

Plastination: Korrelation von anatomischem Präparat und Magnetresonanztomografie

Plastination: correlation of anatomical specimens and MRI

Steinke H¹, Thomas M²

Institut für Anatomie der Universität Leipzig¹ (Direktorin: Prof. Dr. K. Spänel-Borowski)
Orthopädische Klinik und Poliklinik der Universität Leipzig² (Direktor: Prof. Dr. G. von Salis-Soglio)

Zusammenfassung

Steinke H, Thomas M. Plastination: Korrelation von anatomischem Präparat und Magnetresonanztomografie. *Klinische Sportmedizin/Clinical Sports Medicine-Germany (KCS) 2002, 3 (3): 41-46.*

Entscheidende Voraussetzung der klinischen Diagnostik mit Hilfe bildgebender Verfahren wie MRT, CT und Sonografie ist die exakte Kenntnis der topografischen Anatomie. Mit Hilfe anatomischer Präparationstechniken können die klinisch relevanten bildgebenden Verfahren besser interpretiert und damit für Lehre und Forschung auf eine solide anatomische Grundlage gestellt werden. Die stetige Verbesserung der Qualität der verschiedenen bildgebenden Verfahren erfordert eine ständige Verbesserung der anatomischen Präparationstechniken. Von Hagens (1977) entwickelte die Technik der Plastination und erreicht dabei eine höhere optische Auflösung als bisher mit Auflichtfotografien von gefrorenen Präparaten (z.B. „Visible Human Project“) möglich war. Mit Einführung der Plastination von Körperscheiben wurde eine neue Qualität des direkten Vergleiches mit klinisch angewandten Schnittbildverfahren (CT, MRT) erreicht. Grundsätzlich gilt, dass je dünner die plastinierten Körperscheiben sind, desto höher ist deren optische Auflösung. Die vorliegende Arbeit beschreibt die Technik der Dünnschichtplastination. Die hohe Bildqualität der 800µm dünnen Plastinate wird beispielhaft am Ellenbogen- und Kniegelenk demonstriert. Die klinische Relevanz dieses neuen anatomischen Schnittverfahrens für die klinische bildgebende Diagnostik wird am Beispiel eines direkten Vergleiches von MRT-Schnittbildern mit korrelierenden Dünnschichtplastinaten gezeigt. Sämtliche MR-Strukturen konnten mit Hilfe der Plastinate eindeutig identifiziert werden.

Schlüsselwörter: Plastination, MRT, Schnittbildanatomie, Gelenk, vergleichende Studien

Summary

Steinke H und Thomas M. Plastination: correlation of anatomical specimens and MRI. *Klinische Sportmedizin/Clinical Sports Medicine-Germany (KCS) 2002, 3 (3): 41-46.*

The main condition for usage of clinical diagnostic imaging like MRI, CT and Sonography is the exact knowledge of the topographical anatomy. Using anatomical preparation techniques helps to interpret the clinical diagnostic imaging, which leads to a profound knowledge and a basis for education and science. The continuous improvement of the diagnostic imaging quality demands an equal improvement of the anatomical techniques. Von Hagens (1977) developed the plastination technique. The plastinate reveal a higher optic resolution than the previously taken from sawed specimen which were frozen or formaldehyde fixated. Thus, a new quality of comparing the clinical diagnostic imaging was possible, but depending to the thickness of the plastinated body slices, which are not under 2-3 mm. This article describes the improvement of the plastination, which allows obtaining very thin plastinated body slices. The high quality of the 800µm thin slices is demonstrated on plastinated specimens of the elbow and the knee correlating to their MRI obtained before the plastination procedure. The direct comparison of the specimen as an anatomical prepared to its MRI give the clinical importance related to the particularized inspection of the anatomical structures. All structures visible on the MRI could be identified by plastinated specimen.

Key words: Plastination, MRI, normal sectional anatomy, joint, correlative studies

Einführung

Es ist seit Leuwenhook (1673) selbstverständlich, zur feinoptischen Untersuchung Gewebe vom Untersuchungsobjekt abzutrennen, um es in Schnitte zu zerlegen [7;9]. Es wird in ein Medium eingebettet, das nahezu den gleichen Lichtbrechungsindex aufweist, und dieses vollständig durchtränkt [1]. Spalteholz war 1911 der erste, der diese Erkenntnis auf makroskopische Präparate ausweitete und so durchsichtige anatomische Objekte schuf [14]. Die erreichbare optische Auflösung ist definiert als der minimale Abstand zweier Objektpunkte, deren Bilder nicht miteinander verschmelzen. Diese ist bei Körperscheiben, die nach der Spalteholz'schen Methode hergestellt werden,

aufgrund der Dicke der Gewebeproben sehr gering. Der Vorteil dieser Methode liegt in der dreidimensionalen Transparenz der Präparate.

Um die Topografie an zweidimensionalen Schnittpräparaten zu zeigen, wurden frühzeitig Gefrierschnitte in unterschiedlichen Dicken von Leichnamen hergestellt. 1860 präsentierte Hyrtl 1 cm dicke Gefrierschnitte [6]. Wolff [20] montierte 1933 unter Erhaltung der Farbe gefrier-geschnittene Körperscheiben in Sichtrahmen, erreichte aber damit keine Verbesserung der optischen Auflösung [9]. Erst durch die Einbettung dieser Gefrierschnitte in optisch dichtere Medien konnte die Auflösung verbessert

werden. Ruth [11] stellte hierzu die Einbettung in Glycerin vor. Weiterhin wurde eine Einbettung in Kunststoffe mit hoher optischer Brechkraft empfohlen. Der erste Kunststoff der Präparationstechnik war das 1938 in Deutschland entwickelte Harnstoff-Formaldehyd-Kondensationsprodukt Celodal[®], dessen transparente Eigenschaften von Harms [5] und Peters [8] eingehend gewürdigt wurden.

Eine wesentliche Weiterentwicklung in der Darstellung von gefriergeschnittenen Körperscheiben erreichte von Hagens 1977 [2] mit der Etablierung der Plastination, speziell mit der Beschreibung der Körperscheibenplastination [3,4]. Das dazu entwickelte Epoxidharz E 12 (BIODUR Heidelberg) besitzt eine gewebeähnliche optische Brechkraft. Die Körperscheibe wird transparent, wenn der Kunststoff in das Gewebe eingedrungen ist. Die mit der beschriebenen E 12-Technik hergestellten Körperscheiben waren die Grundlage vergleichender anatomischer Untersuchungen mit verschiedenen bildgebenden Verfahren (CT, MRT) [10]. Mit dieser Technik war die minimale Dicke der Plastinate auf 3 mm begrenzt. Die im Rahmen der klinischen Diag-

nostik eingesetzten bildgebenden Verfahren wurden stetig verbessert, sodass heute routinemäßig hochauflösende MR- und CT- Schnittbilder angefertigt werden. Eine weitere Erhöhung der Auflösung von Plastinationsschnitten war deshalb notwendig. Steinke [17] konnte durch die Verringerung der Schnittdicke auf 0,8 mm eine deutliche Verbesserung der Auflösung von Schichtplastinaten erreichen. Dünnschichtplastinate können mit MRT-, CT- und Sonografieschnittbildern verglichen werden, um radiologische Schnittbilder sicher interpretieren zu können. Durch die hohe Qualität der Dünnschichtplastinate können auch kleinste anatomische Strukturen der MR-, und CT- Schnittbilder sicher identifiziert werden. Ein derartiger Vergleich bildet damit eine ideale Grundlage für Ausbildung und Forschung.

Das **Ziel der Untersuchung** war eine kurze methodische Darstellung der Dünnschichtplastination und die Präsentation von ausgewählten MR-Schnittbildern verschiedener Gelenke und der zugehörigen Dünnschichtplastinate.

Material und Methode

Sechs Schritte waren notwendig, um Dünnschichtplastinate herzustellen.

Zur Plastination kamen Körperspender, die ihren Körper zu diesem Zweck dem Plastinationslabor am Institut für Anatomie der Universität Leipzig zur Verfügung gestellt hatten. Wenn Neoplasien oder andere die normale Anatomie beeinträchtigende Erkrankungen weitgehend ausgeschlossen wurden, erfolgte möglichst kurz nach Eintritt des Todes die Vorbereitung des Leichnames zur Untersuchung.

1. Vorbereitung und MRT

Der Leichnam wurde mit einer isotonischen Lösung über die A. femoralis gepuffert, und zwar zur Vermeidung von Braunfärbungen des Plastinates ähnlich der beschriebenen Methode für das Durchsichtigmachen ganzer Präparate [15]. Die Feinstruktur blieb dabei erhalten, wobei auch Injektionen zur Darstellung der arteriellen und der venösen Gefäßarchitektur möglich waren [16]. Vor Beginn der kernspintomografischen Untersuchung wurden Markierungen angebracht, die später als Orientierung für die Sägeschnitte dienten.

2. Vorkühlen und Einfrieren

In der mikroskopischen und makroskopischen Präparationstechnik ist bekannt, dass bei zu langsamen Einfrieren Eisnadeln den Gewebeverband zerstören [1,9]. Für den Plastinationsvorgang bedeutete das zudem, dass derart eingefrorenes Gewebe nicht in dünne Schichten schneidbar war, da es zerfiel. Wurde hingegen zu schnell eingefroren, etwa in Stickstoff, zerplatzten die Präparate durch die entstehende Gefrierspannung. In zahlreichen Vorversuchen konnte gezeigt werden, dass eine Mischung aus 85 % Azeton und 15 % Wasser abgekühlt auf -95°C am besten geeignet war. Bis zum Sägen wurde das Präparat bei -15°C in Folie gelagert.

3. Sägen

Das auf -65°C gekühlte Präparat wurden mit einer Plastinationssäge (BIODUR Heidelberg) bei einer Raum-

temperatur von -20°C in 0,8 mm dicke Scheiben gesägt. Dazu waren einige Umbauten nötig [19]. Weiterhin wurde der Anschlag der Säge durch eingefrorene Ziegelsteine auf -70°C gekühlt und eine Düse mit kalter Druckluft entfernte die Sägereste vom Bandsägeblatt und kühlte dieses.

2. Gefrier austausch

Nach dem Einbringen der Scheiben in spezielle Trägersysteme (Gitterdrahtkästen BIODUR Heidelberg, von Hagens 1985) wurden diese zum Entwässern in kaltes Aceton gebracht. Das empfohlene reine Azeton, abgekühlt auf -25°C [3], eignete sich nicht für Dünnschichtplastinate. Sie zerbrachen. Besser geeignet war ein gestaffelter Gefrier austausch, beginnend mit einem Gemisch von 85 % Azeton und 15 % Wasser bei -85°C für einen Tag und anschließend bei -25°C für 3 Monate. Danach wurden die Schnitte einen Monat in reinem Azeton gelagert [12].

5. Imprägnation und Einbettung

Die Präparate wurden mit zwei Kunststoffen plastiniert: (a) mit FO 127 [18], oder (b) mit BIODUR E 12 [3] in Modifikation nach Steinke [17]. Die Imprägnation erfolgte unter Evakuierung des Azetones durch die polymerisierenden Kunststoffe mittels Vakuum. Wenn die Schrumpfung durch die Druckveränderungen nicht minimiert werden konnte, kam es zur Zerstörung der Scheiben [13]. Die Einbettung erfolgt nach der „Sandwich“- Technik [3].

6. Aushärtung

Die Polymersysteme E 12 (Epoxidharz für Körperscheiben) oder FO 127 (Polyurethan für Kopfscheiben mit Hirn) polymerisieren durch den spezifischen Härteranteil [3,18]. Der geringe Farbkontrast der Strukturen war auf die geringe Dicke der Scheiben zurückzuführen. Eine Nachhärtung im Wärmeschrank schuf dem Abhilfe und bräunte die Scheiben, sodass der Kontrast zunahm.

Ergebnisse

Die hohe Auflösung der Dünnschichtplastinate wird am Beispiel des Ellenbogengelenkes und des Kniegelenkes dargestellt. Abbildung 1 und 2 zeigen dabei den Vergleich von Dünnschichtplastinaten und korrelierenden MRT-Schnittbildern eines Präparates.

Der horizontale Schnitt durch das Ellenbogengelenk stellt die Art. cubiti im Bereich der Trochlea humeri dar. Neben den bekannten knöchernen Strukturen können anhand der Dünnschichtplastinate sämtliche Weichteilstrukturen eindeutig identifiziert und den entsprechenden MR-Strukturen zugeordnet werden. Beispielhaft sind der N. ulnaris im Bereich der Incisura n. ulnaris humeri und der Ramus profundus et ramus superficialis n. radialis sowie die Vasa brachiales markiert.

Die Schnittebene von Abb. 1c und 1d verläuft sagittal durch das Ellenbogengelenk und zeigt die Art. cubiti sowie das proximale Radioulnargelenk. Neben den muskulären Strukturen (M. brachioradialis, M. brachialis, M. supinator und M. triceps brachii) ist der oberflächliche und tiefe Ast des N. radialis abgebildet (Abb. 1d). Zusätzlich kann die A. und V. interossei anterior identifiziert werden. Abb. 1e zeigt einen Ausschnitt des Radioulnargelenkes und der Art. humeroradialis. Erkennbar sind die Schichtung des Knorpels sowie dessen Übergang in die trabekuläre Struktur des Knochens.

In Abb. 2 wurden horizontale und sagittale Schnitte durch das Kniegelenk abgebildet. Das horizontale Schnittpaar 2a

und 2b zeigt eine Schnittebene in Höhe der Femurkondylen mit Abbildung des vorderen und hinteren Kreuzbandes. Neben der trabekulären Struktur des Femur konnten sämtliche Weichteilstrukturen anhand der Dünnschichtplastinate identifiziert werden. Neben den Kreuzbändern sollen hier besonders die Aufzweigung der Vasa poplitea erwähnt werden, deren feinste Äste sich am Dünnschichtplastinat verfolgen lassen (Abb. 2b). Zudem ist ein Abschnitt der femoralen Insertion des hinteren Kreuzbandes dargestellt. Die Abbildungen 2c und 2d zeigen korrespondierende sagittale Schnittbilder. Hervorzuheben ist die Darstellung des gesamten Verlaufes des hinteren Kreuzbandes sowie des Ligamentum patellae. Die hohe optische Auflösung der Dünnschichtplastinate wurde anhand einer Detailaufnahme des Verlaufes des hinteren Kreuzbandes demonstriert (Abb. 2e). Es konnten feinste Gefäße dargestellt werden, die im vergleichbaren MR-Schnitt nicht abgebildet waren. Die im Plastinationsschnitt eindeutig identifizierten vier medialen Äste des Rete articulare genus konnten den entsprechenden MR-Strukturen (in T1-Wichtung hypointens) zugeordnet werden.

Zusammenfassend fand sich eine gute Korrelation zwischen Plastinations- und MR-Schnittbildern. Alle MR-Strukturen konnten mit Hilfe der Dünnschichtplastinate eindeutig identifiziert werden.

Diskussion

Bisher übliche Gefrierschnittbilder oder Auflichtfotografien haben eine geringe optische Auflösung. Der entscheidende Vorteil der Plastination ist die Transparenz der Gewebescheiben. Grundsätzlich gilt, dass je dünner der Plastinationsschnitt ist, desto höher ist die optische Auflösung [17]. Die Dünnschichtplastination ist ein aufwendiges Verfahren dessen Ergebnis erst nach Monaten beurteilt werden kann. Im Vergleich mit anderen Schnittbildverfahren ist dies ein Nachteil dieser Methode. Dem steht jedoch eine mit anderen Methoden nicht erreichbare Qualität der Schnittbilder als entscheidender Vorteil gegenüber. Die bildgebende Diagnostik verschiedener Erkrankungen auf orthopädischem Fachgebiet erfordert zunehmend detaillierte Kenntnisse der verschiedenen klinischen Schnittbildverfahren (CT, MRT). Hierbei sind sowohl Kenntnisse der normalen Schnittanatomie als auch typischer pathologischer Veränderungen für die OP-Planung dringend erforderlich. Fehlinterpretationen mit gravierenden klinischen Folgen können durch exaktes anatomisches Wissen sicher vermieden werden. In der Vergangenheit wurden daher zahlreiche vergleichende Studien unternommen [10, 17]. Das Ziel eines Vergleiches verschiedener Schnittbildverfahren ist die eindeutige Zuordnung der abgebildeten anatomischen Strukturen, wobei eine Methode als das Referenzverfahren anzusehen ist. Prinzipiell gibt es zwei Techniken verschiedene Schnittbildverfahren miteinander zu vergleichen. Beim indirekten Vergleich werden Schnittbilder von zwei verschiedenen

Objekten miteinander verglichen [10]. Nachteilig ist hierbei das es sich sowohl um unterschiedliche Objekte als auch um nur annähernd identische Schnittebenen handelt. Wir favorisieren den direkten Vergleich. Beim direkten Vergleich wird ein Objekt zunächst mit einem klinischen Schnittverfahren (MRT) untersucht. Anschließend erfolgt unter exakter Einhaltung der MRT-Schnittebenen die Anfertigung der korrelierenden anatomischen Schnitte [17]. Anatomische Variationen haben hier keinen negativen Einfluß auf die Bildinterpretation, da die abgebildeten Strukturen identisch sind.

Mit der Einführung neuer bildgebender Verfahren gewinnt in der studentischen Ausbildung neben der makroskopisch anatomischen Präparation heute zunehmend auch die Schnittbildanatomie an Bedeutung. Die Dünnschichtplastination stellt somit ein innovatives Werkzeug zur Darstellung der topographischen Anatomie dar. Im Rahmen der Forschung ergeben sich neue Aspekte durch die direkte Korrelation von Plastinationsschnitt und radiologischem Schnittbild. Daraus ergibt sich beispielsweise die Möglichkeit, neue MR-Sequenzen zu evaluieren und zu interpretieren. Aufgrund der Verwendung unfixierten und frischen Gewebes können Standards der Bildinterpretation etabliert werden, die damit auch auf die Patientenuntersuchungen übertragbar sind. Die Methode der Plastination ist auf orthopädischem Fachgebiet prinzipiell im Bereich aller Gelenke einschließlich der Wirbelsäule einsetzbar. Wie gezeigt wurde, können mit Hilfe der Dünnschichtplasti-

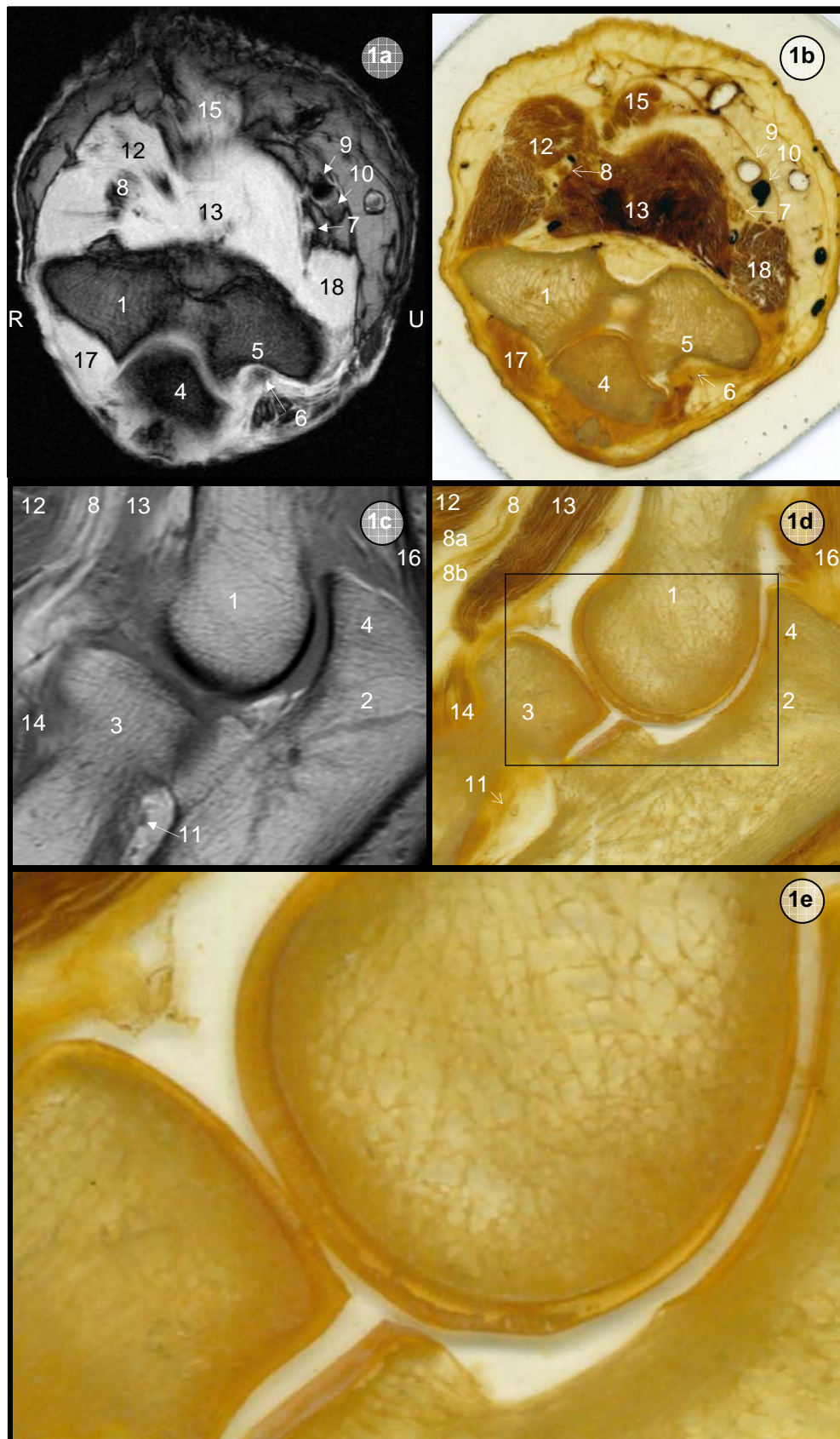


Abbildung 1 Korrelierende Schnittbilder des Ellenbogengelenkes.

1a: T1-gewichteter transversaler MR-Schnitt; 1b: korrelierendes Plastinat; 1c: T1-gewichteter sagittaler MR-Schnitt; 1d: korrelierendes Plastinat; 1e: Vergrößerung aus 1d. (R – radial, U – ulnar). MR-Schnittbilder: TR 600msec, TE 20,0msec, FOV 150*150, Matrix 512*512, 256 Grauwerte
Plastinationsschnitte: E12, 800µm

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

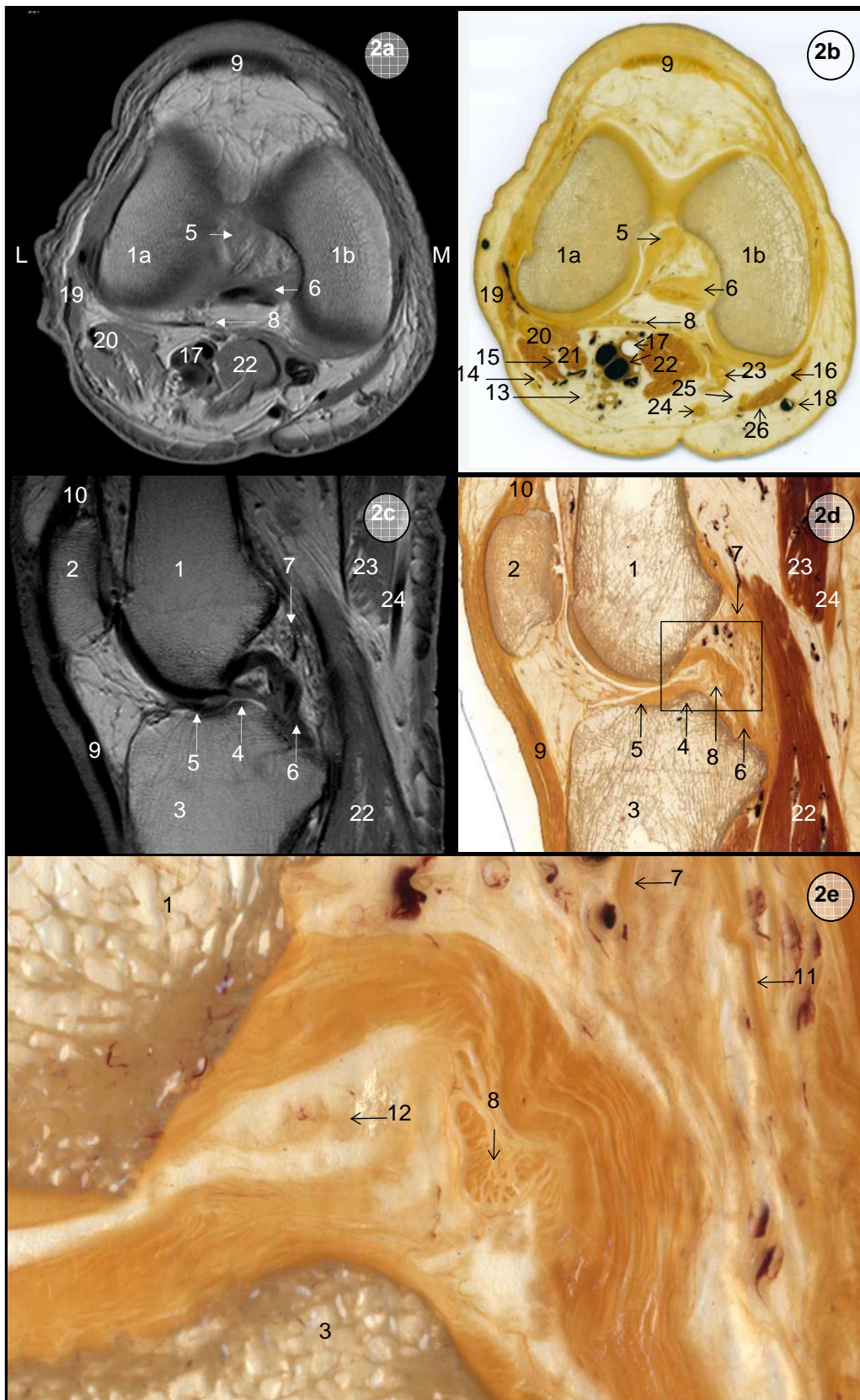


Abbildung 2 Korrelierende Schnittbilder eines linken Kniegelenkes.

2a: T1-gewichteter transversaler MR-Schnitt; 2b: korrelierendes Plastinat; 2c: T1-gewichteter sagittaler MR-Schnitt; 2d: korrelierendes Plastinat ; 2e: Vergrößerung aus 2d. (M- medial, L- lateral). MR-Schnittbilder: TR 600msec, TE 20,0msec, FOV 150*150, Matrix 512*512, 256 Grauwerte Plastinationsschnitte: E12, 800µm

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. meniscomemorale, 8 - vorderes meniscomemorales Band (Humphreysches Band), 9 - Lig. patellae, 10 - Tendo m. quadriceps femoris, 11 - hintere Gelenkkapsel, 12 - Plicae alares, 13 - N. tibialis, 14 - N. peroneus communis, 15 - N. suralis, 16 - N. saphenus, 17 - A. poplitea, Vv. popliteae, 18 - V. saphena magna, 19 - Tractus iliotalialis, 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

nation selbst feinste anatomische Strukturen exakt identifiziert werden. Beispielhaft ist dies für den Gelenkknorpel in Abbildung 1e gezeigt. Der klinische Einsatz dieses anatomischen Schnittverfahrens ergibt sich aus der Möglichkeit einer eindeutigen Interpretation radiologischer Schnittbildverfahren (CT, MRT, Sonographie), die im Rahmen der klinischen Diagnostik verschiedener Gelenk-

erkrankungen routinemäßig zur Anwendung kommen. Eine weitere Möglichkeit könnte sich zukünftig mit einer 3D-korrelierenden Analyse von Plastinationsschnitten und 3D-Datensätzen von MRT und CT ergeben. Durch eine weitere Verringerung der Schichtdicke der Plastinate wäre eine weitere Verbesserung der Auflösung möglich.

Literatur

1. Ehrlich P (1910) Enzyklopädie der mikroskopischen Technik. Urban und Schwarzenberg, Berlin
2. Hagens G v (1977) Patentschrift. DBP. 27 0 147, Erf.: G von Hagens
3. Hagens G v (1985) Heidelberger Plastinationshefter. Anatomisches Institut Heidelberg
4. Hagens G v, Tiedemann K, Kritz W (1987) The current potential of plastination. *Anat Embryol* 175: 411-421
5. Harms H (1956) Celodal auf dem 6. Internationalen Anatomenkongreß Paris 1955. *Der Präparator* 2: 107-108
6. Hyrtl J (1860) Handbuch der praktischen Zergliederungskunst. Baumüller Wien
7. Leuwenhook (1673) zit. Ford BJ (1981) The van Leeuwenhoek Specimens, *Notes & Records of the Royal Society*, 36 (1): 37-59.
8. Peters W (1959) Die Herrichtung oder Wiederherstellung von unansehnlichen oder nicht gut gelungenen Celodalpräparaten. *Der Präparator* 5: 83-86
9. Piechocki R (1986) Makroskopische Präparationstechnik. Fischer Jena
10. Romrell LJ, Lanier L, Ross H, Hagens G v (1996) Der menschliche Körper. Schnittanatomie und Tomografie. Ullstein Mosby
11. Ruth EB (1934) A method for preparing frozen sections of infant cadaver. *Anat Rec* 58: 241-244
12. Schmidt W, Steinke H (1996) Shrinkage of brain tissue in freeze substitution. *Ann Anat Suppl* 178: 183
13. Schmidt W, Steinke H (1997) How to avoid shrinkage of brain in plastination? *Ann Anat Suppl* 197: 171
14. Spalteholz W (1914) Über das Durchsichtigmachen von menschlichen und tierischen Präparaten und seine theoretischen Bedingungen. Hirzel, Leipzig
15. Steinke H, Schmidt W (1991) Die Spalteholz-Technik und ihre Modifikationen. *Anat Anz* 86: 306
16. Steinke H, Wolff W (2001) A modified Spalteholz technique with preservation of histology. *Ann Anat* 183: 91-95
17. Steinke H (2001) Plastinated body slices for verification of magnetic resonance tomography images. *Ann Anat* 183: 275-281
18. Steinke H, Pfeiffer S, Spanel-Borowski K (2002) A new plastination technique for head slices containing brain. *Ann Anat* 184: 1-6
19. Weber W (1994) Selecting and modifying a band-saw for use in sheet plastination. *J Int Soc Plastination* 9: 25
20. Wolff EK (1933) Die Herstellung gerahmter Sammlungspräparate. *Zbl Pathol* 56: 401-404

Korrespondenzadresse: Hanno Steinke

Institut für Anatomie, Universität Leipzig, Liebigstraße 13, D-04103 Leipzig

E-mail: steinkeh@medizin.uni-leipzig.de

Fax: -0049 341 9722009; Tel.: -00493419722086