

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Tübingen  
(Direktor: Prof. Dr. E. LETTERER).

## Vergleichende Messungen des Wachstums der Rattenleber mittels des Meßquadrates und des Leitzschen Integrations- tisches an histologischen Schnitten\*.

Von

E. KRAFT und H. STICKL.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. August 1953.)

### *Einleitung.*

Die hier vorliegenden Untersuchungen befassen sich mit quantitativen Messungen und Zählungen an den Lebern gesunder Ratten. Systematische Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Organgewicht und Leberzellvolumen führten vor uns bereits SIESS und STEGMANN an Mäuselebern durch. Grundsätzlich kann das Wachstum der Leber auf dreierlei Weise erfolgen: Bei einem gleichbleibenden mittleren Leberzellvolumen erfolgt eine Vermehrung der Leberzellzahl, oder bei konstanter Leberzellzahl nimmt das Volumen der einzelnen Leberzellen zu, und schließlich können beide Vorgänge nebeneinander ablaufen. SIESS und STEGMANN hatten nun festgestellt, daß bei der Maus das Wachstum der Leber durch Zellvermehrung schon wenige Wochen nach der Geburt langsam aufhört, während gleichzeitig ein Wachstum der Leber durch Zellvolumenvergrößerung einsetzt. Von einem bestimmten Alter der Maus (etwa 3 Wochen) an bis zum ausgewachsenen Tier sollen dann die Leberzellen ihre Gesamtzahl nicht mehr verändern. Es wird also von hier ab eine Gewichtszunahme der Leber ausschließlich durch Volumenzunahme der Zellen bei konstanter Zellzahl bestritten. Bei der weißen Maus gelten diese Verhältnisse bis beinahe zu dem höchst erreichbaren Lebergewicht. In Analogie zu LINZBACHS Ergebnissen am Herzen wurde hier von einem „kritischen Lebergewicht“ gesprochen.

Da nun die Säugetiere alle etwa die gleiche Leberzellgröße, aber größere Tiere auch entsprechend größere Lebern besitzen, so muß es besonders aufschlußreich sein, bei einem größeren Tier die Art und Weise des Leberwachstums zu untersuchen. Wir stellten uns also die Frage, inwiefern sich das Wachstum der Rattenleber von dem der Maus unterscheidet und ob und wann unter physiologischen Verhältnissen das „kritische Lebergewicht“ erreicht werde.

---

\* Die Untersuchungen mit dem Meßquadrat sind von E. KRAFT und diejenigen mit dem Integrationstisch von H. STICKL ausgeführt.

Zugleich wurden Messungen über den Anteil des Bindegewebes und der Capillaren an der Gesamtleber und über die Kern-Plasmarelation durchgeführt. Bei diesen Untersuchungen wurde auch geprüft, inwieweit sich der LEITZsche Integrationstisch für histologische Untersuchungen eignet.

#### *Methodik.*

Für die Versuche wurden weiße, gesunde Ratten eines einwandfreien Inzuchtstammes verwandt. Alle Tiere wurden zur gleichen Tageszeit auf die gleiche Art durch Dekapitation ohne vorherige Äthernarkose getötet, so daß alle Tiere gleichmäßig ausbluteten. Stauungen in der Leber wurden nicht beobachtet. Die Leber wurde sorgfältig mit allen Lappen herauspräpariert, Zwerchfell, Gefäßstiel und Gallenblase entfernt und danach mittels einer Feinwaage gewogen und das Volumen bestimmt. Die Tiere wurden mit Hafer, Milch und Brot gefüttert. Die von uns untersuchten Gewichtsklassen lagen zwischen 25 und 362 g Lebendgewicht; dieses entspricht einem Lebergewicht von 900—12500 mg. Die jüngsten Tiere mit 25 g Eigengewicht wurden noch gesäugt, fraßen daneben aber schon Mischfutter. Gewichte von 250 g wurden nur von männlichen Tieren erreicht, die über 1 Jahr alt waren. Die Versuchstiere wurden in ihrer Größe so ausgewählt, daß die einzelnen Gruppen in ihrem Gewicht etwa um 10 g auseinanderlagen.

Die Leber selbst wurde als Ganzes 24 Std lang in Susa-Lösung fixiert; dann wurde ein Würfel von  $\frac{1}{2} \times 1$  cm ausgeschnitten und dieser über Alkohol und Chloroform in Paraffin eingebettet. Die  $5\mu$  dicken Schnitte wurden in Hämalaun-Eosin gefärbt. Zumeist konnten von einer Gewichtsstufe 2 Tiere untersucht werden. Von jeder Leber wurden mehrere Schnitte, aus beiden Leberlappen stammend, angefertigt und ausgemessen. Die Schrumpfung der Präparate war etwa die gleiche, wie sie SIESS und STEGMANN an Mäuselebern fanden (etwa 34%).

Wie unsere Vorversuche zeigten, können vergleichbare Ergebnisse nur erhalten werden, wenn von der Aufzucht des Tieres bis zur Ausmessung des Schnittes stets die gleichen Bedingungen vorhanden sind.

Unsere Präparate wurden mittels zweier Methoden untersucht. Die eine Methode (SIESS und STEGMANN) bedient sich eines Meßquadrates. Die hiermit gewonnenen Ergebnisse (KRAFT) verglichen und ergänzten wir durch Messungen mit dem LEITZschen Integrationstisch (STICKL). Zugleich stellten wir fest, mit welcher Fehlerbreite die Messungen an histologischen Präparaten im Durchlichtmikroskop belastet sind.

Das Meßquadrat enthält 16 kleine Quadrate mit insgesamt einer Fläche von  $71820\mu^2$ , bzw. bei Verwendung von Ölimmersion von  $17550\mu^2$ . Es eignet sich besonders für Untersuchungen an der Leber, da hier die Strukturen gleichmäßig verteilt sind. Das Quadrat konnte stets so eingestellt werden, daß größere Gefäße und Bindegewebszüge nicht in den Meßbereich fielen. Innerhalb dessen wurde die Zahl aller Leberzellen mit Kern ermittelt, sodann alle Zellen mit 2 Kernen gezählt und diese von der Gesamtzahl aller Kerne abgezogen; hierdurch erhielt man lediglich die Zahl der vorhandenen Zellen mit Kern im Meßquadrat. Doppelzählungen wurden dadurch vermieden, daß nur die links und oben von den Linien des Quadrates geschnittenen Kerne gezählt wurden. Doppelkernige Zellen, bei denen der eine der Kerne schon pyknotisch war, wurden als einkernige gezählt. Angewandt wurde bei den Zählungen im Meßquadrat eine Flächenvergrößerung von 1:900.

Gleichzeitig wurden alle Endothelzellkerne im Meßbereich gezählt. Bei jedem Schnitt wurde mindestens 10mal die Fläche des Meßquadrates ausgezählt (Tabelle 1).

Tabelle 1. *Beispiel der Auswertung der Meßergebnisse, die mittels des Meßquadrates gewonnen wurden.*

	Zahl der Leberzellkerne	Zahl der Doppelkerne	Zahl der mit Kern geschnittenen Leberzellkerne		Zahl der Endothelkerne	
			Zählquadrat	mm <sup>2</sup>	Zählquadrat	mm <sup>2</sup>
1	177	18	159		95	
2	173	23	150		87	
3	199	31	168		96	
4	174	17	157		85	
5	170	15	155		91	
6	168	16	152		81	
7	180	17	163		93	
8	173	22	151		82	
9	184	24	160		96	
10	180	18	162		91	
Summe	1778	201	1577		897	
<i>M</i> =	178	20	158	2200	90	1253
<i>m</i> = ± 1,75; <i>σ</i> = ± 5,52.						

Ratte 23 (männlich): Körpergewicht 54 g; Lebergewicht 2230 mg; Leber-  
volumen 2,0 cm<sup>3</sup>; relatives Lebergewicht 41,3.

Die mathematische Auswertung dieser Ergebnisse erfolgte mittels der mittleren Abweichung (*σ*), des arithmetischen Mittelwertes (*M*) und dem mittleren Fehler des Mittelwertes (*m*) nach RÖSSLE und ROULET. Der arithmetische Mittelwert, der mit Kern geschnittenen Leberzellen und derjenige der Endothelzellkerne im Meßquadrat wurde auf 1 mm<sup>2</sup> umgerechnet (KRAFT).

#### *Der LEITZsche Integrationstisch.*

Zu den Untersuchungen mit dem Zählquadrat wurden solche mit dem LEITZschen Integrationstisch am gleichen Material durchgeführt. Für histologische Zwecke in der Durchlichtmikroskopie wurde der Integrationstisch bereits von DECKER beschrieben und empfohlen. Das zu untersuchende Objekt, hier der histologische Schnitt, wird auf dem Integrationstisch befestigt und mittels Spindeln, die zugleich in 1/100 mm die Wegstrecke messen, gegen ein feines im Ocular befindliches Fadenkreuz bewegt. Am Integrationstisch befinden sich mehrere (je nach Ausführung), 4 oder 6 Spindeln, mit denen die einzelnen im Präparat erkennbaren Bestandteile gesondert in ihrer Länge und in einer Richtung gemessen werden können. In den histologischen Schnitten von Rattenlebern wurden die Anteile der Leberzellkerne und des Protoplasmas, der Bindegewebszellkerne und der Capillarlumina gesondert gemessen. Ferner wurde noch eine Leerspindel zum Überbrücken von Spalten, Rissen und großen Gefäßen betätigt. Die Genauigkeit der Messungen wird dabei um so größer, je schärfer die einzelnen Bestandteile voneinander gesondert, je gleichmäßiger sie in der Fläche verteilt sind, je feiner die Meßlinie, je dünner der Schnitt bzw. je geringer die Tiefenschärfe und je stärker die Vergrößerung ist. Da die Meßlinie keine ideale Linie ist, umfaßt sie bei der Durchlichtmikroskopie je nach der Dicke des Präparates, der angewandten Vergrößerung und der optischen Tiefenschärfe, einen schmalen Raumstreifen.

Grundsätzlich kann der Integrationstisch auf dreierlei Weise zu Messungen und Zählungen eingesetzt werden, die alle 3 durchgeführt wurden:

1. Die einfachste Art der Zählung besteht darin, daß das Objekt gegen das Fadenkreuz mittels einer der Spindeln bewegt wird und die je Längeneinheit das Fadenkreuz durchlaufenden Bestandteile ausgezählt werden. Diese Art der Zählung ist sehr einfach, bequem und läßt sich schnell durchführen. Ein weiterer Vorteil ist, daß größere Gebiete im Schnitt schnell durchgemessen werden können und dadurch etwaige regionale Verschiedenheiten ausgeglichen werden. Die Genauigkeit der Meßergebnisse ist nicht so groß, wie die unmittelbar im Zählquadrat gewonnenen Zahlen, da bei dieser Methode beim Schritt von der Linie zur Fläche auch sämtliche Fehler mitvergrößert werden. Mathematisch kann man der Bestimmung von (runden) Teilen in einem Flächenquadrat folgenden Ausdruck geben: In einem Quadrat der Seitenlänge  $s$  seien Kreise des Durchmessers  $d$  verteilt. Die Gesamtfläche der Kreise ( $F$ ) ist zu bestimmen, und zwar aus der Zahl  $n$  der von einer Linie (parallel einer Seite) getroffenen Kreise. Im Mittel ist die Länge einer Kreissehne  $\frac{\pi}{4} d$  (wird über den Flächeninhalt des Kreises berechnet). Von der obengenannten Linie liegen daher  $n \frac{\pi}{4} d$  Längeneinheiten auf Kreisen, der Rest (also  $s - n \frac{\pi}{4} d$ ) ist von Kreisen frei. Nach den Methoden der Integrationsrechnung berechnet sich daraus die Gesamtfläche zu  $F = n \frac{\pi}{4} ds$ . Dabei muß natürlich angenommen werden, daß das Verhalten der Kreise bezüglich der Linie repräsentativ für das Verhalten im ganzen Quadrat ist. Dies ist erfüllt, wenn entweder die Kreise regelmäßig verteilt sind oder  $n$  als Mittelwert aus verschiedenen Messungen bestimmt wird. Naheliegend, aber falsch ist der Schluß, daß im Quadrat  $n^2$  Kreise liegen (Gesamtfläche also  $F' = n^2 \frac{\pi}{4} d^2$ ). Das Ergebnis ist um so weiter von der Wahrheit entfernt, je kleiner  $F/s^2$  ausfällt ( $F': F = n d : s$ , also  $\leq 1$ ). Die Anzahl der geschnittenen Kreise in einem Flächenquadrat ( $s^2$ ) ist daher  $y = \frac{n \cdot s}{d}$ , nicht  $n^2$ . Nur im Sonderfall, wenn  $\frac{s}{d} = n$  ist, entspricht die tatsächliche Zahl dem Quadrat von  $n^*$ .

Beim Schluß von „Fläche auf Volumen“ ist noch das Verhältnis Tiefenschärfe :  $d$  zu berücksichtigen. Um hier überhaupt vergleichbare Werte zu erhalten, muß die optische Tiefenschärfe des Mikroskopes, oder, wenn man mit niederen Vergrößerungen arbeitet und durch Spielen mit der Mikrometerschraube die gesamte Tiefe des Schnittes erfaßt, die Dicke des Schnittes und die Art der Bearbeitung (Schrumpfung) berücksichtigt werden.

Bei den vorliegenden Untersuchungen mit dem Integrationstisch wurde eine Vergrößerung von  $7 \times 1,5 \times 90$  (Öl immersion, binocular) mit Ap. 1,25/0,8 benützt. Bei dieser starken Vergrößerung war die Tiefenschärfe nur gering, und es wurde die Tiefe des  $5 \mu$  dicken Präparates nur etwa bis zu 2— $2,5 \mu$  ausgenutzt. Dadurch war die Zahl der einzelnen Bestandteile auf die Fläche umgerechnet auch entsprechend gering derjenigen, wie sie durch Spielen mit der Mikrometerschraube gefunden wurde. Bei den Messungen wurden nur die im Blickfeld scharf erkennbaren Bestandteile berücksichtigt.

\* Für die mathematischen Berechnungen sind wir Herrn Dozenten Dr. KARL ZELLER vom Mathematischen Institut in Tübingen zu Dank verpflichtet. Ferner möchten wir Herrn Dr. M. SISS für Rat und Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchungen danken (zur Zeit Tübingen, Pharmakologisches Institut).

2. Eine weitere Art der Messung beruht darauf, daß der Anteil der Längen, der in einer Fläche liegenden einzelnen Bestandteile eines Objektes durch Betätigung der jeweils dazugehörigen Meßspindel gemessen wird. Dabei werden nur diejenigen Längen der Gewebsanteile gemessen, die genau auf dem Schnitt der dünnen Längslinie des Fadenkreuzes liegen. Mit den so erhaltenen Weglängen kann direkt ihr prozentualer Anteil im Objekt berechnet werden. Ferner entsprechen die einzelnen Längenwerte direkt ihrem volumetrischen Anteil an der Gefügezusammensetzung. Es kann so z.B. berechnet werden, wieviel an Volumen in der Raumeinheit auf einen bestimmten Bestandteil des Untersuchungsobjektes entfällt. Es verhält sich nämlich die gemessene Teilstrecke ( $S_T$ ) zur Gesamtstrecke ( $S_G$ ), das ist die Summe aller auf den verschiedenen Spindeln gemessenen Weglängen, wie der gesuchte Teilraum ( $V_X$ ) zur Raumeinheit ( $V_R$ ):

$$\frac{S_T}{S_G} = \frac{V_X}{V_R}.$$

Dem Wesen und der Bestimmung des Integrationstisches wird diese Art der Messung am besten gerecht. Der subjektive Fehler beträgt hier 5–6%.

3. Der Integrationstisch bietet noch eine weitere Möglichkeit der Verwendung dadurch, daß schnell und bequem mit der horizontalen Achse des Fadenkreuzes die Durchmesser einzelner Gewebsbestandteile gemessen werden können. Ihr mittlerer Durchmesser kann so ermittelt werden.

### *Ergebnisse.*

1. *Das relative Lebergewicht.* Bei Vergleichen zwischen Körper- und Lebergewicht der Versuchstiere konnte festgestellt werden, daß beide bei jüngeren Tieren beinahe proportional ansteigen. Bei einem Körpergewicht der Ratte von 200 g aufwärts bleibt dagegen das Lebergewicht hinter dem Körpergewicht deutlich zurück. Dieses Verhältnis von Lebergewicht (mg) : Körpergewicht (g) wurde als sog. „relatives Lebergewicht“ bezeichnet. Es beträgt bei 50 Tieren im Durchschnitt 35,7 mg/g; bei einer mittleren Abweichung von  $\sigma \pm 5,11$  mg/g und einem mittleren Fehler des Mittelwertes von  $m \pm 0,72$ . Der Abfall des relativen Lebergewichtes läßt sich dadurch erklären, daß bei den Ratten hoher Gewichtsstufen zumeist starke abdominelle Fettansammlungen bestehen. Dieser Abfall ist nicht so signifikant, als daß man ihn mit dem kritischen Lebergewicht in Beziehung setzen könnte (s. Abb. 1 a).

2. *Die Leberzellzahl X und ihre Beziehung zum Lebergewicht G.* Die mit beiden Zählmethoden gewonnenen Ergebnisse wurden auf 1 mm<sup>2</sup> als Flächeneinheit umgerechnet und mit dem Lebergewicht in Beziehung gesetzt. Die Berechnung und statistische Auswertung führten wir nach

STIESS und STEGMANN mit der Formel  $X = \frac{K}{\sqrt[3]{G^2}}$  durch ( $K$  = Kon-

stante). Der Mittelwert der Konstanten wurde von den Tieren mit 80–140 g Körpergewicht nach  $X$  und  $G$  berechnet; es wurden, also die abnorm hohen und niederen Werte, die offenbar anderen Gesetzmäßigkeiten unterliegen, nicht zur Berechnung der Konstanten verwandt.

Für das Meßquadrat ist ein konstanter Wert von  $K = 414860$ ,  $\sigma_k = \pm 226,3$  ( $= \pm 0,054\%$ ),  $m_k = \pm 71,5$  ( $= \pm 0,017\%$ ) ermittelt worden.

Bei der Auswertung der Zählungen mit dem Integrationstisch ergab sich eine Konstante von  $K = 89688$ ,  $\sigma_k = \pm 2703$  ( $= \pm 3,01\%$ ). Da bei dieser Berechnung ein anderer Maßstab verwandt wurde, sind die beiden Konstanten in ihrer Größe nicht vergleichbar. Dies ist auch nicht nötig, da die Kurvenkrümmung bei beiden Kurven praktisch identisch ist, und damit die Wachstumsart der Zellen auf dem Wege der Volumenvergrößerung sichergestellt ist. Lediglich bei den ganz kleinen Leber-

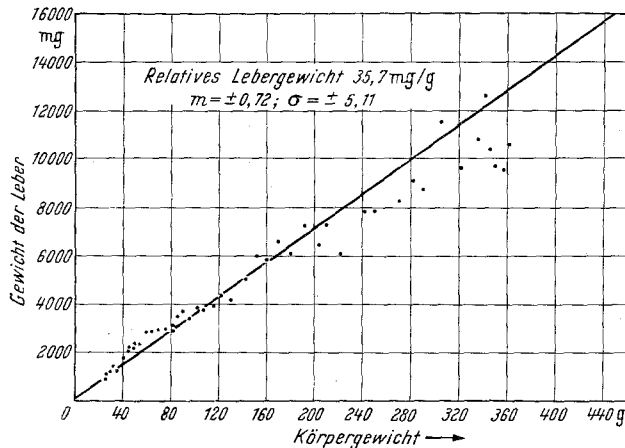


Abb. 1a. Das relative Lebergewicht.

gewichten und bei denen ab 6000–8000 mg gelten andere Wachstums-gesetze. Der  $\sigma_k$ -Wert bei den durch den Integrationstisch ermittelten Ergebnissen ist, wie zu erwarten, entsprechend höher.

Beobachtet man die errechnete Idealkurve (Abb. 1 b), so sieht man, daß sich die Untersuchungsergebnisse, die als Punkte eingetragen und die mittels des Meßquadrates gewonnen sind, bei den Tieren mit einem Lebergewicht bis 6000–8000 mg eng um diese Kurve scharen. In diesem Bereich stellt die Leberzellzahl eine Funktion des Lebergewichtes dar. Es sind demnach in der Raumeinheit bei kleinen Lebern mehr Zellen vorhanden als bei größeren. Von einem gewissen Zeitpunkt der extra-uterinen Reife an, etwa 2–3 Wochen nach der Geburt, wachsen die Rattenlebern offenbar nicht mehr durch numerische Vermehrung ihrer Zellen, sondern durch deren einfache Volumenvergrößerung. Dagegen weichen die Meßergebnisse bei den Lebern ab 8000 mg Gewicht von der Idealkurve erheblich ab. Die Leberzellzahl/mm<sup>2</sup> bleibt in diesem Bereich zwischen 1200 und 1400 weitgehend konstant. Die Resultate in diesem Gewichtsbereich lassen sich gut auswerten, da diese Lebergewichte noch physiologisch sind.

Tabelle 2. *Beispiel für die Anwendung des Integrationstisches für histologische Untersuchungen.*

Ratte 43 (weiblich, gesund). Gewicht der Ratte P = 204 g; Lebervolumen: 5,7 cm<sup>3</sup>; Lebergewicht G = 6420 mg; spezifisches Gewicht 1,12; relatives Lebergewicht R = 31,8 (P/G).

Längenanteile		Prozent	Kern- Plasmarelation
Kernstrecke <i>a</i> . . . .	151 (mm/100)	9,2	~ 1:9
Kernzahl <i>n<sub>a</sub></i> . . . .	200		
( <i>n<sub>a</sub></i> in 1 mm . . . .	16,4)		
Plasmastrecke <i>b</i> . . .	960 (mm/100)	83	
Capillarstrecke <i>c</i> . . .	54 (mm/100)	3,9	
Bindegewebstrecke <i>d</i> .	54 (mm/100)	3,9	
Summe aller Strecken .	1219 mm/100		

Mittlerer meßbarer Kerndurchmesser  $dm: \frac{na \cdot \pi}{4} d = a,$

$$dm = \frac{4}{\pi} \cdot \frac{a}{na} = 1,27 \cdot \frac{1510 \mu}{200},$$

$$dm = 9,6 \mu (9,58 \mu).$$

Kernzahl in 1 mm<sup>2</sup> = *y*

$$y = \frac{ns \cdot 1000 \mu}{d \mu} = \frac{16 \ 410}{9,6} \approx 1700;$$

Zahl der mit Kern geschnittenen Leberzellen in 1 mm<sup>2</sup> = *y* — Zahl der doppelkernigen Zellen. Doppelkernige Zellen = 13%.

$$Z = 1700 - 220 = 1480.$$

(Z = 1480 ist vergleichbar mit dem Ergebnis, gewonnen aus dem Zählquadrat; hier in mm<sup>2</sup> ≈ 1400 mit Kern geschnittene Zellen.)

Wenn man die Schnittpunkte der 3-σ-Grenzen zweier Konstanten aus je einer Versuchsgruppe mit niederen und sehr hohen Lebergewichten aufzeichnet, so grenzen diese Schnittpunkte die Lebergewichte von 6000—8000 mg ein. Innerhalb dieses Bereiches kann man mit höchster Wahrscheinlichkeit von einem „kritischen Lebergewicht“ bei der Ratte sprechen, selbst wenn man in Rechnung stellt, daß sich durch die hohe Leberzellzahl eine größere Streuung ergibt und die Übergänge von einem zum anderen Wachstumsmodus fließend sind. Offenbar hat also die Leberzelle schon bei einem Lebergewicht von 6000—8000 mg ihr größtes Zellvolumen erreicht. Bis dahin ist sie ein zellkonstantes Organ; ein Weiterwachsen muß nun wieder durch Zellteilungen bestritten werden.

Bei der Maus liegt dagegen das kritische Lebergewicht an der Grenze des überhaupt erreichbaren Lebergewichtes. Aus dem Vergleich der Verhältnisse zwischen Maus und Ratte und aus theoretischen Überlegungen heraus darf man vielleicht folgern, daß das kritische Lebergewicht im Verhältnis zum überhaupt erreichbaren Lebergewicht um so früher erreicht wird, je größer die Tiergattung ist.

Mit dem Integrationstisch ließen sich diese mit dem Meßquadrat gefundenen Ergebnisse nicht in idealer Weise reproduzieren (Abb. 2).

Zwar scharen sich auch hier die Meßpunkte in mehr oder weniger weitem Abstand um die Idealkurve, doch fehlt gerade ihre signifikante Abweichung im Bereich der höheren Lebergewichte. Wir möchten dies durch die größere Fehlerbreite der Methode, und zum anderen durch die geringere optische Erfassung der Tiefe des Präparates erklären. Diese letztere hat zur Folge, daß bei Lebern mit größeren Zellvolumina, bei

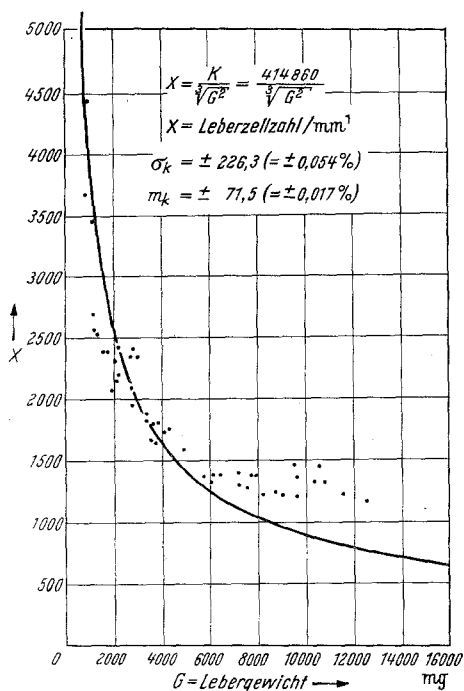


Abb. 1b.

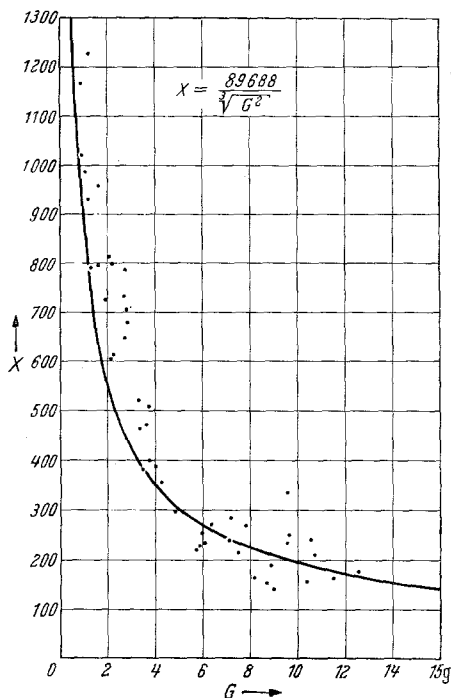


Abb. 2.

Abb. 1b. Idealkurve mit den Zählergebnissen, gewonnen mittels des Zählquadrates an histologischen Schnitten von Rattenlebern. Die Abweichung der Meßpunkte von der errechneten Idealkurve bei den Rattenlebern von 6000—8000 mg Lebergewicht ab, entspricht dem sog. kritischen Lebergewicht (s. S. 655 und 656).

Abb. 2. Idealkurve mit den Meßergebnissen, gewonnen mittels des Integrationstisches.

denen die Zelldurchmesser im Verhältnis zur Tiefe des Meßbereiches groß sind, eine scheinbare Verschiebung der Meßergebnisse zugunsten des Protoplasmas und zuungunsten der ausmeßbaren Leberzellkerne eintritt. Diese Überlegung wird bestätigt, wenn man den mittleren Durchmesser der Leberzellkerne ( $\bar{d}_m$ ) in Beziehung zum Lebergewicht setzt (Abb. 3). Wie aus der Kurve ersichtlich ist, wächst zwischen 1000 und 6000 mg der mittlere Kerndurchmesser analog mit dem Lebergewicht; es ist also die Zunahme zugunsten der Protoplastrecke nur eine scheinbare. Hiermit ist also gezeigt, daß die Zunahme der Protoplastrecke durch die geringe Erfassung des Tiefenbereiches bedingt



ist und keine tatsächliche Zunahme darstellt. Diese gleiche Überlegung ist auch wichtig bei der Bewertung der Meßergebnisse zur Ermittlung der Kern-Plasmarelation (Abb. 4). Der Quotient der Kern-Plasmarelation beträgt bei Rattenlebern im Durchschnitt etwa 8; bei den

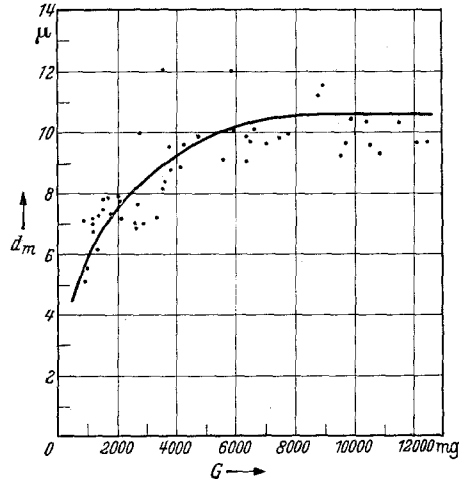


Abb. 3. Die Beziehung zwischen dem mittleren Kerndurchmesser  $dm$  ( $\mu$ ) und dem Gewicht der Rattenleber  $G$  (in 1000 mg).

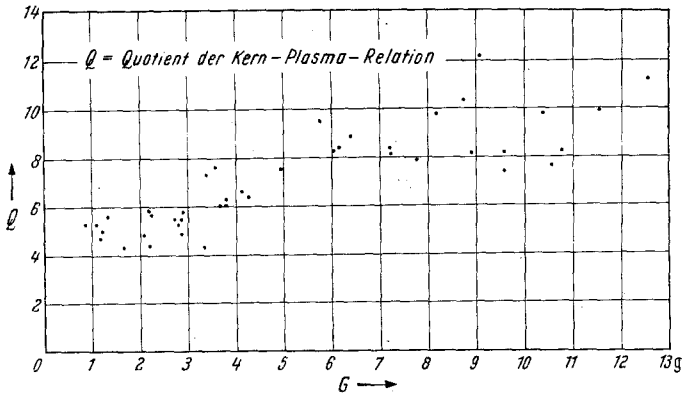


Abb. 4. Der Quotient der Kernplasmarelation in Beziehung zum Lebergewicht.

Messungen mit dem Integrationstisch streuten die Werte des Quotienten zwischen 5,5 und 11,5 bei ganz kleinen und bei ganz großen Lebern. Bei Lebergewichten zwischen 6000—8000 mg liegt der Quotient zwischen 9 und 10 und deckt sich mit den Werten, wie sie mit dem Meßquadrat und von SIESS und STEGMANN bei der Maus gefunden wurden. Bei den sehr großen Lebern kommt es, wie oben erwähnt, zu einer scheinbaren Verschiebung der Meßergebnisse zugunsten des Protoplasmas. Das gleiche ist im umgekehrten Fall, wo Übereinanderlagerungen der

Zellen vorkommen, ersichtlich. Dadurch, daß im Verhältnis zur Strecke des Protoplasmas weniger Zellkerne ausgezählt werden, kann zudem eine weitere Zellvolumenvergrößerung von Zellen vorgetäuscht werden, die bereits ihr höchst erreichbares Volumen erlangt haben.

Hieraus geht hervor, wie nötig es ist, eine Methode durch die andere zu kontrollieren und den Bereich abzugrenzen, in dem ihre Aussagen verbindlich sind.

#### *Gesamtzahl der Leberzellen bei der Ratte.*

Vergleicht man die in unserem Arbeitskreis von SIESS und STEGMANN an der Maus durchgeführten Untersuchungen mit denen an der Ratte, so findet man, daß bei der Maus bei einem Lebergewicht von 2230 mg gleichviel (158) Zellen in demselben Meßquadrat von  $71\,820\,\mu^2$  ausgezählt wurden. Bei diesen beiden Lebern haben also Ratte und Maus das gleiche Zellvolumen. Die Ratte hat also etwa 4,5mal soviel Leberzellen wie die Maus.

In beiden Gewichtsbereichen bei der Maus und bei der Ratte ist die Leberzellzahl konstant. Für die Maus errechnete SIESS eine konstante Leberzellzahl von etwa 66000000 in der Gesamtleber. Demnach hat die Ratte, wenn man von den ganz großen und den ganz kleinen Lebern, für die offensichtlich besondere Gesetze gelten, absieht, eine konstante Leberzellzahl von etwa 300 Millionen. Bei der prinzipiellen Gleichheit der Idealkurven bei der Maus und bei der Ratte und bei den in diesen Gewichtsbereichen ihr eng anliegenden Werten, ist diese oben durchgeführte Berechnung der Leberzellzahl der Ratte erlaubt (Abb. 5)<sup>1</sup>.

#### *Zahl der Bindegewebszellkerne (Abb. 6).*

Die Zahl der Bindegewebszellkerne bleibt beim gesunden Tier im Bereich kleiner Schwankungen in der Raumeinheit weitgehend konstant. Sie beläuft sich, unabhängig von der Größe der Lebern, im Durchschnitt auf 60—80 Bindegewebszellkerne im Quadratmillimeter. Den prozentualen Anteil der Bindegewebszellen aus ihrem linearen Meßanteil zur Gesamtleber zu ermitteln, ließ uns bei mehrfachen Messungen

<sup>1</sup> Bei der Ausmessung der Leberschnitte wurden bei der Maus  $7,5\,\mu$  dicke und bei der Ratte  $5\,\mu$  dicke Schnitte verwandt. In der Kurve kommt dies zum Ausdruck durch die leichte Neigung der die Lebern mit gleichen Zellvolumina bei der Maus und der Ratte verbindenden Linien. Mathematisch kann man das Verhältnis der Schnittdicken durch einen konstanten Faktor ausdrücken, der folgendermaßen ermittelt wird:

$$\frac{X(7,5\,\mu)}{X(5\,\mu)} = \frac{2r + 7,5}{2r + 5} = 1,2.$$

Um also die Meßergebnisse aus histologischen Schnitten von  $5\,\mu$  mit solchen von  $7,5\,\mu$  vergleichen zu können, müssen die ersteren mit dem Faktor 1,2 multipliziert werden.

ungenau und schlecht reproduzierbare Ergebnisse erlangen, da die Bindegewebszellkerne in ihrer Form zu ungleichmäßig gestaltet sind und bei dieser Anwendung des Integrationstisches die Genauigkeit der Messungen mit der Gleichförmigkeit des Materials ansteigt.

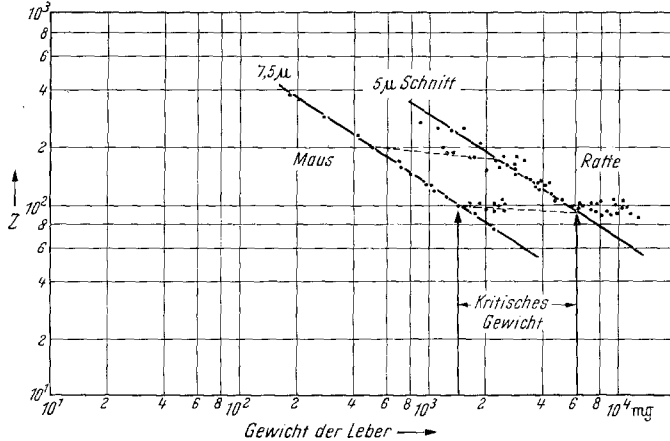


Abb. 5. Vergleich der Zählresultate bei der Maus und bei der Ratte. Die gestrichelten Linien verbinden Lebern bei der Maus und Ratte mit dem gleichen Zellvolumen.  
 $Z$  = Kerndichte, Zahl der Leberzellen mit Kern im Meßquadrat von  $71820 \mu^2$ .

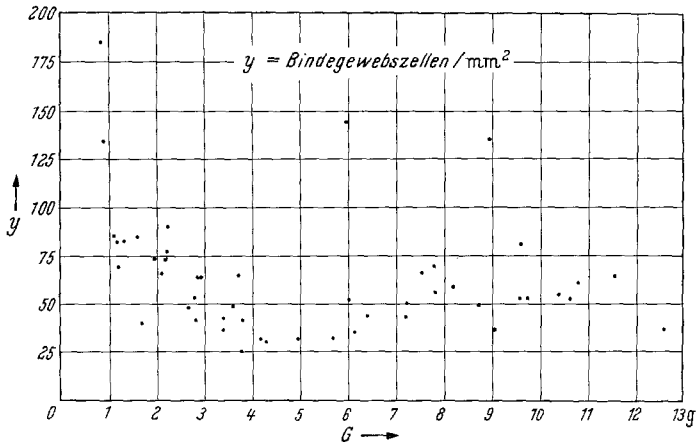


Abb. 6. Zahl der Bindegewebszellen mit Kern in Beziehung gesetzt zum Lebergewicht  $G$  (in Gramm).

#### Capillaren.

Der prozentuale Anteil der Capillaren in der Rattenleber ist von allen Meßergebnissen den größten Schwankungen unterworfen; er beträgt 3—12% und ist wahrscheinlich abhängig von der augenblicklichen individuellen Verfassung der Ratte und der Schnelligkeit des Ausblutens im Augenblick des Todes.

*Zusammenfassung.*

Die Beziehung zwischen dem Organgewicht und dem Leberzellvolumen von Lebern gesunder, weißer Ratten wurde an histologischen Schnitten mittels des Meßquadrates und des LEITZschen Integrationstisches untersucht. Hierbei ergab sich, daß zuerst bei ganz jungen Ratten die Lebern durch numerische Vermehrung ihrer Zellen wachsen, dann — etwa von der 2.—3. Woche nach der Geburt ab — durch vorwiegendes Volumenwachstum der einzelnen Zellen bei weitgehend konstanter Leberzellzahl und schließlich wieder vom sog. „kritischen Lebergewicht“ an, das wir bei der Ratte bei 6000—8000 mg fanden, durch numerische Vermehrung der Zellen. Die Leberzellzahl der Ratte und die Kern-Plasmarelation wurden im zellkonstanten Bereich ermittelt. Ferner wurde geprüft, inwieweit sich der LEITZsche Integrationstisch für histologische Untersuchungen eignet.

**Literatur.**

DECKER, K.: Messungen von Gewebsbestandteilen mit dem LEITZschen Integrationstisch. Frankf. Z. Path. **61**, 136. — LINZBACH, A. J.: Virchows Arch. **314**, 35 (1947). — RÖSSLE u. ROULET: Maß und Zahl in der Pathologie. Berlin: Springer 1932. — SIESS u. H. STEGMANN: Virchows Arch. **318**, 534 (1950).

Dr. E. KRAFT und Dr. H. STICKL, Tübingen,  
Pathologisches Institut der Universität.

---