

Moriz Buzello
Dr. med.

FRAKTIONATOR UND WEIBEL-GOMEZ-VERFAHREN / VERFAHRENS- VERGLEICH IN DER QUANTITATIVEN NIERENMORPHOLOGIE

Geboren am 11.04.1966 in Hamburg
Reifeprüfung am 10.06.1986 in Hamburg
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1988 bis SS1996
Physikum am 07.09.1990 an der Universität Freiburg
Klinisches Studium in Freiburg und Heidelberg
Praktisches Jahr in Freiburg
Staatsexamen am 21.11.1996 an der Universität Freiburg

Promotionsfach: Pathologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. G. Mall

Die morphometrische Erfassung von histologisch aufbereitetem Nierengewebe kann mit direkten oder indirekten stereologischen Verfahren erfolgen.

Mit dem indirekten Weibel-Gomez-Verfahren und dem direkten Fraktionatorverfahren werden die beiden Standardparameter *durchschnittliches glomeruläres Volumen* und *Glomerulusgesamtzahl* bestimmt und miteinander verglichen. Die Verfahren werden an denselben Organen durchgeführt, so daß die Endergebnisse direkt verglichen werden können. Weiteres Kriterium ist die Durchführbarkeit dieser Verfahren.

Bei der Anwendung dieser Verfahren ergaben sich weiterhin die Fragen, inwieweit der Einfluß der Schnittdicke auf die über den Fraktionator bestimmten Zielparameter kontrolliert werden kann und wie das Weibel-Gomez-Verfahren beschleunigt werden kann.

Die Organe stammen von circa 20 Wochen alten weiblichen Spargue-Dawley-Ratten, die am Tag der Materialentnahme für einen anderen Versuch am 21. Tag gravide sind. Die Nierenpärenchen von acht Tieren werden immersionsfixiert.

Die Präparaterstellung für das Fraktionatorverfahren erfolgt in Anlehnung an das von Gundersen sowie Nyengaard und Bendtsen beschriebene Vorgehen. Abweichend zum konventionellen Vorgehen wird auf die Mark-Rinden-Trennung verzichtet und die Probenauswahl modifiziert. Die Materialgewinnung für das Weibel-Gomez-Verfahren ist mit dem von Weibel beschriebenen Vorgehen identisch.

Die Auswertung des Fraktionatorverfahrens erfolgt nach den von Gundersen für zukünftige Untersuchungen angegebenen Vorgaben. Darüber hinaus findet eine Schnittdickenkontrolle zur Überprüfung genereller Schnittdickenschwankungen mittels des neu eingeführten Parameters $\sum Pg$ (alt) statt. $\sum Pg$ (alt) gibt ebenfalls einen Anhaltspunkt für individuelle Schnittdickenabweichungen. So erkannte generelle Schnittdickenschwankungen werden an einem Nierenpärenchen mittels elektronenmikroskopischer Querschnittsuntersuchung abgeschätzt, vermutete individuelle Schnittdickenschwankungen werden über die Vorwärts-Rückwärts-Untersuchung eines Organs erfaßt. Die Auswertung des Weibel-Gomez-Verfahrens erfolgt getreu den Angaben von Weibel. Im Dienste der Arbeitszeiterparnis wird die Definition der Bezugsgröße erweitert, somit wird ein Auswertungsgang entbehrlich.

Das Fraktionatorverfahren und das Weibel-Gomez-Verfahren liefern für das durchschnittliche glomeruläre Volumen mit $5,486 \pm 0,558$ ($\times E^{-4} \text{ mm}^3$) bzw. $5,349 \pm 0,339$ ($\times E^{-4} \text{ mm}^3$) größenordnungsmäßig gleiche, nicht signifikant unterschiedliche Ergebnisse. Beim Fraktionatorverfahren ist der Variationskoeffizient mit 10,18 % etwa doppelt so hoch wie beim Weibel-Gomez-Verfahren (6,34 %).

Für die Glomerulusgesamtzahl erzielt das Fraktionatorverfahren mit 39359 ± 4250 etwa 9/10 des Ergebnisses aus der Weibel-Gomez-Bestimmung mit 43774 ± 2338 Glomeruli pro Niere; diese Ergebnisse sind signifikant unterschiedlich. Der Variationskoeffizient der Glomerulusgesamtzahl bei der Fraktionatorbestimmung ist mit 10,80 % etwa doppelt so hoch wie der Wert von 5,11 % beim Weibel-Gomez-Verfahren.

Die Ergebnisse der Schnittdicken-Kontrolluntersuchungen belegen, daß im Untersuchungsmaterial sowohl individuelle als auch generelle Schnittdickenabweichungen vorkommen.

Aus der elektronenmikroskopischen Kontrolluntersuchung resultiert ein Korrekturfaktor, der die Einordnung des bislang abweichenden Nierenpärchens in die Ereigniswolke ermöglicht.

Der Arbeitszeitvorteil des Fraktionators gegenüber dem Weibel-Gomez-Verfahren wird nahezu nivelliert, indem zum einen Gundersens Forderung nach Ausweitung der Fraktionator-Auswertungsebenen und zum anderen unserer Modifikation zum Weibel-Gomez-Verfahren entsprochen wird.

Alle Ergebnisse für das durchschnittliche glomeruläre Volumen aus Fraktionator- oder Weibel-Gomez-Verfahren sind miteinander vergleichbar und interpretierbar, da beide Verfahren übereinstimmende, reproduzierbare Ergebnisse liefern.

Die größere Schwankungsbreite der Glomerulusgesamtzahl-Ergebnisse beim Fraktionatorverfahren ist mit abweichenden Fraktionierungsfaktoren korreliert, die Fehldefinitionen des untersuchten Gewebes zum Gesamtgewebe bewirken. Das Weibel-Gomez-Verfahren liefert im Vergleich zum Fraktionator stetige Ergebnisse. Neben der Weibel-Gomez-Untersuchung können häufig benötigte Paralleluntersuchungen wie die Untersuchung der tubulointerstitiellen Veränderungen und des Glomeruloskleroseindex am selben Präparat durchgeführt werden.

Aufgrund seiner Reproduzierbarkeit ist das Weibel-Gomez-Verfahren für Multi-Center-Studien und großangelegte Studien mit mehreren Untersuchern geeignet.

Die bislang häufig anzutreffende ablehnende Haltung gegenüber dem sog. abhängigen Weibel-Gomez-Verfahren kann nicht aufrecht erhalten werden. Weiterhin muß die verbreitete Ansicht, das Weibel-Gomez-Verfahren neige zur Überschätzung, relativiert werden.

Beim Fraktionatorverfahren ist eine Epoxidharzeinbettung oder bei einer Paraffineinbettung eine möglichst quantitative Schnittdickenkontrolle anzustreben.