

# Kursus in Histopathologie

**Allgemeines**

## ***I. Bestandteile des Kursus:***

**Präparate zur**

- **Allgemeinen Pathologie** (n = 31)
- **Speziellen (Organ)Pathologie** (n = 23)

## ***II. Ziel des Kursus:***

**Wiederholung von:**

- **Allgemeiner Pathologie**
- **Allgemeiner Organpathologie (große Organsysteme)**
- **Histologie (sehr begrenzt jeweils zur Einführung)**

**in der Prüfung findet ein Gespräch statt, in dem allgemeines medizinisches Verständnis erwartet wird;**

**es ist nicht das Ziel Histopathologen auszubilden!**

### ***III. Prinzip des Kursus:***

- auf PowerPoint-Folien werden die wichtigsten Punkte für jedes Präparat nach folgendem Schema gegeben:
  - Diagnose
  - Entität
  - allgemeine Pathologie (welchem Kapitel zugehörig)
  - Ätiologie
  - Pathogenese
  - pathologisch-anatomische Befunde (inkl. Bildern)
  - histopathologische Befunde (inkl. Bilder)
  
- es wird ferner eine schematische Zeichnung angeboten
- danach Mikroskopieren, das Anfertigen einer eigenen - naturalistischen - Zeichnung wird wärmstens empfohlen
- die Textfolien finden sich im Internet
- die gesamten PowerPoint-Präsentationen auf den Computern im Institut
- für Fragen stehen die Mitarbeiter / -innen zur Verfügung

## ***IV. vom Einsenden einer Gewebeprobe bis zur histologischen Diagnose***

### ***A. Tätigkeiten beim Einsender***

- Gewinnung der Probe:
  - möglichst aussagekräftige Lokalisationen
  - Übergang in das gesunde Gewebe mit einsenden (vor allem bei Tumoren dringend erforderlich)
- Größe der Probe ist entscheidend, um eine schnelle Fixation zu erreichen und damit die Autolyse zu verhindern (Würfel von 1 cm Kantenlänge, wenn eine Scheibe, dann maximal 1 cm dick)
- aussagekräftiger Vorbericht, konkrete Fragestellungen !
- **merke: die Diagnosen sind immer nur so gut wie der Vorbericht !!**



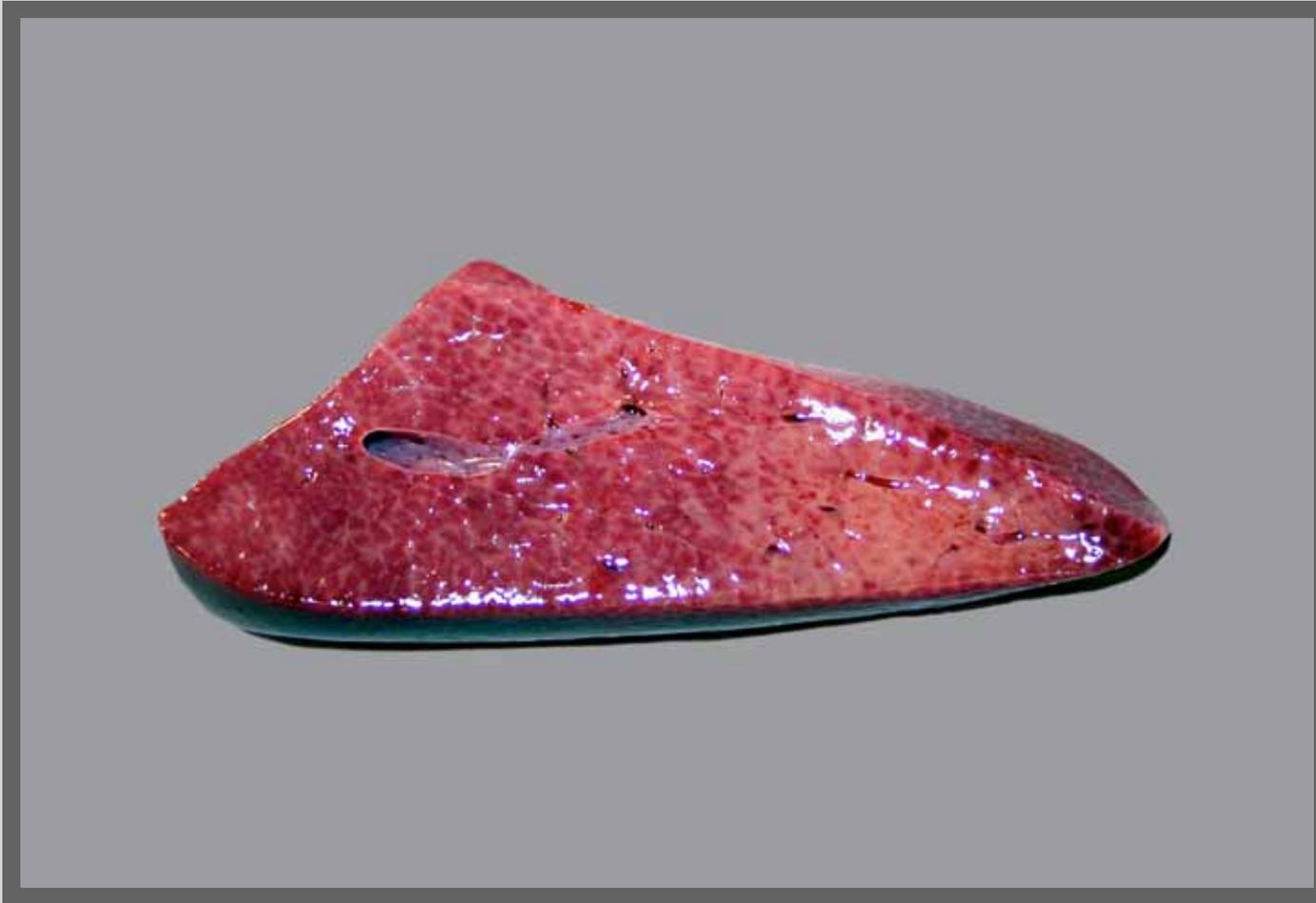
### Allgemeines zum Kursus

- gesamtes Organ  
oder Tumor
- in dieser Größe  
auf keinen Fall  
zu verwenden



### Allgemeines zum Kursus

- aus der Gesamtprobe wird eine etwa 1 cm dicke Scheibe herausgeschnitten



### Allgemeines zum Kursus

- Gewebescheibe
- sie wird weiter  
zerkleinert



### Allgemeines zum Kursus

- es sollte eine Gewebeprobe mit einer max. Dicke - und wenn möglich auch Kantenlänge - von etwa 1 cm resultieren

## ***A. Tätigkeiten beim Einsender (Forts.)***

- **Formalinfixierung:**
  - **Formaldehyd ist ein Gas, das in 37%iger wässriger Lösung (Formalin) in den Handel kommt**
  - **Verdünnung auf 5 bis 10% Endkonzentration**
  - **Verhältnis Gewebe zu Formalin wie 1 : 10 (das Formalin verbraucht sich bei der Fixation!)**
  - **evtl. kann man das Gewebe fixieren (24 Stunden), dann das Formalin abschütten und mit sehr wenig Flüssigkeit versenden (siehe dazu auch Homepage des Instituts);**
- **keine Formalinfixierung wenn:**
  - **eine Störung des Kohlenhydratstoffwechsels vermutet wird (KH sind wasserlöslich)**
  - **Fixierung in Alkohol (Brennspiritus, Parfüm), aber sehr kleine Blöcke herstellen (evtl. zwei Proben gewinnen > Formalin- und Spezialfixierung)**

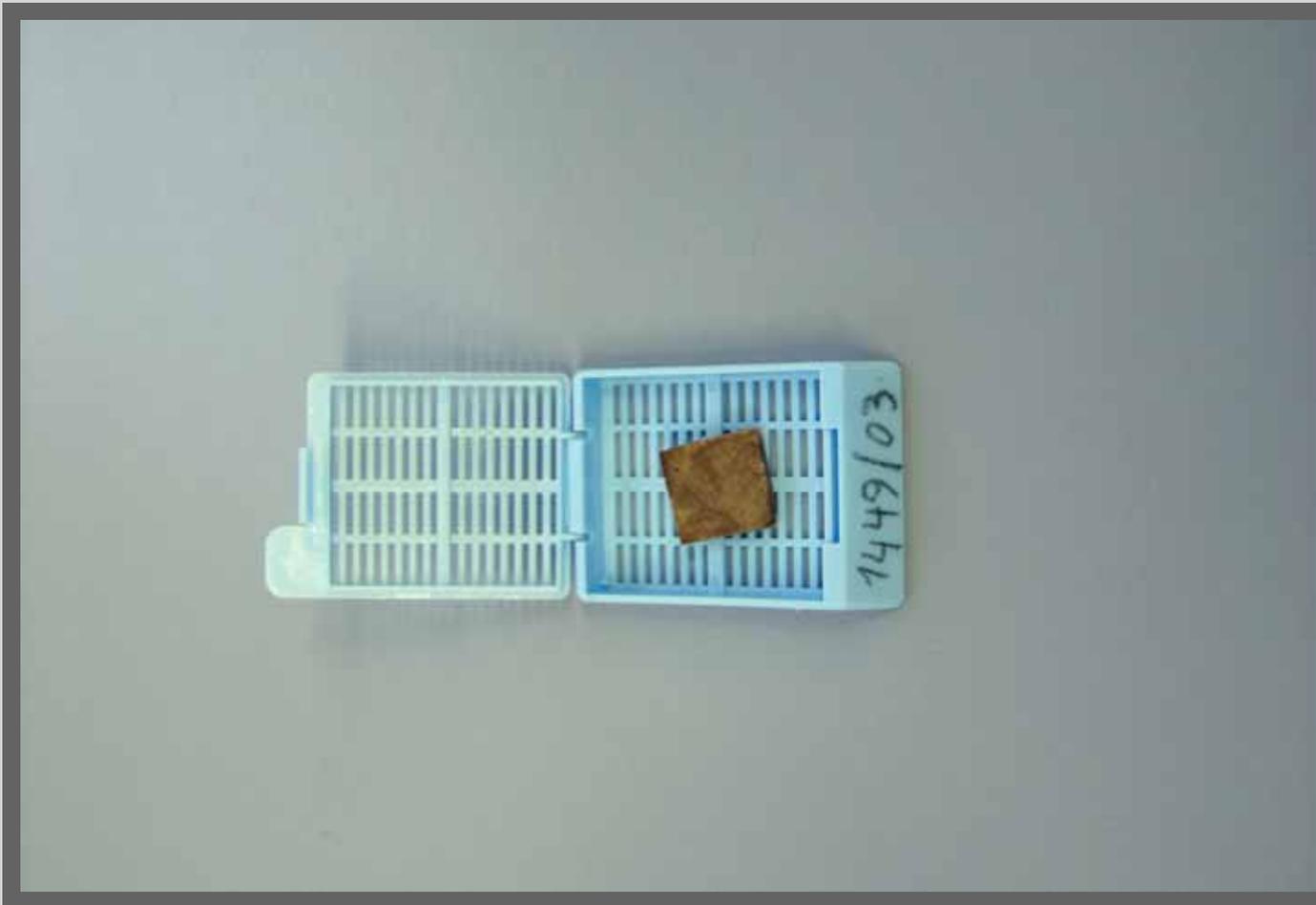


## Allgemeines zum Kursus

- Verbringen der Probe in Formalin

## ***B. Tätigkeiten beim Pathologen (= Herstellung der histologischen Schnitte)***

- 1. um dünne Schnitte herstellen zu können, muß das Gewebe in einen festeren Zustand überführt werden, dazu kann man es:**
  - einfrieren (Gefrier- / Kryostatschnitte
  - Einbetten in
    - Paraffin
    - Kunststoff
  
- 2. bei hydrophoben Einbettungsmedien (Paraffin) muß das Gewebe entwässert werden (aufsteigende Alkoholreihe)**
  
- 3. keine Entwässerung wenn:  
eine Störung des Fettstoffwechsels untersucht werden soll (Lipide sind alkohollöslich), dann Gefrierschnitte und Spezialfärbung**



### Allgemeines zum Kursus

- zur weiteren Verarbeitung wird aus dem fixierten Gewebestück nochmals eine kleinere Probe herausgeschnitten
- und in Einbettungskapseln verarbeitet



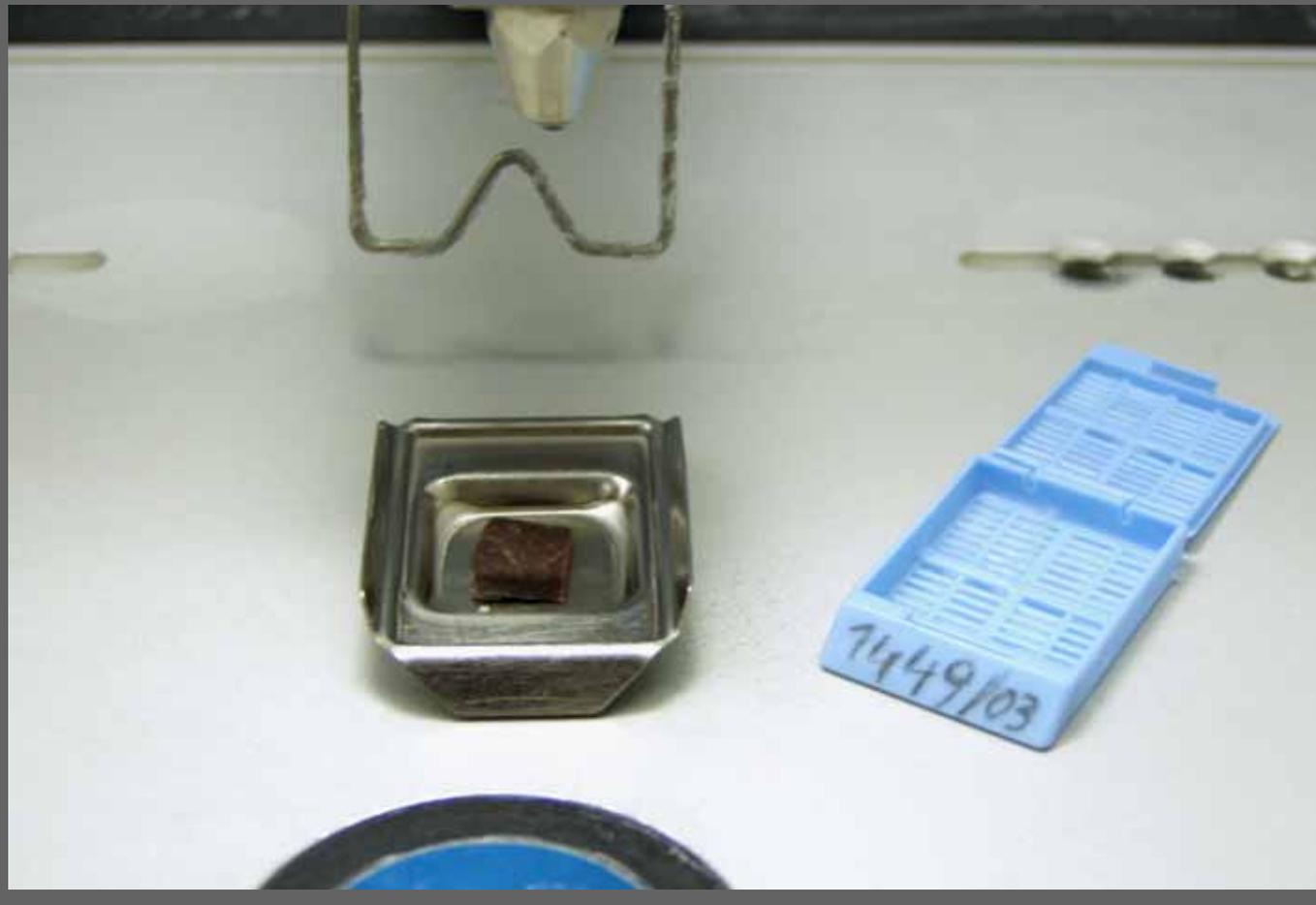
### Allgemeines zum Kursus

- die Gewebekapseln werden dann in einem Einbettungsautomaten von der wässrigen Phase bis in geschmolzenes Paraffin verbracht



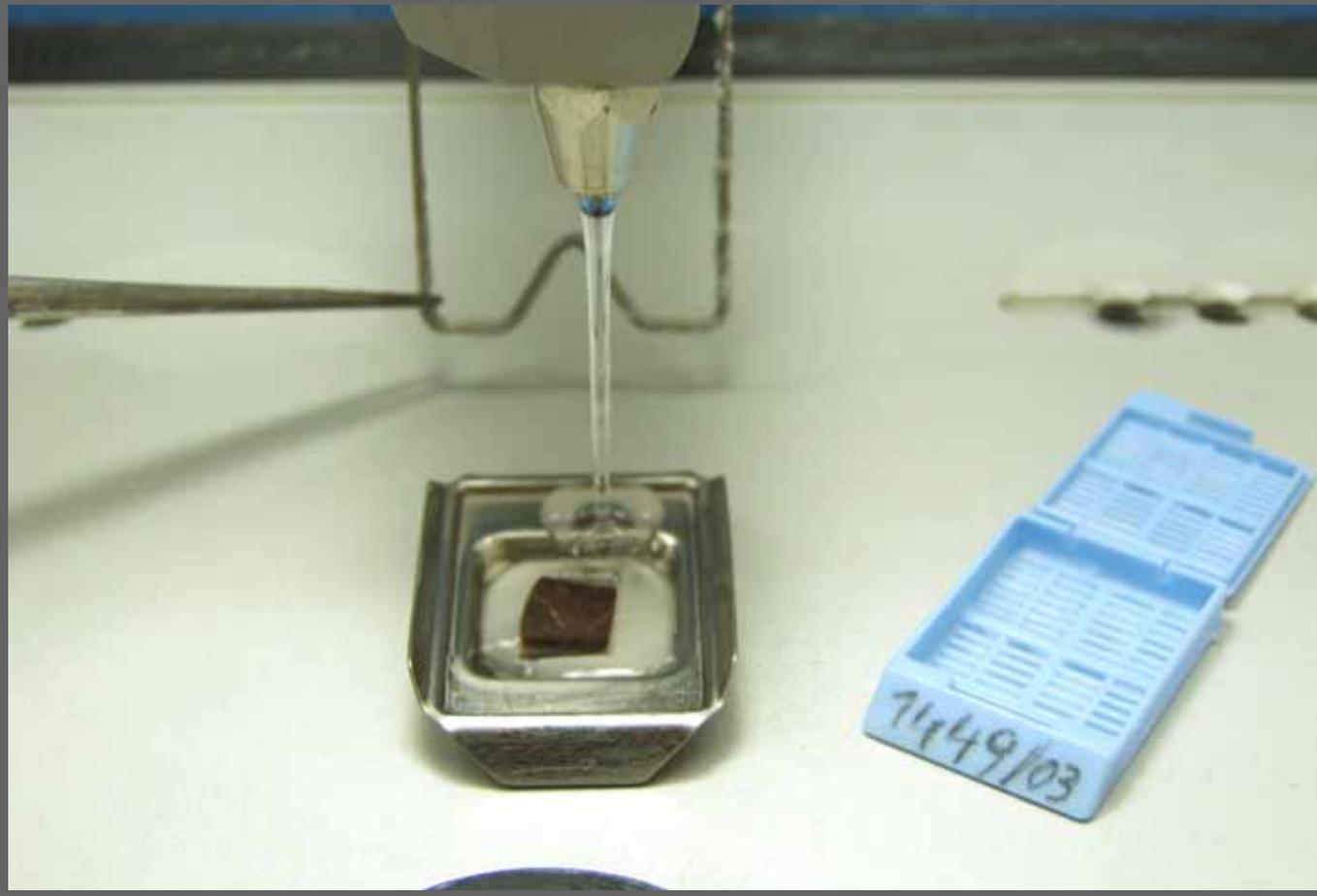
### Allgemeines zum Kursus

- als nächster Schritt folgt das „Ausgießen“ der Proben
- an einer Ausgießstation
- die flüssiges Paraffin liefert



### Allgemeines zum Kursus

- die mit Paraffin getränkte Gewebeprobe liegt in einer Edelstahlwanne



### Allgemeines zum Kursus

- die Probe wird mit flüssigem Paraffin bedeckt



### Allgemeines zum Kursus

- die ehemalige Einbettungskapsel wird aufgelegt
- alle Teile werden anschließend gekühlt, damit das Paraffin erstarrt



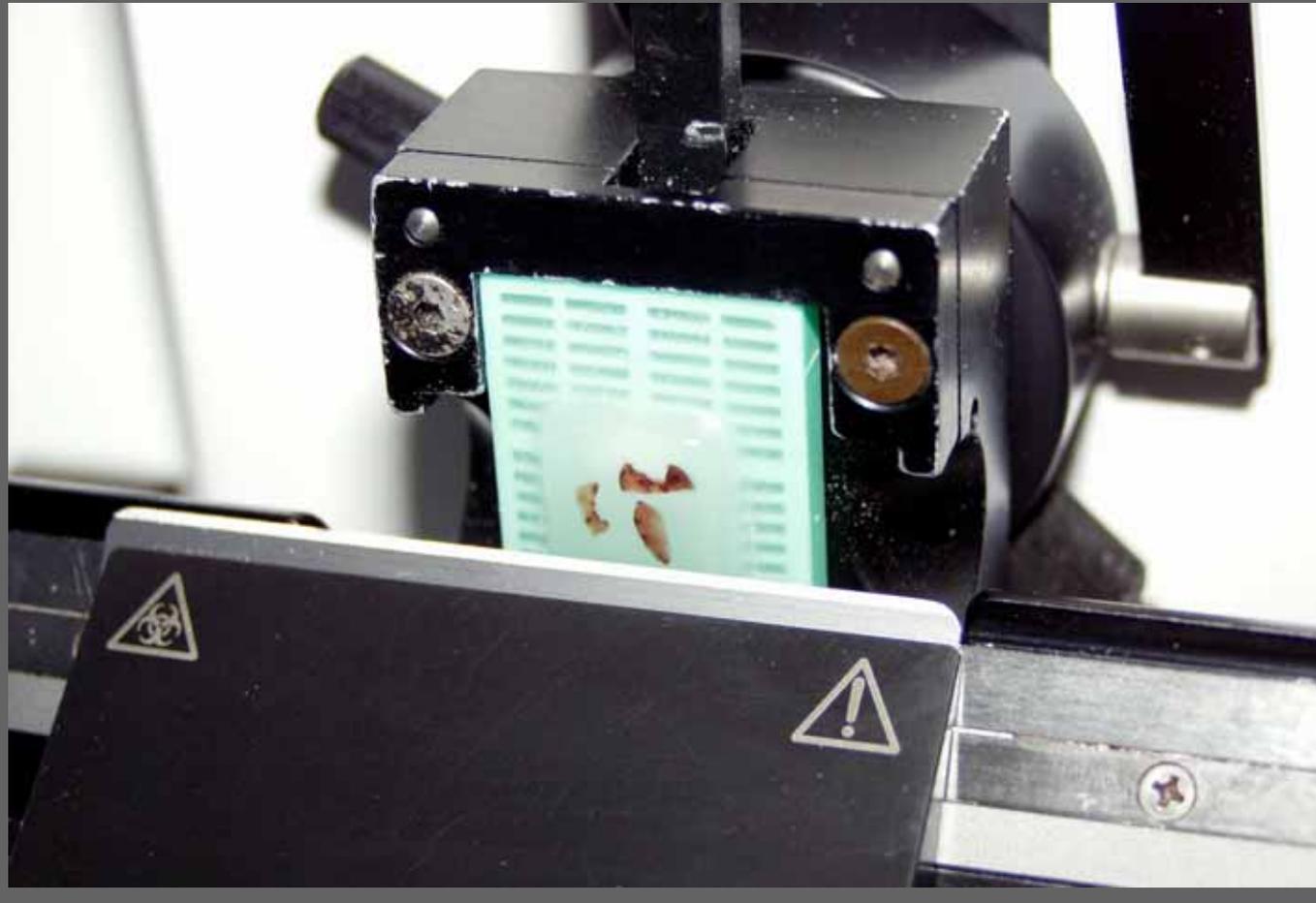
### Allgemeines zum Kursus

- das Gewebe liegt als schneidefertiger Paraffinblock vor



### Allgemeines zum Kursus

- der Block wird in einem Mikrotom eingespannt



### Allgemeines zum Kursus

- mit Spezialmessern werden Schnitte mit einer Dicke von  $2\ \mu\text{m}$  hergestellt

## ***B. Tätigkeiten beim Pathologen (= Herstellung der histologischen Schnitte) (Forts.)***

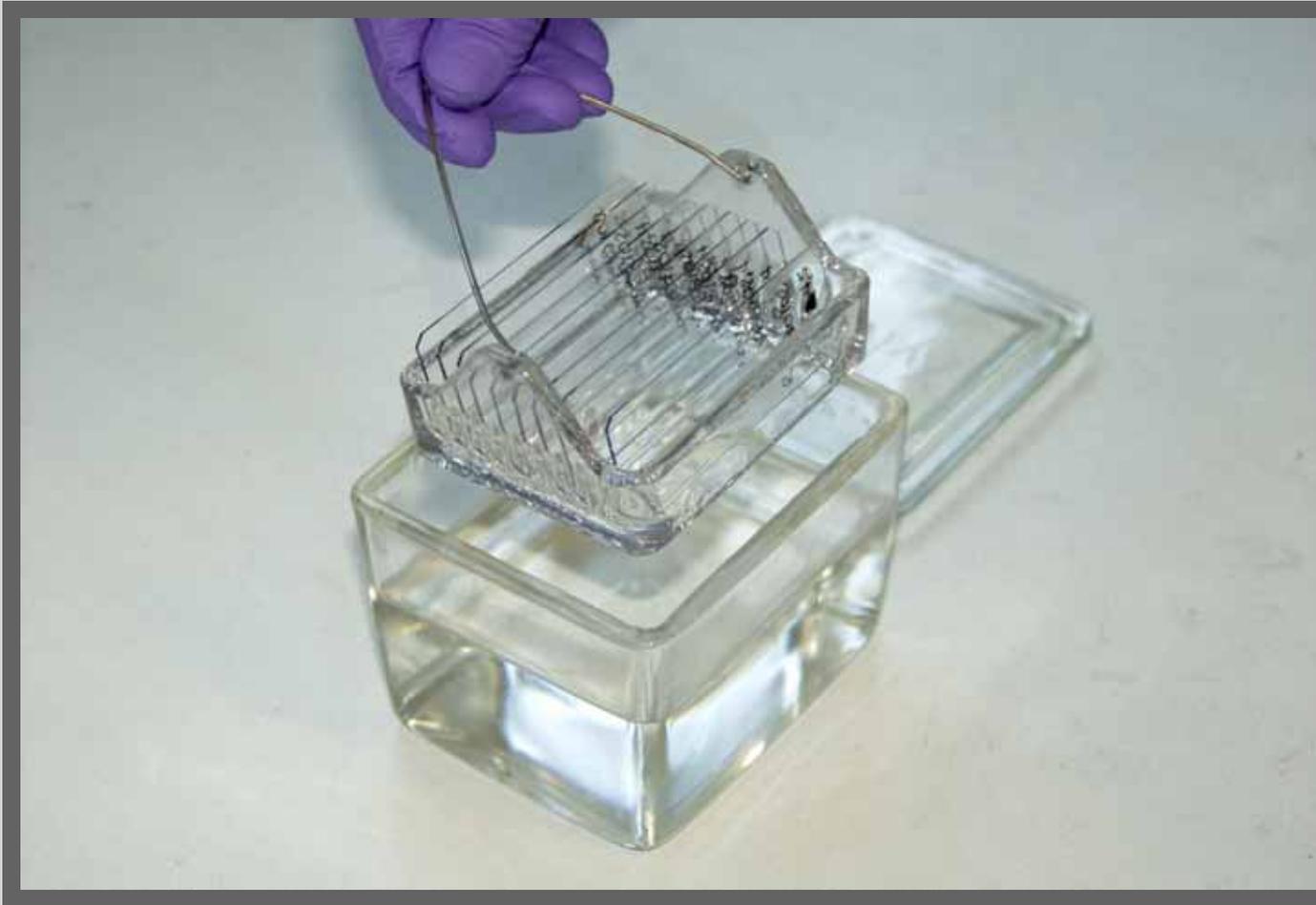
### **4. Gewebe schneiden (auf einem Mikrotom):**

#### **Schnittdicken**

- Gefrierschnitt (10 - 20 µm)**
- Paraffinschnitt ( 2 - 4 µm)**
- Kunststoffschnitte ( 1 - 2 µm)**
- Ultradünnschnitte für EM (bis 50 nm)**

### **5. Schnitte färben:**

**da die meisten Farbstoff wasserlöslich sind muß der Schnitt vom Einbettungsmedium (Paraffin) befreit und rehydriert werden (absteigende Alkoholreihe)**



### Allgemeines zum Kursus

- das Färben der Schnitte erfolgt bei uns von Hand in Färbeküvetten



### Allgemeines zum Kursus

- nach dem Herauslösen des Paraffins mittels Xylol und Überführen in das wässrige Medium
- erfolgt die Färbung in einer Färbereihe mit Blockschalen für die einzelnen Färbelösungen



### Allgemeines zum Kursus

- Teile der Färbereihe für die Hämalaun-Eosin-Färbung

## ***B. Tätigkeiten beim Pathologen (= Herstellung der histologischen Schnitte) (Forts.)***

### **Übersichtsfärbungen:**

#### **Hämalaun - Eosin (HE)**

**Hämalaun färbt das Chromatin (DNS) des Kernes blau an = Kernfärbung**

**Eosin färbt das Eiweiß von Zytoplasma und extrazellulärer Matrix unterschiedlich stark rot an**

#### **Giemsa-Färbung (wie die zytologischen Färbungen, z.B: nach Pappenheim)**

### **Spezialfärbungen:**

**zum Nachweis bestimmter Substanzgruppen,**

- |             |                       |                                   |
|-------------|-----------------------|-----------------------------------|
| <b>z.B.</b> | <b>nach van Kossa</b> | <b>- Kalk (eine Versilberung)</b> |
|             | <b>Kongorot</b>       | <b>- Amyloid</b>                  |
|             | <b>Fettrot</b>        | <b>- Lipide</b>                   |

## ***B. Tätigkeiten beim Pathologen (= Herstellung der histologischen Schnitte) (Forts.)***

- 6. Schnitte eindecken:  
erneutes Entwässern, Eindeckmedium, Deckgläschen**



### Allgemeines zum Kursus

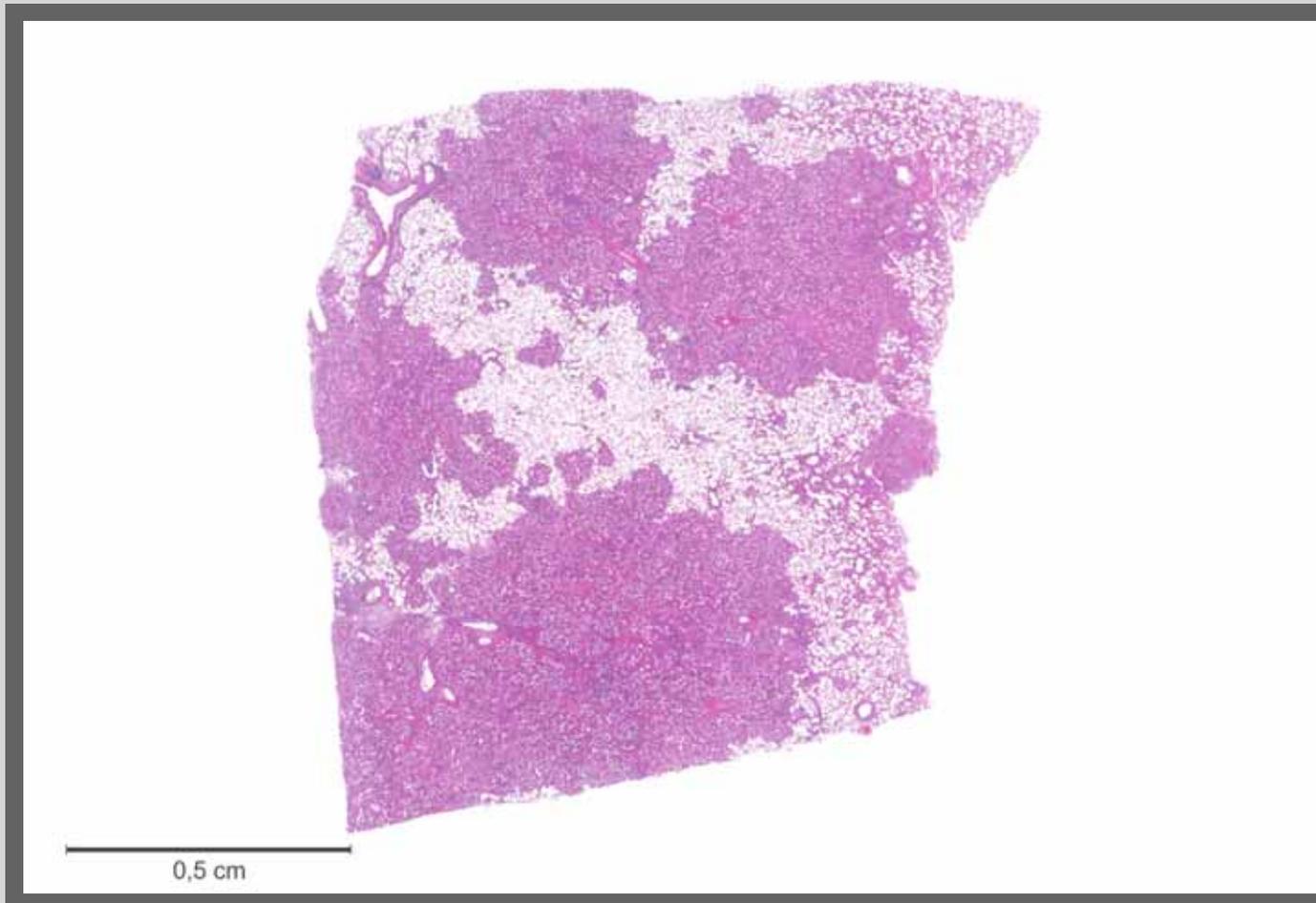
- nach erneutem Entwässern eindeckeln mit einem Eindeckmedium (früher Kanadabalsam)
- damit ist das histologische Schnittpräparat fertig

## ***C. Tätigkeiten im Kursus (Mikroskopieren)***

- 1. Präparat gegen das Licht oder besser noch ein weißes Blatt Papier halten**

**in der HE-Färbung bei hohem Zellreichtum eher blauer Farbton (z.B. lymphatisches Gewebe, bösartige Tumoren)**

**eher rötlicher Farbton bei grundsubstanzreichen Gewebe bzw. Zellen mit viel Zytoplasma (z.B. Leber)**



### Allgemeines zum Kursus

- Übersichtspräparat
- wird von jedem Fall gezeigt, es dient der Orientierung im Schnitt

## **C. Tätigkeit im Kursus (Mikroskopieren) (Forts.)**

### **2. Lupenbetrachtung (5x-Objektiv)**

**Überblick über das Präparat:**

- gibt es unterschiedliche Anteile im Schnitt
- wo ist die Veränderung
- welches Gewebe / Organ könnte vorliegen
- welche Stellen muß man genauer betrachten?

### **3. mittleres Trockensystem (10x-Objektiv)**

**die Areale, die verändert erscheinen gezielt aufsuchen**

- welches Gewebe / Zellen liegen vor (ist außer dem ortständigen Gewebe auch noch anderes Gewebe zu finden - Tumor)
- Entzündungszellen
- Veränderungen des Gewebes, worin bestehen diese Veränderungen?

**merke: mit dieser Vergrößerung sind die allermeisten Präparate zu erkennen!!**

## ***C. Tätigkeit im Kursus (Mikroskopieren) (Forts.)***

- 4. starkes Trockensystem (40x-Objektiv)**  
nur in Ausnahmen zu benutzen da eine Orientierung nicht möglich ist - man sieht den Wald vor lauter Bäumen nicht !

**z.B. Suche nach Einschlußkörperchen, genaue Betrachtung von Erregern etc.**

## ***D. Erstellen einer Diagnose (Forts.)***

**wie in der Makroskopie gibt es auch in Histologie unterschiedliche Formen / Grade der Diagnose:**

- **morphologische** Diagnose:  
katarrhalisch-eitrige Bronchopneumonie
- **ätiologische** Diagnose:  
mykotische Pneumonie

**eine ätiologische Diagnose, die allein auf Übersichtsfärbungen beruht, kann höchstens grobe taxonomische Angaben machen (parasitäre, mykotische etc.)**

**für eine genauere Diagnose bedarf es der Immunhistologie oder der Insitu-Hybridisierung**

**deshalb behilft man sich häufig damit, daß man wie folgt formuliert: „Bild wie bei einer Staupe-Virus-Infektion“**

## ***Aufbau des Kursus***

### **Allgemeine Pathologie (n = 31)**

- Stoffwechselstörungen inkl. Nekrose 8
- Kreislaufstörungen 4
- Entzündungen 9
- Störungen des Wachstums 2
- Tumoren 8

### **Spezielle Pathologie (n = 23)**

- Lunge 7
- Niere 6
- Leber 2
- Pankreas, Dünndarm 2
- Endokrinium 1
- ZNS 5

**Ende**