: 149 – 152

Quester R, Knifka J, Schroder R (2002) Optimization of glycol methacrylate embedding of large specimens in neurological research. Study of rat skull-brain specimens after implantation of polyester meshes. *J Neurosci Methods* 113: 15 – 26

Rauen HM (1964) *Biochemisches Taschenbuch*. Springer, Berlin

Rauschnig W (1983) Computed tomography and cryomicrotomy of lumbar spine specimens: a new technique for multiplanar anatomic correlation. *Spine* 8: 170 – 180

Rauschnig W, Bergström K (1983) Correlative cranialspinal anatomy studied by computed tomography and cryomicrotomy. *J Comput Assist Tomogr* 7: 9 – 13

Rauschnig W, Bergström K, Pech P (2003) Correlative craniospinal anatomy studies by computed tomography and craniomicrotomy. *J Comput Assist Tomogr* 7: 9 – 13

Reiz E (2002) Topografie des Karpalkanals unter endoskopischer Dekompersion des Nervus medianus. *Diss. Med. Fak. Univ. Köln*

- Rinck PA, Muller RN, Peterson SB (1990) An introduction to magnetic resonance in Medicine. The basic textbook of the European workshop of magnetic resonance in Medicine. Thieme, New York
- Robb RA (2000) Virtual endoscopy: development and evaluation using the Visible Human datasets. *Comput Med Imaging Graph* 24: 133 - 151
- Romaniak TH (1946) The use of unsaturated polyester resins for embedding biological materials. *Science* 104: 601 – 602
- Romeis B (1989) *Mikroskopische Technik*. 17. Aufl. Urban & Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore
- Romrell LJ, Lanier L, Ross H, Hagens G von (1996) *Der menschliche Körper. Schnittanatomie und Tomografie*. 2. Aufl., Ullstein Mosby, Berlin/Wiesbaden
- Rosenbauer KA (1957) Die Technik der Einbettung biologischer Objekte in Kunststoff. *Anat Anz* 104: 360 – 366
- Rustom A, Saffrich R, Markovic I, Walther P, Gerdes HH (2004) Nanotubular highways for intercellular organelle transport. *Science* 303:1007-1010. (<http://www.sciencemag.org/cgi/content/full/303/5660/1007>)
Methode: [Online: RUSTOM]
- Ruth EB (1934) A method for preparing frozen sections of infant cadaver. *Anat Rec* 58: 241 - 244
- Schallreuter W (1959) *Grimsel. Lehrbuch der Physik*. 12. Aufl., Teubner Verlagsgesellschaft, Leipzig
- Schiemann T, Freudenberg J, Pflessner B, Pommert A, Priesmeyer K, Riemer M, Schubert R, Tiede U, Hohne KH (2000) Exploring the Visible Human using the VOXEL-MAN framework. *Comput Med Imaging Graph* 24: 127 - 132
- Schill V (2003) BIODUR®, persönliche Mitteilung 17.10.2003
- Schmidt W, Steinke H (1996) Shrinkage of brain tissue in freeze substitution. *Ann Anat Suppl* 178: 183
- Schmidt W, Steinke H (2000) Wie stellt sich die laterale Schädelbasis am Dünnschnittplastinat dar? 8. Sammelband Jahrestagung der Dt. Ges. f. Schädelbasischir., Leipzig 24.-25.11.2000: 34 – 36, ISBN: 3540426981
- Schmidt W, Steinke H, Schulz T, Strauss G, Trantakis C (2001) MR-Visualization of the skull base: comparison of unfixed, short-time-fixed and thin-slice-plastinated cadavers. *Skull Base* 11: 1

- Schubert R, Schiemann T, Tiede U, Hohne KH (1997) Applications and perspectives in anatomical 3-dimensional modelling of the visible human with VOXEL-MAN. *Acta Anat* 160: 123 - 131
- Schwab KH, von Hagens G (1981) Freeze substitution of macroscopic specimens for plastination. *Acta Anat* 111: 139 - 140
- Seeram E (1997) 3-D imaging: basic concepts for radiologic technologists. *Radiol Technol* 69: 127 - 148
- Seibold R, Eitel F, Waldner H, Brunner U, von Hagens G (1991) Neuartige Anwendung der Plastination in der Knochenhistologie. *Unfallchirurg* 94: 624 – 633
- Sittel C, Eckel HE, Sprinzi GM, Stennert E (1997) Plastination of the larynx for whole-organ sectioning. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 254: 93 - 96
- Sha Y, Zhang SX, Liu ZJ, Tan LW, Wu XY, Wan YS, Deng JH, Tang ZS. (2001) Computerized 3D-reconstructions of the ligaments of the lateral aspect of ankle and subtalar joints. *Surg Radiol Anat* 23: 111 - 114
- Soltanian-Zadeh H, Peck DJ, Windham JP, Mikkelsen T (1998) Brain tumor segmentation and characterization by pattern analysis of multispectral NMR images *NMR Biomed* 11: 201 - 208
- Sora MC, Strobl B, Forster-Streffleur S, Staykov D (2002a) Aortic arch variation analyzed by using plastination. *Clin Anat* 15: 379 – 382
- Sora MC, Strobl B, Staykov F, Traxler H (2002b) Optic nerve compression analyzed by using plastination. *Surg Radiol Anat* 24: 205 – 208
- Sora MC, Brugger PC, Strobl B (2002c) Shrinkage during E12 plastination. *J Int Soc Plastination* 17: 23 – 27
- Spanner R (1926) Die Bearbeitung des Celluloids zum montieren makroskopischer Sammlungspräparate. *Anat Anz* 62: 227 – 235
- Spalteholz W (1911) Über das Durchsichtigmachen von menschlichen und tierischen Präparaten und seine theoretischen Bedingungen. Hirzel, Leipzig
- Spitzer VM, Ackerman MJ, Scherzinger AL, Whitlock D (1996) The visible human male: a technical report. *Am Med Inform Assoc* 2: 118 – 130
- Spitzer VM, Whitlock DG (1998) The visible human dataset: the anatomical platform for human simulations. *Anat Rec* 253: 49 – 57
- Sprinzi G, Eckel HE, Sittel C, Thumfart WF, Koebke J (1995) Whole organ plastination in otorhinolaryngology. *HNO* 43: 282 - 286

- Steinke H, Märker S, Schmidt W (1997) Sollte bei Zellzählungen der Imprägnationsprozess beachtet werden? *Ann Anat Suppl* 179: 260-261
- Steinke H, Wolff W (2001) A modified Spalteholz technique with preservation of the histology. *Ann Anat* 183: 91 - 95
- Steinke H (2001) Plastinated body slices for verification of magnetic resonance tomography images. *Ann Anat* 183: 275 - 281
- Steinke H, Pfeiffer S, Spanel-Borowski K (2002) A new plastination technique for head slices containing brain. *Ann Anat* 184: 1 - 6
- Steinke H, Thomas M (2002) Plastination: Korrelation von anatomischem Präparat und Magnetresonanz- Tomografie. *KCS* 3: 41 - 46
- Steinmann, WF (1982) Makroskopische Präparationsmethoden in der Medizin. Thieme, Stuttgart
- Strate J, Rothkotter HJ, Pabst R (1998) How do medical students judge preclinical studies? Results of questionnaire analysis after the 1st and 2d year of studies. *Dtsch Med Wochenschr* 38: 1093 – 1096
- Strauss G, Winkler D, Trantakis C, Schulz T, Meixensberger J (2004) Post-processing of radiological data for preoperative planning in skull base surgery. *Laryngorhinootologie* 83: 157 - 163
- Streicher J, Weninger WJ, Muller GB (1997) External marker-based automatic congruencing: a new method of 3D reconstruction from serial sections. *Anat Rec* 248: 583 – 602
- Systems G.M. (1993) Understanding MR: SIGNA advantage manual (englischsprachige Anleitung des SIGNA- MRT)
- Tag B (1998) Zum Umgang mit der Leiche. Rechtliche Aspekte der dauernden Konservierung menschlicher Körper und Körperteile durch die Plastination. *Med Rundsch* 9: 387 - 394
- Talairach J, Tournoux P (1988) Co-planar stereotaxic atlas of the human brain. Thieme Medica, New York
- Tammann G (1898) Über die Abhängigkeit der Zahl der Kerne, welche sich in verschiedenen unterkühlten Flüssigkeiten bilden, von der Temperatur. *Z f Phys Chem* 25: 441 - 479
- Terminologia Anatomica, international anatomical terminology (1998) Thieme, Stuttgart/ New York
- Thews G (1999) Anatomie, Physiologie und Pathophysiologie des Menschen. 5. Aufl., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart.

- Thiel W (1992) Die Fixierung des Leichnams in natürlichen Farben. *Anat Anz* 174: 185 - 195
- Thomas M, Steinke H (2002) Plastination der Schulter: ein neues Medium der Schnittbildanatomie *KCS* 3: 47 - 54
- Thomas M, Steinke H, Busse MW (2001) Verletzungen des Schultergelenkes im Sport. *KCS* 2001 2: 47 - 56
- Thomas M, Steinke H, Schulz T (2004) A direct comparison of MR images and thin-layer plastination of the shoulder in the apprehension-test position. *Surg Radiol Anat* 26: 110 – 117
- Tovi M, Ericsson A (1992) Measurements of T1 and T2 over time in formalin-fixed human whole-brain specimens. *Acta Radiol* 33: 400 - 404
- Vannier MW, Butterfield RL, Jordan D, Murphy WA, Levitt RG, Gado M (1985) Multispectral Analysis of magnetic resonance images. *Radiology* 154: 221 - 224
- Velthuizen RP, Hall LO, Clarke LP (1999) Feature extraction for MRI-segmentation, *J Neuroimaging* 9: 85 - 90
- Viergever MA, Maintz JB, Niessen WJ, Noordmans HJ, Pluim JP, Stokking R, Vincken KL (2001) Registration, segmentation, and visualization of multimodal brain images. *Comput Med Imaging Graph* 25: 147 - 151
- Von Hagens G v (1977) Patentschrift 27 0 147. Erfinder: Gunther von Hagens. Deutsches Bundespatentamt, München
- Von Hagens G, Knebel R (1978) Kunststoffimprägnierung für Totalpräparate und histologische Großpräparate (Demonstration). *Verh Anat Ges* 72: 419 - 421
- Von Hagens G (1979) Impregnation of soft biological specimens with thermosetting resins and elastomers. *Anat Rec* 194: 247 – 256
- Von Hagens G (1981) Principles of plastination. Lecture, 6th Eur. Anatomical Congr., Hamburg
- Von Hagens G (1985) Heidelberger Plastinationshefter; Sammlung aller Merkblätter zur Plastination. Universität Heidelberg, Anatomisches Institut I, Heidelberg
- Von Hagens G, Tiedemann K, Kritz W (1987) The current potential of plastination. *Anat Embryol* 175: 411 - 421

- Von Hagens G (1999) Whole body sheet- plastination for topographical studies in macroscopy and histology. *J Invest Dermatol* 107: 264
- Von Hagens (1999) pers. Mitteilung
- VOXEL-MAN framework (2000) *Comput Med Imaging Graph* 24: 127 - 132
- Wadood AA, Jabbar A, Das N (1991) Plastination of whole brain specimen and brain slices. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 13: 11 - 13
- Weber W (1994) Selecting and modifying a band- saw for use in sheet plastination. *J Int Soc Plastination* 9: 25
- Weiglein AH (1997) Plastination in the neurosciences. Keynote lecture. *Acta Anat* 158: 6 - 9
- Weiglein AH (2002) Preservation and Plastination. *Clin Anat* 25: 445
- Wolff EK (1933) Die Herstellung gerahmter Sammlungspräparate. *Zbl Pathol* 56: 401 - 404
- Xu G, Li H, Zhang G, Li Y and Xie M (2003) Sectional anatomy and computer-assisted three- dimensional reconstruction of the lateral skull base in normal. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi*: 348 - 350 (abstract, da nur chinesisches)
- Zechlin K (1968) Einbetten in Gießharz. Frech, Stuttgart
- Zhang M, An PC (2000) Liliequist's membrane is a fold of the arachnoid mater: study using sheet plastination and scanning electron microscopy. *Neurosurg* 47: 902 - 909
- Zhang M, Lee ASJ (2002) The investing layer of the deep cervical fascia does not exist between the sternocleidomastoid and trapezius muscles. *Otolaryngol head neck surg* 127: 452 – 457
- Zhang SX, Heng PA, Liu ZJ, Tan LW, Qiu MG, Li QY, Liao RX, Li K, Cui GY, Guo YL, Yang XP, Liu GJ, Shan JL, Liu JJ, Zhang WG, Chen XH, Chen JH, Wang J, Chen W, Ming L, You J, Pang XL, Xiao H, Xie YM (2003) Creation of the chinese visible human data set. *Anat Rec* 275: 190 – 195
- Zhang WG, Zhang SX, Wu BH (2002) A study on the sectional anatomy of the oculomotor nerve and its related blood vessels with plastination and MRI. *Surg Radiol Anat* 24: 277 - 284

URL referring

[Online: 3D- STÜCKPLASTINATION]

<URL =
http://wwwalt.med-rz.uniklinik-saarland.de/med_fak/anatomie/bock/java/framelvw.htm>
<http://wwwalt.med-rz.uniklinik-saarland.de/med_fak/anatomie/bock/java/framelha.htm>

[Online: BALDEWEG]

<URL =
<http://www.tu-dresden.de/vd51/trabrief/022001/Bildschirmtechnik.html>>

[Online: CVH]

<URL =
<http://www.cse.cuhk.edu.hk/~crc/cvh.html>>

[Online: HISTO]

<URL =
<http://www.aeisner.de/daten/methoden.html>>

[Online: MRT]

<URL =
http://www.m-ww.de/enzyklopaedie/diagnosen_therapien/mrt/grundlagen.html
<http://online-media.uni-marburg.de/radiologie/glossar/m1.htm>>

[Online: MRT-DSP]

<URL =
http://www.klinischesportmedizin.de/Auflage_2002_9/plastinat_mr-vergleich.pdf>

[Online: NLM]

<URL =
<http://www.nlm.nih.gov/research/visible/products.html>>

[Online: RANKING]

<URL =
<http://www.dashochschulranking.de/news.php?id=213>
http://www.che.de/downloads/AP57_213.pdf> <cd:\ranking.pdf>

[Online: RUSTOM]

<URL =
<http://www.sciencemag.org/cgi/data/303/5660/1007/DC1/1>>

[Online: SEILNACHT]

<URL =
<http://www.seilnacht.tuttlingen.com/Lexikon/>>

[Online: SCHULTERPLASTINATION]

<URL =
http://www.klinischesportmedizin.de/Auflage_2002_9/schulterplastination.pdf>

XV

[Online: VHK]

<URL =

<http://vkh3.kisti.re.kr/>>

FTP und CD

[Online: PLAST]

<URL =

ftp://anat@139.18.235.221/>

LOGIN: anat, PWD: 91zq88

[cd:\cut2plasti.avi]

Image- fusion vom Bild einer gefrorenen Körperscheiben (Auflichtfoto) und dessen DSP

[cd:\frost/*.*]

Gefrierschnitte von 85 ♀ a (alignierte Serie: gefroren.avi)

[cd:\gefroren.avi]

während des Sägens fotografierte Gefrierschnitte vom Hals der Körperspenderin 77 ♀ b

[cd:\knieA600.tif, \knieB600.tif]

sagittale, benachbarte Schnitte, Knie von 72 ♂, 600 dpi

[cd:\laryphary800.tif]

horizontaler Schnitt durch den Larynx in Höhe der Cartilago cricoidea, 87 ♂, 800 dpi

[cd:\plastimr.avi]

Image fusion des Kopf- Hals- Gebietes von 77 ♀ b

[cd:\parotis1200.tif]

Gl. parotidea. 87 ♂, 1200 dpi

[cd:\segm1.avi, \segm2.avi]

Segmentierung einiger anatomischer Strukturen, 77 ♀ b

[cd:\visible/*.*]

Verzeichnis mit Beispielen von 3D- Rekonstruktionen des *VHP*, IMDM der Universität Hamburg, zur Qualität der „virtuellen“ Anatomie

[cd:\voxel.avi]

Volume imaging des alignnten, coregistrierten slice imaging von Kopf und Hals der Körperspenderin 77 ♀ b

A

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: Rechte Schulter von 85 ♀ a in Außenrotations- Abduktionsstellung eingefroren von ventral, auf Gipsmoulage;
- Abb. 2: 87 ♂ zur Untersuchung mit MRT auf einem Holzkreuz befestigt;
- Abb. 3: 77 ♀ b zur Untersuchung mit MRT auf Holzkreuz und Bahre befestigt;
- Abb. 4: Schnittebenenmarkierung;
- Abb. 5: umgebaute Plastinationssäge HL 30 (BIODUR ®);
- Abb. 6: Kopf- Hals- Paket von 77 ♀ b perfundiert, (a) im Gelatineblock, vorgekühlt, schockgefroren; (b) Gefrierschnitt vom Block im Auflicht, Höhe 3. Halswirbel;
- Abb. 7: „Wire frame chest“ mit sagittalen Schnitten durch das rechte Kniegelenk von 79 ♀, zwischen Fliespapier auf Kunststoffgittern im Entwässerungscontainer;
- Abb. 8: Abb. 8: Evakuierung
Kopf frontal, 76 ♀ a, Vakuumkammer in einer Tiefkühltruhe bei -5°C;
- Abb. 9: Herstellung von „sandwiches“, Kopf horizontal, 75 ♀ b;
- Abb. 10: Sagittales T2- MRT der rechten Art. cubiti von 64 ♂;
- Abb. 11: Sagittales T1- MRT der rechten Art. cubiti von 64 ♂;
- Abb. 12: Horizontale MRTs der rechten Art. cubiti von 64 ♂;
- Abb. 13: Plastinate perfundierter und unperfundierter Präparate des formalinfixierten Körperspenders 64 ♂;
- Abb. 14: T1 und T2- MRT des Kopfes von 75 ♀ a, vor und nach Alkoholfixation;
- Abb. 15: Horizontale T1- und T2- MRTs des unfixierten Kniegelenkes von 79 ♀;
- Abb. 16: Canthomeatale CT und MRT des perfundierten, unfixierten Kopfes von 77 ♀ b;
- Abb. 17: DSP der Art. cubiti von 64 ♂;
- Abb. 18: MRT T1 des perfundierten, unfixierten Knies von 64 ♀;
- Abb. 19: Korrelierende Schnittbilder des Ellenbogengelenkes von 91 ♀;
- Abb. 20: MRT- Artefakte;
- Abb. 21: Vorrichtung zum Verlängern vorderseitig angebrachter Markierungen nach hinten;
- Abb. 22: Sagittales DSP des Kopfes von 72 ♂ durch die Cochlea;

B

Abb. 23: Horizontale und sagittale MRT/DSP- Paare des Knies;

Abb. 24: Horizontales DSP des Kopfes von 87 ♂;

Abb. 25: Horizontales DSP des Kopfes von 71 ♀. In blauer Gelatine eingebettet und durchtränkt; Gefrierartefakt;

Abb. 26: Horizontales DSP des Kopfes von 92 ♀, Höhe Dens axis, rot injiziert;

Abb. 27: DSP- Färbungen;

Abb. 28: Sagittales DSP des Kopfes von 94 ♀ a;

Abb. 29: Canthomeatales DSP des Kopfes von 85 ♀ a, farbig injiziert, Eisnadeln;

Abb. 30: Sagittales DSP des Beckens von 89 ♂;

Abb. 31: Alignment der DSP von 77 ♀ b;

Abb. 32: 3D- Plastinatevolumen von 77 ♀ b [cd:\voxel.avi].

C

Tabellen	S
Tabelle 1: Dichte reinen Wassers bei verschiedenen Temperaturen (NEUMANN 1955)	20
Tabelle 2: Kombination der Präparate zum Einfrieren unter verschiedenen Bedingungen	21
Tabelle 3: Zur Ermittlung der Schrumpfung während des Gefrier austausches verwendete Präparate	30
Tabelle 4: Versuchsgruppen zur Bestimmung der Schrumpfung im Gefrier austausch	31
Tabelle 5: Messungen der Schrumpfungen von Hirnscheiben während des Gefrier austauschs	32
Tabelle 6: Hirnscheiben zur Untersuchung der Schrumpfung während der Imprägnation mit E12.	41
Tabelle 7: Aus unfixiert perfundiertem Gewebe hergestellte DSP	55
Tabelle 8: Mit BV untersuchte Körperspender	57
Tabelle 9: Korrelierende Strukturen von MRT/DSP der Art. cubiti des Präparates 91 ♀ (Abb. 19)	62
Tabelle 10: Beschriftung der Abbildung 23 (Knie horizontal 79 ♀; c-e: Knie sagittal 94 ♀ a)	65
Tabelle 11: Schrumpfung des System A, entwässert in 75% Azeton und 25% A.d. bei -25°C	70
Tabelle 12: Schrumpfung des System B, entwässert in 85% Azeton und 15% A.d. bei -25°C	71
Tabelle 13: Schrumpfung des System C, entwässert in reinem Azeton (SCHWAB et VON HAGENS 1981	69
Tabelle 14: Schrumpfung während normaler und adaptierter Imprägnation	80
Tabelle 15: Polymerisation von Ansätzen zur Plastination mit Epoxidharz (RT = Raumtemperatur)	122

D

Diagramme	S
Diagramm 1: Schrumpfung von Hirnscheiben während des Gefrier austausches in verschiedenen Azetonkonzentrationen. 1-5: Versuchstage (Tabelle 5).	73
Diagramm 2: Schrumpfung in 70%igem Azeton (s. Tabelle 5).	74
Diagramm 3: Schrumpfung in 85%igem Azeton (s. Tabelle 1).	74
Diagramm 4: Schrumpfung in reinem Azeton (s. Tabelle 5)	75

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung (~en)	MRT	der: Magnetresonanztomograf (~ie), Kernspintomograf
Ac.	Azeton	MRTs	Bilder der (des) MRT
A.d.	Aqua destillata	n _D	Lichtbrechungsindex
Alc.	Alkohol, alkohol-	o.	ohne
AWL	Lösung aus 85% Azeton und 15% A.d.	o.g.	oben genannte(r)
BV	Bildgebende(-n, -r) Verfahren	PET	Positronen- Emissions- Tomografie, Bilder der ~
BW	Brustwirbel	re.	rechts, rechte(-s, -r)
bzw.	beziehungsweise	sag.	sagittal
ca.	zirka	s.	siehe
CT	computer-assistierte Tomographie, Computer- Tomograf, Bild(er) des ~	SE	Spinechosequenz
CVH	Chinese Visible Human	s.o.	siehe oben
d.h.	das heißt	s.u.	siehe unten
d	Tag (~e)	SL	MRT- Schichtdicke in mm
DSP	Dünnschnittplastinat (-e, -ion)	T	Teil(-e)
Gew%	Gewichtsprozent	Tab.	Tabelle(n)
ggf.	gegebenenfalls	TE	MRT- Exitationszeit in sek
h	Stunde	TR	MRT- Repititionszeit in sek, Zeit zwischen zwei Anregungen (siehe „Anmerkungen MRT)
horiz.	Horizontal	TSE	Turbospinechosequenz
l	Liter	sek	Sekunden
IH	Injektionshöhe des Irrigators	u.	und
li.	links, linke(-s, -r)	u.a.	unter anderem, und andere
m	männlich (♂)	VHP	Visible Human Project
min.	Minuten	VHK	Visible Human Korean
mm	Millimeter	Vol%	Volumenprozent
MRT	die: Magnetresonanz- Interferometrie, Magnetresonanztomografie	w	weiblich (♀)
		z.B.	zum Beispiel

E

Anmerkungen

Auszüge aus der Gefahrstoffverordnung (GefStoffV)

<http://de.osha.eu.int/legislation/verord/gefstoffv.htm> und

http://de.osha.eu.int/legislation/verord/gefstoffv_anhang.htm.

Bezugsebenen

Canthomeatalebene: zentraler Punkt des Meatus akusticus externus zum äußeren „canthus“ der Orbita.

REIDsche Ebene: Deutsche Horizontale = vom tiefsten Punkt der Orbita zum obersten Punkt des Meatus akusticus externus;

Einfrieren menschlichen Gewebes

NEUMANN errechnete 1955, daß die Erwärmung von einem Liter Wasser (der also ungefähr 1,4 kg Körpergewicht enthalten ist) um lediglich ein Kelvin die Energie von 4,187 kJ benötigt. Mit dieser Energie könnte die gleiche Menge Wasser um 427 Meter gehoben oder auf 329 km/h beschleunigt werden (NEUMANN 1955).

Damit soll deutlich werden, um welche „intensive“ Art von Energie es sich bei Wärme handelt und welche Energiemengen dem Präparat beim Vorkühlen und Einfrieren entzogen werden können und müssen: Vorkühlen auf $>1^{\circ}\text{C}$ scheint zum Einfrieren unbedingt erforderlich zu sein (4.3.1.).

Lehre im Fach Anatomie

In der Diskussion um die Bedeutung der makroskopischen Anatomie wird argumentiert, in der Informationsgesellschaft stünde jedermann das Lehrbuchwissen multimedial zur Verfügung (ACKERMANN et al. 1999). Durch einen Computer und das Internet ist es möglich, sich am Bildschirm mit der Schnittbildanatomie weiterzubilden, zumal die Klinik und insbesondere die radiologische Diagnostik verstärkt auf die virtuelle und hier insbesondere auf die Schnittbildanatomie orientiert ist (ROBB 2000).

Aus den Datensätzen des *Visible Human Project* aus den USA (VHP; SPITZER et al. 1996, SPITZER et WHITLOCK 1998), des *Visible Human Korean* aus Südkorea (VHK; CHUNG et KIM 2000; CHUNG et PARK 2003) oder des *Chinese Visible Human* aus der VR China (CVH; ZHANG et LEE 2002) wird eine virtuelle Anatomie aufgebaut [Online: NLM]. Gleichwohl behauptet keine der Arbeitsgruppen, mit den neuen Lehrmethoden die alten, insbesondere auch nicht das Präparieren am menschlichen Körper zu ersetzen (HÖHNE et al. 1995). Die neuen Lehrmethoden blieben „ergänzende Lehr- Lern- Tool[s]“ (GRUNEWALD et al. 1999).

Jene Anatomien, die sich in digitaler Anatomie profilieren, schneiden im *ranking* nicht nur die schlechtesten ab: in den betreffenden Universitäten dauert auch das Studium länger [GRUNEWALD et al. 1998, Online: RANKING]. Das heißt, das schleichende Sterben des Präparierkurses als Zentrum des praktischen Begreifens der „realen“ Anatomie kann nicht durch die virtuelle Anatomie erklärt oder gar begründet werden. Die Anatomie und neuerdings insbesondere die

F

Schnittanatomie bleibt die Grundlage der Medizin und letztere besonders der modernen Radiologie (MAGIROS et al. 1997).

Dessen ungeachtet wird versucht, vielleicht unter Rücksicht auf die ethischen Gefühle der Mehrheit der Gesellschaft, die „Körperwelt“ virtuell oder zumindest puppenhaft plastiniert zu begreifen (TAG 1998). Immer wird dabei fast entschuldigend auf die scheinbar unbegrenzten Möglichkeiten der zukünftigen virtuellen Anatomie verwiesen, deren Projekte zum Teil von der Öffentlichen Hand hochalimentiert werden. Es arbeiten weltweit mehr als 1500 Arbeitsgruppen allein auf Grundlage der Daten des *VHP* (SPITZER et al. 1996, z.B. „Center of Human Simulation“, <http://www.uchsc.edu/sm/chs/gallery/dissector/movies/flip.html>).

Die Ergebnisse dieser drei weltweiten Großprojekte (*VHP*, *VHK* und *CVH*) beruhen aber auf der Gefrierschnittechnik, einer altbekannten Technik der makroskopischen Präparation (BRAUNE 1875, BRAUNE et ZWEIFEL 1890), verbunden mit den beschriebenen Mängeln der optischen Auflösung, die zwar mit der DSP behoben werden konnten: die Qualität bisheriger 3D-Rekonstruktion (cd:\visible/*.*) können wir trotz der guten Qualität von DSP im Vergleich zu den Rekonstruktionen aus *VHP*, *VHK* und *CVH* nicht verbessern oder gar „virtuelle Körperwelten“ schaffen (cd:\ \segm1.avi, \segm2.avi, \voxel.avi].

Um die Anatomie des Menschen wirklich zu begreifen ist es am nutzbringendsten, zu präparieren (STRATE et al. 1998, PABST et al. 2001). Es ist auch wirtschaftlichster, für die mit dem Körperspender zusammenhängenden Kosten (in Sachsen etwa 1200 €) zu bezahlen, als weiter auf die zweifelsfrei unzureichende virtuelle Anatomie mit den viel höheren Kosten zu setzen, zumindest dort, wo die Darstellung auch feiner anatomischer Strukturen von Nöten ist, nämlich in der Ausbildung der Medizinstudenten.

Von der eher laienhaften „virtuellen Anatomie“ partizipiert diese Ausbildungsform nur unzureichend.

Präparator

Weil die tradierten Präparationstechniken in Vergessenheit geraten sind, werden diese nur selten angewandt. Der ehemalige „Präparator“ war an den morphologischen Einrichtungen der Bewahrer und Entwickler der Präparationstechniken.

Heute gibt es weltweit keine berufliche Ausbildung, die diese Techniken zum Inhalt hat: Beide Berufsbilder werden in der Medizin vermischt (<http://www.praeparation.de/content.asp?link=medizin.html>).

Das heißt, weder der mögliche Abschluss „Sektionstechnischer Assistent“ noch „Präparationstechnischer Assistent/in“ (<http://www.bochum.de/schulverwaltungsamt/berufskollegs.htm#2>) schließen als „Präparator“ ab.

Die letzte derartige Ausbildung wurde bis 1993 am Leipziger Institut für Anatomie durchgeführt und endete 1990 mit den letzten Ingenieurabschlüssen

G

(DDR, FH- Anerkennung NBL, Abschluss des Autors).

Der heutige „Präparator“ (BRD) entspricht eher dem damaligen Berufsbild des „Facharbeiters für Sektionstechnik“ (DDR). Hier steht das Fixieren, Konservieren, Sezieren und Magazinieren von Leichen und Präparaten im Vordergrund. Auch diesen Berufsschulabschluss hat der Autor 1986 erhalten.

Der „Präparator“ (DDR und Vorkriegszeit) kann zwar gegebenenfalls auch für die notwendigen Arbeiten eines morphologischen Institutes eingesetzt werden (Sektion, Leichenfixierung usw.), jedoch stehen die Techniken des Präparierens im Vordergrund der Arbeit eines „Präparators“: die Anwendung, Entwicklung und Bewahrung der Präparierkunst, wie es das Wort „Präparator“ auch beinhaltet.

Der „Präparator“ geht verloren mit dem Wegfall des Inhaltes seines Berufs.

Wärmestrom (dQ/dt)

ist die Wärmemenge, die pro Zeiteinheit durch die Querschnittsfläche A des Körpers fließt. Die Einheit ist Joule pro Sekunde [J/s], also Watt [W]. Durch die unterschiedlichen Angaben zum Wassergehalt sind Berechnungen des Wärmestromes beim Einfrieren zur Plastination ungenau und ein Grund für das empirische Vorgehen bei den Untersuchungen.

Wassergehalt des Menschen

Während 1994 DOSE von **80%** Wassergehalt des Menschen ausging, bestimmte BUDDECKE (1994) mit **60%** den Wasseranteil, was HOFMAN (2001) und SPECKMANN (1998) bestätigten. GEBERT fand 1987 bei Frauen **50%**, bei Männern **60%** Wasser als Körperbestandteil. Von **50 – 70%** Wasseranteil ging THEWS 1999 aus, wobei Neugeborene bis **75%** Wasseranteil hätten, Frauen dagegen durch den höheren Fettgehalt des Körper weniger als Männer. BETZ et al. stellte für den Erwachsenen **73%** Wassergehalt fest (2001). Höher lagen KOLBs Werte des Wassergehaltes des menschlichen Leibes (1964). Er gab ihn mit **82,3%** an, gemessen auf fettfreie Feuchtschubstanz (zit. aus RAUEN 1964), wohingegen THEWS (1999) für fettfreies Gewebe bei Frau und Mann **73%** feststellte.

Nach THEWS (1999) fände man dieses Wasser zu 40% intrazellulär und zu 24% extrazellulär, gemessen als Anteil des Gesamtwassers. GEBERT (1987) legte aber den intrazellulären Anteil mit 55% fest, was also 45% extrazellulärem Anteil entspräche.

Ganz verschiedene Angaben werden auch zum Wassergehalt des **Gehirnes** gemacht. So führte etwa TREWS 1999 aus, dass Hirn weniger Wasser beinhalte als Muskulatur (**75%** statt 76%), wohingegen KOLB (1964) **81% - 87%** für den Wassergehalt des Hirnes angab, allerdings nicht, ob es sich bei dem Probematerial um formalinfixiertes Gewebe handelte, was ihm an anderer Stelle wichtig erschien, da er dort darauf einging, dass formalingehärtetes Hirn nach sechs Wochen zuerst um bis zu 40% aufquellte und nach vier Jahren 20-25% des Ausgangsvolumens verloren habe.

Zumeist werden **70 % Wassergehalt** angegeben (JONES 2002).

Diese widersprüchlichen Aussagen sind ein Grund für unsere empirische Vorgehensweise.

H

Anhang

Liste der Körperspender. In Kapitel 2, Material und Methoden, wurde aus diesen Fällen zitiert.

Die Leichname der Körperspender sind nach der Leichenummer sortiert, d.h. nach der Einlieferung in das Institut für Anatomie.

Grau hinterlegte Felder: nicht näher in dieser Arbeit erwähnt. Stichpunktartige Abschrift aus den Arbeitsprotokollen.

Leichen- nummer	Alter m/w	Geburts- /Todestag	Einlieferung /Untersuchung	Art der Untersuchung, ggf. Beerdingung (†) am	ggf. Publikation	ggf. Abbildung
1995/14	64 ♂	30.01.1929 /08.04.1993	08.04.1995 /04.03.1996, MRT: 24.01.1997	Formalinfix Ellenbogen horiz./sag. Knie horiz./sag. Becken unperfundiert Schultern unperfundiert.	SCHMIDT et STEINKE (1996) How to avoid shrinkage of brain in plastination? 92. Vers. der Anat. Ges., Olsztyn 24.- 27.05.1997, Ann. Anat. Suppl. 179: 171	10, 11, 12 a und b, 13, 17 o
1997/14	64 ♀	13.09.1933 /17.06.1997	13.06.1997 /13.06.1997	Knie sag. (dünnes Plastinat), horizontal (vergrößertes MRT), Einfrierversuche Unterschenkel, Stückplastinate Becken, Kopf, Ellenbogen, Hand, Rest †04.07.01	SCHMIDT et STEINKE (1996), STEINKE et THOMAS (2002): http://klinische-sportmedizin.de (Knie sag.)	18

I

1998/02	72 ♂	04.09.1925 /08.01.1998	08.01.1998	tw. alc.-fixiert, div. Stückplastination, Kopf sagittal Innenohr, Situs Krebsleiden. Methylenchloridentfettung am Unterschenkel † 07.02.2002, Knie sagittal dick (3 mm)		22 cd:\knieA600, cd:\knieB600
1998/20	82 ♀ a	07.02.1916 /09.08.1998	10.08.1998	alc.- fixiert, präpariert		
1998/28	77 ♀ a	14.11.1921 /02.10.1998	02.10.1998 /05.10.1998	Kopf frontal, tw. alkfixiert: S10, ohne Vorkühlung 8 Wochen nach Fixation MRT PET Rest unfix Hand	SCHMIDT et al. 2001	
1999/15	84 ♂	10.09.1914 /15.03.1999	26.03.1999	Kopf alc.- fix., Rest unfix.; Kopf 2 24.11. 1999 8 Monate Fixationszeit: keine MRT möglich, Kopf S10, Kopf MRT- Visualisierung wie 77 ♀ a anschl. S10 Plastination	SCHMIDT et al. 2001	

J

1999/16	98 ♀	26.06.1900 /03.04.1999	04.04.1999	alc.- fix., praep.		
1999/39	91 ♀	18.04.1908 /22.07.1999	23.07.1999 /23.07.1999	Ellenbogen re horizontal, li sag, Acromioklaviculargelenk, Rechte Hand- nicht korreliert Kopf Stückplastinat Torso bunt	STEINKE et THOMAS (2002), (http://klinische-sportmedizin.de)(Ellenbogen sagg, frontal) (AC-Gelenk)	19
1999/64	75 ♀ a	25.12.1923 17.11.1999	17.11.1999	frisch und Kopf frontal, tw. alk.- fixiert, Thorso alkfix S10, ohne Vorkühlung	SCHMIDT et al. 2001	14
2000/09	85 ♀ a	18.08.1914 /17.02.2000	18.02.2000 /19.02.2000	Schulter re. u. li., ohne Rotatorenmanschette, Kopf canthomeatal rot injiziert mit VON HAGENS, 17.02.2000 Schulter MRT/DSP, Kopf DSP, †05.07.01	SCHMIDT et STEINKE 2000, THOMAS et STEINKE 2002	1 20 MRT 29
2000/12	85 ♀ b	24.10.1914 /27.02.2000	28.02.2000 /28.02.2000	Schulter re. u. li., 2.1.4.: Kopf horizontal rot injiziert, FO 127, †05.07.01	THOMAS et STEINKE 2002,: Schulter	20 MRT

K

2000/20	76 ♂	02.01.1924 18.04.2000	19.04.2000 1 w gefroren alk fix	Frisch gefroren, alk.-fixiert, nur dicke Plastinate (Kopf frontal) Gefriert langsam, Situs ungeeignet		
2000/36	70 ♂	13.03.1930 26.08.2000	28.08.2000	formalinfixiert, Thorso frontal aufgeschnitten Hirnplastination		
2000/39	75 ♀ b	02.08.1920 /28.09.2000	28.09.2000	Kopf-Hals-Paket, Schultern, farbig injiz re. u. li. Hand, übriges Gewebe alk.-fixiert, Stückplastination Herz [Online: 3D- Stückplastination], Handperfusion, Entfettung	THOMAS et al. (2001), THOMAS et al (2004)	
2000/48	79 ♀	19.02.1921 /12.11.2000	13.11.2000	Hals horizontal, Kopf sagittal, Knie leicht ausgespült, Ellenbogen, Herz wie 75 ♀ b Auswaschen nach THIEL (1992) Knie Ellenb 3 Monate, Entfettung, übriges Material alk.-fix., Herz, †18.01.01	STEINKE (2001), Abb. Knie oben in: STEINKE et THOMAS (2002)	7, 15, 23 a,b

L

2000/49	94 ♀ a	25.09.1906 /14.11.2000 0	14.11.2000 /21.11.2000 (MRT) Alc.-fix	Kopf sagittal, farbig injiz rot (2.1.4.) u. Stückplast, Knie FO 127	STEINKE et al. (2002) Abbildungen Knie unten in STEINKE et THOMAS (2002)	23 c-e Knie 28
2000/50	71 ♂	31.12.1928 21.11.2000	21.11.2000	frisch, gefroren, Thorso Krebsleiden, Hirnplastination † 04.012001		
2001/49	76 ♀ b	14.10.1924 17.09.2001	18.09.2001 Angehörige für Beerdigung: Tel. Frau Häusler am 20.07.04	alc.- fix., dicke Kopfscheiben, praep. Gelenkpräparate, Schulter <i>apprehension</i> - Untersuchung	THOMAS et STEINKE 2002	
2001/52	76 ♀ a	05.12.1924 /19.09.2001 1	21.09.2001	Kopf frontal, tw. Perfusion 1-3 mm dick, Schulter postmortal Autolyse. Ohne Vorkühlung sofort eingefroren u. Stückplast., FO 127 Vorversuche: Becken	STEINKE et al. (2002)	8
2002/29	94 ♀ b	26.06.1907 14.03.2002	15.03.2002	frisch	Hirnplastination	

M

2002/34	71 ♀	21.03.1931 27.03.2002	27.03.2002	Krebsleiden, Entfettung von Handschnitten Benzin, Methanol, Dichlormethan, Azeton, Schockfrier- und Färbeversuche, Gelatineeinbettung †28.03.2002		25, 27
2002/54	89 ♂	17.06.1913 28.06.2002	01.07.2002	Japan- Rücken SPALTEHOLZ 3 Frisch Beckenserie Berlin	Hirn Bern	30
2002/60	86 ♀	04.09.1915 22.07.2002	22.07.2002	alc.- fix., praep, Hände †14.07.2003	Hirn Bern, STEINKE et al. (2004)	
2002/84	87 ♂	09.12.1933 /14.12.200 2	14.12.2002	Kopf-Hals farbig Holzkreuz 2, MRT: TR 600 TE 12 FoV 62,5 cm 512x512, Wirbelsäule	in Publ (Alexander Glien Promotion), Sylvia-Martin Kopf (Promotion)	2, 9, 24, cd:\ laryphary800.tif, cd:\gefroren.avi

N

2003/16	77 ♀ b	30.05.1925 /20.2.2003	21.2.2003	Kopf-Hals-farbig inji. Gelatineblock, seziert erst nach MRT mit Holzkreuz, Becken horizontal, alles zum MRT warm gelagert, Bahre CT MRT, PET, Azetonentfettung	in Publ Glien Promo	Abb. 3, 6, 16, 31, 32, cd:\ parotis1200.tif [cd:\cut2plasti.avi]
2003/34	84 ♀ b	26.05.1918 20.05.2003	20.05.2003	alc.-fix, Stückplastination	Hirn Bern	
2003/50	92 ♀	05.06.1911 02.08.2003	02.08.2003	frisch: Kopf horizontal rot, Wirbelsäule sagittal †07.08.2003	Hirn offen eingefroren	Abb. 26