

## 6. Zusammenfassung

Zur Feststellung des Einflusses verschiedener Präparationstechniken, Fixationslösungen und Färbelösungen auf die histologischen Strukturen von Kornea und Linse wurden 90 Augenpaare von Schlachtschweinen der Deutschen Landrasse beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht von 90 bis 110 kg verwendet. Entsprechend den sechs Fixanzen wurden jeweils 15 Augenpaare auf drei verschiedene Arten aufgearbeitet. Fünf Augenpaare jeder Gruppe wurden in toto in die Fixationslösungen gegeben, fünf weitere Paare nach dem Kammerwasserentzug aus der vorderen Augenkammer und Injektion der entsprechenden Fixationslösung in dieser ebenfalls in toto fixiert. Bei den letzten fünf Paaren fand eine Kalottierung statt, wobei die Linse in dem Zentralstück belassen wurde. Als Fixationslösungen wurden die 2-, 5- und 10%ige Formalinlösung, die Bouinsche Lösung, die Glutaraldehyd-Formaldehyd-Lösung sowie die Zenkersche Lösung verwendet. Die angefertigten Paraffinschnitte wurden folgenden Färbungen unterzogen: der Hämatoxylin-Eosin-, Alzianblau-, Azan- und Kongorotfärbung sowie der Trichromfärbung nach Masson/Goldner, der Perjodic Acid Schiff's Reaction und der Färbung nach Ladewig. Die Messungen der Kornea- und Linsenschichten an jeweils drei verschiedenen Lokalisationen erfolgt mit dem halbautomatischen Bildanalyse-System ELAS 16. Der Zellkerndurchmesser wurde mit dem Teilchengrößenanalysator TGA 10 der Firma Zeiss an den entsprechenden Lokalisationen ermittelt. Die Bestimmung der Kernanzahl pro Flächeneinheit erfolgte am Visopan.

Die Versuche führten zu folgenden Ergebnissen:

### Kornea

1. Eine signifikante Beeinflussung der drei Präparationstechniken läßt sich in allen Fixationslösungen hinsichtlich der Schichtdicke deutlich feststellen. Bezogen auf die Korneaschichten, ist die in-toto-Präparation die schonendste, denn die Streuung der Meßergebnisse ist im Gegensatz zu den anderen Präparationstechniken am geringsten.
2. Bei der in-toto-Präparation zeigt sich bezüglich der Fixation mit Bouinscher Lösung in der Hämatoxylin-Eosinfärbung die niedrigste Streubreite.
3. Bezüglich der in-toto-Präparation lassen sich in der mittleren Lokalisation der drei Korneaschichten bei allen Fixationslösungen in der Hämatoxylin-Eosinfärbung die höchsten Mittelwerte und die geringsten Streuungen ausmachen.
4. Bei der Fixation mit einer 5%igen Formalinlösung lassen sich bei der Hämatoxylin-Eosinfärbung im Gegensatz zu den übrigen Fixanzen signifikante bzw. bei der Fixation mit der Zenkerschen Lösung keine signifikanten Unterschiede erkennen.
5. Beim Vergleich des Einflusses der Hämatoxylin-Eosinfärbung nach Fixation mit 5%iger Formalinlösung mit den sechs Spezialfärbungen lassen sich an den Korneaschichten keine signifikanten Unterschiede konstatieren. Eine Ausnahme bildet die Färbung mit Kongorot.

6. Bei der Fixation mit Zenkerscher Lösung besteht bei der Gegenüberstellung der Hämatoxylin-Eosinfärbung mit den Spezialfärbungen in der Tendenz eine leichte Beeinflussung.
7. Mit Ausnahme der Alzianblaufärbung in der 5%igen Formalinfixierung und der Färbung nach Ladewig bei in Zenkerscher Lösung fixierten Präparaten, die nicht signifikant sind, lassen sich bei allen anderen Färbungen hochsignifikante Meßwerte darstellen.
8. Die Präparationstechniken beeinflussen auch den Kerndurchmesser. Bei der Fixation mit 5%iger Formalin- sowie Zenkerscher Lösung in der Hämatoxylin-Eosinfärbung läßt sich, im Gegensatz zu den anderen Fixationslösungen (hochsignifikant), nur eine Signifikanz ausmachen. Lediglich bei der Fixation mit der Zenkerscher Lösung sind bezüglich des Kerndurchmessers an den drei Lokalisationen keine Unterschiede festzustellen.
9. Ebenfalls bei der Kernzählung läßt sich der Einfluß der Präparationstechniken im Zusammenhang mit den sechs verschiedenen Fixationslösungen erkennen. Während nur bei der Fixation mit der 5%igen Formalin- und Bouinschen Lösung in der Hämatoxylin-Eosinfärbung hochsignifikante Unterschiede in den Korneaschichten erkennbar sind, lassen sich an den Lokalisationen bezüglich der Fixation mit 2- und 10%iger Formalinlösung, Glutaraldehyd-Formaldehyd- sowie Zenkerscher Lösung keine Signifikanzen konstatieren.

#### Linse

1. Hinsichtlich der drei Präparationstechniken sind nur bei Fixation mit Bouinscher Lösung und Glutaraldehyd-Formaldehyd in der Hämatoxylin-Eosinfärbung keine signifikanten Unterschiede aufzuzeigen.
2. Bei der Fixation mit 5%iger Formalinlösung finden sich bezüglich der Epithelschichtdicke der Linse bei den sechs Spezialfärbungen keine Unterschiede im Rahmen der Präparationstechniken und der Lokalisationen. Die Schichtdicken verzeichnen bei der Fixation mit Zenkerscher Lösung niedrige Meßwerte.
3. Bei Betrachtung der Präparationstechniken und der Lokalisationen sind bei der Bestimmung des Kerndurchmessers keine Signifikanzen erkennbar. Differenzen finden sich bei den verschiedenen Fixationslösungen, wobei sich in der Fixation mit Glutaraldehyd-Formaldehyd die niedrigsten Durchmesser der Linsenkerne darstellen. Die geringsten Streuungen sind bei der Fixation mit Zenkerscher Lösung festzustellen.
4. Bezüglich der Präparationstechniken und der Lokalisationen lassen sich bei der Messung der Kernanzahl hochsignifikante Unterschiede konstatieren. Während bei der Fixation mit der 2%igen Formalinlösung die niedrigste Kernanzahl vorliegt, besteht bei der Fixation mit 10%iger Formalinlösung die größte Anzahl von Epithelkernen in der Linse. Bei der Betrachtung der Präparationsart mit den sechs Fixationslösungen findet sich bei der Fixation mit der Zenkerschen Lösung die geringste Streuung.

Eberhard Adamo:

Histometric findings from cornea and lens of the slaughter pig's eye under application of various preparation methods, fixations, and dyes

## 7. Summary

In order to register the influence of different preparation techniques, fixation solutions, and dyeing solutions on the histological structures of the cornea and the lens, the eyes from 90 slaughter pigs from both sexes with weights between 90 and 110 kg were tested. According to the six fixation solutions, fifteen pairs of eyes were tested at a time, in three different ways. Five complete pairs of eyes from each group were put into the fixation solution. Another five complete pairs of eyes were fixated, after withdrawal of the aqueous humor of the anterior chamber and injection of the corresponding fixation solution. With the last five pairs a calotte was performed, in which the lens was left in the center portion. 2-, 5- and 10% solutions of formalin as well as Bouin's solution, glutaraldehyde-formaldehyde solution, and Zenker's solution, were used as fixation solutions. The manufactured paraffin sections were subjected to the following dyes: haematoxylin-eosin dye, alcianblue dye, acan dye, congo red, as well as the trichrome dye after Masson/Goldner, the periodic acid Schiff's reaction, and Ladewig's dye. The corneal layer and the lens layer were measured with a semiautomatic picture analysis system (ELAS 16) at three different locations. The nucleus diameter was measured with a Zeiss particle sizeanalyser (TGA 10) at the identical localisations. The determination of the number of nuclei per surface unit was performed with a Visopan.

The experiments lead to the following conclusions:

### Cornea

1. A clearly significant influence of the three preparation techniques on the layer thickness was discovered in all fixation solutions. The in-toto-preparation applied to the corneal layers appeared to be the most compatible since the measurement variations were the slightest in contrast to the other preparation techniques.
2. The fixation with Bouin's solution in haemalaun-eosin dye exhibited in the in-toto-preparation the least scattering.
3. The in-toto-preparation showed the highest mean value and the smallest diffusion in the central localisation of the three cornea layers from all of the fixation solutions in the haematoxylin-eosin dye.
4. In contrast to all other fixation solutions, fixation with the 5 % formalin solution in the haematoxylin-eosin dye revealed significant differences, and fixation with Zenker's solution showed no significant difference.
5. The influence of the haematoxylin-eosin dye with 5 % Formalin solution revealed in comparison to the six special dyes no significant differences in the cornea layers. The dyeing with congo red was the one exception.

6. The presence of a mild influence on fixation with Zenker's solution was established, from the comparison of haematoxylin-eosin dye to the special dyes.
7. With the exception of the alcian blue dye in 5 % formalin fixation, and the dyeing according to Ladewig (in a preparation fixated with Zenker's solution) which were not significant, all dyes showed highly significant measurements.
8. The preparation techniques also influenced the nucleus diameter. Fixation with 5 % formalin solution, as well as with Zenker's solution, in haematoxylin-eosin dye, yielded in only one significant result, whereas all other fixation solutions were highly significant. Only in the fixation using Zenker's solution was no difference found in the localisations in reference to the nucleus diameter.
9. The influence of the preparation techniques can also be found in the nuclei quantity, in connection with the six different fixation solutions. High significant results were found in the fixation with 5 % formalin and Bouin's solution in haematoxylin-eosin dye within the corneal layers. Fixation with 2- and 10 % formalin solutions with glutaraldehyde-formaldehyde and with Zenker's solution resulted in no significant findings.

#### Lens

1. Regarding the three preparation techniques, no significant differences were found in the fixations with Bouin's solution and glutaraldehyde-formaldehyde in the haematoxylin-eosin dye.
2. Fixation with 5 % formalin solution and the six special dyes in connection with the thickness of the epithelial layer of the lens exhibited no differences in the scope of preparation techniques and localisations. The layer thicknesses, after fixation with Zenker's solution were reduced.
3. Inspection of the preparation techniques and localisations yielded no significant data in the determination of the nucleus diameter. Differences could be found between the various fixation solutions, in which the smallest diameter of the lens nuclei was revealed by the fixation with glutaraldehyde-formaldehyde solution. The smallest diffusion were obtained from the fixation with Zenker's solutions.
4. Highly significant differences between preparation techniques and localisations in the measurement of the nuclei quantity were found. The smallest quantity of nuclei were discovered after fixation with 2 % formalin solution. The fixation with 10 % formalin solution, in contrast, resulted in the largest quantity of epithelial nuclei. Fixation with Zenker's solution revealed the lowest amount of diffusion.