

Quantitative Zellmorphologie

von

Jörg KLIMA und Helmut PLATTNER

(Aus dem Institut für Elektronenmikroskopie der Universität Innsbruck; Kuratoren:
Univ.-Prof. Dr. W. HEISSEL und Univ.-Prof. Dr. A. SCHINZEL)

Synopsis: Some methods and their implications are discussed for the purpose of developing a quantitative morphology of the cell. The method to be chosen depends on the degree of orderliness and anisotropy of the structure to be examined. Objects with a rotational symmetry, cut in a position so that the rotational axis lays in the plane of section, can be measured with the aid of a point-lattice, where each point is valued according to the square of its distance from the axis. Measurements of the angle between some structures and reference lines make it possible to estimate the degree of statistical anisotropy of the distribution of the structures. Some examples for these procedures are given in Tab. 1 (the volume of mitochondria as the percentage of total cytoplasm-volume in some tissues) and Tab. 2 (the angular distribution of the mitochondria-axis and cristae mitochondriales in some tissues). As a further example the volume of the outer chondrioplasm as percentage of the total volume in some mitochondria is calculated.

Morphologie als Gestaltslehre ist stets eine deskribierende Wissenschaft. Es ist unmöglich, die Fülle der Naturobjekte mit allen ihren Details zu beschreiben, sondern man muß jeweils eine Gruppe von Objekten zusammenfassen und die dieser Klasse gemeinsamen Eigenschaften hervorheben. Dabei erfolgt häufig das Zusammenfassen bestimmter Objekte zu einem Typus durch den an der Erfahrung geschulten intuitiven Blick. Dieses Verfahren wird sich auch nie eliminieren lassen, wesentlich ist es aber, daß es dennoch gelingt, messende Verfahren in eine solche Gestaltslehre einzuführen.

Dabei wird eine Operationsvorschrift — welche Daten auf welche Weise gewonnen werden — angegeben und die Wiedererkennung eines Typus kann daher auf Grund der so gewonnenen Daten objektiv entschieden werden. Dagegen kann, wenn man sich allein auf die bloße Beschreibung und auf das bloße Erkennen verläßt, eine Verifizierung der Zuordnung des neuen Objekts zu einem schon beschriebenen Typus nicht exakt vollziehbar sein. Für eine Gestaltslehre der Zelle stehen

uns heute ausgezeichnete Elektronenmikrographien zur Verfügung, welche nun durch quantitative Verfahren erschlossen werden sollen. Prinzipiell kann man einerseits so vorgehen, daß man einen bestimmten Typus intuitiv erschließt und sich nun eine geeignete Meßoperation zur Erkennung dieses Typus ausdenkt. Es ist aber auch der umgekehrte Weg denkbar, daß man bestimmte Operationsmöglichkeiten auf beliebige Schnitte anwendet und versucht, an Hand des so gewonnenen Musters von Daten Typisierungen vorzunehmen.

Bei einer quantitativen Zellmorphologie müssen begrifflich zwei Stufen des Auswertungsgeschehens unterschieden werden. Erstens einmal die Stufe der Gewinnung der Meßdaten, also das Ausmessen einzelner Charakteristika selbst und zweitens die Darstellung dieser Meßdaten in einer Form, die die Typisierung der Ergebnisse erlaubt. Beide Stufen der quantitativen Morphologie sind heute noch in der Cytologie wenig entwickelt oder ungenügend bekannt. In der vorliegenden Arbeit sollen einige Voraussetzungen für einen solchen Aufbau einer quantitativen Morphologie der Zelle besprochen werden.

1. Die Grundsituation

Zellmorphologie besagt, die räumliche Lagerung der Zellbestandteile in immer feinerer Aufgliederung bis letztlich zu molekularen Strukturen zu beschreiben. Der Bereich, welcher zwischen dem Auflösungsvermögen der Lichtmikroskopie und der biochemischen Analyse liegt und der sich weitgehend mit dem Arbeitsbereich der Elektronenmikroskopie deckt, ist dadurch gekennzeichnet, daß die Zelle als Untersuchungsobjekt in ebene ultradünne Schnitte zerlegt wird. Die Bilder solcher ebener Schnitte durch Zellen werden dann ausgewertet. An verschiedenen Stellen ist schon darauf hingewiesen worden, daß ein ultradünner Schnitt, der im Elektronenmikroskop vorliegt, keineswegs stets einem idealen ebenen Schnitt entspricht. Diese Fehlermöglichkeit muß gekannt werden, sind doch die Meßverfahren, die wir derzeit anwenden können, nur auf ebene Schnitte anwendbar und solche gröbere fehlerhafte Schnitte müssen daher ausgeschaltet werden. Einzig die Stauchung der Schnitte bei ihrer plastischen Deformation kann zurückgerechnet werden:

$$l = l' \cdot d \cdot \cos \alpha$$

l = wahre Länge einer Struktur

l' = gemessene Länge der Struktur

d = Betrag der Stauchung (Höhe der Schnittfläche vor dem Schneiden: Höhe des Schnittes nach dem Schneiden.)

α = Winkel der Struktur mit der Schnittrichtung

Bei der Wahl der Schnittlagen müssen wir mehrere Möglichkeiten unterscheiden.

- (1) Die Ebene des Schnittes kann willkürlich zu irgend einer Vorzugsrichtung der Zelle liegen, ohne daß diese Lagebeziehung bekannt ist. Während des Schneide-

vorganges wird aber diese Ebene beibehalten und es können Schnitte in periodischen Abständen entnommen werden.

- (2) Es besteht die Möglichkeit, mit zufallsmäßig aus einer Schnittserie entnommenen Schnitten zu arbeiten oder — was dasselbe ist — mit einem Schnitt, in dem zwar die Vorzugsrichtung mehrerer bis vieler eingebetteter Objekte eingeregelt, ihre gegenseitige Lagebeziehung aber in Bezug auf ihren letzten Freiheitsgrad voneinander statistisch unabhängig ist und zahlreiche Anschnitte vorliegen.
- (3) Man kann für dasselbe Blöckchen eine zweite Schnittlage wählen, deren Orientierung zur ersten bekannt ist oder vermessen werden kann.
- (4) Man kann die Schnittlage zu einer ausgezeichneten Achse des Objektes orientiert wählen.
- (5) Es können mehrere zufallsmäßige Schnittlagen durch ein Blöckchen geführt werden, oder — was diesem Fall entspricht und häufiger vorkommt — daß viele im gleichen Blöckchen eingebettete Objekte voneinander unabhängig gelagert sind und gleichzeitig durch den ebenen Schnitt getroffen werden.

Arbeitet man mit periodisch entnommenen Schnitten, dann muß man beachten, ob die Periode klein oder groß gegenüber den zu vermessenden Kompartimenten ist. Günstiger ist es, Schnitte zu verwenden, bei denen die Ebene des Schnittes in bezug auf eine ausgezeichnete Achse der Zelle, des Gewebes, Organs oder Organismus bekannt ist. Die Kenntnis der Schnittlage ist deshalb anzustreben, weil ein ebener Schnitt auf anisotrope Elemente einen auswählenden Effekt hat und gewisse Schnittlagen bevorzugt (SANDER et al. 1954 a,b; KLIMA 1963).

Hat man zwei zueinander orientierte Schnittlagen zur Verfügung, kann man aus den Daten des ersten Schnittes durch konstruktive Rotation die Daten der zweiten Schnittlage bestimmen. Fallen die Daten der konstruktiven Rotation und die Meßergebnisse der zweiten Schnittlage nicht zusammen, muß das zu Grunde liegende Modell fehlerhaft sein.

2. Das Meßverfahren

Auf Einzelschnitte lassen sich einige einfache Meßverfahren anwenden, die darauf beruhen, daß man Punktgitter oder Strichgitter über den Schnitt wirft und Treffer bzw. Schnittpunkte zählt (HENNIG 1956 a,b; 1957 a,b). Außerdem lassen sich leicht Winkelgrößen vermessen; entweder wird dabei eine bestimmte willkürliche Bezugsrichtung für den gesamten Schnitt festgehalten oder die Bezugsrichtung ist eine leicht erkenntliche Vorzugsrichtung definierter Zellbestandteile und kann innerhalb eines Schnittes wechselnd liegen.

Bei statistisch verteilten Komponenten ist die Summe der Flächen — in einem unendlich ausgedehnten Schnitt — proportional dem Gesamtvolumen der Komponenten. Statistisch verteilte Komponenten könnte man mit jedem beliebigen Punktgitter vermessen. Auch bei geordneten Komponenten entspricht die Summe der Anschnittflächen, wenn man genügend statistisch verteilte Anschnitte wählt, dem

Gesamtvolumen der Komponenten. Bekanntlich kann sich bei geordneten Komponenten allerdings ein Einfluß der Gitterordnung beim Messen bemerkbar machen. Die geordneten Strukturen würde man am besten mit einem statistischen Gitter vermessen, wenn es nur darauf ankäme, das Volumen zu bestimmen. Diese statistische Verteilung der Punkte ist aber schwer herzustellen. Bei einer geordneten Verteilung der Komponenten wird jedes geordnete Gitter zu Maxima- und Minima-Werten bei bestimmten — für das jeweilige Gitter adäquaten — Lageparametern führen. Die Schwankung zwischen den Maxima und Minima wird maximal für ein Gitter, das den gleichen Symmetriecharakter wie das Muster besitzt. Zur Aufdeckung einer linearen Vorzugsrichtung ist daher ein lineares Punktgitter besonders geeignet. Bei schwierigeren Mustern empfiehlt sich sogar, daß man für die jeweiligen Komponenten ihren Schwerpunkt einträgt und die Koordinaten des Schwerpunktes dazu benützt, eine periodische Gitterstruktur darüber zu legen, für die die Summe der Abweichungsquadrate ein Minimum wird.

In der Literatur werden zuweilen quadratische Netze vorgeschlagen (HALLY 1964). Jedoch verwendet man am zweckmäßigsten zu einer genauen Flächenmessung ein hexagonales Gitter, und zwar auf Grund folgender Überlegungen: Wenn es nicht gelingt, die Punkte ungeordnet zu legen, dann sollen sie möglichst gleichmäßig dicht liegen, das heißt aber, daß man einen Einheitskreis um jeden Gitterpunkt schlägt, so daß sich die Einheitskreise nur berühren, aber nicht überschneiden; dann soll die nicht von den Kreisen bedeckte Fläche ein Minimum werden. Diese Forderung erfüllt nur ein hexagonales Netz; hiebei wird die nicht von den Kreisen bedeckte Fläche

$$F = \frac{(2 \times \sqrt{3} - \pi) \times 100}{2 \times \sqrt{3}} = 6,42,$$

wenn man die Fläche der Elementarzelle gleich 100 setzt. Vergleichsweise beträgt die offene Fläche beim quadratischen Netz

$$F = \frac{(4 - \pi) \times 100}{4} = 21,46.$$

Für ein rhombisches Netz ergibt sich, wenn α als größerer Winkel im Rhombus gesetzt wird, für den Bereich $\alpha \geq 120^\circ$:

$$F = \frac{(2 \times \operatorname{tg} \frac{\alpha}{2} - \pi) \times 100}{2 \times \operatorname{tg} \frac{\alpha}{2}},$$

in dem Bereich $\alpha \leq 120^\circ$ bis $\alpha \geq 90^\circ$:

$$F = \frac{(8 \times \cos \frac{\alpha}{2} \times \sin \frac{\alpha}{2} - \pi) \times 100}{8 \times \cos \frac{\alpha}{2} \times \sin \frac{\alpha}{2}}.$$

Für ein rechteckiges Netz ergibt sich, wenn für die Seitenlängen

$b : a = k$, bei $b > a$, gesetzt wird:

$$F = \frac{(4k - \pi) \times 100}{4k}$$

Da aber meistens die Frage der Ordnung von Strukturen ebenfalls von Bedeutung für die Zellmorphologie ist, ist es angezeigt, die Möglichkeit wahrzunehmen, eine Strukturordnung mit einem geordneten Gitter nachzuweisen.

Die Genauigkeit der Flächenmessung und damit der Volumsmessung ist abhängig von der Anzahl der gezählten Treffer im Verhältnis zur Anzahl der gesamten geworfenen Punkte. Es ist aber auch noch von Einfluß, wie groß der Abstand der Gitterpunkte voneinander ist. Wenn der Gitterabstand so eng wird, daß im Durchschnitt mehr als ein Punkt auf eine Anschnittsfläche der zu vermessenden Komponente fällt, so sind die Punkte — ob Treffer oder Nicht-Treffer — nicht mehr statistisch voneinander unabhängig und die Meßgenauigkeit sinkt rasch ab. Es ist daher zweckmäßig, eine gestaffelte Reihe von hexagonalen Netzen mit verschiedenen linearen Größen der Elementarzelle, z. B. 1 : 2 : 3 usw. zu haben. Bei quasi unendlich ausgedehnten Schnitten ist es zweckmäßig, nur ein eng begrenztes hexagonales Gitter bis zu etwa 25 Meßpunkten zu verwenden und zufallsmäßig die Schnittbereiche zuzuordnen.

Bei Elektronenmikrographien hat man es meistens aber mit sehr viel begrenzteren Gesichtsfeldern zu tun und man wird die Auswertung meist auf Grund der Aufnahmen auf $6\frac{1}{2} \times 9$ cm-Platten vornehmen. In diesem Fall ist es zweckmäßig, ein unendlich ausgedehntes Netz zu verwenden, allerdings wird dann die Zahl der Punkte, die zu zählen ist, besonders bei kleinerem Gitterabstand relativ sehr groß.

Die Zuordnung des Gitters zum Schnitt geschieht dabei durch Zufallstafeln. Eine Elementarzelle des Gitters wird in 10×10 Koordinatenpunkte geteilt. Aus der Zufallstafel ersieht man, mit welchem Koordinatenpaar man den Schnitt vermessen muß. Eine Drehung innerhalb des Winkels von 60° wäre ebenfalls noch möglich. Zu einer weiteren Randomisierung wird dies jedoch in den meisten Fällen unnötig sein, da eine entsprechend zufallsmäßige Drehung vielfach schon im Objekt gegeben ist.

Um die Gefahr der Zählfehler zu vermindern, ist es daher angezeigt, eine Vermessung jeweils in einem bestimmten Raster zu protokollieren. Dadurch ist die Zahl der Zählfehler sehr viel geringer und die Vermessung kann auch von einer zweiten Person wiederholt werden. Zur Feststellung der geordneten Verteilung bestimmter Komponenten in den Schnitten wird zweckmäßigerweise ein engeres Gitter aufgelegt, das indiziert ist (Abb. 1).

Man kann durch Verschieben eine Punkteverteilung erzielen, bei der die verschiedenen indizierten Punkte nicht nach ihrer statistischen Wahrscheinlichkeit, sondern nach bestimmten Gesetzmäßigkeiten zu Treffern oder Nicht-Treffern werden. Auch beim hexagonalen Gitter läßt sich verhältnismäßig leicht aus den gewonnenen Indizes der Treffer eine andersartige Symmetrie der Verteilung errechnen. Bei hoch-

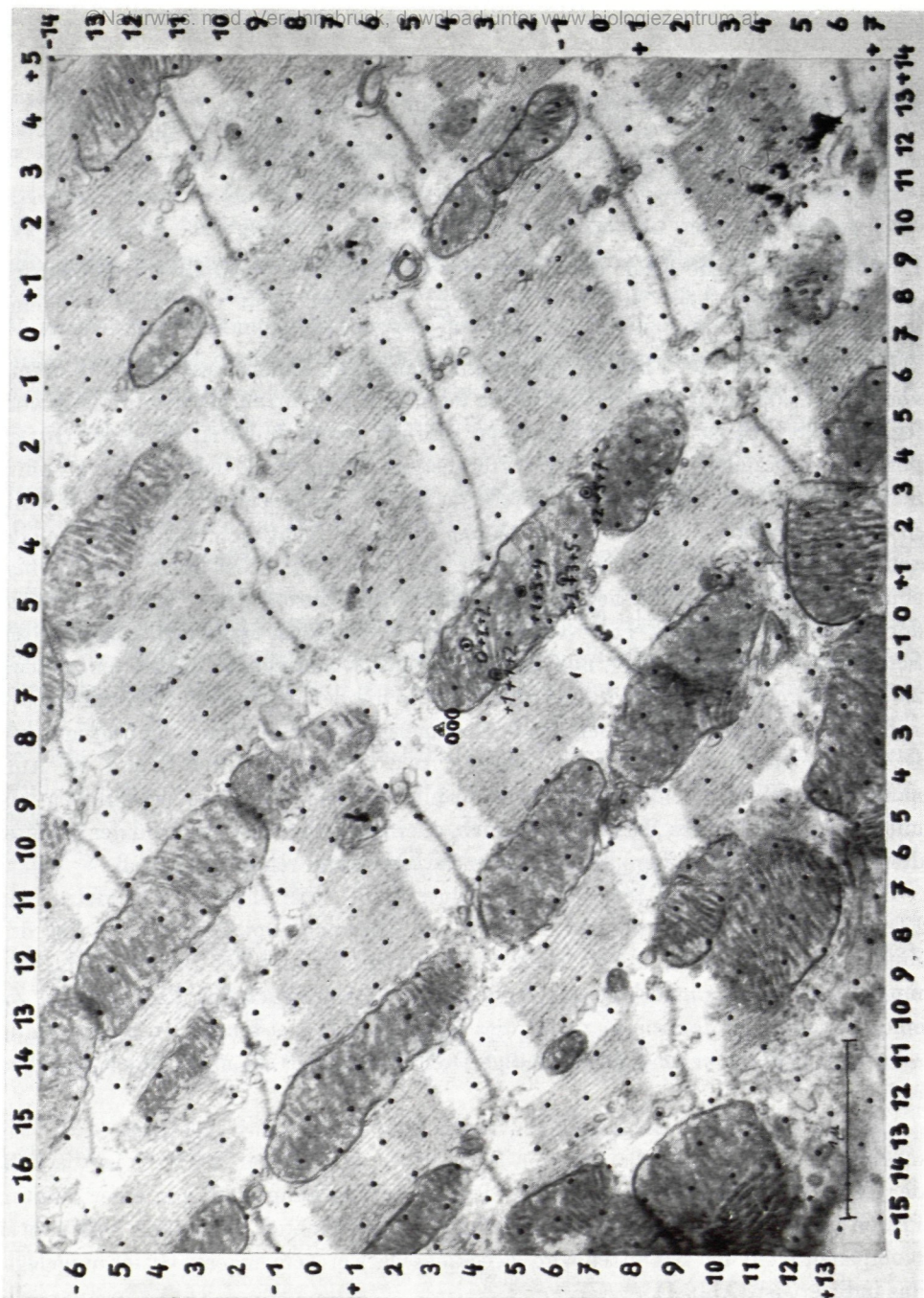


Abb. 1: Herzmuskelzelle der weißen Maus. Zur Feststellung der geordneten Verteilung der Sarcosomen zwischen den Myofilamenten wird ein enges hexagonales Punktegitter mit Indizierung über die Struktur geworfen. Dies erlaubt, die bevorzugte Längsausrichtung nach einer Geraden des Gitters zahlenmäßig festzuhalten. Wählt man die Gerade a , $a + 2a$, in der die Mitochondrien bevorzugt liegen und bestimmt das Verhältnis von Punkten außerhalb von Mitochondrien (NM) zu solchen innerhalb von Mitochondrien (M), so beträgt dies für die Geradenschar nach der Bildungsformel $(a, a + p [1 + m], 2a + p [1 + m])$, $m = 0, 1, 2, 3, \dots$ $p = 2n + 1$ und $n = 0, 1, 2, 3, \dots$ $NM:M = 1,71$; dagegen für die Geradenschar $(a, a + o [1 + m], 2a + o [1 + m])$, $m = 0, 1, 2, 3, \dots$ $o = 2n$ und $n = 0, 1, 2, 3, \dots$ $NM:M = 4,00$.

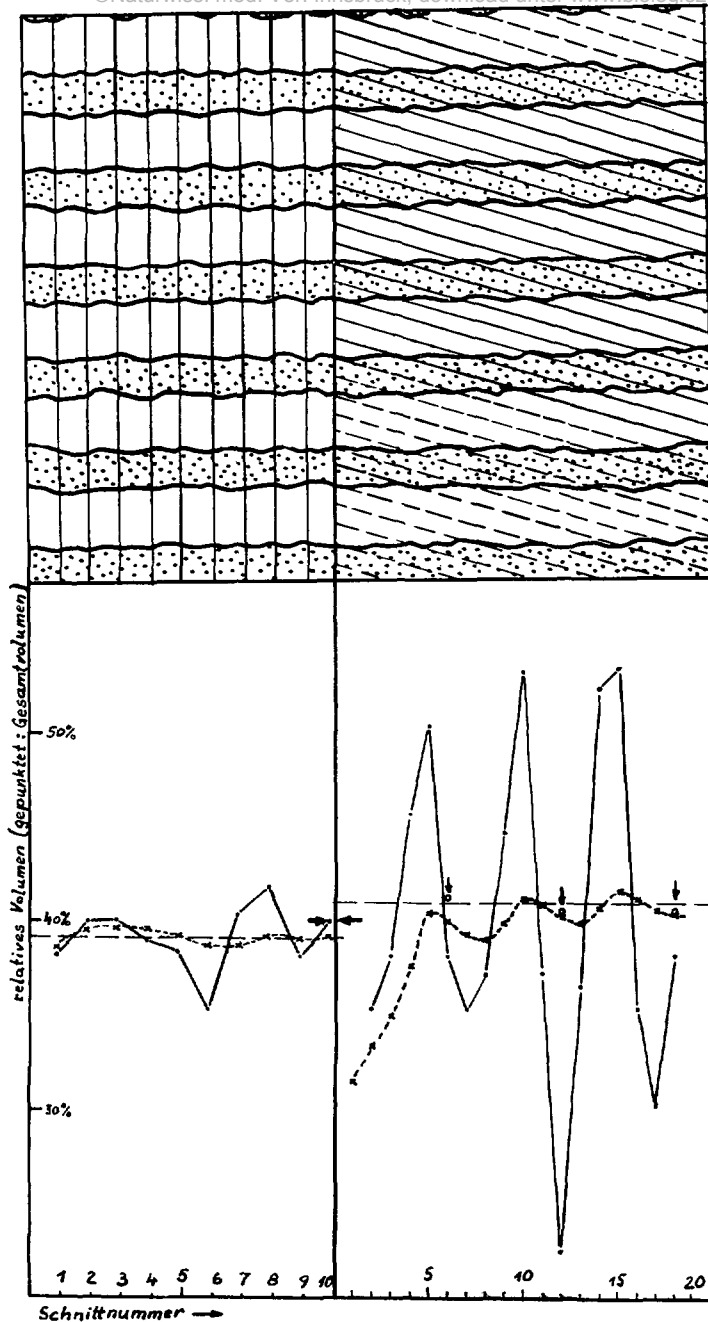


Abb. 2: Volumbestimmung an einem periodisch geschichteten Körper mit Volumsverhältnis 40% (gepunktet) zu 60% (hell); Schnittlagen senkrecht (links) bzw. schräg (rechts) zur Periode;

Ausgezogene Kurve: Volumbestimmung an Hand von Einzelschnitten, deren Abstände geringer sind als die Periode der Struktur. Hierbei weichen besonders bei schiefen Schnittlagen die Meßwerte erheblich vom tatsächlichen Volumsverhältnis ab.

Strichlierte Kurve: Durch Aufsummierung der Daten der fortlaufenden Schnitte wird eine bessere Annäherung an den tatsächlichen Wert erreicht. Kleine Kreise: Mittelwertbestimmung aus den Daten einer bzw. mehrerer Perioden.

geordneten Strukturen ist es oft nicht leicht möglich, eine entsprechende statistische Verteilung der Schnittebenen in einer Probe zu erzielen. Man kann trotzdem zu genauen Volumsmessungen kommen (siehe Abb. 2), wenn man entsprechend zahlreiche Schnitte von nur einer Lage ausmißt, und zwar am besten senkrecht zur Periode. Muß man eine unbekannte Winkellage zur Periode benützen, so muß man nur mehrere periodische Schnitte ausmessen und über mehrere Perioden mitteln (dabei muß der Abstand der Schnitte klein sein gegenüber der Periode der Struktur). In einzelnen Fällen, z. B. bei rotationssymmetrischen Gebilden, kann man auch nur ausgewählte Schnitte durchmessen, nämlich solche von denen man annehmen kann, daß die Rotationsachse in ihrer Schnittebene liegt. Hier müssen dann allerdings die Punkte verschieden gewertet werden, und zwar mit dem Gewicht des Quadrates des Abstandes von der Rotationsachse (Abb. 3). Angezeigt ist eine solche Messung dann, wenn die Schnittdicke verhältnismäßig groß gegenüber den zu vermessenden

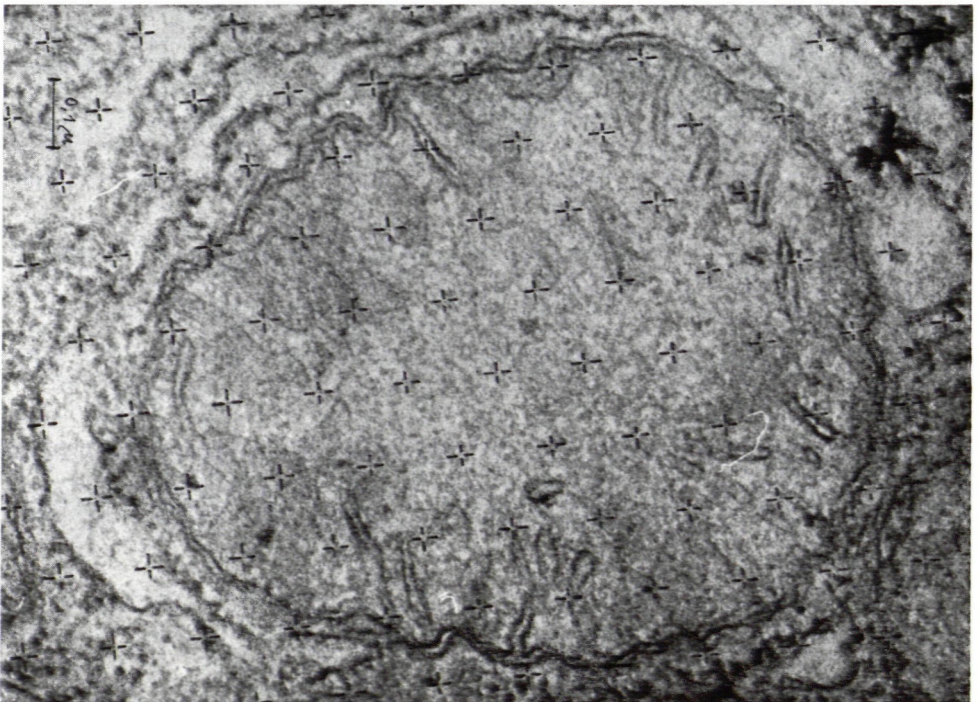


Abb. 3: Bestimmung der Volumensanteile von äußerem und innerem Chondrioplasma an einem Mitochondrium einer Leberparenchymzelle der weißen Maus. Über das median geschnittene Mitochondrium (Größe!, randständige Membranen scharf!) wird ein hexagonales Punktegitter geworfen, wobei eine Punktreihe durch die Mediane gelegt wird. Zur Volumbestimmung werden alle Treffer in den beiden Phasen mit dem Quadrat ihres Abstandes von der medianen Punktreihe gewertet. Zur Bestimmung der Standardabweichung muß dabei die achsenfernste Punktreihe mit dem Radius 1,00 normiert werden. — Das Volumen des äußeren Chondrioplasmas beträgt bei diesem einen Wurf $28,4\% \pm 13,5\%$ des gesamten Mitochondrienvolumens.

Einzelheiten in den Strukturen ist und man nur bei bestimmten ausgewählten Schnittlagen eine gute Projektion des Schnittbildes bekommt, etwa bei der Bestimmung des Volumsverhältnisses von äußerem zu innerem Chondrioplasma.

Auch bei der Periodizität von Strichgittern ist es angezeigt, die Periode so zu wählen, daß die statistische Unabhängigkeit der Messungen voneinander gewährleistet ist. Als wichtige Variable bei Strichgittern ist die Winkeldrehung zu erwähnen. Bei bevorzugten Raumlagen der Membranen tritt deutlich ein Maximum und ein Minimum der Schnittpunkte bei Drehung des Strichgitters im Bereich zwischen 0° und 180° auf. Man muß dabei allerdings darauf achten, daß man dieselbe Gesamtstrichlänge zur Messung verwendet. Bei quasi unendlich ausgedehnter vermessener Struktur ist es vorzuziehen, mit einem Strich von fixer Länge zu messen; bei begrenzten Strukturen ist es zweckmäßig, ein Lineal zur Notierung der jeweils benutzten Strichlänge zu verwenden (siehe Abb. 5).

Winkelmessungen. Bei Winkelmessungen ist stets zu beachten, daß wir nur Projektionen von Schnittgeraden von Raumlagen mit der Ebene sehen. Deshalb werden Winkelmessungen an willkürlichen Schnittebenen oft wenig Gewicht haben, außer es gelingt, durch Schnittserien die relative Konfiguration im Raum festzulegen (Schnittspuranalyse). Zur Mittelwertbildung sind die Winkel zwischen 0° bis 90° teils als positive, teils als negative Werte zu messen (Abb. 4). Dies erfolgt in Hinblick auf eine frei gewählte Bezugsrichtung. Der so ermittelte Mittelwert liegt natürlich stets in einem der beiden benützten Quadranten. Es kann aber der Fall eintreten, daß die Bezugsrichtung ungünstig gewählt wurde und der Mittelwert mit der geringeren Standardabweichung senkrecht darauf steht. Der Mittelwert mit der geringeren Standardabweichung repräsentiert die Vorzugsrichtung der vermessenen Struktur. Notfalls dreht man also den Mittelwert um 90° und bildet nochmals die Standardabweichung. Bei unendlich vielen statistisch verteilten Schnittgeraden beträgt der Mittelwert $0^\circ \pm 52^\circ$.

Sehr viel günstiger sind für solche Winkelmessungen raumorientierte Schnitte, bei denen man die absolute Raumlage aus den gewonnenen Daten rekonstruieren kann. Mit Hilfe eines Goniometertisches kann man an Schnitten Glanzwinkel für bestimmte Strukturen einstellen, bei denen sie sich mit besonderer Deutlichkeit auflösen lassen. In diesem Fall kann man auf eine langwierige Schnittspuranalyse verzichten; andererseits erlauben gerade solche Hilfen eine eindeutige Zuordnung der Schnitte einer Serie für die Schnittspuranalyse. Für diesen Fall kann der Goniometertisch auch ersetzt werden durch eine einfachere Vorrichtung, indem einfach der Schnitt mit festem Winkel in den Strahlengang des Elektronenmikroskopes eingebracht wird.

3. Darstellung

Die gewonnenen Daten werden meist in Form von Indexpzahlen oder als relative oder absolute Raumlagen vorliegen. Für letzteren Fall wäre es wünschenswert, die

in der Petrographie übliche Darstellung auf der Lagekugel in die Zellmorphologie einzuführen.

Bei der Darstellung auf der Lagekugel wird das zu vermessende Element gedanklich in den Mittelpunkt gerückt und der Durchstoßpunkt seiner Achse bei gelängten Elementen oder der des Lotes auf die Ebene bei scheibenförmigen notiert. Die Projektion der Kugel auf die Ebene erfolgt als winkeltreue oder als flächentreue Projektion (die winkeltreue Projektion ist bei symmetrologischen Betrachtungen, die flächentreue bei statistischer Behandlung der Daten vorzuziehen). Für die winkeltreue Projektion ist ein Korrekturverfahren zur statistischen Behandlung ausgearbeitet worden; bei stärkerer Regelung kann eine Korrektur vernachlässigt werden.

4. Beispiele

(a) Volumsrelationen: Obwohl nach der Treffermethode verhältnismäßig leicht wichtige relative Volumina bestimmt werden können, liegen dazu noch wenige Daten in der Literatur über die Feinstruktur verschiedener Zelltypen vor.

Je kleiner die Gefügebestandteile sind (sofern noch die Näherung, den dünnen Schnitt als Anschnitt zu betrachten, statthaft ist; Verhältnis des Durchmessers der zu vermessenden Teilchen zur Schnittdicke ca. 10 : 1) und je statistischer ihre Verteilung, um so kleinere Proben werden schon vernünftige Werte liefern.

LOUD (1962) mißt noch nach der ROSIWALschen Linienmethode sein Material aus und erhält für Leberparenchymzellen der Ratte einen Volumsanteil der Mitochondrien von $18,4 \pm 2,2\%$, bezogen auf das gesamte Cytoplasma (ohne Zellkern). — Die Bezugnahme auf das Cytoplasma ist deshalb empfehlenswert, da die ungleichmäßige Verteilung der Kerne sonst die Werte stärker schwanken läßt.

Tabelle 1 bringt eine Zusammenstellung von Meßdaten auf Grund eigener Aufnahmen und Vergleichswerte aus der Literatur.

(b) Eine Abschätzung des Anteiles des äußeren Chondrioplasmas an den Mitochondrien läßt sich auf Grund der einfachen Treffermethode nicht geben, da die Orientierung der Cristae stark wechselnd ist und sie bei flacher Schnittführung nicht aufgelöst werden. Man kann aber auf Grund von möglichst median geschnittenen Mitochondrien — da man bei ihnen Rotationssymmetrie voraussetzen darf — durch die schon erwähnte Methode der unterschiedlichen Wertung der Treffer eine Abschätzung vornehmen (Abb. 3). Dies ergibt bei der weißen Maus für Mitochondrien von Leberparenchymzellen ca. 23% und von den Herzmuskelzellen ca. 40%. Für letztere haben BRIEN und BRIERLEY (1965) mit osmotischen Methoden einen für Zucker leicht zugänglichen Raum von 30 bis 39% des mitochondrialen Wassers bestimmt. Wahrscheinlich handelt es sich hiebei um das äußere Chondrioplasma, das auch nach FREY-WYSSLING (1960) eine stark wäßrige Phase darstellen soll.

(c) Winkelmessungen. Genauer erfassen kann man die Ordnung der Mitochondriencristae durch Winkelmessungen. Man mißt den Winkel der Schnittpur

Tabelle 1:

Prozentueller Anteil des Mitochondrienvolumens am Volumen des gesamten Cytoplasmas (inkl. Mitochondrien).

Zelltyp	Versuchstier	relativer Anteil des Mitochondrienvolumens
Herzmuskelzellen	Maus	34,7 % ± 2,0
	Katze ¹	34,8 % ± 6,5
Nieren, Epithelzellen der proxim. Tubuli ²	Maus	37,1 % ± 6,1
Dünndarm, Mucosa	Meerschweinchen	10,0 % ± 4,4
Leber, Parenchymzellen	Maus	21,2 % ± 6,6
	Ratte ³	18,4 % ± 2,2
Plasmazellen	Ratte ⁴	4,67 % ± 2,22
Reticulumzellen	Ratte ⁴	6,89 % ± 2,69
Lymphozyten	Ratte ⁴	4,73 % ± 2,23

¹ Nach HALLY (1964);

² nur der Bereich des basalen Labyrinthes, dessen Spalträume (16,4 % ± 3,6) als endoplasmatisches Reticulum dem Cytoplasma zugerechnet wurde;

³ nach LOUD (1962), Vermessung nach der ROSIWALschen Linienmethode;

⁴ nach SCHUMACHER 1962.

Tabelle 2:

Polarisierte Ausrichtung von Mitochondrien bzw. deren Cristae zu Vorzugsrichtungen der Zellen¹.

Zelltyp	Versuchstier	Winkellage der Mitochondrienachse zur Vorzugsrichtung der Zelle	Winkellage der Mitochondrieneristae zur Vorzugsrichtung der Zelle
Herzmuskelzellen	Maus	23,5 ⁰ ± 41,0 ⁰	10,4 ⁰ ± 52,7 ⁰
	Ratte	-8,2 ⁰ ± 1,6 ⁰	72,3 ⁰ ± 28,9 ⁰
Nieren (Epithelzellen der proxim. Tubuli) ²	Maus	0,0 ⁰ ³	88,4 ⁰ ± 47,3 ⁰
Dünndarm, Mucosazellen	Meerschweinchen	19,5 ⁰ ± 29,7 ⁰	9,5 ⁰ ± 50,3 ⁰
Leber, Parenchymzellen	Maus	9,8 ⁰ ± 33,8 ⁰	45,1 ⁰ ± 48,6 ⁰
		6,5 ⁰ ± 12,3 ⁰	0,4 ⁰ ± 45,0 ⁰

¹ Vorzugsrichtungen:

Herz: parallel zu Myofilamenten; Nieren: parallel zur Mitochondrienlängsachse; Dünndarm: parallel zur Microvilli-Längsachse; Leber: senkrecht zum bevorzugten Verlauf der Parenchymzellplatten. In einzelnen Organen sind neben Schnittbildern mit hochgeordneter Cristae-Packung auch solche mit geringerer Ordnung zu beobachten; zur Illustration werden vereinzelt obere und untere Grenzwerte angeführt.

² Nur Bereich des basalen Labyrinthes der proximalen Tubulusepithelzellen.

³ Als Bezugsrichtung angenommen.

der Cristae-Ebene mit der Schnittebene in bezug auf eine bestimmte Vorzugsrichtung in der Schnittebene. Die Ordnung der Cristae kann dann durch ein Sektorendiagramm für das einzelne Mitochondrium oder für die Summe über die Anschnitte innerhalb der Zellen veranschaulicht werden.

Abb. 4 zeigt eine Darstellung der Winkelverteilung für alle Mitochondrien aus einem Schnitt durch eine Herzmuskelzelle der weißen Maus. Die Herzmitochondrien sind mitunter ganz extrem streng geordnet; man findet aber immer wieder einzelne Exemplare, die keine so auffällige Ordnung zeigen und auch größere Bereiche innerhalb der Zellen, bei denen die Ordnung nur sehr schwach ist, wie die hohe Standardabweichung zeigt. Die Lebermitochondrien, die bei flüchtiger Betrachtung nahezu

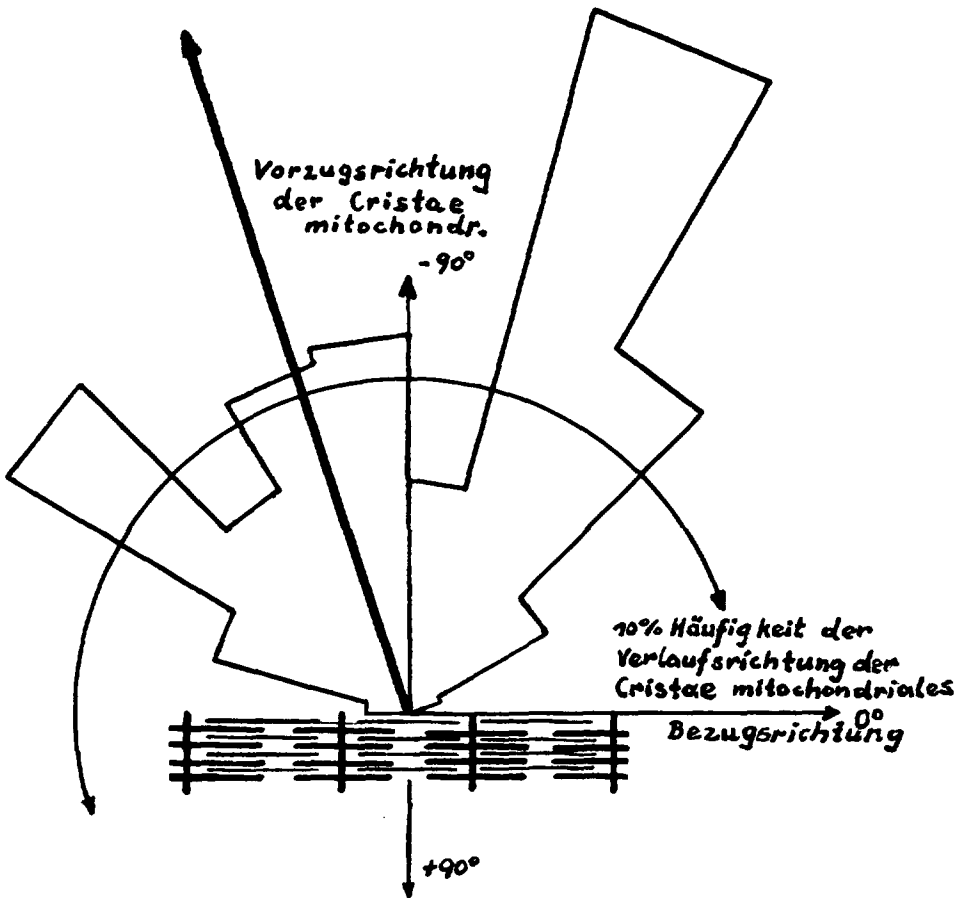


Abb. 4: Beispiel eines Sektorendiagrammes zur Verlaufsrichtung der Mitochondriencristae, bezogen auf die Richtung der Myofilamente in den Herzmuskelzellen der weißen Maus. Der Radius der Sektoren entspricht der Häufigkeit, mit der die einzelnen Gruppen von Winkellagen (je 15°) auftreten. Der ursprüngliche Mittelwert von $-17,2^\circ$ mußte rechnerisch um 90° gedreht werden.

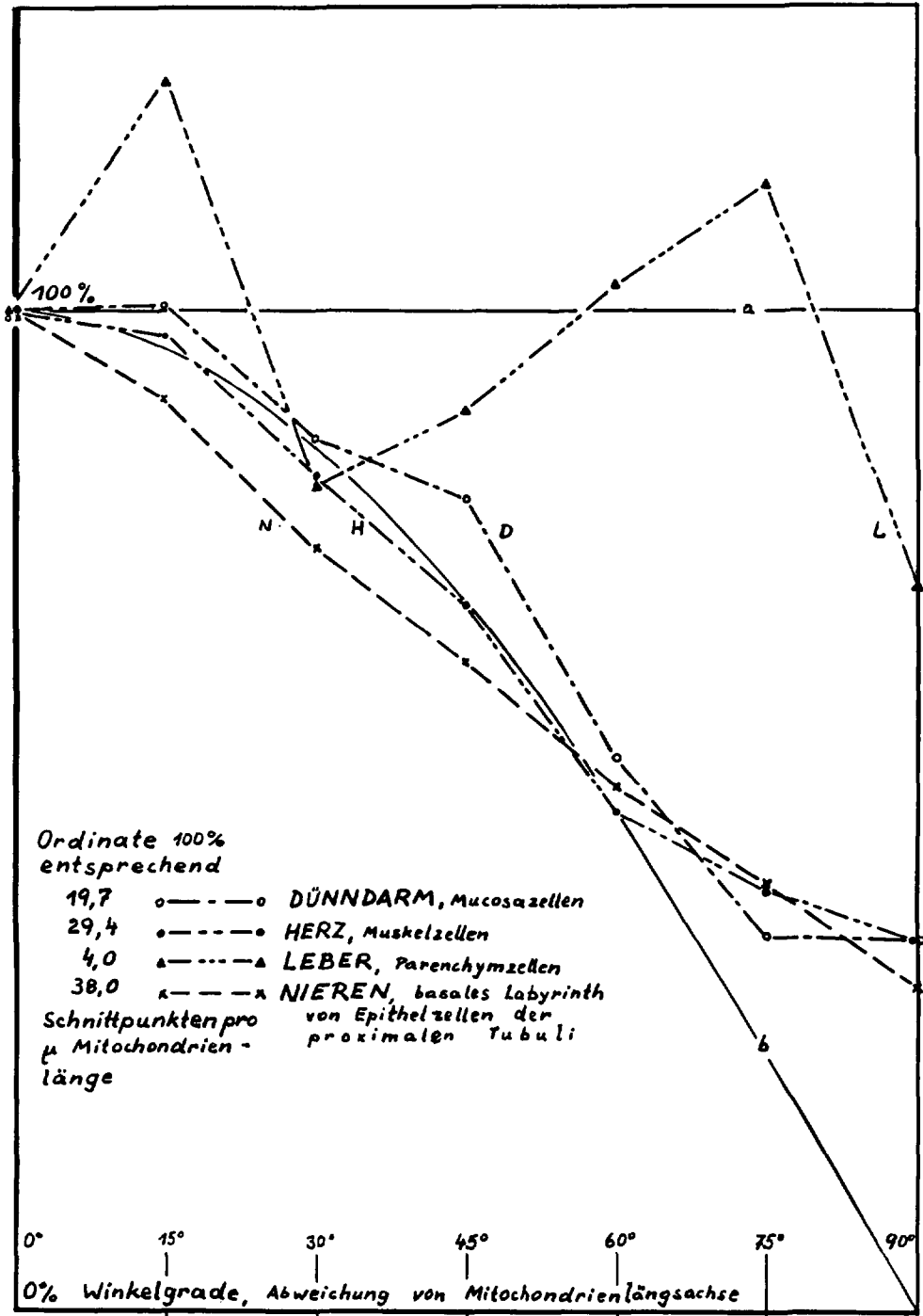


Abb. 5: Schnittpunkte der Mitochondrienristae mit einer Geraden in verschiedenen Winkel-lagen zu den einzelnen Mitochondrienlängsachsen (= 0°) in verschiedenen Geweben der weißen Maus (Herz, Leber, Niere) und des Meerschweinchens (Dünndarm). (a) entspricht einer völligen Unordnung, (b) einer idealen Parallelschichtung senkrecht zur Mitochondrienachse.

ungeordnet erscheinen, erweisen sich auf Grund der Messungen doch als schwach geordnet. Besonders deutlich wird dies für die Mitochondrienlängsachse. — Tabelle 2 bringt hierzu eine Übersicht.

Literaturverzeichnis

- BRIEN, R. L. O. a. G. BRIERLEY (1965): Compartmentation of heart mitochondria. I. Permeability characteristics of isolated beef heart mitochondria. *J. Biol. Chem.* **240**: 4527 bis 4531.
- FREY-WYSSLING, A. (1960): *Nova Acta Leopold.* NF 22, H. 147.
- HALLY, D. A. (1964): A counting method for measuring the volumes of tissue components in microscopical sections. *Quart. J. Micr. Sci.*, **105**: 503—517.
- HENNIG, A. (1956a): Bestimmung der Oberfläche beliebig geformter Körper mit besonderer Anwendung auf Körperhaufen im mikroskopischen Bereich. *Mikroskopie*, **11**: 1—20.
- HENNIG, A. (1956b): Inhalt einer aus Papillen oder Zotten gebildeten Fläche. *Mikroskopie*, **11**: 206—213.
- HENNIG, A. (1957a): Fehler der Oberflächenbestimmung von Kernen bei endlicher Schnitt-dicke. *Mikroskopie*, **12**: 7—11.
- HENNIG, A. (1957b): Das Problem der Kernmessung. Eine Zusammenfassung und Erweiterung der mikroskopischen Meßtechnik. *Mikroskopie*, **12**: 174—202.
- KLIMA, J. (1963): Achsendiagramm und Klassenanalyse anhand willkürlicher ebener Schnitte und kurzer Schnittserien. *Proc. I. Int. Kongr. Stereologie*, Wien; 13/1—13/8.
- LOUD, A. V. (1962): A method for the quantitative estimation of cytoplasmic structures. *J. Cell Biol.*, **15**: 481—487.
- SANDER, B., D. KASTLER u. J. LADURNER (1954a): Zur Korrektur des Schnitteffektes in Gefügediagrammen heterometrischer Körper. *Anz. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturw. Kl.*, **91**: 210—211.
- SANDER, B., D. KASTLER u. J. LADURNER (1954b): Zur Korrektur des Schnitteffektes in Gefügediagrammen heterometrischer Körper. *Sitz.-Ber. Österr. Akad. Wiss., Math.-naturw. Kl., Abt. I*, **163**: 401—423
- SCHUMACHER, A. (1962): Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Plasmazellen in Lymphknoten und Milz der Ratte. *Diss., Wiener Tierärztliche Hochschule*. (unveröff.).

Anschrift der Verfasser: Univ.-Doz. Dr. Jörg KLIMA, Dr. Helmut PLATTNER, Institut für Elektronenmikroskopie der Universität Innsbruck, 6020 Innsbruck, Schöpfstraße 41.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte des naturwissenschaftlichen-medizinischen Verein Innsbruck](#)

Jahr/Year: 1967

Band/Volume: [55](#)

Autor(en)/Author(s): Klima Jörg, Plattner Helmut

Artikel/Article: [Quantitative Zellmorphologie. 93-106](#)