

Intrathorakale Organfixierung durch Tieffrierung

K.-S. SATERNUS und K. SEIDEL

Institut für gerichtliche Medizin der Universität zu Köln

Eingegangen am 5. März 1970

Intrathoracic Fixation by Deep-Freezing

Summary. The precise topography of the intrathoracic organs may be demonstrated by freezing the entire chest, as described by Kaiserling and Ponfick. This method was modified by deep-freezing at -20°C . By comparison with conventional liquid fixations deep-freezing is clean and simple and can be carried out in a short period of time. This method is particularly advantageous for the demonstration of traumatic changes within the chest as well as for the demonstration of chronic destructive processes. Deep-freezing avoids retraction of the lung, thereby better preserving anatomic relationships. An additional advantage of this method is the preservation of the original colors of the specimen.

Key-Words: Organfixierung — Tieffrierung des Thorax — Fixationsmittel.

Zusammenfassung. Zur exakten Darstellung der Topographie der intrathorakalen Organe wird die von Kaiserling und Ponfick angewandte Methode der Einfrierung des Thorax durch eine Tiefkühlung bei -20°C modifiziert.

Verglichen mit den gebräuchlichen Methoden der Flüssigkeitsfixation ist die Tiefkühlung sauber und einfach zu handhaben. Die Fixation kann in kurzer Zeit erfolgen.

Besonders gut eignet sich dieses Verfahren einmal zur Darstellung traumatischer, zum anderen aber auch chronisch destrukturierender Veränderungen des Brustraums, da die Retraktion der Lunge vollkommen verhindert wird und somit das pathologisch veränderte Organ in seiner Beziehung zu den Nachbarorganen situsgerecht erfaßt werden kann.

Von weiterem Vorteil ist die absolute Farbtreue der Präparate.

Nach Eröffnung des Brustkorbes ändern sich die topographischen Beziehungen der Brustorgane wegen der Retraktion der Lungen. Diese Lageveränderung der Organe stört speziell eine Bilddokumentation traumatischer und posttraumatischer Befunde, bei der gerade eine möglichst wahrheitsgetreue Wiedergabe angestrebt wird.

So wird zwangsläufig die Topographie nach penetrierenden Verletzungen, wie z. B. durch Schuß und Stich, aber auch die chronischer Lungenaffektionen durch die Retraktion verändert, was insbesondere einen Vergleich mit zu Lebzeiten oder vor der Sektion angefertigten Röntgenbildern erschwert.

Erste Methoden einer intrathorakalen Fixierung wurden schon um die Jahrhundertwende ausgearbeitet, verglichen wurden klinische Daten, Röntgenaufnahmen und morphologischer Befund.

Hyrtl (1860) erwähnt eine italienische Methode, bei der die Lunge, um ihren vollen Entfaltungszustand herzustellen, extrathorakal durch ein Gasometer aufgeblasen wurde. Diese Technik hat sich zur Reproduktion vitaler Befunde zwangsläufig nicht durchgesetzt, ebensowenig die intratracheale Instillierung von Leinöl, Wachs und Bleiweiß.

Kälte als Fixationsmittel wurde zuerst von Pirogoff (1852) und Braune (1875) angewandt. „Der Leichnam blieb unberührt bei einer Kälte von circa 8°R . 14 Tage im Freien liegen. Nach Ablauf dieser Zeit war er vollständig durchgefroren“ (Braune, 1875). Letzterer weist bereits

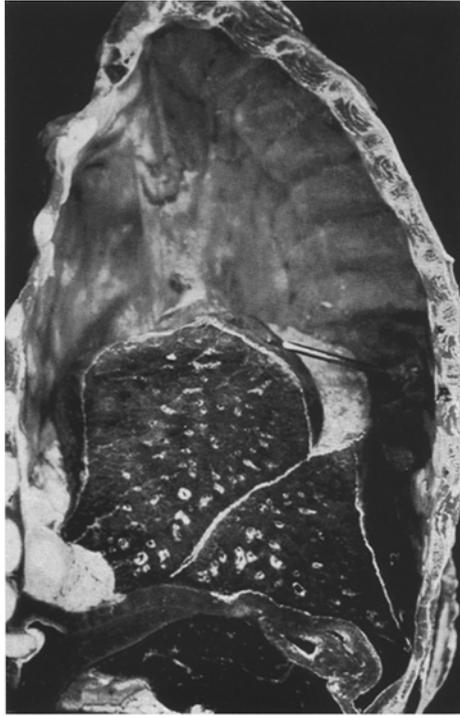


Abb. 1. Durch die Retraktion bedingte extreme Lageveränderung der Lunge nach einer Schußverletzung, dargestellt durch Tiefrieren des aufrecht stehenden Thorax. Zur Markierung der ursprünglichen Lageverhältnisse wurde in die Einschußöffnung eine Sonde eingelegt

auf die Notwendigkeit der intrathorakalen Organfixierung zur exakten Darstellung eines Schußkanals hin.

1910 berichtet Hauser über gute Ergebnisse bei Anwendung der Kaiserlingschen Methode (1899 veröffentlicht); er löste den Thorax unter Stehenlassen des Schultergürtels im Zusammenhang mit Leber, Milz und Magen heraus und fixierte ihn 2—3 Tage in aufrechter Stellung in einem Eis-Viehsalz-Gemisch. Danach erfolgte eine „absolute Fixierung“ der Organe. Er, wie auch Ponfick (1901), der dieselbe Technik verwandte und sie als „holoptische Methode“ bezeichnete, legte große Horizontal- und Frontalschnitte durch den gefrorenen Thorax.

Weitere Verfahren bedienen sich der Instillierung von Fixierflüssigkeit, die entweder intravenös — V. femoralis, V. axillaris oder V. cava inferior — (Pick, 1921; Koch, 1924) oder intratracheal oder wie bei Wurm, Jäger (1938, 1954) und Rahn (1961) über Katheterisierung der A. pulmonalis durch den vorsichtig eröffneten rechten Ventrikel appliziert werden.

Von Vorteil ist bei dieser Technik, daß keine über die bei der üblichen Fixierung zu histologischen Aufarbeitungen hinausgehenden Strukturveränderungen auftreten, die allerdings an sich schon nicht unerhebliche Schrumpfungsvorgänge, teilweise bis zu 20%, im Gewebe bewirken, und daß die Fixation mit einem Desinfektionsmittel (Grün, 1961) durchgeführt wird.

Außer durch die Kältefixierung gelingt mit den übrigen Techniken jedoch häufig die Fixation nur unvollkommen, auch treten zu den unvermeidbaren Schrumpfungen durch die Fixierflüssigkeit noch weitere Artefakte durch die einzelnen Techniken, die sämtlich zeitraubend und für den Durchführenden lästig sind; hinzu.

So kommt es bei der intratrachealen Instillierung von Formalin häufig zu einer ungenügenden Fixierung der Lungen, wenn eine stärkere Schleimbildung oder ein hochgradiges Ödem vorliegen. Auch haben Unterschiede in der Stärke der Konzentration des in allen Fixierflüssigkeiten enthaltenen Formalins einen Einfluß auf Fixiergeschwindigkeit und Gewebsschrumpfung. Bei einer Auffüllung der Lunge mit dem Fixationsmittel ist es unmöglich, einen immer gleichbleibenden Druck auszuüben; er ist vielmehr von vornherein subjektiv variabel und führt in den einzelnen Alveolargruppen immer zu Artefakten, zu Überdehnungen. Hinzu kommt, daß diese Methode nicht zur Darstellung aspirierter Fremdkörper geeignet ist, da deren Lage verändert werden kann oder sie ein mechanisches Hindernis bei der Instillation bilden können.

Die Methoden einer intravenösen (V. femoralis, V. axillaris oder V. cava inferior) Fixierung erfordern sehr große Flüssigkeitsmengen, bei deren Applikation die Bestimmung des Volumens subjektivem Ermessen vorbehalten ist. Bei massiven Lungenembolien und ausgedehnter Kruor- und Speckhautbildung im rechten Herzen und weit offenem Foramen ovale ist eine vollkommene Fixation nicht zu erreichen; Thromben können gelöst und Emboli verschleppt werden.

Auch die Wurtsche Methode bietet für das ortsständige Erhalten von Emboli keine Gewähr. Wohl ist der Bedarf an Fixierflüssigkeit geringer als bei intravenösen Techniken, doch bleibt auch hier das unangenehme Arbeiten mit Formol und, was allen diesen Methoden gemein ist, ein Verblässen der Farbe bei Nivellierung auf Dunkelwerte, so daß eine wahrheitsgetreue Bildwiedergabe, z. B. für einen topographischen Atlas, nur wieder über eine Schematisierung möglich ist.

Diese Nachteile überwindet die von Dotzauer (pers. Mitt.) vorgeschlagene Modifikation der Kaiserlingschen Methode.

Übereinstimmend mit Hauser (1910) und Schwerin (1952) wird der Thorax nach der Sektion der Bauchorgane entnommen. Es wird die Haut um den gesamten Brustkorb gelöst, unter Stehenlassen des Schultergürtels durchtrennt man die Wirbelsäule oberhalb der 1. Rippe — etwa zwischen 6. und 7. Halswirbelkörper und caudal etwa zwischen 3. und 4. Lendenwirbelkörper, wobei der untere Lebertrand den Orientierungspunkt für die Länge der zu entnehmenden Lendenwirbelsäule darstellt. Selbstverständlich muß durch sorgfältiges Präparieren vermieden werden, daß die Pleurahöhlen eröffnet werden. Der Thorax kommt anschließend, in einen Plastikbeutel gehüllt, aufrechtstehend in eine Tiefkühltruhe (-20°C). Dabei benötigt man zur vollkommenen Kältefixation des Gewebes etwa 24 Std.

Dieses Verfahren der Tieffrierung wurde, nachdem es sich in unserem Institut bei der Aufarbeitung von über hundert Wirbelsäulenverletzungen (s. auch Hinz, 1968; Seidel) bewährt hatte, bei der Darstellung traumatischer, posttraumatischer und chronisch destrukturierender Lungenprozesse angewandt. Hierbei zeigte sich, ebenso wie an den Halswirbelsäulen, daß optimale Ergebnisse bei möglichst tiefen Temperaturen erreicht werden, wie wir sie z. B. mit flüssiger Luft erzielten. Es ist aber der Kostenaufwand bei der routinemäßigen Verwendung von flüssiger Luft zur Totalfixation eines derart volumenreichen Körpers, wie es ein Thorax ist, verglichen mit den besonders für die Makroskopie sehr schönen Ergebnissen durch Frieren bei -20°C , zu groß.

Beim Einfrieren und auch beim Auftauen kann Wasser um den Gefrierpunkt in kristalliner Form auftreten (Tammann, 1923, 1924).

Die Entwicklung von Kristallen hängt ab von der Zahl der Kristallisationszentren und der Kristallisationsgeschwindigkeit (Goetz und Goetz, 1938). Je länger die Temperatur um den Gefrierpunkt liegt — also die kristalline Phase anhält —, desto ausgedehnter ist die Schädigung der Feinstruktur des Gewebes. Entsprechend verringert sich die Kristallbildung bei schnellerem Durchlaufen dieser Phase. Es ist jedoch technisch unmöglich, selbst bei dem sog.

Überfallgefrieren die Kristallisation ganz zu verhindern und ausschließlich die amorphe Phase zu erzielen.

Im Gewebe entstehen die ersten Eiskristalle extracellulär (Konrich, 1920; Plank, 1918). Nach Neumann (1925) sind diese Kristallisationskeime osmotisch wirksam, entziehen also der Zelle Wasser. Dadurch gefriert das Innere der Zelle später und zugleich schneller, wobei die Kristalle das Cytoplasma mechanisch schädigen.

Trotzdem bietet das Einfrieren von Gewebe auch histologisch große Vorteile¹. Nach Schulz-Brauns (1931) entfallen Fixierungsniederschläge z. B. von Formol, die Herstellung von Schnitten ist nicht an ganze Blöcke mit der vorherigen Blockfixation mit irgendeinem Fixationsmittel gebunden, vielmehr ist der Kreis der noch ausführbaren Untersuchungen dadurch, daß der Gewebsschnitt anschließend in jedem erforderlichen Fixationsmittel eingestellt werden kann, in keiner Weise eingeschränkt.

Die Präparate können im Kryostaten in einer kürzeren Zeit gewonnen werden, als es nach einer Fixierung in Formol möglich wäre (Dietzel, 1958). Die Methode erlaubt zudem nach der histologischen Untersuchung bei Gewebe, das z. B. aus Schußkanälen stammt, eine zur chemischen Untersuchung notwendige Veraschung der Schnitte, ohne daß störende Beimischungen die Reaktionen überlagerten (Schulz-Brauns, 1931).

Bei weichem oder bröckeligem Material sind durch das Großgefrieren die Organzusammenhänge ideal beurteilbar. Dieser Vorteil erwies sich besonders auch an den von Hinz und Seidel untersuchten Halswirbelsäulen. Zusätzlich ist das Einfrieren sauber und schnell zu handhaben. Die Fixation kann in kürzester Zeit erfolgen — ein Thorax in 24 Std. Das eingefrorene Material ist fast beliebig lange haltbar, so zeigt sich nach Deckart (1963) bei -79°C erst vom 8. Tage an bis zu 4—12 Wochen eine Abnahme von RNS-Schollen und eine Unschärfe der Zellgrenzen. Das eingefrorene Material kann bei der Aufarbeitung mühelos mit einer hochoptimierten Bandsäge geschichtet werden, so daß insbesondere Vergleiche mit Röntgenbildern in jeder Ebene leicht möglich werden.

Aspirierte Fremdkörper und Emboli, chronisch destruierende Prozesse und frische traumatische Veränderungen können total in ihrer Beziehung zu Nachbarorganen erfaßt und, was von besonderer Bedeutung ist, in farbechter Wiedergabe fotografiert werden. So ist das Großgefrieren vor allem wegen der Erhaltung der natürlichen Farben bei optimaler Beurteilungsmöglichkeit der Topographie dazu geeignet, in topographischen Atlanten eine Anwendung zu finden, zumal in zahlreichen Atlanten sicher auch aus didaktischen Gründen Abbildungen in stärker kontrastierenden und insofern schematisierenden Farben verwandt werden. Die zusätzliche Wiedergabe von Großgefrierschnitten würde dem Lernenden möglicherweise später die Orientierung am Operationstisch noch erleichtern.

Literatur

- Braune, W.: Topographisch-anatomischer Atlas. Nach Durchschnitten an gefrorenen Cadavern. Leipzig: Veit & Comp. 1875.
 Deckart, H.: Vergleichende fluoreszenzmikroskopische und histochemische Befunde an kältekonserviertem Gewebe (-79°C). Acta histochem. (Jena) **15**, 113—124 (1963).

¹ Histologische Untersuchungen, insbesondere auch von Schleudertraumen der HWS, bei denen ebenfalls eine Kältefixation angewandt worden ist, werden von Dotzauer und den Autoren in einer gesonderten Publikation mitgeteilt.

- Diezel, P. B.: Über die Brauchbarkeit des Kryostaten in Histologie und Histochemie. *Mikroskopie* **13**, 196—201 (1958).
- Goetz, A., Goetz, S. S.: Vitrification and crystallization of organic cells at low temperatures. *J. appl. Phys.* **9**, 718—725 (1938).
- Grün, L.: Desinfektion, Sterilisation und Desinsektion. In: Reploh-Otte, Lehrbuch der medizinischen Mikrobiologie und Infektionskrankheiten, S. 96—108. Stuttgart: Fischer 1961.
- Hauser, G.: Über die Konservierung von Thoraxtieffrierschnitten nach der Kaiserlingschen Methode. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **14**, 286—288 (1910).
- Hinz, P.: Vielschichtige Untersuchungsmethoden zur Erfassung pathomorphologischer Sektionsbefunde nach Schleudertraumen der Halswirbelsäule. *Dtsch. Z. ges. gericht. Med.* **64**, 204—216 (1968).
- Hyrzl, J.: Handbuch der praktischen Zergliederungskunst. Wien: W. Braumüller 1860.
- Jäger, J., Rahn, J.: Grundlagen und Probleme der in situ-Fixierung menschlicher Leichenlungen. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **102**, 538—541 (1961).
- Kaiserling, C.: Zit. nach G. Hauser, *Verh. dtsh. Ges. Path.* **14**, 286—288 (1910).
- Koch, W.: Thoraxschnitte von Erkrankungen der Brustorgane. Berlin: Springer 1924.
- Konrich, F.: Über die Struktur des Gefrierfleisches und sein bakteriologisches Verhalten vor und nach dem Auftauen. *Veröff. Heeres-San.-Wes. H.* **75**, 1—24 (1920).
- Neumann, K.: Grundriß der Gefriertrocknung. Göttingen: Musterschmid 1952.
- Pick, L.: Anleitung zur Konservierung und Aufstellung des Sektionsmaterials. Nauwercks Sektionstechnik für Studenten und Ärzte. Jena: Fischer 1921.
- Pirogoff, N.: *Anatome topographica sectionibus per corpus humanum congelatum triplici directione ductis illustra.* Petropoli 1852/53. Leipzig: Fr. Fleischer.
- Plank, R.: Über den Einfluß der Gefriereschwindigkeit auf die histologischen Veränderungen tierischer Gewebe. *Z. allg. Physiol.* **17**, 221—238 (1918).
- Ehrenbaum, M. E., Reuter, K.: Die Konservierung von Fischen durch das Gefrierverfahren. Abhandlung zur Volksernährung, H. 5, herausgeg. von der Zentral-Einkaufsgesellschaft, Berlin 1916, S. 1—248.
- Ponfick, E.: *Topographischer Atlas der medizinisch-chirurgischen Diagnostik.* Jena: G. Fischer 1901.
- Rahn, J.: Zur Bedeutung der sektionsbedingten Lungenretraktion für die pathologisch-anatomische Beurteilung von Atelektasen, Emphysem und normaler Lunge. *Virchows Arch.* **334**, 107—117 (1961).
- Schwarz, E.: Methodik und einige Ergebnisse der intrathorakalen Fixierung von Säuglings- und Kinderlungen. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **102**, 530—532 (1961).
- Schulz-Brauns, O.: Die Vorteile des Gefrierschneidens unfixierter Gewebe für die histologische Technik. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **50**, 273—277 (1931).
- Schwerin, S.: *Anatomische Trocken-, Feucht- und Knochenpräparate.* Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1952.
- Seidel, K.: Unveröffentlicht.
- Tammann, G.: *Aggregatzustände.* Leipzig: L. Voss 1923.
- *Lehrbuch der heterogenen Gleichgewichte.* Braunschweig: F. Vieweg & Sohn 1924.
- Wurm, H.: *Die pathologisch-anatomischen Grundlagen der Kollapsbehandlung der Lungentuberkulose.* Leipzig: Thieme 1938.
- Eine neue Methode topographischer Lungenhärtung. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **57**, 52—54 (1933).

Dr. Klaus-Steffen Saternus und Dr. Karsten Seidel
 Institut für gerichtliche Medizin der Universität
 D-5000 Köln, Zülpicher Str. 47